

10.24

Neue Methoden

der

Bakterienforschung

von

Dr. N. J. C. Müller

Professor der Botanik an der Königl. Forstakademie in Münden.

Separat-Ausgabe aus den „Beiträgen zur Wissenschaftlichen Botanik“. Bd. I.


I. Hälfte.

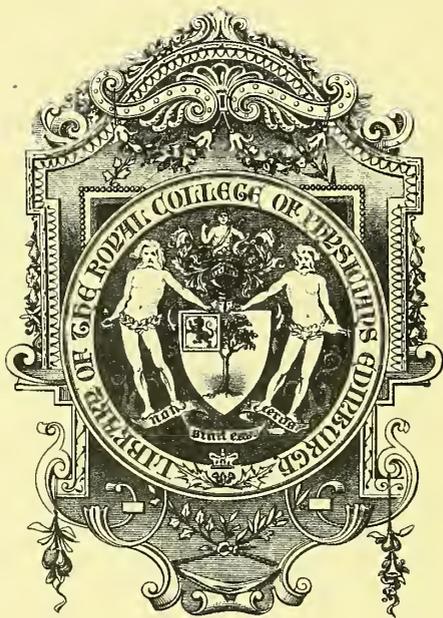
Mit 20 lithograph. Tafeln.

STUTTGART.

By order of the College, this Book is not to be taken out of the Library (except after 6 P.M. until 10 A.M.) for one month from this date.

PHYSICIANS' HALL,

13th Jan. 1898



Fc 2.71

R51341



Digitized by the Internet Archive
in 2015

<https://archive.org/details/b21941981>



Neue Methoden

der

Bakterienforschung

von

Dr. N. J. C. Müller

Professor der Botanik an der Königl. Forstakademie in Münden.

Separat-Ausgabe aus den „Beiträgen zur Wissenschaftlichen Botanik“. Bd. I.

Mit 40 lithograph. Tafeln.

STUTTGART.

Verlag von Erwin Nägele.

1898.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
I. Gesichtspunkt	1
II. Gegebene Methoden	2
A. Koch-Nährgelatine auf dem Objektträger	3
B. Gewöhnliche Gelatine	4
C. Gelatine-Additionsplättchen	4
D. Polarisationserscheinungen	7
III. Methode der Fraktionirung durch die Wärme	12
IV. Methode der Fraktionirung durch Alkoholzusatz	20
V. Methode der Nährgelatine-Objektträgerkultur. Fraktioniren mit Hülfe der Glasnadel	25
A. Leichenpartikel und Gesteinstrümmer	25
a) Feste Partikel direkt geimpft	25
b) Verwesende Teile einer Runkelrübe	27
c) Partikel, dem Rhein bei Mannheim entnommen	28
1) Fontinalis-Rasen	28
2) Sandsteinpartikel	29
3) Verwesendes Weidenblättchen	29
4) Holzsplitter	29
d) Partikel aus einem faulen Apfel	30
e) Strohhalmpartikel aus Ackerdung	30
VI. Wasseruntersuchung. Wasser der Quellen, Bäche, Flüsse u. s. f.	30
A. Erste Methode. Stichimpfung	30
B. Fraktioniren auf dem Objektträger. Direkte Impfung	32
1) Pumpe Vogelsang, Münden	32
C. Stichimpfung im Koch-Gelatinecylinder und Übertragen der Kultur auf den Objektträger	34
2) Rhein unterhalb Mainz	34
3) Rhein oberhalb Mannheim	34
4) Fulda bei Münden	36
5) Bächlein (Vogelsang, Münden)	37
6) Pumpe (Vogelsang, Münden)	37
7) Feuerteich (Münden)	38
8) Salzbach (Wiesbaden)	39
9) Neckar (Heidelberg)	42

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
10) Fulda-Eis	43
11) Heidelberger Wasserleitung	44
12) Pumpe, Mannheim	44
D. Methode der Untersuchung von Bakterienhäuten auf Wasserbehältern	45
1) Die vier Differenzversuche	46
2) <i>Cladothrix dichotoma</i> (Neckar)	48
VII. Beispiel der Reinzüchtung durch Abwechselung der Nährsubstrate	50
VIII. Parallelversuch über das Fortschreiten einer Bazillenkultur	51
IX. Verdrängung des <i>Bacillus monachae</i> durch <i>Bacterium monachae</i>	52
X. Kulturbelag und Zooglöa	53
XI. Die von Sachs'schen Emulsionsfiguren und Theorie des Vorganges auf der Koch-Gelatine	57
XII. Der Kulturbelag der Rein- und Mischkulturen	61
XIII. Diagnose des Kulturbelages oder der Zooglöa	62
A. Die Reinkulturen: a <i>Micrococcus</i> , b <i>Bacillus</i> , c <i>Bacillus</i> (<i>Vibrio</i>), d <i>Bacterium</i>	62
B. Die Mischungen: Die Kombinationen ab, ac, ad, bc, bd, cd	65
XIV. Durchführung einer Flusswasserbakterienanalyse	70
XV. Theoretische Betrachtungen	87
A. Vorgänge im Gelatinecylinder	88
B. Vorgänge im Gelatinetrophen	91
I. Mechanische Kategorie	92
II. Mechanische Kategorie	93
C. Die Grundformen der Zooglöen	105
D. Die Apposition der Zooglöen	108
XVI. Schlussbetrachtung	108
XVII. Figurenerklärung der Tafeln	125

Beiträge zur Kenntnis der Bakterien.

I. Bakterien der Gewässer und Theorie der Kulturbeläge.

Von

N. J. C. Müller.

Bakterienuntersuchungen.

I. Gesichtspunkt.

Zu den nachfolgend geschilderten Untersuchungen wurde ich veranlasst durch eine Reihe von Bakterienkulturen, deren Ursubstanzen Partikel aus Insektenleichen waren, so namentlich die Leiche der Nonne, *Liparis monacha*, Kiefernspinner u. s. f. Die dort gewonnenen Resultate und Methoden¹⁾ suchte ich anzuwenden zur genaueren Untersuchung der Bakterien in Leichenpartikeln überhaupt, der Bakterien in den Wässern im besonderen. Das Kulturverfahren beginnt in der Mehrzahl der Fälle mit einer Stichkultur in Nährgelatine und endet mit der Herstellung der mikroskopischen Tinktionspräparate und deren Interpretation. Dazwischen liegen Plattenkulturen auf dem Objektträger mit gewöhnlichen Gelatineplättchen oder in Tropfen von Koch-Nährgelatine, sowie Fraktio-

¹⁾ Gesamüberblick aller Methoden: A. Die Ursubstanz ist fest; sie wird mit sterilisiertem Wasser im hohlgeschliffenen Objektträger angerieben und längere oder kürzere Zeit mazeriert (1—5 Stunden). Die Flüssigkeit wird mit der Platinadel in die Gelatine des Nährcylinders geimpft. Solche Stiehkulturen werden in einem Thermostatentreibhaus bei geeigneter konstanter Temperatur aufgestellt. — B. Haben die festen Ursubstanzen eine scharf umschriebene Gestalt, so werden sie in die Gelatine in Form von Splintern eingeschoben: dies ist namentlich bei der Objektträgerkultur von Vorteil. — C. Wasser der Quellen, Bäche, Wasserleitungen, Flüsse u. s. f. können direkt in die Gelatine des Koch-Cylinders geimpft werden, oder sie werden fraktioniert mit Alkohol, so dass erst die Alkoholwassergemische zur Impfung gelangen. — D. Bakterienhaltiges Wasser kann auch direkt in Tropfen von Nährgelatine auf dem Objektträger geimpft werden.

nirungen mit Hilfe der Glasnadel und Präparirlupe, und Fraktionierungen durch Alkoholzusatz und durch Abklatsch der Objektträgerkulturen auf neue Deckgläser.¹⁾

II. Gegebene Methoden.²⁾

Die Kochsche Nährgelatine bildet in allen nachfolgenden Untersuchungen die erste Unterlage. Nachdem die Stichkultur der Ursubstanz in dem Koch-Gelatinecylinder (K C) angegangen ist, werden die mikroskopischen Tinktionspräparate hergestellt; sodann wird die

¹⁾ Der Klatschapparat besteht aus einem Schlitten von Messing, auf welchem zwei Glaswürfel verschiebbar sind. Einer dieser trägt das Kulturdeckglas, der andere das Deckglas, welches den Abklatsch aufnehmen soll; die Deckgläser sind mit Wasser oder, bei pastosen Kulturen, mit Zellenkitt oder Canadabalsam lose ange kittet. Die letzte Annäherung der Würfel geschieht mit Hilfe einer Mikrometerschraube. (Der Apparat ist nach meiner Angabe von Herrn Universitätsmechaniker Apel in Göttingen ausgeführt.) Wer eine ganz ruhige Hand hat, stellt die Abklatsche aus freier Hand her.

²⁾ Litteratur:

Dr. von Tubeuf, Die Krankheiten der Nonne, Forstlich-naturwissensch. Zeitschrift, München 1892, Heft I.

Dr. Hofmann, Insektentötende Pilze u. s. f., Frankfurt a. M., 1891.

Zopf, Die Spaltpilze, Breslau 1885.

Dr. F. Hüppe, Die Methoden der Bakterienforschung, Wiesbaden 1891.

W. Migula, Die Bakterien, Leipzig 1891.

Baumgarten, Lehrbuch der patholog. Mykologie, Braunschweig 1890.

Hüppe, Die Formen der Bakterien, Wiesbaden 1886.

De Bary, Vorlesungen über Bakterien, 2. Aufl. Leipzig 1887.

H. Hoffmann, Über Bakterien, Botan. Zeitung, 1869.

F. Cohn, Zur Bakterienfrage, Botan. Zeitung, 1871.

F. Cohn, Untersuch. über Bakterien, in Cohn, Beiträge, Breslau, 1895.

Schroeter, Pigmentbakterien, in Cohn, Beiträge, Heft II, S. 109.

Eidam in Cohn, Beiträge, Heft III, S. 208, Breslau 1875.

Koch, Unters. über die Ätiologie der Milzbrandkrankheit, in Cohn, Beiträge, Bd. II, Heft II.

J. Klein, Botan. Bakterienstudien I, Sep.-Abdr. aus dem Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Bd. VI.

De Bary, Vergleichende Morphol. u. Biol. der Pilze u. s. w., Leipzig, 1884.

L. Klein, Botan. Bakterienstudien, Sep.-Abdr. d. Ber. d. D. Bot. Ges., 1889.

Ders., Über einen neuen Typus der Sporenbildung bei den endosporenen Bakterien, Ber. d. D. Bot. Ges., 1889, Bd. VII.

Festlegung des jeweiligen Zustandes der Kultur dadurch gesichert, dass, von Tag zu Tag den auffälligen, sichtbaren Veränderungen folgend, Glasnadeln in die Gelatine eingetaucht und getrocknet werden. Kommt es darauf an, die mikroskopische Befundaufnahme von sechs zu sechs Stunden festzulegen, so werden von vornherein mehrere Glasnadeln, mit der Ursubstanz befeuchtet, in dem Gelatinecylinder versenkt, nach und nach in den gebotenen Zeitintervallen herausgeholt und untersucht. Je verdünnter die Kultur auf das Deckglas übertragen wird, um so deutlicher werden die mikroskopischen Bilder. Das nach dem langsamen Eintrocknen auf dem Objektträger entstandene sehr dünne Häutchen wird zur Hälfte mit der verdünnten Pigmentlösung bei 20—25° C. im Exsikkator eingetrocknet, so dann wird es mit einer kleinen Menge Glycerin eingeschlossen.

A. Koch-Gelatine auf dem Objektträger.

Zahlreiche Objektträger mit Glasschutzleisten liegen im sterilisirten Zustand bereit. Auf diese werden 15—18 mm-Deckgläser mit einem kleinen Tröpfchen Zellenkitt angeheftet. Von der bei 30—35° verflüssigten Gelatine werden kleinere oder grössere Tropfen in die Mitte des Deckglases übertragen. Mit dünnen oder dickeren Glasstäben oder Glasnadeln wird die Flüssigkeit der Ursubstanz in den Gelatinetropfen geimpft. Solche Objektträgerkulturen werden in Zinkblechbehältern eingesetzt und in das Thermostatentreibhaus gebracht. Die Feuchtkammern werden aus Zinkblechstreifen von der Breite der Objektträger zu parallelopipedischen Kästchen zurechtgebogen. Zwei Seiten am Behälter bleiben offen, eine Seite wird mit dem Deckel aus demselben Material geschlossen. Das Parallelopiped hat an einer Kante drei Durchbohrungen, dort ist ein Flanellstreifen mit Messingdraht angeheftet. Nachdem der Flanell mit Alkohol sterilisirt, der Behälter im Wasserbad getrocknet ist, wird der Flanell zuletzt vor dem Gebrauch der Kammer mit sterilisirtem Wasser befeuchtet.

Tischutkin, Die Rolle der Bakterien bei Veränderung der Eiweissstoffe auf den Blättern von *Pinguicula*, Ber. d. D. Bot. Ges., Bd. VII.

E. Chr. Hansen, Botan. Unters. über Essigsäurebakterien, Ber. d. Bot. Ges., Bd. XI, S. 69.

Chr. Bay, Eine neue Infektionsnadel für mykol. Studien, Ber. d. D. Bot. Ges. Bd. XII, S. 1.

B. Gewöhnliche Gelatine.

Aus der käuflichen, farblosen Gelatine werden mit dem Loch-eisen kreisrunde Plättchen geschlagen und in absolutem Alkohol aufbewahrt. Vor dem Gebrauch werden sie in einem Gemisch von Alkohol 1, Wasser 2—3 befeuchtet, im Wasserbad bei 25° getrocknet, mit sterilisirtem Wasser gesättigt und auf dem Objektträger befestigt. In diese Plättchen wird die Ursubstanz mit Glasnadeln eingepft. Die Platte wird in der Feuchtkammer in den Thermostaten gebracht.

C. Gelatine-Additionsplättchen.

Die käufliche Gelatine ist optisch nicht neutral, sie ist anisotrop und zeigt in den dünneren Plättchen im Polariskop die Interferenzen der ersten und zweiten Newtonschen Ordnung. Mit Leichtigkeit lassen sich reine Plättchen auswählen, welche in der Addition Blau II, in Subtraktionslage Gelb I zu Gypsrot I zeigen. Die Bestimmung der Elastizitätsachsen in solchen Plättchen würde indes immer noch mit diesen und jenen Langwierigkeiten verbunden sein, welche vollkommen gehoben sind, wenn man viele hundert 3—4 mm breite, 2—3 cm lange Streifen mit der Schere zurechtschneidet, diese mit Wasser sättigt und parallel ihrer Längsaxe zerrt, sodann auf Glasleistenobjektträgern trocknet. Unter 100 solcher Plättchen findet man 60—80, welche bei der Abmusterung im Polariskop sich als Additionsplättchen Blau II, Gelb I zu Gypsrot I erweisen. Diese werden als Kulturunterlage so behandelt, wie unter B angegeben ist. In solchen Plättchen liegt die Axe der grössten Elastizität parallel der Längskante, die Axe der grössten Dichte parallel der Breitenkante. Der Energie einer Bakterie, oder allgemein eines Mikrophyten, welcher in dieses Substrat geimpft und von dem gegebenen Angriffspunkt, Keimpunkt, aus in einer Sphäre (Kreis) dann zum Ausdruck kommen müsste, wenn das Substrat nach allen Richtungen um den Punkt homogen wäre, stehen also im Additionsplättchen zwei zu einander senkrechte Richtungen grössten und kleinsten Widerstandes gegenüber.

Bei sehr starken Vergrößerungen finden sich in den trockenen und halbtrockenen pastosen Plättchen sehr zierliche Sphärengelbilde, als einzige mit Immersionssystemen wahrnehmbare Trübungen der

Gelatinegrundmasse. Das erste Interesse ist der Umstand, dass diese Gebilde, welche sich nach ihrer Doppelbrechung als feinste Kristallausblühungen in der Gelatine erwiesen, einmal in der Mitte des Gelatinestreifens in sphärischer Form des Kristallkomplexes vorkommen, so in der Fig. 3, Taf. X, wo die Kristallisationszentren leicht zu erkennen sind. Zum andern kommen sie am Rande des gezerzten Gelatinestreifens in Streifen und Bändern vor, deren Längsaxe mit der Zugaxe in dem Gelatineadditionsplättchen zusammenfällt (Fig. 5, Taf. X). Auch hier ist in C ein Kristallisationszentrum leicht kenntlich. Das Gebilde, welches in Fig. 3 nach allen Richtungen der gegebenen Ebene fast gleichmässig ausgebildet, also kreisförmig, erscheint, ist in Fig. 5 von C aus polarisirt in dem Sinne, dass nur in der Richtung des kleinsten Widerstandes in der Gelatine Kristallfieder zur Ausbildung gelangen.

Man vergleiche Fig. 10, Taf. IX ss mit den Figuren 3 und 5. Zahlreiche tetramere und hexamere, kleinere Sphären liegen in derselben Platte, nicht gleichmässig verteilt, sondern in Längsstreifen (Fig. 10 und 11, Taf. IX), deren Axe mit der Zugaxe im Gelatineplättchen fast genau zusammenfällt. Auch diese Streifen sind in dem gleichen Sinne als polarisirt anzusehen, oder besser gesagt: „Eine Erscheinung der Polarisation ist das Auftreten kleinster Kristallzentren in Reihen, welche parallel der Axe grösster Elastizität im Substrat orientirt sind.“

Im November 1893 wurden die Kristallausblühungen der Kochschen Nährgelatine untersucht und ähnliche Gebilde, wie die vorstehend verzeichneten, genauer beobachtet und der optischen Analyse unterzogen. Nach dieser letzteren möge hier nun die Interpretation der vorliegenden Figuren folgen:

Die Fig. 3, Taf. 10 entspricht der Ausblühung eines in der gewöhnlichen, käuflichen Gelatine vorkommenden kristallisablen Körpers. Von einem Punkte aus schießen Kristalllamellen an, welche zum Teil gefiederte, zum Teil dichotome Lamellensysteme in einer und derselben Ebene, der Ebene des gezerzten Gelatineplättchens, ausbilden. Der Gesamtkomplex Fig. 3 liegt mehr in der Mitte des Gelatineplättchens, zeigt aber immerhin in den Sprossrichtungen des Pfeiles β , die Tendenz, in der Richtung der kleineren Dichte des Gelatineplättchens im Wachstum vorzueilen. Der Komplex der Fig. 5, Taf. X liegt näher am Rande des Gelatineplättchens und

zeigt alle Lamellen, die primären, wie auch die Kristallfieder, in der Zugaxe orientirt. Es sind namentlich die angepresst liegenden Fiederkristalllamellen in dieser Hinsicht von Interesse (Fig. 12, Taf. IX). In solchen Systemen findet man, scheinbar eingekapselt, winzige Kristallzentren, wie bei d, bei e Fig. 3 Taf. X — bei a, b, c u. s. f. Fig. 5, Taf. X, man findet Zentren mit Umhüllung, wie bei Fig. 4 a und b. Man findet solche in Ketten, welche nahezu mit ihrer Axe parallel der Zugaxe in der Gelatine orientirt sind, und endlich solche, welche frei (ohne kapselartige Umhüllung) in der Gelatine zerstreut liegen (Fig. 4, Taf. X).

Kontroverse über die Entwicklung.

Als richtige Voraussetzungen sollen gelten: 1) Die ungleiche Ausbildung um die Zentren, Fig. 3 und 5, ist Folge der nach 2 zu einander senkrechten Richtungen verschiedenen Dichte der Gelatine (Additionsplättchen Blau zu Gyps Rot I). 2) In gleicher Weise ist die Anordnung Fig. 12, Taf. IX hievon abhängig. 3) Die Kristallzentren Fig. 3 und 5 sind hervorgegangen aus kleineren Gebilden, wie sie in Fig. 5, Taf. X 1—9. Fig. 12 B, Taf. IX verzeichnet sind.

- | | |
|---|---|
| <p>a) Die Kristallisationszentren, wie sie bei d und e und vielleicht auch a c b der Fig. 3 und 5 als Endspassungen erscheinen oder an der Seite der Primärkristall-Lamellen angetroffen werden, waren vorhanden, als das System Fig. 3 und 5 sich von C aus entwickelte, so dass sie nur zufällig an die Orte zu liegen kamen durch Anschliessung und Umschliessung von seiten der heranwachsenden Kristalllamellen aus C.</p> | <p>b) Dieselben kleinen Zentren bei d und e Fig. 3, a b c Fig. 5 sind später entstanden, also wirkliche Seitensprosse im letzteren, Endspasse im ersteren Fall.</p> |
|---|---|

Nach a sind die Gebilde unterdrückte Energiezentren, welche nach der Umschliessung mit kleinerer Intensität wachsen. Nach b sind es die Zentren, welche nach der Entwicklung der Hauptsysteme

zur Anziehung gelangten, also wirkliche End- oder Seitensprosse. In beiden Fällen a und b ist die Stelle e Fig. 3, Taf. X als die Initiale zu dem ganzen System links an der Fig. 3 anzusehen.

D. Polarisations-Erscheinungen.

Sowie jene Kristallausblühungen feinsten Art sich polarisirt erweisen, ebenso verhalten sich die Gestalten der Kulturbeläge der Mikrophyten, welche absichtlich dem Substrat mit der Glasnadel eingepflegt wurden, oder zufällig angefliegen sind. Stimmen die Lagen der Axen in dem Bakterienkulturbelag Fig. 10 und 11, Taf. IX nicht vollkommen überein, herrschen Abweichungen von $10-15^{\circ}$ oder von 45° , so können diese ungezwungen auf den Umstand zurückgeführt werden, dass in dem Additionsplättchen eine absolute Gleichartigkeit der Dichte nach einer Richtung und der dazu senkrechten Ebene doch nicht so herrscht, wie in einem Gypsplättchen. Kulturen aus den Arthrosporen von *Penicillium*, *Eurotium* u. a. m. sind bei homogener Beschaffenheit des Substrates kreisförmig, Fig. 1, Taf. XVIII, in dem Additionsplättchen sind sie elliptisch. Fig. 10 und 11, Taf. IX. Diese Figur zeigt ausser den Kristallausblühungen sämtliche durch Bacillen eingezügte Figuren h. i. L. M. mit ihrer Längsaxe parallel der grössten Elastizitätsaxe im Additionsplättchen orientirt. Die Bakterien zeigen zur Nährgelatine, abgesehen von feineren chemischen Beziehungen, zunächst dieses Verhalten, sie verflüssigen dieselben, oder sie verflüssigen nicht. Sie wirken langsamer und rascher, je nach ihren spezifischen Unterschieden. Aber auch eine und dieselbe Bacillenspezies wirkt je nach ihrer Rassenenergie schwächer oder stärker, das heisst, sie verflüssigt rasch oder langsam in verschiedener Zeit. Das Gleiche gilt für die Kulturen solcher Bakterien auf gewöhnlicher Gelatine.

Was die ungleichartige Ausbildung nach zwei zu einander senkrechten Richtungen angeht, so beachte man zunächst die Kulturen Fig. 7 A und B, welche in Fig. 8, Taf. IX, in dem Additionsplättchen Blau II zu Gypsrot I zeigen die Ellipsenkulturen eines Hühnereibacillus. (Verschiebung um 45° der beiderseitigen Ellipsenaxen.) Das Substrat ist optisch nicht wesentlich verändert. In einem Pol und nur in diesem liegen die Bacillenausstrahlungen, Tochterkolonien, Tochterkulturen. Wirkt die Bakterienkultur auf gewöhnlicher Gelatine

oder auf Additionsplättchen verflüssigend, so ist leicht ersichtlich, dass das Gelatineplättchen an den betreffenden Orten auf Neutral (Gyps) Rot I herabgestimmt erscheinen muss. Oder kurz gesagt: „Eine Bakterienkultur, welche Gelatine verflüssigt, macht sich auf einem Gelatineplättchen Blau II, Gelb I (Newton) kenntlich durch eine rote Figur auf gelbem oder blauem Grunde, je nach der Subtraktions- oder Additionslage des Plättchens. So wirkten die Kulturen Fig. 8 und 9, Taf. IX nicht. Hier ist die Belagstelle optisch nicht verändert. Derselbe Impfstoff auf Additionsplättchen Fig. 2, Taf. X gebracht, zeigt zunächst Ellipsenkulturen, deren Axen fast genau zusammenfallen mit der grössten Elastizitätsaxe des Additionsplättchens; sie markieren ihre Wirkung aber auch durch Depression der Interferenz auf Gelb I mit neutralrotem Rand und durch Depression grösserer Partien der nicht von der Kultur direkt bedeckten Gelatinefläche (Fig. 2, 8, Taf. X). Die Interpretation des optischen Phänomens Fig. 8 lautet: „Auf einem Additionsplättchen Blau II wirken mehrere Bacillenstichimpfungen so, dass polarisierte elliptische Kulturen entstehen, welche die Elastizitätsachsen um 90° umlagern, so dass in der Richtung, in welcher vorher Zug herrschte, nunmehr Druck herrscht. Der Rand einer solchen Figur zeigt die Symptome des Verschwindens jeder Art von Spannung, er ist neutralrot, zeigt also das Symptom der Gelatineverflüssigung. Die merkwürdigste Erscheinung dieser Art wurde in dem Nachfolgenden möglichst genau niedergelegt.

Aus der Dottersubstanz eines faulen Hühnereies wurde eine Stichkultur in Koch-Gelatine hergestellt (am 13. Febr. 93), Fig. 1, Taf. IX. Nach fünf Tagen ergab die Kultur die in der Fig. 1 gezeichneten Übergänge, gelbgrüne Verflüssigung mit Sediment. Nach 19 Tagen (4. März) war die Gelatine auf 20 mm unter dem Meniscus verflüssigt. Mehrere Impfungen aus dieser Kultur auf gewöhnliche Gelatineplatten (am 2. März) ausgeführt, ergaben nach drei Tagen Kulturformen von abenteuerlicher Umgrenzung, wie Fig. 2, Taf. IX. Ein dichter Belag der Gelatine mit bogenlinigen Ausbuchtungen und zwei feinen Ausläufern; im Innern zahlreiche hyalinere Sphären. Unter den Platten dieser Art befand sich eine, in welcher eine nahezu breitelliptische Kultur die Gelatine verflüssigte (Fig. 3, Taf. IX). Sie fiel sofort auf durch scharf markirte konzentrische Schalen von wechselnder Dichte in dem Gelatinefestland, welches

die Zentrallagune umgab und durch Radialplatten wechselnder Dichte, welche von jenen konzentrischen Schalen, diese durchsetzend, 3 bis 4 mm weit in das Gelatinefestland ausstrahlen.

In der Fig. 5, Taf. XXII ist die Konfiguration jener Zeichnung Fig. 3, Taf. IX zum Kreis abgerundet. Der zentrale, schwarz angelegte Teil bedeutet die Lagune, von welcher Bacillenvölker radial ausstrahlen und die Gelatine in ihrer optischen Textur umsetzen, zersetzen. Die Gesamtgrundfläche der Fig. 5, Taf. XXII, welche rot angelegt ist, entspricht dem nicht ganz homogen elastischen Gelatineplättchen, auf welchem die Kultur befindlich ist. Dasselbe soll in der neutralen Lage zu dem unterliegenden Gypsblättchen Rot I aufgefasst sein. Es bedeuten dann die konzentrischen Ringzonen, welche in zentrifugaler Richtung unter dem Auge des Beobachters an Zahl zunehmen und ihre Interferenz verändern, konzentrische Schalen in der Gelatine, welche drei Systemen angehören. Im Innern bis zur Elastizitätsellipse E steht die Axe grösster Elastizität tangential. In dem mittleren Schalensystem, welches hier (man beachte den gelben Quadranten rechts unten) mit sechs Interferenzringen verzeichnet ist, steht die Axe der grössten Elastizität radial E, — und in der absoluten Grenzschicht wieder tangential E_„. Die in den äusseren Interferenzquadranten, entsprechend in Farbe, angelegten Strahlen sagen aus: Das ganze Gelatineplättchen, in einer Radialentfernung von 5—6 mm vom Lagunenzenrum, wird in seiner Elastizität, ausser der fortschreitenden Ringzonenbildung, noch in dem Sinne molekular verändert, dass es in Radialstreifen zerfällt, deren grösste Elastizitätsaxe parallel dem Strahle orientirt ist. Solche Platten und Streifen alterniren mit neutralen, und es setzen sich diese Strahlen in die Ringzonen fort, was in der Farbenfigur nicht zum Ausdruck gebracht werden sollte und konnte. Zur optischen Analyse beachte man die acht äusseren Ellipsenfiguren, in welchen die Elastizitätsellipse des festliegenden Gypsplättchens Rot I schraffirt, diejenige in dem äusseren Schalenkomplex weiss gelassen ist. In den inneren acht Ellipsenfiguren ist die Elastizitätsellipse des festliegenden Gypsplättchens weiss gelassen, diejenige der Schalenkomplexe schraffirt.

Da in dieser Figur das soeben hergestellte Additionsplättchen aus Gelatine a b in der angegebenen Lage additionell zu Rot I erscheint, so folgt, dass der Lagunenrand der Gelatine in dem inneren

Schalenkomplex in tangentialer Richtung expandirt, im äusseren Schalenkomplex in eben dieser Richtung komprimirt ist, wie aus der Verzeichnung der Elastizitätsellipsen in der Farbenfigur hervorgeht. Die radialen Interferenzen deuten, da sie die Quadranten durchsetzen und 3—4 mm weit in die sonst intakte Gelatine ausstrahlen, auf Molekularveränderungen in tangentialer Richtung. Das Gesamtbild des Phänomens lässt sich dementsprechend so definiren: „Die gesamte Randzone der Primär-Erosion zerfällt in zwei Schalen oder Ringzonen: die innere ist in zahlreiche dünnere, die äussere in wenige dickere Kreislamellen differenziert. Der gesamte Komplex der inneren Schalen zeigt wechselnde Ringzonen, neutrale und in tangentialer Richtung expandirte, da die Axe der grössten Elastizität tangential steht. Der gesamte Komplex der äusseren Schalen zeigt ebensolchen Wechsel von neutralen und in radialer Richtung expandirten Ringzonen, da in den gespannten die Axe der grössten Elastizität radial steht. Eine Umlagerung der Elastizitätsachsen findet mit dem Fortschreiten der Kultur (im Zeitraume von 12 Stunden $1\frac{1}{2}$ —2 mm des Durchmessers) nicht statt.

Die jeweilige innere gespannte Schale wird zuerst neutral und dann verflüssigt. Innerhalb 4—5 Stunden zeigt sich aber ein Fortrücken in der Umlagerung der Elastizitätsachsen, in den dünnen Lamellen, in zentrifugaler Richtung. So wurden um 8 Uhr drei innere Lamellen abgezählt, in welchen die Axe der grössten Elastizität, der vorstehenden Darlegung entsprechend, tangential steht. Nachmittags um 1 Uhr wurden solcher Kreislamellen 10 abgezählt und die Spaltung der Lamellen durch eine im Innern sich differenzirende Neutralzone deutlich nachgewiesen. Endlich zeigt die absolute mathematische Grenze des Ringes eine nochmalige Umlagerung der Additions- und Subtraktionsquadranten.

Der sicherste und durchschlagende Beweis für die Richtigkeit der vorstehenden Befundaufnahme liegt nun aber darin, dass in dieser letzten Randzone die Axe der grössten Elastizität genau so steht, wie in dem halbkugeligen Abdruck einer Stecknadel, welcher neben die Kultur in das Gelatineplättchen angebracht wurde. Aus alle diesem der Schlusssatz: Die Zentralkolonie von Bacillen wirkt auf eine Strecke von 3—4 mm in radialer Distanz voraus, ehe sie in diesen Tangentialsphären selbst korrodirt oder die Gelatine ver-

flüssigt. Die Wirkung besteht darin, dass sich die Axe der grössten Elastizität in der Gelatine in den Radius der Sphäre orientirt oder richtiger gesagt: Um die Lagune wird die Gelatine in molekularem Sinne in Radialplättchen differenzirt, in welchen die Axe der grössten Elastizität parallel dem Radius steht, diese wechseln ab mit eben-solchen Plattenstrahlen, welche neutral sind. Die Korrosion und, wenn man will, die Erosion vom Rand der Lagune besteht darin, dass die inneren Schalen mit tangentialer Stellung der grössten Elastizitäts-axe zuerst neutral und dann flüssig werden, dafür schreitet in der mittleren Sphäre die Umlagerung der Elastizitätsaxen und die Vermehrung der Tangentialschalen fort.

Der ganze Vorgang lässt sich vielleicht auch auf radiale Vorstösse eines beweglichen Bacillus zurückführen. Es lautet alsdann die Erklärung des Phänomens: Die Zentrallagune wirkt auf das intakte anliegende Gelatinesfestland, wie wenn ein Zug oder Druck in peripherer Richtung so umgesetzt wird, dass auf 4—6 mm Radius hinaus neutralrote (später flüssige) und subtraktionell gelbe, additionell blaue Radiallamellen von Gelatine, also feste Gelatineriffe entstehen, welche mit jenen neutralroten abwechseln. (Vergl. Abh. über die Bakterien der Nonnenraupe, Mündener Forstl. Hefte.) Unter allen Umständen liegt die Gewähr für die Richtigkeit der Interpretation, wenigstens der optischen Reaktion an sich, in dem Umstand, dass jene Radialdifferenzierung auch ohne polarisirtes Licht gesehen wurde. Der in der Fig. 3, Taf. IX niedergelegte Befund gab erst Veranlassung, das Phänomen im Polariskop zu analysiren. Rotirt man die ganze Platte bei gekreuzter Stellung der Nikols und über dem festliegenden Gypsplättchen Rot I, so verändert sich das Interferenzbild in den Farbenkreisen der Fig. 5, Taf. XXII nicht. Eine gegebene Radiallamelle derselben Figur aber geht hierbei von + Blau nach Neutralrot, nach — Gelb u. s. f. über. Der letzte Versuch, das Verhalten der Kulturfigur zu erklären, liegt ganz in der Molekularphysik und hat seinen Beginn in dieser Hypothese: Die Bakterien der Zentrallagune Fig. 5, Taf. XXII bilden Zersetzungsprodukte, welche der instakten Gelatine des umliegenden Festlandes Wasser entziehen, oder umgekehrt die schon im gegebenen Zustand wassergesättigte Gelatine molekular so umlagern, dass ihre Kapazität für Wasser gleich unendlich wird, weil nach der Befundaufnahme die Lagune an Umfang wächst, dadurch, dass die inneren Kreisriffe flüssig werden, nachdem sie optisch neutral (Rot) erschienen waren.

III. Methode der Fraktionirung durch die Wärme.

Keimdauer aufgetrockneter Kulturen.¹⁾

Ehe überhaupt bei einer gegebenen Mischung von Bakterien zum Fraktioniren mit Hilfe der Methoden von Nägeli-Brefeld-Lister geschritten wird, kann fraktionirt werden, indem man die Materie der Stichkultur auf Glasnadeln aufdrocknet und längere Zeit, Wochen, Monate u. s. w. im Exsikkator in mit Watte verstopften Reagensgläsern aufbewahrt. Dieser Weg ist der längere und unsichere. Direkte Erwärmung der sehr stark mit Wasser verdünnten Ursubstanz im Reagenscylinder (im Sinn des Fraktionirens) auf 30°, 50°, 60—70°, 90—95° C. für Zeiträume von 30, 60, 90, 120 Minuten ist der direkte Weg, nachdem an mikroskopischen Präparaten der Befund festgestellt ist, dass die gegebene Ursubstanz mehrere, oder wie das Rhein- und Weserwasser, viele Bakterienspezies im Keimzustand enthält. Vor dem Beginn der nachfolgenden Untersuchungen lagen in meiner Hand 20 verschiedene Kulturen auf Glasnadeln aufgetrocknet. Es waren dies zum Teil Reinkulturen aus den Leichen der Nonnenraupen, zum Teil Mischkulturen, welche aus verschiedenen Wässern hergestellt waren.

Diese 20 zu verschiedener Zeit aufgetrockneten Bakterienkulturen wurden in Reagenscylindern trocken erwärmt, bei drei verschiedenen Temperaturen, je eine Stunde lang. Nach jedem Versuch wurde von jeder Nadel ein 2—5 mm langes Stückchen abgebrochen und in einen Tropfen Nährgelatine auf dem Objektträger geimpft. Zusammen liegen somit 60 Kulturen als Differenzen vor; da jede der 20 Kulturen verschieden lang auf den Nadeln im auf-

¹⁾ Litteratur:

Zopf, Methodik der Bakterienforschung, l. c. S. 25, S. 43 ff.

Hüppe, Meth. d. Bakterienforschung, l. c. S. 191 ff.

Migcula, l. c. S. 70 ff.

Baumgarten, l. c. S. 311 ff.

Hüppe, Die Formen der Bakterien, l. c. S. 24, 62, 75 ff.

Die Lister-Nägelsche Methode des Fraktionirens, Zopf, l. c. S. 45.

Die Brefeldsche Methode des Fraktionirens, Zopf, l. c. S. 45.

Die Kochsche Gelatinekultur, De Bary, l. c. S. 32 ff.

getrockneten Zustand im Exsikkator ruhte, so liegen in der Parallelversuchsreihe für die Energie in deren Abhängigkeit von Alter, des Kontagiums und ausgestandener Temperatur 1200 Differenzen vor, von welchen indes nur ein kleiner Teil erfüllt zu sein braucht.

I. Temperaturenreihe (Samstag, den 20. Januar):

12°	52° C.	12° 40'	48° C.
12° 20'	43° "	12° 50'	56° "
12° 30'	43° "	1°	58° "

ergiebt als Temperaturmittel 50° C. und die Temperatursumme 3000°.

II. Temperaturenreihe:

2° 40'	45° C.	3° 24'	74° C.
2° 50'	65° "	3° 30'	70° "
3° 00'	68° "	3° 40'	70° "
3° 10'	64° "	3° 50'	72° "
3° 20'	70° "	4° 00'	65° "

ergiebt als Temperaturmittel 67,2° C. und die Temperatursumme 7032°.

III. Temperaturenreihe:

4° 25'	96° C.	5° 00'	97° C.
4° 40'	97° "	5° 10'	97° "
4° 50'	97° "	5° 25'	97° "

ergiebt als Temperaturmittel 97° C. und die Temperatursumme 13852°.

Verzeichnis der Kulturen auf Glasnadeln.

	Kultur- ordnung Nro.	auf die Nadel	Zahl der Tage v. d. Ursubstanz	Zahl der Tage auf der Nadel	Deszen- denz
1. Bacillus I. St. monachae	89	23. Juni 93	360	213	12
2. Bacillus II. St. monachae	84	" " "	334	213	3
3. Bacillus 54 (8) monachae	105	24. Juni 93	360	212	3—6
4. Hofmann (Tub.) Bacillus monachae	126	" " "	unbekannt	212	unbek.
5. Bacterium monach.	127	" " "	"	212	"
6. Bacillus C. 106 (8) (weisser Belag)	106	" " "	360	212	3
7. Bacillus C. 112 (8) (gelber Belag)	112	" " "	360	212	6
8. Bacillus Hofmann .	123	" " "	unbekannt	212	unbek.
9. Bacillus faules Ei .	Dez. 93	Dez. 93	40—50	30—40	1
10. Flacherie-Raupe .	155	Okt. 93	145	90	1
11. Bach Vogelsang, Münden	Jan. 94	E. Dez. 93	40	35	1
12. Fuldawasser . . .	" "	" " "	40	35	1
13. Rhein oberh. Mann- heim	" "	6. Jan. 94	26	14	1
14. Bacill. (grünschill.) Rhein, Mannheim .	" "	13. " 94	26	7	1
15. Pumpe (Münden) .	" "	E. Dez. 94	40	35	1
16. Micrococcus (Feuer- teich)	" "	Jan. 94	12	10	1
17. Neckar, Heidelberg	" "	" "	26	10	1
18. Heidelberg, Wasser- leitung	" "	" "	26	10	1
19. Pumpe, Mannheim.	" "	" "	26	10	1
20. Salzbach, Wies- baden	" "	" "	26	10	1

Unter Deszendenz ist hier verstanden die Zahl der Übertragungen von der ersten nach der zweiten Stickskultur u. s. f. in Nährgelatine.

Kult.- Ordn. Nro.	Serie 1—20 Temperatur 50° C. nach 22 Stunden	Serie 1 a—20 a Temperatur 67,32° C. nach 19 Stunden	Serie 1 b—20 b Temperatur 97° C. nach 18 Stunden
1.	verunglückt.	Trübung.	schwach oder unentschieden.
2.	Trübung u. schwache Werbung der Gelatine	schwache Trübung.	do.
3.	Bläschen u. Vakuolen	schwache Vakuolen.	schwache Vakuolen- bildung.
4.	0 oder unentschieden	unentschieden oder 0.	unentschieden.
5.	schwache Vakuolen.	do.	do.
6.	unentschieden.	do.	schwache Vakuolen.
7.	schwache Vakuolen.	schwache Trübung.	Trübung.
8.	unentschieden.	unentschieden oder 0.	unentschieden.
9.	entschieden Wolken.	entschieden grosse Sphäre.	starke Trübung.
10.	am Scheitel grosse Vakuole.	schwache Vakuole.	schwache Trübung.
11.	kleine Vakuole und Kolonie.	entschieden grosse trübe Sphäre.	merkliche Trübung.
12.	kleine Kolonie.	unentschieden.	unentschieden.
13.	do.	do.	do.
14.	do.	entschieden Streifen	merkliche Trübung.
15.	do.	entschieden kleine Kolonien.	do.
16.	0 oder unentschieden.	unentschieden.	unentschieden.
17.	kleine Kolonie.	Vakuolen und Kolonien	do.
18.	unentschieden.	unentschieden.	do.
19.	Anflug und Vakuolen.	unentschiedene Va- kuolen.	starke Vakuolen.
20.	0 oder unentschieden.	Vakuole und Verflü- sigung.	unentschieden.

Kult.- Ordn. Nro.	Serie 1—20 Temperatur 50° C. nach 42 Stunden	Serie 1 a—20 a Temperatur 67° C. nach 40 Stunden	Serie 1 b—20 b Temperatur 97° C. nach 39 Stunden
1.	verunglückte bei der ersten Abmusterung.	geringe Trübung und Verflüssigung.	Wirkung gleich 0.
2.	Gelatine geworfen, schwache Kultur.	Vakuolen und geringe Trübung.	do.
3.	unentschieden oder 0.	do.	do.
4.	Gelatine klar, unent- schieden oder 0.	do.	do.
5.	do.	do.	do.
6.	do.	do.	schwache Vakuole = 0.
7.	schwache Trübung.	do.	Wirkung = 0.
8.	do.	starke Trübung.	do.
9.	starke Trübung.	grosse Kultur.	grosse Kulturenergie.
10.	Kultur deutlich.	unentschieden.	deutliche Kultur.
11.	do.	grosse Kultur.	schwache Trübung.
12.	do.	unentschieden.	unentschieden oder 0.
13.	do.	do.	Wirkung gleich 0.
14.	do.	grosse Kulturenergie.	deutliche Wirkung.
15.	do.	do.	do.
16.	unentschieden.	schwach oder unent- schieden.	unentschieden.
17.	Kultur deutlich.	unentschieden oder 0.	Wirkung = 0.
18.	unentschieden.	do.	do.
19.	Kultur deutlich, grosse Energie.	do.	do.
20.	do.	do.	do.

Kult.- Ordn. Nro.	Serie 1—20 Temperatur 50° C. nach 71 Stunden	Serie 1 a—20 a Temperatur 67° nach 70 Stunden	Serie 1 b—20 b Temperatur 97° C. nach 69 Stunden
1.		Leiseste Trübung, unentschieden.	unentschieden = 0.
2.	Gelatine geworfen mit Trübung.	do.	do.
3.	Wirkung = 0.	do.	do.
4.	do.	do.	do.
5.	do.	do.	do.
6.	do.	do.	do.
7.	do.	do.	do.
8.	do.	do.	do.
9.	Deutliche Kultur.	Deutliche Kultur.	Deutliche Kultur.
10.	do.	Wirkung 0.	unentschieden = 0.
11.	Deutliche Kultur, grün-schillernd.	Deutliche Kultur, grün-schillernd.	do.
12.	Deutliche Kultur, nicht grün-schillernd.	schwach, unentschie- den = 0.	do.
13.	do.	do.	do.
14.	do.	Deutliche Kultur.	Deutl. Kultur, flüssig.
15.	do.	do.	do.
16.	eine einzige kleine Kolonie.	zwei deutliche kleine Kulturen.	unentschieden = 0.
17.	Deutliche Kultur.	schwach, unentschie- den = 0.	do.
18.	unentschieden oder 0.	do.	do.
19.	Deutliche Kultur.	do.	do.
20.	do.	do.	do.

1) Den höchsten Temperaturgrad 97° C. (zusammen in 300 Minuten die Temperatursumme von 12840° C. als Produkt aus der Zeit in die Temperatur) haben nur diejenigen Kulturen ertragen, welche im Dezember 1893, etwa 26 Tage vor dem Versuch, hergestellt waren aus den Ursubstanzen: a) Faules Hühnerei. b) Bacillus aus

einer grünschillernden Kultur von Rheinwasser oberhalb Mannheim.
c) Bacillus eines Pumpwassers (Pumpe, Vogelsang Münden; hiezu Fig. 14—18, Taf. XVII und die Figurenerklärung.)

2) Den zweithöchsten Temperaturgrad 67° C. (zusammen eine Stunde 50° C., eine Stunde 67° C., die Temperatursumme von 7020° C.) haben unter 20 nur 5 Kulturen ertragen, sämtlich im Dezember 1893, gegen 26 Tage vor dem Versuch aus den Ursubstanzen hergestellt; darunter der Bacillus (Faules Hühnerei). Die übrigen sind die Wässer verschiedener Herkunft. Ausgeblieben sind sämtliche Leichenbacillen aus Raupen, welche im Juni-August (180 bis 210 Tage vor dem Versuch) auf Glasnadeln getrocknet wurden. Von den Wasserkulturen aus dem Dezember 1893 ist nur eine ausgeblieben, die Heidelberger Wasserleitung, deren Energie auch bei gewöhnlicher Temperatur ausserordentlich klein war. (Die Kultur enthält bewegliche dreigliedrige Bacillen (Vibrio?); (hiezu Fig. 10—13, Taf. XVI.)

3) Bei dem niedersten Temperaturgrad 50° C. (Temperatursumme 3000° C.) sind alle Raupenbakterien aus dem Jahre 1893 (s. oben) und jene schwache Kultur Heidelberger Wasserleitung ausgeblieben. Alle aus dem Dezember 1893 (26 Tage) sind angekommen, zum Teil mit grosser Energie. (Hiezu Fig. 4—13, Taf. XVII.)

4) Bemisst man die Energie nicht allein in dem Enderfolg, (s. Abteilung III) der Aufnahmen, sondern auch in der Raschheit, mit welcher die Kulturen nach dem Impftermin angehen, so ergibt sich für die erwärmten Kulturen eine Verzögerung um 20—30 Stunden, bezogen auf die Zeit des Enderfolgs, (72 Stunden bei der Temperatur von 18 — 21° C.) gegenüber den bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrten Kulturen. Dieses gilt auch für alle diejenigen, welche nur den niedersten Temperaturgrad von 50° C. ertrugen.

5) Aus dem Umstand, dass auch bei solchen Kulturen, welche schliesslich nicht angingen, frühzeitig nach 20—24 Stunden, gewisse Symptome eintraten, welche nach mehreren Tagen ausblieben, kann auf lösliche Fermentkörper in der Gelatine der aufgetrockneten Kulturen geschlossen werden, welche dann noch leise wirksam sind, wenn die Bakterien selbst als abgestorben angesehen werden müssen. Solche Symptome sind leise Trübungen und Vakuolenbildung in dem neuen Substrat, welche nach einiger Zeit verschwinden.

Die drei Kulturen, welche den höchsten Temperaturgrad er-

trugen, wurden am 5. Februar 1894, 2 Stunden lang bei 97° C. erwärmt, sie haben jetzt die Minutentemperatursumme 24480° C.; sie wurden am gleichen Tag in Tropfen von Koch-Gelatine geimpft bei 20° C. kultiviert. Sonntag, 5. Februar. Nach 48 Stunden zeigte keine der Impfungen ausser der Trübung, welche durch das teilweise Auflösen der an der Nadel befindlichen Impfmasse bedingt ist, eine sonst charakteristische Kulturbildung.

Da nach unserer Voraussetzung in einem sehr verdünnten Gemisch von Bakterien und deren Keimen, wie es im Wasser eines Stromes (Rhein, Weser u. s. f.) vorliegt, durch die Temperatur 50° , welche gegebenen Falles mit 40, 50, 60 Minuten zur Wirkung kommt, gewisse Arten ihre Keimkraft verlieren, andere nicht, so kann diese Methode der Fraktionirung offenbar, sowohl für den trockenen Zustand mit wenigen Temperaturen oder selbst nur einer einzigen angewandt werden, indem man die Zeit variabel nimmt. Auch für verdünnte flüssige Gemische verschiedener Bakterien werden Temperaturen von 20° , 30° , 35° sicher erfolgreich sein. Für die vorliegenden drei Parallelreihen ergaben sich, in Hinsicht auf Keimdauer und ausgestandener Temperatur, noch diese beachtenswerten Unterschiede:

A. Reinkulturen.

1) Alle Kulturen der Nonnenraupenbakterien, welche vor 360 Tagen eingeleitet waren, trocken auf der Nadel lagen während 212 Tagen und Deszendenzgrade der Impfung von 3, 3—6 und 12 aufweisen, haben die Temperatursumme 3000° C. (50° C.) nicht ertragen.

2) Hiezu im Gegensatz hat der *Bacillus monachae* (Münden) Nr. 10 des Verzeichnisses S. 20 oben, mit 145 Tagen als Zeitentfernung von der Impfung der Ursubstanz, 90 Tage trocken auf der Nadel, dieselbe Temperatursumme ertragen. Fig. 5, Taf. XVII zeigt eine wolkig wellige Trübung um das Glasstäbchen, welche gegen die klare Gelatine scharf abgegrenzt ist.

3) Die Kultur eines *Bacillus* aus faulem Hühnerei mit 40 bis 50 Tagen nach der Impfung, 30—40 Tage trocken auf der Nadel, aber Deszendenz ersten Grades, hat alle Temperaturen 50° , 67° , 97° , zusammen die Summe von 12852 Minuten Celsiusgraden ertragen. Fig. 4 Taf. XVII, Fig. 13 Taf. XVI, Fig. 14 Taf. XVII zeigen fast gleiche dichtere und mehr hyaline Beläge, in der Fig. 14, Taf. XVII eine intensive Entwicklung.

B. Mischkulturen.

4) Die Mischkultur (1 Deszendenzgrades) Bach Vogelsang, Münden, mit 40 Tagen seit der Impfung, 35 Tagen trocken auf der Nadel, hat 2 Temperaturgrade ertragen 50° C., 67° C., und bringt nach dem ersten Temperaturgrad, 50° C., den *Bacillus liquefaciens fluorescens* Fig. 6, Taf. XVII. Dieser *Bacillus* ist mit der zweiten Temperatur ausgeblieben Fig. 12, Taf. XVI. Hier liegen neben den Wolkenbelagen scharfbegrenzte Kugelzoogloen. Die höchste Temperatur wurde überhaupt nicht mehr ertragen.

5) Von 10 Mischkulturen verschiedenster Wässer: Pumpe, Bach, Rhein, Fulda, Neckar, Teich (Feuerteich, Münden) haben nur drei: Rhein, Pumpe (Vogelsang, Münden), Feuerteich, Münden den höchsten Temperaturgrad (97°) ertragen. Der grünschillernde *Bacillus* aus dem Rhein hat 26 Tage nach der Stichkultur und 7 Tage trocken auf der Nadel; das Pumpwasser die entsprechenden Zeitintervalle 40 und 35 Tage; der Feuerteich 12 und 10 Tage. Von denselben 10 Mischkulturen haben den zweithöchsten Temperaturgrad 67° C. ertragen: Feuerteich 12 und 10 Tage, Pumpe Münden 40 und 35 Tage, Bach Vogelsang, Münden, 40 und 35 Tage.

6) Den niedersten Temperaturgrad 50° C. haben alle Mischkulturen der Wässer ertragen. Fig. 4—13, Taf. XVII.

IV. Methode der Fraktionierung durch Alkoholzusatz.¹⁾

Als Untersuchungsmaterial wurde das Wasser einer Pumpe in Münden benutzt, dessen Bakterien durch mikroskopische Probe und dessen Zoogloea und Belagformen auf Nährgelatine vorher genau untersucht waren. Es handelte sich hier zunächst um die Frage, welcher Alkoholgehalt wird von den Bakterien, in dem gegebenen Wasser überhaupt ertragen. Das gegebene Wasser wird mit gradatim gesteigerten Alkoholmengen versehen. Aus den Gemischen wird mit einer Glasnadel in die erkalteten Tropfen von Nährgelatine auf dem

¹⁾ Litteratur:

Wasserbewohnende Spaltpilze: De Bary, l. c. S. 58. — Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Bd. 1, S. 108 ff. — Zopf, l. c. S. 95 ff.

Untersuchung des Wassers: Hüppe, Methoden der Bakterienforschung, l. c. S. 455 ff.

Objekträger geimpft. Die so eingeleiteten Kulturen werden in geeigneten kleinen Feuchtkammern in den Thermostaten gebracht. Die Sphären, Zoogloen können in solchen Objekträgerkulturen im Impfpunkt entstehen oder in weiterer Entfernung von diesem, wenn sich die geringe kleine Wassermenge auf dem Gelatinetropfen ausbreitet.

Parallelkulturreihen, gradweiser Alkoholzusatz.

(Hiezu Fig. 19, 20, Taf. XVII, Fig. 2—15, Taf. XVIII.)

Erste Versuchsreihe.

Am 21. Januar 1894 wurde in 10 Reagenzgläser je 14,5 ccm Wasser gegeben, gradatim vom ersten zum zehnten Alkohol aus dem Tropfglas, in das erste ein, in das zehnte zehn Tropfen. Alle Gläser wurden herzhaft geschüttelt. Nach zwölf Stunden wurde geimpft in Tropfen von Nährgelatine auf dem Objekträger (Sonntag, 21. Jan.).

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
Montag nach 24 Std. 9 Uhr vorm.	0 oder unentschied.	kleine Sphären im Stich	unentschieden	0 od. unentschieden		0 oder unentsch.				
Montag nach 35 Std. 8 Uhr abends	Sphaeroïde			sehr kleine Sphaeroïde						
Dienstag nach 47 St. 8 ^o 30'	Grössere und mehr — Sphaeroïde — kleinere und weniger									

Am Dienstag um 1 Uhr nachmittags war die Verteilung der Sphaeroïde die nachfolgende:

Nro.	Verhältnis von Alkohol : Wasser	Sphaeroïde im Impfpunkt	Sphaeroïde ausserhalb des Impfpunktes
1	1 : 435	verunglückt	verunglückt
2	1 : 217	20	10—15
3	1 : 145	20—30	20—30 grössere Kol.
4	1 : 109	1	0
5	1 : 87	0	0
6	1 : 72	7	0
7	1 : 62	4—6	0
8	1 : 54	6—10	3—4
9	1 : 48	0	1
10	1 : 43	0	2

Hieraus geht hervor, dass die Grenze mit 1 : 48 bis 1 : 43 nicht ganz unzweideutig erreicht ist. Es muss also noch mehr Alkohol angewendet werden.

Zooglöen der ersten Versuchsreihe.¹⁾

Ausser der grösseren Belagstelle Fig. 15, Taf. XVIII, welche dem Gemisch Alkohol 1 : Wasser 54 entspricht, treten in dieser Reihe drei der Form nach unterschiedene Zooglöen auf: Lichtere aber scharfbegrenzte Kugeln Fig. 13, Taf. XVIII entsprechen dem Gemisch 1 : 72, ebenso Fig. 14, Taf. XVIII entsprechen dem Gemisch 1 : 62; dichtere scharfbegrenzte Kugeln Fig. 11 a, Taf. XVIII dem Gemisch 1 : 217 entsprechend; granulierte, radialgestreifte und mit konzentrischer Kreisgranulierung versehene Scheiben Fig. 11 c' und Fig. 13 a, Taf. XVIII. Unregelmässig begrenzte wolkig granulierte, grosse und kleine Anhäufungen Fig. 12, Taf. XVIII, welche dem Gemisch 1 : 145 entsprechen.

Zweite Versuchsreihe. (Fig. 19 und 20, Taf. XVII.)

Hier wurden am Donnerstag den 25. Januar 1894 in fünf Gläsern (5, 10, 15, 20, 25 Tropfen Alkohol) gradatim die Mischungen hergestellt.

Alkohol : Wasser	Erfolg nach 96 Stunden
1) 1 : 80,7	0, Gelatine vollkommen klar
2) 1 : 43,5	do.
3) 1 : 29	deutliche Kultur
4) 1 : 21	do.
5) 1 : 17	keine Wirkung

¹⁾ Litteratur:

Das vegetative Verhalten und die Ernährung der Bakterien: F. Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Bd. I, S. 127, 141, 146, 208 ff. — De Bary, l. c. S. 7 ff. — Zopf, l. c. S. 4, 25 ff. — Migula, l. c. S. 42 ff. — Hüppe, Die Formen der Bakterien, S. 2, 7 ff. Die Kontroverse über die Spezieskonstanz, S. 24, 41 ff.

Die Zooglöen und Belagformen der Bakterien: Cohn, l. c. S. 142. — Hüppe, Die Formen der Bakterien, l. c. S. 75. — De Bary, l. c., Vorles. über Bakt., S. 10 ff. — Migula, l. c. S. 80 ff. — Hüppe, Methodik der Bakt.-Forschg., Taf. I, S. 331. — Metzger und Müller, Mündener forstliche Hefte, 1. Beiheft, S. 126 ff.; Pigmentbakterien, S. 129 ff.

- kleinen Kettensphären (kombinierte Zooglöen durch Apposition oder endogene Entwicklung).
- Fig. 4 1:29 Einfache Sphärenzooglöen in Ketten, Drillingen und Tetraden.
- Fig. 5 1:21 Drei Formen: homogene Sphäre am Rande gewimpert B; scharfbegrenzte Kugel mit gewimperter Kernzone c; kombinierte Zooglöa mit drei gegenseitig im Verbinde abgeplatteten Sphären A ohne Wimperkranz, kombiniert mit einer gewimperten Sphäre B.
- Fig. 6 1:16 Zwei Formen: Sphäre mit vier dichtern Einschlusskugeln; Kettensphären, zwei an den Ecken mit Einschlusskugeln, die mittlere frei.
- Fig. 7 1:10 Die Gruppe scharfumschriebener Zooglöen darf vielleicht in diesem Sinne interpretiert werden: Sie entspricht einer Sprosszooglöa, die mit 1,1 bezeichneten dunkleren, dichten Kugeln waren ursprünglich Zwillinge. Aus ihnen gingen hervor 2,2, welche im gegebenen Zeitpunkt die hyalinen Sprosse 3,3 hervorbringen 4. 4,4 davon eine an 2, die 4. Generation.

Vierte Versuchsreihe. (Fig. 9, Taf. XVIII.)

Am Sonntag, den 5. Februar wurden die Gemenge 1:14, 1:9, 1:7, 1:5,6—, 1:4,66—, 1:4—, 1:3,5 geimpft wie vorher. Nach 36 Stunden bei 25° C. zeigte nur die Mischung 1:14 die früher abgebildeten Sphärenkolonien. Alle übrigen Gelatinetropfen waren intakt. Die Grenze liegt also bei 1:9 bis 1:10. Nach 48 Stunden zeigten nur die ersten beiden Mischungen die beschriebenen Sphärenkulturen, alle übrigen waren intakt. Die Grenze liegt also in der Nähe von $\frac{1}{7}$ — $\frac{1}{9}$. Eine nochmalige genaue Untersuchung solcher Sphären bei HO₂ S J VIII s. Taf. XVIII, Fig. 9 ergibt für die allerersten Anfänge: a, b, c, Fig. 10, Taf. XVIII hyaline Sphären, in welchen auch die Immersion die Bakterien nicht auflöst. In den späteren Phasen d bis k Ausbrüche oder Teilungen der Sphären von verschiedener Dichte.

Aus diesen Zuständen wurde mit einer Glasnadel eine Probe auf einem neuen Objektträger mit Wasser verdünnt und eingeschlossen. Fig. 8, Taf. XVIII ergibt den Befund bei S J VIII HO₂. Bazillen mit Kokkenbildung bei a, b und zwei höhere Spaltalgen bei d und e.

Die Grenze für die Sistrung von Kulturen, welche für die Methode der Fraktionirung bei Wasser der Quellen, Sümpfe, Bäche, Flüsse u. s. f. in Anwendung kommen soll, wird demnach zu Alkohol 1 Wasser 6 zu bemessen sein.

V. Methode der Objektträgerkultur in Nährgelatine. Fraktioniren mit Hilfe der Glasnadel.

A. Leichenpartikel und Gesteinstrümmer.¹⁾

Holzsplitter im stagnirenden Wasser, verwesende Blätter können mit der Schere und dem Messer in scharfumbeschriebene Abschnitte zerlegt werden. Diese entwickeln, in den Tropfen von Nährgelatine geschoben, nach 12—24 Stunden in einer Zinkblechfruchtammer mehr oder weniger charakteristische Kulturen, welche in Klatschpräparaten auf Bakterien untersucht werden können. Die Partikel können auch vorher mit grösseren oder kleineren Mengen sterilisirten Wassers mazerirt werden, so dass erst dieser Auszug zur Verwendung kommt. Die dritte derartigen Methoden zerlegt Gemische, wenn auch zuerst nicht rein in sterilisirtem Filtrierpapier. Die bakterienhaltige Flüssigkeit wird auf einen Punkt des Filtrierpapiers getropft, der entstandene Saugkreis im Papier wird getrocknet, sodann im Scheibenringe zerlegt, die vom Tropfzentrum aufeinanderfolgenden Ringzonen im Papier enthalten die Bakterienarten, wenn zunächst nicht absolut rein, fraktionirt, die Papierschnitzel der Ringe werden von neuem mazerirt. Die so erhaltenen Auszüge werden geimpft.

a) Feste Partikel direkt geimpft. (Fig. 1—3, Tafel XX.)

Drei feste Holzsplitterchen aus einer Röhre der Pumpe (Vogelsang, Münden) in Tropfen von Nährgelatine eingeschoben, Fig. 1 A B C, ergeben, bei 16° C., nach drei Tagen, drei differente Kulturen:

¹⁾ Litteratur:

Gärung, Zersetzung durch Bakterien: De Bary, l. c. S. 51, 85 ff. — Migula, l. c. S. 165 ff. — Zopf, l. c., Eine vollständige Zusammenstellung der Litteratur bis 1885, S. 111 ff, *ibid.* S. 29 ff.

Die Sporenbildung und Keimung der Bakterien: F. Cohn, l. c. Bd. I, S. 127 ff. — De Bary, l. c. S. 12, Endospore und Arthrospore. — Zopf, l. c. S. 18, Sporenbildung. — Migula, l. c. S. 42.

A. Um den Splitter S eine dichter granulirte Zone mit rückwärts fiedrig gestellten, dichteren Belagstreifen, eine hyaline Zone, c, umgibt jene, bei d ein Kugelzooglöa. Die Übertragung minimaler Mengen mit Hilfe einer feinsten Glasnadel und der Präparierlupe, ergibt nach 22 Stunden (16 ° C.) in A Fig. 3 ein fein warzig hyaline Belagzone mit zahlreichen kleinen hyalinen Kugelzooglöen (derivirte Zooglöa). Die mikroskopische Probe aus A Fig. 1 ergibt einen beweglichen, zweigliederigen Bacillus. Seine Bewegung ist undulirend, mit den Pfeilen links und rechts senkrecht zu seiner Axe und fortschreitend mit dem mittleren Pfeil. Fig. 2 A, Taf. XX.

B. Fig. 1, Taf. XX zeigt in der ersten Kultur einen dichteren, homogenen, irisirenden, im durchfallenden Lichte braun erscheinenden, zierlich fächerig, bogenlinig begrenzten, am Rande radialgestreiften Belag. Dicht bei diesem liegen scharfbegrenzte Kegelzooglöen bei a. Das Ganze ist eingehüllt in eine hyaline Zone und verunreinigt durch keimende Gliedersporen eines Schimmelpilzes.

Der derivirte Kulturbelag, B. Fig. 3, Taf. XX ergibt eine elliptische Kultur, welche von einem Pol parenchymartige Zoogloen am anderen Pol und in der Nähe zahlreiche Systeme vielgliedriger, kleiner Zoogloen im Parenchymverband aufweist. Die mikroskopische Probe aus Fig. 1 B, Taf. XX zeigt mehrgliedrige Bazillen in Spiralforn mit Kurzstäbchen und Arthrosporen (Kokken) Fig. 2 B, Taf. XX.

C. Fig. 1, Taf. XX. Der Holzsplitter zeigt zahlreiche dichtere Belagstreifen, welche in Mäander geordnet sind. Dieses System ist von einer hyalinen Zone umgeben. Die derivirte Kultur Fig. 3 C, Taf. XX zeigt ähnliche Mäandersysteme in lichter Grundmasse. Die mikroskopische Probe Fig. 2 C, Taf. XX ergibt vorherrschend die viel und langgliedrigen, breiten Fäden mit wenig kurzgliedrigen von Crenothrix und feingliedrige Bacillen. Die Methode zeigt somit die Möglichkeit an, wie zunächst die gröbere Isolirung von drei differenten Arten in kleinsten Bruchstückchen verwesender Substanzen eingeleitet werden kann und sie weist darauf hin, dass in solchen Partikeln, sich eine Artenverarmung der Zahl nach vollzogen hat. (Vergl. weiter unten unter Partikel aus dem Rheinstrom.)

b) Verwesende Teile einer Runkelrübe.

(Fig. 12—22, Taf. XXVII, Fig. 1 und 2, Taf. XXVIII.)

Die Ursubstanz der verwesenden Betapflanze, wie sie aus einer der Erdgruben entnommen wurde, in welchen die Landwirte in Süddeutschland die Runkelrübe zu überwintern pflegen, liess sich von vornherein in drei Teile zerlegen:

I. Die verwesende, breiige Parenchymmasse der Rübe.

Der Auszug in Nährgelatine geimpft, ergibt nach 24 Stunden (16° C.) eine kreisförmige Kultur, deren Mittelfeld gleichmässig granuliert ist. Der Rand, scharf begrenzt, ist ein hyaliner Ring, Fig. 12, Taf. XXVII. Nach 48 Stunden zeigt dieser Belag in dem Kreissektor Fig. 1, Taf. XXVIII einen glatten oder schwach bucktigen Rand mit hyaliner Randzone. Auf diese folgt eine dichter granulirte Ringzone und das homogene, lichtere Mittelfeld. Die mikroskopische Probe ergibt vorherrschend *Hormiscium* in der Sprossform (Sprosshefe) und *Micrococcus* in Ketten Fig. 2, Taf. XXVIII.

II. Die Schale derselben Runkelrübe.

Der wässrige Auszug ergibt nach 48 Stunden, bei 16° C. einen Kreisbelag, von welchem die Fig. 16 A, Taf. XXVII einen Teil darstellt. Die Richtung von oben nach unten rechts entspricht dem Kreisrand. Es sind Lappen eines dem Anschein nach zerrissenen Belages von hellroter Farbe. Hellrote, maulbeerartige Zoogloeen in Ketten, farblose ebensolche und kombinierte aus Hellrot-Gelb, Farblos Gelb. Fig. 18, Taf. XXVII, giebt eine Maulbeer-Zooglöa als Zwillings, mit hyaliner, fein granulirter Ergussphäre von einer der Maulbeersphären $360/1$. Das Mikroskop weist in diesen Zoogloen vorherrschend *Hormiscium* und *Bacillus* nach Fig. 17, Taf. XXVII.

III. Das durch die Verwesung geschwärzte Kraut derselben Rübe.

Die Kultur aus dem wässrigen Auszug zeigt einen Kreisbelag mit zahlreichen Punkten Fig. 13, Taf. XXVII. Die mikroskopische Probe ergibt vorherrschend *Micrococcus* Fig. 14, Taf. XXVII in Ketten, wenig Hefe. Die Entwicklung der Punkte ergibt jene

Hefenzogloea Fig. 15, Taf. XXVII als Entwicklungsreihe der Maulbeersphären, welche schon in Fig. 16, Taf. XXVII berücksichtigt waren (siehe oben). Die Kultur zeigt nach 48 Stunden in Fig. 21, Taf. XXVII einen doppelt gezahnten Rand zahlreicher Mamellengruppen im Mittelfeld, sie ist hyalin farblos.

Die Untersuchung der drei Partikel ergibt somit:

Die breiige Masse: Micrococcus und Hormiscium im farblosen Belag.

Die Schale: Rein Hormiscium zoogloea farblos, kombinierte Hormiscium, Bacilluszoogloea Rot oder Gelb. Micrococcus zoogloea Gelb. Hieraus mit grosser Wahrscheinlichkeit: „Die Kombinierte Hormiscium-Bacillus-Zoogloea ist die rote.“

Das schwarze Kraut ergibt farblose Hormisciumzoogloeen und in der fortgeschrittenen Kultur Micrococcus, mit wenig Hefe. Die Hefe aber kommt in allen drei Partikeln vor.

e) Partikel, dem Rheinstrom bei Mannheim entnommen.

1) Fontinalis Rasen. (Fig. 3, 12, 13, Taf. XXVIII, Fig. 1, Taf. XXIX.)

Das Wasser aus dem Moosrasen in Nährgelatine geimpft, ergibt nach 48 Stunden Fig. 3, Taf. XXVIII zwei rote a₁ und drei gelbe Kugelzoogloen, von welchen zwei als Appositions- oder Sprosszwillinge erscheinen. Die Kultur wurde durch Abklatsch auf neue Deckgläser übertragen. Die Klatsche A, Fig. 12, Taf. XXVIII und 1, Taf. XXIX sind ausserordentlich feine Beläge mit feinen Zähnen. Die Randpartie des ersten Klatsches, Fig. 12, Taf. XXVIII ergibt Bacillen, welche wie Geldrollen geordnet liegen parallel der Längsaxe dichtest an einander gereiht, fast alle von gleicher Länge. Die Reihen sind wirr durcheinander gelagert. Einer der Zähne in A ergibt die, hier möglichst genau in der Zeichnung wiedergegebene Partie a b, es sind Geschiebe eigener Art, welche den Zahn begrenzen. Das Auffällige hier, wie in Fig. 1, Taf. XXIX ist, dass die Bacillen alle in eine Ebene geordnet sind. Der zweite Klatsch aus derselben Kultur, A Fig. 1, Taf. XXIX zeigt in derselben Fig. B eine noch verwickeltere gegenseitige Lage. Die Langfäden liegen in Mäandern, alle in einer einzigen Ebene, wie vorher die Kurzfäden. In den Zähnen c und den andern, ist ein Faden umgebogen oder es liegen mehrere derartige Fädenkonvolute in der Begrenzung d e f g zeigt in der An-

näherung an den Thatbestand die Reihenfolge der Sprossung und Strahlung. Bei dem Zahn g liegen nur 2 bis 3 Reihen in Abwechslung für die Querverfugung. Die letzte Ausstrahlung ist ein einziger Langfaden. Bei der Behandlung des Klatsches mit verdünntem Glycerin lockern sich die Langfädenkonvolute in die Lage C auf. Hierbei erscheinen auf derselben Platte die Spirulinafäden D.

Ein dritter Klatsch aus derselben Kultur, ergibt einen pentagonalen Haufen von Mucorinisporen mit Bazillen Fig. 13, Taf. XXVIII.

2) Kleine Sandsteinpartikel.

(Fig. 11, 4, 5, Taf. XXVIII.)

Der Auszug in Nährgelatine geimpft, ergibt nach 48 Stunden mehrere Kugelzooglöen Fig. 4, bei 10—20facher, zwei dieser a in Fig. 5 bei 80/1. Der Klatsch ergibt in Fig. 11 a b die Grenze zweier Reinzooen, die eine Homogenbacillus, die andere Homogen-Micrococcus mit zahlreichen Diplokokken. Der Versuch demonstriert die Isolirung von zwei Arten, bezogen auf den Artenreichtum im Wasser des Gesamtstromes, also eine Artenverarmung im engen Wohngebiet.

3) Verwesendes Weidenplättchen.

(Fig. 7, 8, Taf. XXVIII.)

Nach 48 Stunden zeigt die Impfstelle einen Kreisbelag von 2 mm Durchmesser Fig. 7, Taf. XXVIII. Bei $\frac{80}{1}$ zeigt dieselbe zahlreiche Zoogloen am Rande in Kettenverband, im Mittelfeld in halbem Parenchymverband. Die Farbe ist braunrot, a c entlassen hellgelbe Sprosse, nachdem der rote Belag durchbrochen ist. Fig. 8, Taf. XXVIII. Diese Fraktionirung erweist dasselbe wie vorher eine Artenzahl von 2—3 : Gelbzoogloea-Braunzoogloea.

4) Splitter von einem in dem Rheinufer eingerammten Holzpflock. (Fig. 6, 9, 10, Taf. XXVIII.)

Der Auszug ergibt, wie vorher nach 48 Stunden, mehrere farblose Kugelzooglöen, Fig. 6. Der hyaline Rand dieser ist in der Grenzzone des Mittelfeldes radial gestrichelt Fig. 9. Das Mikroskop weist in dieser Zoogloea einen gleichgliedrigen Bacillus nach Fig. 10. Wie vorher Verarmung der Arten im engeren Wohngebiet bis auf eine.

d) Partikel aus einem faulen Apfel.

(Fig. 2—5, Taf. XXIX.)

Nach derselben Zeit, wie vorher, zeigt die Nährgelatine mehrere sphärische Zoogloen, welche im Zentrum der Kultur zusammenfließen, Fig. 2, Taf. XXIX. Bei $80/1$ erscheint die Kultur (Fig. 3) homogen, irisierend, durchaus scharf bogenlinig berandet, ohne Randvorstöße, wie sie sich sonst in Zähnen oder Buchten kenntlich machen. Zahlreiche dichtere Kugel- und Ellipsenzoo gloen, in Ketten und isolirt, liegen in der Grundmasse. R R, Fig. 3, entspricht der Richtung des Randes in der Kreisfigur 2. Die Adhäsionsschicht, welche aus einer Spur der verdünnten Kultur auf dem Deckglas im trockenen Zustand sich bildet, besteht (Fig. 4) aus Mäanderbelagstellen, welche dicht, aber nicht lückenlos zusammengelagert erscheinen. Die mikroskopische Analyse ergibt Hormiscium und Bacterium (Fig. 5).

e) Strohhalmpartikel aus Ackerdung.

(Fig. 6—9, Taf. XXIX.)

Die Kultur nach 48 Stunden zeigt in Fig. 6 zwei Sphärenbe-
lage, von welchen in Fig. 7 eine Randpartie R R als ein kombiniertes Zoogloensystem dargestellt ist. Dasselbe mag durch Apposition der Sphären, zum Teil wohl auch durch Sprossung entstanden sein. Es ist farblos. Die Sphären zum Teil in Parenchymverband, zum Teil mit freien Sphärenenden in Ketten. An einigen Punkten zeigt sich eine zerrissene, im durchfallenden Lichte dunklere Belagschicht, bei a und b z. B. Bei b deckt diese von der Scheidewand nach beiden Sphären, so wie die Scytonemascheiden. Die jetzt herrschenden Zoogloen in dem Belag sind daher jedenfalls Sekundärdurchbrüche. Im Klatschpräparat (Fig. 8) erscheint die Zellenstruktur, verwischt die Masse in Fig. 7, ist daher als halbflüssig anzusehen. Sie enthält Bazillen, Mikrookken und Diplokokken. (Fig. 9.)

VI. Wasseruntersuchung.

(Wasser der Quellen, Bäche, Flüsse.)

A. Erste Methode Stichimpfung.

1) Wasserfüllung. Das Wasser wird in der Nähe des Wohnortes oder auf Reisen mit einem kleinen Trinkglas, welches vorher mit absolutem Alkohol abgespült, sodann getrocknet war, geschöpft.

2) Objektträgerprobe. Es wird (am Wohnort) sofort eine Probe auf dem Objektträger bei 25° C. eingetrocknet, das entstehende Häutchen wird mit verschiedenen Pigmenten tingirt. In beiden Fällen (Wohnort und Reise) wird eine Glasspindel, welche mit verdünnter Luft gefüllt und beidseitig zwei zugeschmolzene, dünne Glasröhrchen besitzt, unter dem Spiegel des zu untersuchenden Wassers geöffnet, zur Hälfte mit dem Wasser gefüllt und sofort (auf der Reise mit Hülfe einer Löthlampe für Alkohol) zugeschmolzen.

3) Koch-Gelatinecylinder. Geimpft wird sofort mit einer feinen Glasnadel, welche stecken bleibt in einem Nährgelatinecylinder mit einem Stichkanal.

4) Koch-Gelatineobjektträger. Ebenso wird mit einer Glasnadel geimpft in Tropfen von Nährgelatine auf dem Objektträger.

5) Gewöhnliche Gelatine und Gelatineadditionsplättchen. Aus der angegangenen Kultur in 3) wird geimpft auf sterilisirte Plättchen von gewöhnlicher Gelatine und auf ebensolche Additionsplättchen.

6) Aus den Kulturen 4) und 5) werden mit der Glasnadel wiederum auf Nährgelatine die Reinkulturen derivirt.

Zwei Hauptmethoden entwickeln sich aus dem Vorstehenden:

I. Direkte Impfung eines kleineren oder grösseren Tropfens in einen Tropfen von Nährgelatine auf dem Objektträger. Die Requisiten sind zahlreiche Objektträger mit Glasschutzleisten, welche mit Kanadabalsam aufge kittet sind. Ähnliche Objektträger mit einem zweiten Paar kleinerer und niederer Schutzleisten, welche das Deckglas so aufnehmen, dass dieses wie auf einem hohlen Objektträger liegt. Zuerst werden auf den Objektträgern, welche nur ein Paar Glasschutzleisten am schmalen Rande tragen, die 18 mm Deckgläser mit einem kleinsten Tröpfchen Zellenkitt, welches an einem Eck des Deckglases vorsichtig aufgetragen wird, so festgekittet, dass sie mit Leichtigkeit wieder abgehoben werden können. Auf das Deckglas wird die bei 30° C. verflüssigte Gelatine in Tropfen von 10—15 mm Durchmesser aufgetragen. Die bakterienhaltige Flüssigkeit wird in den Gelatinetropfen mit dickeren oder dünneren Glasstäben eingimpft. Die angegangene Kultur kann direkt für Vergrößerung wie $\frac{80}{1}$ $\frac{180}{1}$ abgemustert werden oder es wird das Deckglas um 180° gedreht und auf die inneren Schutzleisten der zweiten Art von Objektträgern gelegt, wenn starke Vergrößerungen zur Wirkung kommen sollen.

II. Minimale Mengen des Wassers werden mit feinen Glasnadeln oder Platinanadeln in die Gelatine des Koch-Cylinders übertragen. Aus dieser Stiehkultur wird sodann nach I in den Tropfen auf dem Objektträger geimpft. Je nach der Dauer der Stiehkultur kommen viele oder wenige Bakterien zur Entwicklung, und zwar muss notwendigerweise die Kultur eines Stromwassers, Rhein z. B., mit wenigen Arten beginnen, in einer mittleren Kulturphase muss das Maximum der Artenzahl auftreten, zuletzt muss die Artenzahl wieder sinken, und zwar genau so, wie wenn jemand für 100 Pflanzenarten eines gegebenen Wiesenareals in gegebenen Prozentsätzen die Sämereien zusammenmischen würde, um ein gleichgrosses pflanzenleeres Areal so zu bepflanzen, wie er es an jenem Wiesenareal beobachtet hat. Er würde im Beginn hier von einer zur andern Vegetationsperiode eine kleinere, später eine grössere Artenzahl in der von ihm gewünschten Menge antreffen, zuletzt würden weniger Arten, wie erwartet war, dominierend werden.

B. Fraktionirung auf dem Objektträger, direkte Impfung.

1) Pumpwasser. (Vogelsang, Münden.)

(Fig. 16—21, Taf. XVIII und Fig. 1—6, Taf. XIX.)

Das Wasser wurde (am 20. Februar 1894) direkt mit dem Glasstab in den Tropfen Koch-Gelatine auf dem Objektträger eingeimpft. Nach 48 Stunden sind sechs solcher Platten mit verschieden gestalteten Sphären bedeckt, welche in den wesentlichen Zügen in Fig. 16, Taf. XVIII abgebildet sind (s. Figurenerklärung der Fig. 16). Wir heben von denselben die Zooglöen 1) und 2) heraus:

- | | |
|---|---|
| <p>1) Amöbaähnliche Zooglöa mit hyaliner Randzone ergibt bei der Übertragung nach 16 Stunden die in Fig. 20 abgebildete Kolonie dichtkörnig strukturlos mit zwei Zonen kleiner Zooglöen im Parenchymverband, welcher stärker vergrössert in Fig. 21 dargestellt ist. Das Klatschpräparat weist hier Bacillus nach (Fig. 1, Taf. XIX).</p> | <p>2) Homogene Kugelzooglöa mit gewimpertem Rande, übertragen im KC, ergibt nach 16 Stunden die grosse gewimperte Sphäre Fig. 19, Taf. XVIII, im Innern schwach angedeutete Sterngranulirung. Das Mikroskop weist hier einen zwei-, selten viergliedrigen, beweglichen Bacillus nach (Fig. 2, Taf. XIX). Die Maasse für</p> |
|---|---|

A B im Zickzack belegene Kurzglieder. Die Maasse der Bacillen sind für den längsten 7,85, den kürzesten 1,43, das Mittel 3,29 M. (s. Fig. 3, Taf. XIX).

Diese Bazillen (Vibrionen) sind: der längste 3,21, der kürzeste 1,25, das Mittel aus 13 Messungen 1,75 M. (S. Fig. 4, Taf. XIX).

Die Zooglöa 3 der Fig. 16, Taf. XVIII ist amöbaartig mit gezacktem hyalinem Rande, ergibt im Klatschpräparat die für Bacterium charakteristische Randzone des Belages A, Fig. 17 und bei der Auflösung vorherrschend Bacterium, verunreinigt durch wenige Bacillen, Fig. 17 B, Taf. XVIII.

Die hyalinen buchtig berandeten kleinen Sphären (7, Fig. 16, Taf. XVIII) ergaben im Klatsch (Fig. 18) eine hyaline Sphäre a mit lichterem Rande und, in der vorsichtigen Behandlung mit Wasser, Micrococcus in zierlichen Mäandergruppen. Es sind somit im Ganzen aus der Platte vier differente Bakterien isolirt.

Die mit der Nadel nicht weiter zerlegten Zooglöen aus demselben Pumpwasser mögen hier beschrieben sein (Fig. 5 und 6, Taf. XIX). A eine grosse hyaline Sphäre, deren innere Kolonien allmählich nach der Peripherie kleiner werden, der Rand verdämmert nach der intakten Gelatine zu. B B, B_n gewimperte Sphären, ohne Kernzone B_n; ohne Kernzone mit Sprossung oder Apposition einer kleineren Sphäre B; mit Kernzonen in halb ausgeführter Teilung und dicht dabei solche mit vollführter Teilung der Kernzone B. — Ketten hyaliner Sphären mit scharfem Rande C. Kugelsphäre D. Grosse Hyalinsphäre E. Kette abgeplatteter Zooglöen F. Kleinere Hyalinsphäre G. Die Übertragung der Maasse aus der Gruppe C ergibt nach 48 Stunden die Zoogloa (Fig. 6, Taf. XIX) mit dichter grosser Kernzone, in deren Nähe mehrere hyaline Sphären liegen. Man würde fehlgreifen, wollte man aus dem Form- und Lagerungsunterschied der 4—5 verschiedenen Zooglöen auf ebensoviel Spezies von Bakterien schliessen. Von vornherein kommt hier in Erwägung, dass eine und dieselbe Spezies je nach der Phase, in welcher sie steht: für Bacillus z. B. vegetativer Zustand (1), Gliederung in Lang- und Kurzfäden (2), Arthrosporenbildung (3) oder Bildung schwärmerder Glieder (3 a) Endosporenbildung (4) verschiedene Zoogloaformen ausbildet. (Untersuchung dieses Gegenstandes weiter unten.)

C. Stichimpfung im Nährgelatinecyylinder und Übertragung der Kultur in Tropfen der Nährgelatine auf dem Objektträger.

2) Rhein unterhalb Mainz. (Kaiserthor.)

Das Wasser wurde direkt in den Nährgelatinecyylinder mit der Platinnadel geimpft (Ende Dezember 1893) Fig. 1 und 2, Taf. XIII. In den ersten Tagen des Januar 1894 wurde ein verdünnter Partikel der Stichkultur auf Tropfen Koch-Gelatine geimpft. Diese Tropfenkultur ergibt nach 48 Stunden den Belag Fig. 5, Taf. XIII. Derselbe ist fein granulirt, farblos, mit zahlreichen Sterngranulationen im Mittelfeld. Die mikroskopische Probe (Fig. 6 und 7, Taf. XIII) lässt 12 verschiedene Mikrophyten unterscheiden. Durchaus vorherrschend sind geldrollenähnliche Ketten von Bazillen, zum Teil von Spitzkegelform, die Gruppen N, Fig. 7, Taf. XIII. Sie liegen mit der Langseite geschichtet, einige sind wie Keile aus der Reihe vorragend mit der stumpfen Keilseite. Es folgen Glieder einer höheren Alge A, Fig. 6, Taf. XIII, grössere Diplokokken B C D, rotirende Ellipsoide E, Bacillen dreigliederig, G Gonidienketten, H bewegliche Diplobakterien, unbewegliche kurze Bazillen I. Undulirend bewegliche Vibrionen K und die feinen Stäbchen von Bazillen L und M.

Aus demselben Wasser, welches in der zugeschmolzenen Glasspindel aufbewahrt war, wurde am 3. Mai 1894 geimpft. Nach fünf Tagen ist die Kultur im Stichkanal und im Meniscus angegangen, Fig. 3, Taf. XIII. Die jetzt vorgenommene Impfung in Nährgelatine auf dem Objektträger ergibt eine sphärische, schillerndgrüne, flüssige Kultur des *Bacillus fluorescens*? Fig. 4, Taf. XIII.

3) Rhein oberhalb Mannheim. (Schwimmschule.)

Das Wasser wurde am 27. Dezember 1893 in die Glasspindel (Fig. 16, Taf. XII) eingeschlossen, gleichzeitig wurde die Stichimpfung (Fig. 14, Taf. XII) ausgeführt. Diese ergibt bei Zimmertemperatur (12–14° C.) am 2. Januar 1894 leise Trübung im Meniscus und im Stichkanal. Am 5. Januar ist der Meniscus blasig nach unten erweitert, der Stichkanal örtlich dichter belegt. Die halbflüssige Masse aus dem Stichkanal ergibt in einem Tropfen Nährgelatine auf dem Objektträger einen fein granulirten Kreisbelag, mit lichter

Randzone (Fig. 15, Taf. XII). Die Kultur begann erst am 10. Januar vom Meniscus aus grün zu schillern. Die Gelatine blieb fest. Sie war nach mehreren Tagen zur Hälfte grün, zur andern Hälfte farblos (Fig. 10, Taf. XIII). Die Untersuchung ergibt jetzt den Bacillus Fig. 11, Taf. XIII vorherrschend.

Aus der Stichkultur Fig. 14, Taf. XII wurde verdünnte Infektionsmasse am 24. Februar 1894 auf mehreren Objektträgern, in Tropfen von Nährgelatine übertragen. (Fig. 7—9, Taf. XIX.) Die hier zu betrachtende Entwicklung des Kulturbedeges dauerte 24 Stunden. Fig. 7, Taf. XIX ergibt in A Gruppe von Kugelzoogloen in schwachem gegenseitigen Kontakt. B eine überaus zierliche und für das Wesen der hier einschlägigen Erscheinungen beweiskräftige Konfiguration. Der Rand der Kultur zeigt die öfter schon betonte, epithelähnliche Lagerung der Zoogloen. Das Mittelfeld ist ausgefüllt durch Gruppen von Zoogloen in vollständigem Parenchymverband. Solche Gruppen aber sind getrennt durch intercellulare Flächen intakter Gelatine. Vom Zentrum strahlen fünf fast gleiche Reihen dichter (dichter bevölkerter) Zoogloen. Diese Anordnung entspricht der reinen Aktinomie im Sinne der von Sachs'schen Emulsionsfiguren. Wenig später, Fig. 7 c, Taf. XIX, ist im Mittelfeld der Parenchymkontakt aufgehoben. Dort liegen jetzt dichtere Granulationen. Der Rand zeigt nur schwachen Kontakt der Epithelvakuolen, die freie Aussenfläche derselben ist gezackelt, gezähnt. Die Auflösung schliesst ab mit der Fig. 7 D, Taf. XIX. Im Mittelfeld eine dichter gekörnelte Kreiszone, die Peripherie ist dichter gewimpert gekörnt. Die nunmehr vorgenommene Übertragung in frische Tropfen der Nährgelatine ergibt, nach 12 Stunden, die analogen Kulturen, wenn schon nicht in denselben Kreisbelagformen. Fig. A 9, Taf. XIX entspricht A 7, Taf. XIX, unterscheidet sich nur durch etwas mehr ausgeprägten Kontakt in einigen Zoogloengruppen. Fig. B 9, Taf. XIX zu Fig. B 7, Taf. XIX zeigt eine Belagstelle, in welcher die epithelähnliche Ordnung soeben angedeutet ist und Kugelzoogloen im halben Kontakt. Fig. C D 9, Taf. XIX Kreisbelag fast homogen, immerhin etwas dichtere Zentralzone, der Rand schwach wimperstrahlig zu Fig. C D 7, Taf. XIX. In derselben Ordnung sind die Bilder der Bacillen für die Zustände Fig. 7, Taf. XIX, zusammengestellt in Fig. 8, Taf. XIX. A Wenig langgliedrige zahlreiche kurzgliedrige Bazillen. B Bogenlinige Lang-

fäden und zahlreiche Arthrosporen. C Kurzgliedrige vielleicht die Descendenten der Arthrosporen in B. D Nur kurzgliedrige Bacillen.

4) Fulda bei Münden.

(Fig. 3—14, Taf. XI.)

Das Wasser wurde am 10. Dezember nach den oben beschriebenen Methoden in die Glasspindel eingeschlossen und gleichzeitig wurde eine Stichimpfung ausgeführt. (Fig. 3, Taf. XI.) Am 13. Dezember (16° C.) zeigte sich die Trübung, am 4. Januar war die Gelatine bis 35 mm unter dem Meniscus trübflüssig. Aus dem Kulturbestand vom 13. Dezember wurde eine Verdünnung auf Nährgelatine auf dem Objektträger übertragen. Nach 36 Stunden zeigte diese derivirte Kultur mehrere sphärische Kolonien Fig. 4.

Die Entwicklung dieser liegt in der Figurenkette Fig. 5 und 6. Die Kultur Fig. 6 elliptisch im Mittelfeld mit Sternkonfigurationen, am Rande wellig, mit dichter Randzone. Von dieser strahlte aus im Verlauf der 36 Stunden die Kultur Fig. 5. Hier sind es Konklomate von Kugelzoogloen in einer zur Strahlungsrichtung querliegenden Platte, in welcher solche Zoogloen im halben Parenchymverband liegen. Hieran schliesst sich die hyaline Masse mit Halbsphären, am Rand bedeckt mit Mäanderlamellen. Am 16. Dezember, also annähernd dreimal 24 Stunden nach der Impfung, liegt eine Kultur so wie die Fig. 9 darstellt. Der Kreisbelag hat am Rand eine Kette von Zoogloen, welche wie Epithelzellen an zwei Flächen der Berührung plan, an der dem Mittelfeld und an der der Peripherie zugekehrten gewölbt erscheinen. Das Mittelfeld ist dichter sternartig granulirt. In halber Deckung liegt über dieser Kultur eine zweite, welche einstweilen als Sekundärausflusskultur angesehen sein möge, mit ähnlichem Rand, an diesem zwei stärker sich auswölbende Zoogloen a, b.

Die gleichzeitige Übertragung aus der Stichkultur, auf gewöhnliche, wassergesättigte Gelatineplatten ergibt Strahlengranulirung Fig. 8A in dem entstehenden Belage. Nach 48 Stunden ist die Druckstelle in der gewöhnlichen Gelatine Fig. 7 mit Mäanderlamellen oder hirnförmiger Masse bedeckt. Die Gelatine ist in ihrem Molekulargefüge, wie die Polarisationsfigur darlegt, nicht verändert. Die mikroskopischen Proben, in Tinktionspräparaten festgelegt, aus der Stichkultur Fig. 3, Taf. XI ergeben:

Am 13. Dezember 1893: Gruppe eines Bacterium in Zwi-

lingen und isolirten Individuen Fig. 11, Taf. XI in der Grössenrelation zu einem Bacillus. Fig. 10—12 geben die Adhäsionsschicht der Bacillen, Fig. 13 A bis I, die Gruppierung dieser in einer am 16. Dezember hergestellten Adhäsionsschicht, welche mit Gentianaviolett gefärbt wurde. Das Pigment definiert das Bacterium blau, den Bacillus weinrot. Fig. 14 ergibt grössere Partien der Adhäsionsschicht, den Bacillus in der Langfaden- und Arthrosporenbildung begriffen.

5) Wasser eines Bächleins, welches im Vogelsang (Münden) in die Fulda fällt.

(Fig. 10—13, Taf. XII und Fig. 15, 16, 17, 19 Taf. XI.)

Die am 10. Dezember 1894 ausgeführte Stichimpfung zeigte schon nach drei Tagen Wolkensäcke, welche tief in die Gelatine hereinragen. Die Gelatine wird verflüssigt unter Gasentbindung und unter Bildung eines weissen Sedimentes. Am 4. Januar ist die Gelatine bis 30 mm unter dem Meniscus verflüssigt und im flüssigen Teile grünschillernd. Am 13. Dezember 1893 wurde die Materie der Stichkultur in drei Impfpunkten in Nährgelatine auf dem Objektträger übertragen. Schon nach 24 Stunden zeigt sich in Fig. 12, Taf. XII die fast genau aktinomorphen, feine mit Mamellen bedeckte, bogenlinig begrenzte Kultur mit fünf zentralen Zooglöenstrahlen. In Fig. 13, Taf. XII eine ebensolche, dichtere Zentralkultur mit zwei ungleichen Durchbrüchen. Der eine ist mit feinen Halbsphären bedeckt, der andere ein strukturloser feiner farbloser Belag. Die mikroskopische Analyse ergibt aus der Stichkultur am 13. Dezember 1893 (man vergl. die Figurenerklärung und die Fig. 15, 16, 17, 19, Taf. XI) mindestens 5—6 verschiedene Bakterien, unter welchen mindestens zwei mit Eigenbewegung (nicht Molekularbewegung Brown) begabt sind.

6) Wasser einer in der Nähe des Fuldaspiegels gelegenen Pumpe (Vogelsang, Münden).

(Fig. 1—9, Taf. XII.)

Nach der früheren Methode hergestellt, zeigte die Stichkultur vom 13. Dezember 1893, Fig. 1 nach 7 Tagen, 16° C. tiefe, flüssige Wolkensäcke von gelber Farbe. Bis zum 4. Januar, 22 Tage nach der Impfung, war die Gelatine auf 36 mm unter dem Meniscus flüssig. Am 13. Dezember wurde von der Masse der Stichkultur in Tropfen

von Nährgelatine auf dem Objektträger geimpft, Fig. 2. Nach 24 Stunden kommen zwei Formen von Kolonien zum Vorschein, welche in mehrfacher Hinsicht zum Nachdenken über die Vorgänge herausfordern. Die Kultur Fig. 3 ist schmal elliptisch und hat in ihrer Nähe zahlreiche Kugelzoogloen im halben Parenchymaverbände. Sie ist im Mittelfeld mit Sternkonfigurationen versehen, dort dichter granuliert, wie in der fein gezackten Randzone. Diese ist hyalin und hat zahlreiche Radialstreifen, welche vom Mittelfeld ausstrahlen. Ich nenne diese Figur polarisirt im Sinne der von Sachsschen Emulsionsfiguren. Fig. 4 zur selben Zeit stellt einen breit-elliptischen Belag dar, mit ähnlicher Ausbildung des Mittelfeldes, deutlicher ausgeprägter Randzähnelung, deutlicher Radialstreifung des Randes und einer etwas exzentrisch zentralen, zierlichen Gruppe, dichter bevölkerter Zoogloen in Ketten, welche von einem Punkte so ausstrahlen, dass diese Figur nicht aktinomorph, sondern in der Richtung der grossen Ellipsenaxe des Gesamtbelages gefördert erscheint. Ich definire diese Figur im Sinne der von Sachsschen Darlegung der Emulsionsfiguren „als eine Kombination der Aktinomie mit der einseitigen Polarisation.“ (Die theoretische Behandlung dieser Sache siehe weiter unten.) Zwei Tage später ist die Konfiguration verwischt, die Kultur ist flüssig, zeigt die Anordnung der Fig. 5: Dichtere Zentralzone, Ringzone mit Granulationen, die Zackung des Randes ist vernichtet. Die mikroskopische Probe Fig. 6 und 7 ergibt nur Bacillus und jene Bacteriumart in der richtigen Grössenrelation in den genannten Figuren gezeichnet. Der Übergang der Kultur von Fig. 4 nach 5 endet bis zum 16. Dezember mit trüben Flocken Fig. 8 und 9.

7) Wasser aus einem Feuerteich (Münden).
(Fig. 18—29. Taf. XII und Fig. 9—12, Taf. XIII).

Die Stichkultur vom 18. Dezember 1893 zeigt nach 2—3 Tagen die Gelatine auf 35 mm unter dem Spiegel des Meniscus verflüssigt (Fig. 18, Taf. XII).

Das Wasser direkt in Nährgelatine auf dem Objektträger geimpft am 18. Dezember 1893, ergibt nach 24 Stunden einen Belag mit dichter Zentralzone. Der Gesamtbelag ist milchig trübe. Derselbe Belag, bei $\frac{5}{1}$, Fig. 20, Taf. XII zeigt grobe Kristall-Komplexe der Peripherie Fig. 21 und Fig. 22 und feine des Zentrums

Fig. 22. Diese Kultur ergab Rein-Micrococcus (Fig. 23). Die Kultur trocknete ein und wurde in diesem Zustand aufbewahrt. Am 9. Januar 1894 wurde sie mit Wasser angerieben und in Nährgelatine auf dem Objektträger geimpft. Fig. 26, 27 A geben den Überblick über die Vorgänge. Die Kultur Fig. 26 erscheint bei durchfallendem Licht weiss, hyalin, sie ist bogenlinig berandet und zeigt feine Mammellen im Mittelfeld und am Rande. Sie ist nach der einen Seite hin ausgetreten, zeigt in der Primärsphäre das aktinomorphe Ketten-system von Zoogloen. Fig. 27 und 29 dürfen als spätere Phasen angesehen werden. Auch sie besitzen jene Zoogloen. Beide erscheinen im auffallenden Licht irisierend, im durchfallenden in der Grundmasse braun. Glatter Rand mit Radialstreifung und eigentümliche Bogenfiguren, welche unregelmässig verteilt sind, geben den Gebilden ein auffälliges Gepräge. Ganz hyaline, blasige Durchbrüche dieses Belages bei den Pfeilen kommen bei der einen zweimal, bei der anderen einmal vor. Die Kultur Fig. 29 ist von einem reichgliedrigen System von hyalinen Kugelzoogloen in halbem Parenchymverband umgeben. Zur Seite rechts von der Figur sind diese stärker, ^{360/1}, vergrössert. (Der Interessent wird auf diese Fig. 29 sein Augenmerk richten, wegen der Synopsis der Kulturformen, siehe unten). Eine der Kulturen wurde unter dem Deckglas zerdrückt. Es entstand der dünne Belag Fig. 28, welcher die Micrococcuslagerung in einer minimalen Partie der Fig. 28 zeigt, wie sie in Fig. 8, Taf. XIII bei S J. VIII H O₂ dargestellt ist. Die Kugelzoogloen der Fig. 29 konnten mit der Glasnadel leicht belangt werden. Die erhaltene Masse ergibt in Nährgelatine auf dem Objektträger eine Sphärenkolonie, welche sich Fig. 9, Taf. XIII als Fast-Reinbacillus erweist.

8) Wasser aus dem Salzbach (Wiesbaden)

(nimmt einen Teil der Kanalwasser der Stadt Wiesbaden auf und fällt 3—4 km unterhalb der Stadt bei Biebrich in den Rhein).
(Fig. 1—5, Taf. XIV. Fig. 12, Taf. XIV. Fig. 13—17, Taf. XIII).

Zwei mit dem Wasser benetzte feine Glasnadeln wurden am 7. Januar in den Nährgelatinecylinder versenkt. Am 10. Januar zeigen sich trübe Zonen in der Nähe der Nadeln Fig. 1, Taf. XIV. Am 14. Januar, nachdem die beiden Nadeln herausgenommen waren, sind die beiden Säcke in der Gelatine trübflüssig.

A Die Masse der ersten Nadel, 5 Stunden nach der Impfung,

in Tropfen von Nährgelatine auf dem Objektträger übertragen, zeigt sie den in Fig. 4, Taf. XIV A nach B sehr beachtenswerten Übergang in der Kultur. Der Anfangszustand, Fig. 4 oben links, zeigt ein unregelmässig granuliertes Mittelfeld, hyalinen radial zierlich gestreiften Rand die Peripherie bogenlinig gekerbt. Der spätere Zustand, Fig. 4 rechts, zeigt die Kultur elliptisch in der grossen Ellipsenaxe einen eigentümlichen Sekundärausfluss, welcher die zierliche Randzone der Hauptkultur durchbricht. Der Rand dieser letzteren zeigt eine Kette von Sphärenzooglöen im epithelähnlichen Verband. Das Mittelfeld ist hyalin, bedeckt mit grösseren und kleineren Kugelzooglöen, welche vereinzelt und in Kettenverband stehen. Die Anordnung kann auch umgekehrt aufgefasst werden. Da jene äusserste epithelähnliche Randzone samt dem zugehörigen in der Zeichnung lichter gehaltenen Mittelfeld etwas tiefer liegt, ist jedenfalls die zentralbelegene Kultur die primäre. Die Fetzen einer Schicht, welche sie bedeckt, bildeten ursprünglich den kontinuierlichen ersten Belag, welcher gesprengt, eine homogen granulirte, nach der Austrittsstelle bogenlinig begrenzte, sekundäre Kulturzone austreten lässt, aus welcher endlich die mit Kettenzooglöen epithelähnlich berandete Ternärkultur hervorging. Die Masse aus derselben Stiechkultur Fig. 1, Taf. XIV, welche 10 Stunden nach der Impfung mit der zweiten Nadel in Nährgelatine auf dem Objektträger geimpft wurde, zeigt ein ganz anderes Bild der Entwicklung (Fig. 13 und 14, Taf. XIII). Die Kultur entwickelt sich rein kreisrund, sie ist am Rand bogenlinig gebuchtet, die Randzone erhaben wie ein Tellerrand, die ganze Randfläche mit kleinen granulirten Halbsphären bedeckt. Im Endzustand Fig. 14 ist das Mittelfeld zerrissen, plan, fein granulirt.

Mikroskopische Probe der ersten Nadel.
(Fig. 2 und 3, Taf. XIV.)

Wir heben hier nochmals den Zooglöenrand der Fig. 4, Taf. XIV hervor, derselbe ist in Fig. 3, Taf. XIV bei 360 gezeichnet, ein überaus zartes System von Bläschen, welche nach zwei, unter rechtem Winkel sich kreuzenden Richtungen fein punktirt erscheinen. Bei a und b ein solches Gebilde mit Wandbildung, Initiale der Teilung. Die erste Probe lässt unterscheiden Fig. 2, Taf. XIV: a eine relativ grosse Micrococcaee in Hexagonal- und Tetragonallagerung. — b, c Gliederfäden mit ungleich dichten Querwänden, welche auf un-

gleiche Phasen der Querwandbildung hinweisen. d Eben solche von geringerem Querdurchmesser. — Sarcinaähnliche Kugeln in Halbiring und in Quadrantenteilung. f Gruppe ähnlicher in verschiedener gegenseitiger Lagerung der Teilungszustände. — g Dickere Kurzstäbe eines Bacillus im Zickzack gelagert. — h Ähnliche, viergliedrige Bacillen von geringerem Querdurchmesser. — k—i Bacteriumgruppen — m langelliptische Zwillinge, n n, . . . solche in Gruppierung mit Bazillen.

Mikroskopische Probe der zweiten Nadel.

(Fig. 12, Taf. XIV.)

Auch hier möge auf den entsprechenden Kulturbedag Fig. 13 und 14, Taf. XIII zurückverwiesen sein. Die am 14. Januar herausgehobene Masse wurde mit Fuchsin, Gentianaviolett und Bismarckbraun tingirt in Präparaten festgelegt.

Gentianaviolett hebt gut hervor: Sehr lange, kurzgliedrige, in Arthrosporenbildung begriffene, zum Teil flachspiralige Bacillen a a, u. s. f. . . — Die Ellipsenzwillinge der Bacteriumform b, eine Bacillengruppe h — eine Micrococcusgruppe i — ein Macro-coccusgruppe k.

Fuchsin hebt gut heraus: Zwei Gruppen der Bacteriumform in Teilung und mit isolirten Individuen c und o.

Bismarckbraun ebenso: Eine Mikrokokkengruppe in Hexagonallagerung f, eine ebensolche in Tetragonallagerung f. Die Bazillengruppen e e, eine Bacillengruppe mit Kurzgliedern und Arthrosporen g — eine breite im Bacillus b, — und jene in der Fig. 2, Taf. XIV schon gefundenen Tetradengruppen d und e (formähnlich mit Sarcina).

Im Hinblick auf die genaueren Studien des Kulturverhaltens von Reinkulturen (s. weiter unten) darf hier darauf hingewiesen werden, dass eine auffällige Revolution in der Formentwicklung, wie sie in der Figurenreihe 3, 4, Taf. XIV zum Ausdruck kommt, auf eine gemischte Kultur und auf die Succession mehrerer Mikroben hinweist.

9) Wasser des Neckars bei Heidelberg, 31. März 1893.
(Fig. 1, 2, Taf. XI, Fig. 6, 7, Taf. XIV.)

Die Stichimpfung vom 21. März 1893 ergibt nach drei Abmusterungen eine Verflüssigung bis 48 mm unter dem Meniscus (16° C.). Das Tinktionspräparat, sechs Tage nach der Impfung, ergibt Bacillus und Bakterien vorherrschend (Fig. 2, Taf. XI).

Neckarwasser Heidelberg, 13. März 1894.
(Fig. 5—11, Taf. XXVII.)

Die Stichimpfung ergibt nach zwei Tagen (Zimmertemperatur 13—15° C.), Fig. 5, Taf. XXVII, blasige Kolonien am Stichkanal; diese Belage sind farblos; weitere drei Tage, im ganzen fünf Tage nach der Impfung, einen tief in die Gelatine ragenden flüssigen Sack, dieser wolkig trübe. Vom Meniscus aus fängt die Kultur an, grün zu schillern. Vierundzwanzig Stunden nach der Impfung ergibt eine Probe in Tropfen von Nährgelatine, auf dem Objektträger übertragen, eine Kreiskolonie, Fig. 8, welche, im Mittelfeld granuliert, mit zerstreuten Sternkonfigurationen versehen, eine hyaline, bogenlinig gebuchtete Randzone zeigt, bei a eine einzige, exzentrisch liegende Sphärenzooglöa. Der Rand in B, $\frac{360}{1}$ vergrößert, ist mit gefiederten Radialgranulirungen versehen. Nach 16 Stunden zeigt eine ähnliche Objektträgerkultur, Fig. 9, eine farblose Grundmasse mit zwei Halbsphären, welche grünschillernd und halbflüssig sind. Die mikroskopische Probe aus dieser grünen Flüssigkeit ergibt, Fig. 10, sehr kleine Bacillen, lebhaft schwärmend, im Spiral oder in der Lage, wie sie ein Rechteck bilden mit Arthrosporenketten, hier eingetrocknet, mit Bismarckbraun gezeichnet. Von der grünen Masse der Kultur, Fig. 9, auf eine wassergesättigte Platte gewöhnlicher Gelatine (Fig. 11) übertragen, entwickelte sich, als sehr dünner Belag, die Massenkultur mit zusammenfließenden Partialkolonien, vielfach buchtige, landkartenähnliche Konfiguration, zwei Ringkulturen A und B des aktinomorphen und elliptischen Typus. In einer der Übertragungen auf Nährgelatine endlich wurden auch die Zooglöenformen A B C D, Fig. 7 erzielt: A strukturloser Ellipsenbelag, B ebensolcher mit granulirter Grundmasse, gekerbtem Rand und exzentrisch liegender dichter Kernzone. C Gruppe freier Kugelzooglöen, ohne Parenchymverband. D elliptischer Belag, fein granuliert, mit schar-

fem Rand, zahllosen endogenen Kugelzooglöen, ohne Verband, und einer Nachbargruppe a von Zooglöen.

Neckar bei Heidelberg, 24. Dezember 1893.

(Fig. 1—7, Taf. XV, Fig. 6, 7, Taf. XIV.)

Sechs Tage nach der Ausführung der Stichimpfung (Zimmer-temperatur 13—15 ° C.) erscheint der Stichkanal sackartig erweitert; unter dem Meniscus vier farblose Sphären (Fig. 1, Taf. XV). Am 5. Januar 1894, 11—12 Tage nach der Impfung, ist die Gelatine auf 35 mm unter dem Meniscus trübflüssig (Fig. 1 B). Die am 5. Januar 1894 bewirkten Übertragungen zeigten schon nach 24 Stunden entschiedenen Impferfolg. Auf einer kreisrunden Platte gewöhnlicher Gelatine (Fig. 2, 3) kreisrunde, farblose, granulirte Beläge, mit bogenlinig gekerbtem Rande zentraler dichter Zone. Eben- solche auf dem Gelatineplättchen Fig. 5 zeigen keine Veränderung der Molekularstruktur der Gelatine. Anders liegt dies für Additions- plättchen Fig. 6, wo zentrale Depression auf Rot I und Verstärkung der Interferenz am Rande wahrgenommen wird. Auf Tropfen von Nährgelatine entsteht ein dünner, farbloser Belag. Die mikrosko- pische Analyse der Probe aus dem Koch-Gelatinecylinder Fig. 6, 7, Taf. XIV ergibt: A Gruppe kleinzelliger Bazillen, zum Teil in Zickzacklagerung. B dreigliederige, in den Pfeilrichtungen beweg- liche Vibrionen, C grössere Bazillen, die Kurzglieder im Spiral. D F G Gruppen von Bazillen mit der Schichtung in Gruppen parallel der Längswand. Fig. 7, Taf. XIV. Micrococcus und Bazillen; die letzteren erscheinen hakenförmig gekrümmt.

10) Fulda-Eis, 16. Januar 1894.

(Fig. 14—16, Taf. XV.)

Die Impfung geschah direkt von dem Schmelzwasser des Eis- blockes in Tropfen von Nährgelatine auf dem Objektträger. Schon nach 24 Stunden zeigen sich Zooglöen von verschiedener Form (Fig. 14). Der Entwicklungsgang für eine Form ist in Fig. 15 niedergelegt: A hyaliner feinkörniger Belag nach 12 Stunden, B kom- binirte Zooglöa, bestehend aus einer dichteren Halbsphäre mit lich- terer Halbsphäre, welche eine Kernzone aufweist. Daneben drei kleinere Kugelzooglöen a, b, c. Die Kultur schreitet bei 12—14 ° C. im Thermostaten rasch vor. Fig. 16 gibt eine solche Kultur, 36 Stun-

den nach der Impfung. Es ist eine kombinierte Zooglöa; Apposition und vielleicht auch Sprossung kommen hier in Betracht. Die eine Hälfte zeigt eine Sphärenzooglöa auf einer Halbsphäre, diese ruht auf der hyalinen Grundmasse mit doppelt gebuchtetem Rande. Die andere Hälfte zeigt zwei Kugelzooglöen a a, auf dichteren, mit Mäandern durchsetzten Radialstrahlen grösserer Dichte, diese alle auf ähnlich am Rande doppelt gebuchteter hyaliner Grundsubstanz. Daneben zwei Kugelzooglöen in Apposition, jede mit scharf konturierter Kernzone.

11) Wasser der Heidelberger Wasserleitung.
(Taf. XV, Fig. 10, 13).

Von drei im Dezember 1893 ausgeführten Stichimpfungen der Wasser aus städtischen Wasserleitungen gaben zwei, Wiesbaden und Mannheim, keinen Impferfolg. Diese waren zu jener Zeit bakterienrein.¹⁾ Die Heidelberger Wasserleitung ergab in der Stichkultur Fig. 10, Taf. XV, vom 24. Dezember 1893 am 2. Januar 1894 einen ausserordentlich dünnen Belag, welcher sich in dem Kapillarraum zwischen der Gelatine und Glaswand in Kreiszone weiterbildet (Fig. 10 B). Es ist dies nach der mikroskopischen Probe die Reinkultur eines beweglichen dreigliedrigen Bacillus Fig. 12 und 13, welcher im Ruhezustand Langfäden und zweigliedrige Kurzfäden Fig. 11, Taf. XV ausbildet.

12) Wasser einer Pumpe in Mannheim.
(Fig. 8—9, Taf. XV und Fig. 8, Taf. XIV.)

Die am 27. Dezember 1893 ausgeführte Stichimpfung ergibt am 2. Januar 1894 zahlreiche dichtere und hellere Sphären, davon eine mit Kernzone Fig. 8, Taf. XV (Zimmertemperatur 10°—14°). Die Kultur ist am 5. Januar auf 25 mm Tiefe verflüssigt. Die Impfung aus dem Cylinder auf dem Objektträger zeigt nach 24 Stunden Fig. 9 A, Taf. XV mehrere Kolonien. Die Drucksphäre B mit Ausfluss zeigt granulirte, wenig scharf umschriebene Sphären. C Wanderkolonien in der Austrittsstelle der Sphäre. a, b, c, d aufeinanderfolgende Entwicklungsstadien der Zooglöen bei 36°/1. Die mikroskopische Probe

¹⁾ Soweit das angewandte Nährsubstrat die Entscheidung der Frage zulässt. Man vergleiche die Schlussbetrachtung.

aus der Stielkultur ergibt a, b, c, d dreigliedrige Bazillen. Fig. 8, Taf. XIV sehr kleine Bazillen im Zickzack und falscher Astbildung und Makrokokkengruppen B und C.

13) Wassertropfen verdampft und Auftragen von Nährgelatine auf den festen Rückstand.

(Fig. 4, Taf. XXII. Fig. 15 (I—IV) Taf. XXVIII)

Am Kreisrand der Berührungsfläche des Tropfens auf dem Objektträger bleibt eine weisse Ringzone. In dieser liegen vielgestaltige kleine Sphären Fig. 4, Taf. XXII, deren Durchmesser beträchtlich grösser ist, wie der Durchmesser von Bakteriensporen oder Bakterienkurzstäben. Die Gebilde sind Kalksphäroide (amorphe Niederschläge von kohlensaurem Kalk), in welchen Schichten verschiedener Lichtbrechung unterschieden werden (Famintzin's Kalksphäroide.) Gelegentlich schliessen diese Bakterienkeime ein. Nach der Behandlung mit verdünnter Essigsäure bleiben die Bakterieneinschlüsse zurück e, f, Fig. 4, Taf. XXII. Die Kreisfläche, in welcher solche Sphäroide lagern, wurde mit einem winzigen Tröpfchen Nährgelatine bedeckt, die Kultur ergibt in der Feuchtkammer im Thermostaten (18° C.) in IV, Fig. 15, Taf. XXVIII in a, b, c, d, e einen Keimungsvorgang für *Bacillus* aus der Endospore, in f und m ebenso für Kurzstäbe, in n, o, r Keimung und Gliederung des vegetativen Fadens. Die Figuren V—VII zeigen die analogen Vorgänge anderer hier untersuchter Bakterien und Stielkulturen.

D) Bakterienhäute auf Wasserbehältern.

Die zweite Methode, gegenüber den Bakterienkulturen in Nährgelatine, beruht in der Herstellung und Beobachtung von Häuten, welche auf stagnirendem Wasser sich nach wenig Stunden, beziehentlich Tagen bilden. Ein Blick auf die Vorgänge in einem Trinkglas Brunnenwasser, es möge dies stagnirendes Wasser einer Pumpe sein, ergibt dieses: Der Vorrat an assimilablen Kohlenstoffverbindungen ist, wenn das Wasser geschöpft wird, in der Regel nicht ausreichend, um die in ihm enthaltenen Keime der Saprophyten zu so reicher Vegetation zu bringen, wie man an den Häuten auf der Oberfläche nach 6—8 Tagen beobachtet. Es müssen daher chlorophyllhaltige Algen eine assimilatorische Rolle spielen, um den Saprophyten während jener beschränkten Zahl von 2—8 Tagen das plastische Material zu liefern. Andererseits muss die Luftzufuhr entscheidenden Einfluss

haben. Hieraus ergeben sich vier Differenzen für die Analyse eines und desselben Wassers. Von zwei Kulturbedältern gleichen Inhaltes, in Form von längeren Glaszylindern, wird einer verdunkelt; der andere kommt in das diffuse Licht des Thermostaten zu stehen. Ebenso ist mit zwei Kulturbedältern von der Form eines kurzen Cylinders, mit grösserer Fläche (Trinkgläser) zu verfahren.

1) Die vier Differenzversuche.

Am 6. Februar 1894 wurden mit Pumpwasser beschickt:
 Wasserglas für das Licht | ebenso für die Finsternis
 Cylinder " " " | " " " "

Die beiden im Licht stehenden befinden sich im diffusen Tageslicht, Fenster nach Osten. Die beiden für die Dunkelheit sind aussen mit Stanniol belegt und stehen in demselben Thermostaten unter einem Bleicher. Die Wasserflächen ergeben am 10. Februar eine merkliche Haut (sie stehen vor Staub geschützt im Thermostaten) Übertragung der Häute auf Objektträger erfolgte am Sonntag den 11. Februar.

I. Differenz-Cylinder 17 cm hoch, 5 cm Öffnung im Dunkeln 20° C. (Fig. 1—3, Taf. XVII.)

Sechs Tage nach dem Beginn des Versuches zeigt die mit dem Deckglas herausgehobene Haut des Wasserspiegels feine Granulierung und örtliche Verstärkung derselben (Fig. 1). Zur Entwicklung kommen eine grüne Alge a, b, c, d. Die Bacteriumgruppe bei H. Im übrigen ist ein Kurzstabbacillus A, B, C über die Fläche herrschend. Die Charakteristik liegt in der Bildung gesonderter Gruppen, welche durch lockere Ausstrahlung von einer zur andern Gruppe verbunden sind. Ein anderes Gefüge zeigen die Kolonien E, F, G. Fig. 3 gibt den Unterschied in der gegenseitigen Lage zweier Gruppen, wie C und F z. B. Fig. 2. Geringste Luftwirkung im tiefen Cylinder, im Dunkeln, ergibt somit die grösste Artenarmut.

II. Differenz-Cylinder, 27 cm Höhe, 3,5 cm Öffnung im diffusen Tageslicht 23° C. 6 Tage. (Fig. 5—7, Taf. XVI.)

Die Haut ist dichter, konsistenter und setzt sich aus zahlreichen bogenlinig begrenzten Gruppen zusammen, wie sie Fig. 5 B und Fig. 6 darstellen. Das System Fig. 6 ist schwach durchsetzt von Cladothrixfäden, zeigt ausserdem kleine Gruppen von Micrococcus

und Bacterium. In den Inseln derselben Figur liegen Bacillengruppen, mit der charakteristischen Langfadenbildung, mit falscher Astbildung und der Bildung von Kurzgliedern. Fig. 5 A und Fig. 7.

III. Differenz-Wasserglas 6 cm Höhe, 7 cm Öffnung im Dunkeln. (Fig. 8—9, Taf. XVI.)

Nach der gleichen Zeit (6 Tage) ist die Haut homogen granuliert (Fig. 8). Sie erscheint auch bei starker Vergrößerung (Fig. 9) als fast homogene Reinkultur von Bacillen in Kurzstäben in dichter Lage mit Ausstrahlungen und einer geringen Durchstrahlung von Cladothrix. Es ist also die rascheste Entscheidung im Kampf mehrerer Keime. Dunkelheit und reiche Luftzufuhr führen zu artenarmen Bakterienhäuten.

IV. Differenz-Wasserglas, 6 cm Höhe, 7 cm Öffnung, im diffusen Tageslicht, acht Tage. (Fig. 1—4, Taf. XVI.)

Die Haut ist viel reicher bevölkert. Es lassen sich mindestens die vier verschiedenen Gruppen von Chlorophyllalgen A, B, C, D, Fig. 1, unterscheiden. Auch E ist eine jedenfalls den Oscillarien angehörende Spaltalge. Es folgt die Gruppe F, welche von einem Kreis keilförmiger Bacillen G umgeben ist. H, I, K, K kleine Bakterienhäufchen. Bei L liegen Mikrokokken in Ketten. Bei M eine Micrococcus- und Bazillengruppe. N, O, P und alle anderen Teile der Haut sind von Beggiatoafäden durchsetzt. Fig. 2, 3, 4 geben solche Partien der Haut bei stärkerer Vergrößerung dargestellt. Fig. 3, 4. Die *Beggiatoa alba* zum Teil in Sporenbildung begriffen.

Die vier Differenzen ergeben somit die reichste Vegetation im diffusen Licht, bei geringer Tiefe des Wasserbehälters. Die ärmste im tiefen Cylinder mit geringer Öffnung im Dunkeln.

Im ganzen wird diese Kulturmethode für die Untersuchung pathogener Bakterien wenig und selten Anwendung finden, während sie von Bedeutung werden kann, wenn es sich darum handelt, den Gesamtbestand der verschiedenen Arten von Wasserpilzen in einem gegebenen Gewässer festzustellen. Die Differenzierung müsste in diesem Falle so vorgenommen werden, dass von den zwei Differenzen etwa III und IV die Hautpartikel in Nährgelatine weitergezüchtet werden.

Man wird zu diesem Schlusse kommen: Je mächtiger der Strom ist, je mehr die Bakterienkeime sich auf grosse Distanzen auszubreiten vermögen, z. B. Rhein Mannheim-Mainz, Donau Linz-Wien, um so reicher muss der floristische Bestand, wenn man so sagen darf, des gegebenen Wassers, sein; um so grösser die Artenzahl der Bakterien, welche aus der Wasserprobe gezüchtet werden können. Kleinere Flüsse mit grösserer stagnirender Randfläche und geringem Gefälle sind unter Umständen ärmer an Arten, weil die gegenseitige Ausschliessung eine raschere ist. Das gleiche gilt für Pumpwasser und stagnirende Teiche, Landseen, Altwasser der Flüsse. Endlich findet man die letzte Differenzirung in Partikeln, welche im Stromrand mehr oder weniger festliegen, als da sind: eingerammte Holzpfosten, tote Weiden Schilfblätter, Sandsteinpartikel. Solche Partikel geben unter Umständen Kulturen von 1—2 Bakterien und selbst Reinkulturen einer einzigen.

Cladothrix dichotoma. (Neckar.)
(Fig. 1, Taf. XXX.)

Das Wasser steht in einem Trinkglas, mit einer Glasplatte bedeckt, in diffusem Tageslicht. An jedem Tage wird ein Teil der gebildeten Haut herausgeholt, auf dem Objektträger mit Gentianaviolett tingirt. Die Tafel XXX gibt die Entwicklungszustände in den römischen Zahlen I—VI, welche die Tage bedeuten.

Nach dem ersten Tage setzt sich die Wasserhaut zusammen aus Bruchstücken von *Cladothrix*fäden IA, welche zum Teil schon die falschen Äste bilden, aus *Cladothrix*fäden mit kurzen Gliedern, vielleicht Arthrosporen derselben Pflanze IB. Gonidienähnliche niedere Algen IC. — IDEG. Ein Schizophyt nach dem Typus Bacterium. — IJ eine Bazillengruppe. IK rotirender Ellipsenzwilling.

Nach dem zweiten Tage finden sich in einigen Gliedern der *Cladothrix*pflänzchen IIA Arthro- oder Endosporen. Es finden sich auch selten Spiraleinwickelungen IIB mit zahlreichen Endosporen in Reihen und einige derselben im zentralen Raum der Spirale. Auch Einzelzellglieder IIC machen sich bemerklich. Die begleitende Gesellschaft zeigt die Gruppe IID (zu vergleichen mit ID) ohne wesentliche Veränderung. IIG eine farblose Sphäre mit algenähnlichen Cylindergliedern. IIJ und K eigentümliche Kegelgebilde, viel-

leicht der Gruppe Bacillus angehörig. IIE sprossende Sphäre. IIF Gloiocyste mit Bacillen.

Nach dem dritten Tage treten Cladotripxpflänzchen (Keimpflänzchen) auf, welche, wie IIIA, eine oder zwei Pseudodichotomien zeigen, an der Basis kugelig angeschwollen, dort stärker tingirt erscheinen. Bei IIIA liegen auch isolirte, 10—12gliedrige Fäden, wahrscheinlich die Deszendenz zu IIC. Die Propagation geht also wahrscheinlich aus jedem beliebigen vegetativen Bruchstück weiter, wie bei den Oscillarien. Zu beachten sind die begleitenden Mikrophyten desselben Wasserhautfetzens, zunächst aber die von Zopf beschriebene Spirillenform isolirter Zweigstücke IIIB. — IIIC Bacteriumgruppe, IIID und E ein in Teilung begriffener Schizophyt von beträchtlicher Grösse. Von den verschiedenartigen Bakterien, welche nun in der Haut spärlicher oder reichlicher auftreten, mögen IIIF und G hervorgehoben sein. Es sind dies offenbar lebhafter sprossende und sich spaltende Bakterien, welche auf ID zurückgeführt (in IVD und VIC nach dem vierten und sechsten Tag mit tingirbaren Schleimhüllen versehen) werden können. Die Gruppe IIIθ steht wahrscheinlich mit IIJ in genetischer Verbindung.

Nach dem vierten Tage erscheint die vegetative Pflanze reicher ausgegliedert. Die letzten Auszweigungen der Pseudodichotomien rollen sich hakig ein. Die Zellteilung führt zu kürzeren Gliedern; es kommt hier schon zur Arthrosporenbildung IVE. Sehr dicke und tiefer gefärbte Spiralfäden IVB treten auf, ebenso ganz feine Spiralknäuel IVC und sehr feine geradläufige, oder am Ende bogenliniig gekrümmte, in Kurzglieder zerfallende Gebilde IVE. Bacillen in Gloiocysten mit sieben Kammern und die Gruppe IVD (zu vergleichen mit VIC) mit Schleimhülle machen sich bemerklich.

Nach dem fünften Tage. Ein Gliederfaden VA mit Arthrosporen. Ein intensivgefärbtes S-förmig gewundenes Zweigstück VB mit Sporen (Arthrosporen) fällt auf. Eine Gloiocyste VE auf IIIG zurückzuführen. Die mehrkammerige Gloiocyste VD entlässt aus einer Kammer die Bazillen, endlich findet sich eine von dieser verschiedene Bazillengruppe VF.

Nach dem sechsten Tage. Jene Spiralknäuel zerfallen in Bogenbruchstücke VIA und VIB.

Die von der Gruppe IIIG nach IVD verfolgte Gruppe lockert sich in eine mehrfach gelappte Schleimzone, welche schwächer tingirt

erscheint, wie die eingeschlossene Bakterie VIC. Vielzählige Büschel junger Cladothrixkeimpflänzchen zum Teil in der Pseudodichotomie treten auf VID VIE.

VII. Beispiel der Reinzüchtung durch Abwechselung der Nährsubstrate.

Bacillus monachae II.

(Fig. 4—9, Taf. XX.)

Aus der Leiche einer Nonnenraupe wurde am 25. Januar 1893 ein Auszug geimpft, welcher einen *Bacillus* ergab, der durch 1½ Jahre fortgezüchtet werden musste. Die Deszendenzkulturen (die Kultur 8 und ihre Deszendenz) waren mit einem *Micrococcus* verunreinigt, so dass die Kulturbeläge bald gelb, bald weiss zum Vorschein kamen. Die Deszendenz (N 181) einer solchen Kultur wurde im verdünnten Zustand in Nährgelatine auf dem Objektträger geimpft. (Januar, Februar 1894.) Nach 5—6 Stunden ist die Impffläche leicht belegt und mit zerstreuten Sternkonfigurationen bedeckt Fig. 4, I. Nach 8—10 Stunden treten zuerst grössere, zum Teil gewimperte Zoogloen auf, Fig. 4, II, welche heranwachsend, nach 15 Stunden, Fig. 4, III, zu grösseren hirnförmig geformten Massen zusammenfliessen.

Dieselbe Kultur wurde gleichzeitig auf gewöhnliche Gelatine geimpft. Die dort angegangene Kultur wiederum in den Koch-Gelatinecylinder und von dort aus wiederum auf Nährgelatinetropfen auf dem Objektträger übertragen. Diese Übertragung auf das nährschwächere Substrat der gewöhnlichen Gelatine eliminierte den *Micrococcus*. Für die Phasen I II III Fig. 5 gelten dieselben Zeitintervalle wie für Fig. 4. Der Belag ist gewimpert und entspricht einer pentameren fast absolut reinen Aktinomorphie. II zeigt dasselbe für Hexamerie, doppelte Randzone, eine Kugelzooglöe in exzentrischer Lage. III mehrere massige Zoogloen im Zentrum und vier zum Teil durchbrochene Kreiszone, alle gewimpert. Fig. 6 ergibt eine ähnliche Reihe aus der gleichen Parallelkultur, ohne jene Radialplatten und Tangentialzonen, bei allen aber erscheinen die Ränder der Figur und die Zoogloen gewimpert. Nach 30 Stunden endlich zeigt die Kultur III, Fig. 4 den Zustand Fig. 9. Die reine Form der Aktinomorphie das Mittelfeld mit polygonalen, dichteren Belagen, welche indess ohne vollständigen Kontakt durch hyaline Flächen der Grundsubstanz ge-

trennt sind. Ähnlich diesen sind die Randpolygone, welche in ihrem dunkeln Belage nach aussen sich in breite Strahlen auflösen. Die hyaline Grundsubstanz springt am Rande in breiten Zähnen vor, welche nochmals gezähnelte sind.

Die mit Sorgfalt zusammengestellte Zeichnung der Bazillen in der mikroskopischen Adhäsionsschicht Fig. 7 aus der Kultur, welche dreimal in Nährgelatine übertragen war, zeigt dichteste Lage der Kurz- und Langfäden zum Teil in Mäanderordnung, geringe oder verschwindende Arthrosporenbildung.

Die Fig. 8, Taf. XX zeigt ein analoges Präparat aus einer Kultur, welche von der Nährgelatine in gewöhnliche Gelatine, von dieser wieder zurück in Nährgelatine übertragen war. In der Adhäsionsschicht liegen Gruppen von Kurzstäben, Langstäbe, mit der Seitenanlagerung der Glieder und reiche Arthrosporenbildung. Die Kulturen der Masse erscheinen gelbweiss und sind frei von *Micrococcus*.¹⁾

VIII. Parallelversuche über das Fortschreiten einer Bazillenkultur in Gelatine und in einer Wasserhauchschicht.

In der Stichimpfung von Rheinwasser, welches in den Weihnachtstagen 1893 oberhalb Mannheim geschöpft wurde, entwickelte sich eine grünschillernde Kultur (*Bacillus*). Aus dieser wurde am 8. Februar 1894 in gleichgrosse Tropfen von Nährgelatine geimpft auf dem Objektträger.

Auf einer Reihe von Objektträgern wurden mit dem gleichen Glasstab, welcher bis zur gleichen Tiefe in die flüssige Gelatine eingetaucht war, kreisförmige Beläge mit dem Durchmesser von 15 bis 18 mm aufgetragen. Auf eine andere Reihe von Objektträgern wurden schmale Gelatinestreifen und ein kleines Gelatinepünktchen aufgetragen. Mit der gleichen feinen Glasnadel wurden Impfröpfchen von 1 mm Durchmesser in das Zentrum der kreisförmigen Beläge und in jenes feine Pünktchen eingetragen. Drei Temperaturen konnten hergestellt werden. Thermostat 23°, geheiztes Zimmer 14—15° und ungeheiztes Zimmer 12—13° C. für jede der Temperaturen kommen zwei Reihen der Entwicklung in Betracht: Das

¹⁾ Soweit die Abmusterung diesen Ausspruch zulässt. Dass die Kultur absolut frei von *Micrococcus* sei, ist, der Natur der Sache entsprechend, nicht möglich zu entscheiden.

radiale Vorrücken in der Nährgelatine und das Vorrücken von jenem kleinen Gelatinepunkten durch die Hauchschicht auf dem Glas nach dem ersten, zweiten u. s. f. Gelatinestreifen. Das Fortschreiten liess sich scharf beobachten mit Zuhilfenahme der Lupe und einer 0,5 mm Teilung auf Elfenbein.

Nährgelatine.

A) Das Fortrücken vom Zentralimpfpunkt in Nährgelatine ergibt nach 37 Stunden bei genau 23° im Thermostaten an drei Platten 5, 4, 3,27 mm, im Mittel 4,09 mm. Für die Stunde zu 1380 Minutengraden also 1,011 mm für den Radius.

B) Im geheizten Zimmer herrschten für 12 Std. 40 Min. 17° C., für 4 Std. 45 Min. 14° C., für 6 Std. 30 Min. $14,5^{\circ}$ C., für 12 Std. 45 Min. $14,5^{\circ}$ C. Als gesamtes Mittel der beobachteten Temperaturen wurde $14,25^{\circ}$ C. angenommen. Das radiale Vorrücken wurde zu 2, 1,12 und 1,75 mm gefunden, das Mittel ist gleich 2,435 mm. Für die Stunde zu 855 Minutengraden ergibt sich = 0,658 mm für den Radius.

Für das ungeheizte Zimmer ergab sich als Mittel $10,1^{\circ}$ C. Das radiale Vorrücken zu 0,125 mm, für die Stunde zu 606 Minutengraden Celsius, ist das radiale Vorrücken gleich 0,0038 mm. Die zweite Reihe, Fortrücken der Bazillen in der Hauchschicht zeigte in einer Platte ein positives Ergebnis: Die Geschwindigkeit von 1 mm für 37 Stunden und 23° C. (fragliches Resultat). In einer zweiten Platte, deren Temperaturgenuss für 50 Stunden 14° C. war, also 7000 Minutengrade Celsius, zeigte sich ein zweiter Punkt, schwach grünschillernd, zwei Gelatinestreifen waren hier übersprungen. Die Distanz ist 12 mm. Dies entspricht einem radialen Vorrücken von 0,24 mm für die Stunde.

IX. Verdrängung des *Bacillus monachae* durch das *Bacterium monachae* im Laufe der Kulturdeszendenz.

(Fig. 10, Taf. XX, Fig. 1—3, Taf. XXI.)

Zur Zeit Ende Juli bis August 1893 wurde aus dem zoologischen Institut der königlichen Forstakademie in Münden von einer an Flacherie erkrankten Nonnenraupe die Materie (Raupenleiche) eingeliefert zu einer Stichimpfung, welche *Bacillus monachae* II er-

gab. Diese Kultur durch den Winter in dreissigtägigen Intervallen weiter geleitet, ergab in der Deszendenzkultur am 26. Februar 1894 Fast Rein-Bacterium. Es müssen hier ganz wenige Bacteriumkeime allmählich in ihrer vegetativen Energie erstarkt sein, während die Energie des Bacillus abnahm.

Die Übertragung der verdünnten Deszendenzkultur am 27. Februar 1894 in Nährgelatine auf dem Objektträger ergibt nach fünfzehn Stunden die Formen der Fig. 10, Taf. XX, welche mit geringem Versehen als Entwicklungsstadien angesehen werden dürfen. Die erste Kultur links ergibt einen genauen Kreisbelag, mit zerstreuten dichteren Sphären im Mittelfeld. Die mittlere Figur zeigt den Belag mit einem genau zentralen, dreistrahligen System jener mehrfach hervorgehobenen Zooglöen und im Mittelfeld scharf umschriebene, endogene dichtere Sphären. Die Figur entspricht der Aktinomorphie, mit ganz gleichmässiger Ausbildung um das gegebene Zentrum. In der Nähe dieser Kultur liegen zwei kleine, fast homogene, fein gezahnte und im Mittelfeld fein granulirte Sphären. Der Schluss der Entwicklung in der Figur rechts oben zeigt die Randzone dichter gegenüber dem Mittelfeld. Die Granulirung des Randes löst sich bei $\frac{360}{1}$ auf in feinpunktirte Zooglöen im Parenchymverband mit intercellularen Lamellen der intakten Gelatine (Figur rechts unten). Der Abklatsch der Kultur Fig. 10, Taf. XX ergibt eine eigentümliche Adhäsionsfigur, von welcher eine kleine Randpartie in Fig. 2, Taf. XXI hier festgehalten sein möge. Die Bakterienmasse lagert sich am Rande des Tropfens im engen Parenchymverband, im Mittelfeld in weitere Polygone. a b entspricht einem Tropfen Bismarckbraunlösung. Die Pigmentlösung bildet in a b ihr eigenes Adhäsionssystem für den trockenen Zustand. Die nicht dicht belegten, in der Figur weiss gelassenen Zellenfiguren, stärker vergrössert (Fig. 3, Taf. XXI) zeigen kleinere dünne Verästelungen des Bacterienbelages. Drei mikroskopische Proben, mit Pigmenten behandelt, zeigen verschwindende Spuren von Bacillus (Fig. 1, Taf. XXI B C). Fuchsin, Gentianaviolett und Bismarckbraun heben dieses Bacterium am besten heraus. Bacterium ist durchaus vorherrschend.

X. Kulturbelag und Zooglöa.

Da die bakterienhaltige Flüssigkeitscyste (Zooglöa, Vakuole) zu stande kommt durch partiäre, örtliche, chemische Umsetzung, Zer-

setzung des Gelatinesubstrates in Flüssigkeiten von — je nach der spezifischen Natur der Bakterien — sehr verschiedener Konsistenz, welche sich in der Kohäsion der kleinsten Flüssigkeitsteile und in der Adhäsion der gebildeten Flüssigkeit an fester Unterlage kenntlich macht, so liegt es nahe, die Theorie der Zoogloäbildung abzuschliessen mit dem Hinweis auf die Wahrscheinlichkeit, dass bei gemischten oder unreinen sowohl, wie auch bei reinen Kulturen solche Verflüssigungen in mehrfachen Umsetzungen in einer und derselben Cyste (Vakuole, Zoogloä) beruhen. Wir nennen die Konsistenz des intakten Gelatinesubstrates A, die allmählich abnehmenden Konsistenzen a, b, c, wo a die weniger, c die mehr verflüssigte Masse bedeuten. Das gegebene Volumen des intakten Substrates der Cyste, in gegebener Phase (Fig. 7, Taf. XVIII) geht durch die Verflüssigung in die Konsistenz a über. Die entstandene Cyste nimmt jedenfalls an Volumen zu, bevölkert sich mehr und mehr, wächst, indem ihre Bevölkerung am Rande der Cyste feste Gelatine umsetzt, und übt einen hydrostatischen (Quellungs-) Druck auf die periphere feste Gelatine aus. Hiedurch kommt es zur Ejakulation, Fig. 7 bei 3 und 4, Taf. XVIII. In der Cyste können in gegebener Phase mit der Konsistenz a, Häufungen nachfolgender Entwicklungsstadien der Bakterien (Arthrosporen, Endosporen in Keimung, vegetative Glieder in erhöhter Teilungsenergie) zur Bildung von Zentren führen, welche die Konsistenz b besitzen. Dieses bedeutet: Eine mit Quellungsdruck wachsende Cyste b ist eingeschlossen in einer solchen mit der Konsistenz a (s. Fig. 5 BB, Taf. XIX, C bei E). Es kommt zur Ejakulation aus b durch a hindurch nach dem Orte des kleinsten Widerstandes (Fig. 10, A B C, Taf. XXXI). Ein Blick auf eine Reihe von Nährgelatinecylindern, in welchen Stichkulturen eines Flusswassers im Sinne der Alkohol-Fraktionierung ausgeführt wurden (s. Fig. 10, Taf. XVIII und die Figurenerklärung), zeigt, dass bei Gegenwart von 10—12 differenten, keimfähigen Bakterienkeimen alle möglichen oder doch eine grössere Zahl von Konsistenzübergängen und diesen entsprechende Ejakulationen zustande kommen. (Fig. 1, k, l, m, n, Taf. XXXIV, Fig. 2, 3, a, b, c, d, Taf. XXXIV.)

A. Die einfache Sphäre, Cyste, kann dementsprechend von Bakterien bewohnt sein, einer und derselben Art Reinkultur; sie kann sich teilen durch Ejakulation, Sprossung u. s. f.; sie ist sphärisch

begrenzt, wächst zunächst durch eigene Energie, wird durch Berührung mit Nachbarcysten abgeplattet und tritt in Parenchymverband (Fig. 1, Taf. XXXIV, Fig. 8, Taf. XXXIII).

B. Sie kann rascher durch Sprossung wachsen, als sie durch Verflüssigung des umgebenden Substratfestlandes an Volumen zunimmt; sie erscheint in diesem Falle an der Peripherie gewimpert, gestrichelt, ohne den scharfen Contour und den scharfen Lichtberechnungsunterschied der ersteren Art. (Man vergl. Fig. 5 B, Taf. XIX, mit Fig. 10 h, i, k, Taf. XVIII.)

C. Die einfache Sphäre oder die vielen Cysten im Parenchymverband werden endlich aufgelöst dadurch, dass die Bevölkerung in Zustände erhöhter Assimilation oder Bewegungsenergie übergeht. (Man vergl. die Übergänge in Fig. 7 B, C, D Taf. XIX).

Die kleinen Sphären in jenen Figuren entstehen durch örtlich gesteigerte Häufung der Keime. Die Keimhäufchen bilden Zentren der Energie in Bezug auf Propagation und chemische Umsetzung des Substrates. Die Einzelsphäre möge daher zunächst ins Auge gefasst sein. Die Keimhäufchen vergrößern sich im allgemeinen, wenn von örtlichen Dichteunterschieden im Gelatinesubstrat abgesehen wird, so dass eine Kugel oder im Flächenbelag ein Kreis entsteht; sie bilden in diesen Formen eine Flüssigkeit, welche mehr oder weniger viskos, jedenfalls eine andere Konsistenz hat wie das Substrat in ihrer Umgebung. Von einer solchen bakterienerfüllten Cyste (Tropfen, Vakuole, Zooglöa?) ausgehend kann man diese Entwicklungsmodalitäten festlegen:

A. Die Sphäre ist rein oder fast rein; das heisst, sie enthält nur eine Spezies oder doch nur Spuren der Beimengung einer oder mehrerer differenten Spezies.

a) Sie bildet den Ausgangspunkt zur Propagation der Sphären durch Sprossung (Fig. 1 a—h, Taf. XXXIV, Fig. 4, 5 G, Taf. XXXIV). So verhalten sich auch die Zooglöen, an welchen die dunkleren Belage gesehen werden, aus deren Rissstellen lichtere Sphären hervorrage (s. Fig. 7, Taf. XXIX bei a, b), und die gelben Blasen, welche aus braunen oder roten Belagschichten hervorrage (Fig. 16, Taf. XXVII, Fig. 8, Taf. XXVIII). Diese dürfen als Durchbrüche, Ausbrüche angesehen werden. Auch die Zooglöa Fig. 1, Taf. XXIII und Fig. 4, 5, 6, Taf. XXVIII sind vielleicht hierher zu nehmen.

b) Die Propagation geschieht durch Ejakulation. Hierher zähle

ich die Erscheinungen in Fig. 27, Taf. XII. Die blasigen, am Rande auftretenden Hyalinsphären sind jedenfalls Durchbrüche der (hier) braun erscheinenden Belagschicht; die Fig. 9, Taf. XI zeigt solche Ejakulationen bis zum Austreten von Einzelsphären aus dem Verbände.

c) Die Propagation geschieht durch Teilung der Sphären. Solche Übergänge findet man in den Figurenreihen 4 und 5, Taf. XXXIV.

d) Die Propagation der Sphären geschieht durch Häufung der Bakterien in eine Kernsphäre und durch Teilung dieser (Fig. 4, 5 bei g, Taf. XXXIV).

B. Die Cyste ist unrein, entspricht einer Mischkultur. Hierher sind die Gruppen 4, 5 A und B, Taf. XXXIV zu stellen und für die Belagkomplexe alle jene Kulturen der Gewässer, wie sie in den Tafeln XI, Fig. 5, Fig. 8, 9, Taf. XI, Taf. XII, Fig. 3—5, Fig. 12, 13, Taf. XII, Fig. 27, Taf. XII und vielen anderen dargestellt sind.

C) Die Cystenbildung tritt reichlich ein, wenn eine Kultur durch Eingriffe mit einer Glasnadel gestört wird. Ein solcher Eingriff bewirkt eben eine erneute differente Häufung der Keime und bewirkt eine erneute Steigerung durch die Luft(0)wirkung.

D) Die Cysten häufen sich am Rand und treten in Verband.

a) Sie bilden sich nur am Rand, das Mittelfeld bleibt granuliert oder homogen. Fig. 9, Taf. XI. Fig. 3 und 4 B, Taf. XIV.

b) Sie bilden sich am Rand und im Mittelfeld. Parenchymaverband des Mittelfeldes. Fig. 7 B, Taf. XIX. Fig. 6, Taf. XXV. Fig. 1, Taf. XXVII. Fig. 7, Taf. XXIX. Fig. 4, Taf. XXXIII. Fig. 6, Taf. XXXVI.

E) Die Entwicklung aus D schliesst ab mit Auflösung des Parenchymaverbandes durch erneute Energie in der Ausstrahlung oder Wanderung von Keimen, beweglichen Zuständen u. s. f. Fig. 7, Taf. XIX.

F) Liegen die Keimhäufchen örtlich sehr dicht beisammen, so treten sie je nach der Energie in den entstandenen Cysten in Verbände mit Abglattung der Berührungsflächen zu Ketten, Tetraden, Halbsphären, Polyedern, so in den Figuren 5, Taf. XVIII — 5, Taf. XIX — 1, Taf. XXIII — 16, Taf. XXVII — 1, Taf. XXXIV — 8, Taf. XXXIII für Kettenfigur 4, Taf. XVIII, für Tetraden u. s. f.

In den Belagen von sehr verdünnten Bakterienkulturen, nament-

lich von Flusswasser, auf Nährgelatine lassen sich diese Übergänge nachweisen und an der Hand der von Sachs seiner Zeit gegebenen Erklärung für die Emulsionsfiguren theoretisch darlegen. Der Belag kann mit gleicher Verteilung der Keime gleichmässig sein und wird dem Kreise sich annähern und im Allgemeinen diese Form beibehalten. Während der Keimung aber bewegen sich in dem Wasser im Sinne der fein suspendirten leblosen Partikel die Bakterienkeime. Sie ordnen sich in Emulsionsfiguren, gelangen zur Keimung und markiren dementsprechend ihre Lage durch Cysten (Zoogloen, welche zunächst mikroskopisch klein sind). Sie ordnen sich in die Peripherie und bilden zierliche Kreisketten von Parenchymaform. — Die Ejakulation und Effusion ist oben befriedigend erklärt. Flusswasser ist ein Gemisch mehrerer oder zahlreicher Bakterienkeime, von welchen immer mindestens eine Bakterie auskeimt, welche den Leim langsamer oder rascher verflüssigt. Solche Bakterien stören bald die Anordnung, es entstehen Lagunen, in welchen die Reste der ersten Kolonien flottiren, bis in einer weiteren Succession mehr oder weniger konsistente Zoogloen auftreten. In gleichem Sinne wirken leimverflüssigende und zugleich bewegliche Bakterien. Diese strahlen rasch in radialer Richtung von dem Kulturzentrum ins Weite. Es bilden sich hier unter Umständen Ringzonen.

XI. Die von Sachs'schen Emulsionsfiguren¹⁾ und Theorie der Vorgänge auf der Nährgelatine.

Es möge hier in Kürze die Theorie der Emulsionsfiguren, wie sie von Sachs für Algenschwärmsporen entwickelt wurde, für Wassertröpfchen, welche auf Nährgelatine aufgetragen werden, dargelegt sein. Die sehr feinen und gleichmässig in der Flüssigkeit verteilten Körperchen (in den Experimenten des Herrn von Sachs waren es sehr fein verteilte Öltröpfchen, hier sind es die Bakterienkeime: Arthrosporen, Endosporen oder die vegetativen Glieder der Bakterien) unterliegen in dem kreisförmigen Tropfen auf der Gelatine Strömungen infolge des Temperaturunterschiedes zwischen Rand und Mittelfeld

¹⁾ J. von Sachs, Flora 1876 und Handb. d. Verf., Allgem. Botanik, erster Teil, S. 266. Sachs unterscheidet konzentrische (aktinomorphe) und symmetrische (polarisirte) zygomorphe Emulsionsfiguren. Die ersteren kommen bei genau gleicher Verteilung der Temperaturdifferenzen um den Tellerrand zustande.

des Tropfens einerseits, zwischen Unterlage und Spiegelniveau des Tropfens andererseits.

I. Ist dieser Temperaturunterschied an jedem Punkt des Randes nach dem Mittelpunkt des Kreistropfens der gleiche, so entstehen, da in den radialen Strombahnen die kleinen Partikel mehr gehäuft werden, aktinomorphe Emulsionsfiguren, so hier die Figuren 7, 9, Taf. XI — 4, 5, Taf. XIV — 20, Taf. XVII — 7, Taf. XIX — 9, 10, Taf. XX.

II. Ist die Verteilung der Temperaturunterschiede aber ungleich nach einer gegebenen Richtung der Strahlung, etwa nach einem Fenster zu stärker, so entstehen die mehr oder weniger symmetrisch polarisierten Emulsionsfiguren, so bei den Bakterienkulturen Figuren 7B, Taf. IX — 9, Taf. IX — 4B, Taf. XIV — 4, Taf. XII — 3, 4, 26, 27, 29, Taf. XII.

III. In einem jeden Wassertropfen, welcher feine feste Partikel enthält tritt beim Verdampfen eine Häufung der Partikel am Rande ein.

Aus diesen drei physischen Momenten lassen sich ohne Zwang alle hier in zahlreichen Tafeln genau niedergelegten Formentwicklungen erklären, wenn man beachtet, dass der örtlichen Häufung der Keime in der Emulsionsfigur die Keimung und Zooglöa oder Cystenbildung auf dem Fusse folgen, dass Verschiebungen, Ejakulation, Sprossungen und Fortbewegung von Schwärmindividuen, die Bilder komplizierter machen. Im nachfolgenden die Synopsis aller Beobachtungen:

A) Aktinomorphie. Nach der Theorie entstehen vom Mittelpunkt des Tropfens mehrere oder viele Zirkulationsströme, welche am Grunde des Gewässers hin, im Spiegelniveau hergerichtet sind. In diesen Bahnen bewegen sich die Keime, gelangen zur Keimung und markieren eine aktinomorphe Figur. Siehe Taf. XII, Fig. 4. Fig. 1, Taf. XXII. Fig. 4, 6, 7, Taf. XXV. Fig. 2, Taf. XXXI und viele andere Figuren dieser Art.

a) Aktinomorphie ohne Zentralstrahlen. Hierher rechne ich jeden Kreisbelag, in welchem sich mehr oder weniger radial gelagerte Zooglöenketten vorfinden, in welchem randständige Zähnebuchten sich ausbilden, eine jede Kreisfigur, welche von $1/2$ mm, rasch in 24—36 Stunden, zu einem Kreis von 4, 6, 10 mm heranwächst. In jedem solchen Bakterienbelag müssen Vorstösse, Wanderungen von Keimen zunächst vorherrschend in radialer Rich-

tung vor sich gehen, weil das Zentrum dicht bevölkert ist, der Randvorstoss in ergiebige intakte Nährregionen führt.

b) Aktinomorphie mit zentralen aktinomorphen Strahlen von dichteren Belagstellen und Zooglöen. Dichte Belagstellen ohne weitere Differenzirung in Zooglöen weisen auf die Figuren 5 I, II, Taf. XX — 10, Taf. XX — 1 A, Taf. XXII. Diese letztere Figur zeigt auch ziemlich regelmässige Tangentialbänder. — Fig. 10 B, Taf. XXIV und 10 A, Taf. XXIV. Diese Figur zeigt das aktinomorphen System, wie wenn es durch einen Tangential- und Radialstromwirbel verschoben wäre. Bei guter regelmässiger Ausbildung liegen genau so wie hier die dichteren Radialstrahlen. Zooglöen in Radialketten vielgliedrig mit scharfen Konturen wie Zellenketten. Solche sind: Fig. 7 B, Taf. XIX fast genau pentamer, Fig. 10, Taf. XX triamer und durchaus regelmässig gleichstrahlig.

B) Polarisation. Hierher gehören alle schon früher beschriebenen Kulturen auf gewöhnlicher Gelatine und alle hier noch zu nennenden, ferner die Figuren des Herrn v. Tubeuf. (Forstl. naturwissenschaftl. Zeitschrift. Januar 1892. Fig. 7 und 8, Taf. IX) in unseren Tafeln Fig. 7 A, B, 9, Taf. IX und alle elliptischen Beläge. Die Polarisation solcher liegt in dem Widerstand des Substrates, welcher genau nach zwei zu einander senkrechten Richtungen am grössten und kleinsten ist, oder im allgemeinen mehr oder weniger unregelmässig verteilt sein muss. Dieses Moment hat zunächst nichts zu thun mit der Polarisation der Emulsionsfiguren im Sinne des Herrn von Sachs. Die bei von Sachs supponirten Ströme können aber mit jenem Moment zusammenwirkend eine komplexe Erscheinung zustande bringen.

a) Ohne Zentralstrahlung von Cysten oder Zooglöen-Differenzirung im Mittelfeld. Hierher rechne ich alle auf Nährgelatine sich elliptisch ausbreitenden oder in einer gegebenen Richtung allein wachsenden, sprossenden Kulturen (Fig. 5, 6, Taf. XI — Fig. 9, Taf. XV — Fig. 7, Taf. XXVII — Fig. 10, A B, Taf. XXXI — Fig. 6 A, Taf. XXXVI).

b) Mit zygomorpher Strahlung von Cysten oder Zooglöen im Mittelfeld. So wie es bei von Sachs betonte wurde, dass die einseitig polarisirten Figuren häufiger zustande kommen, wie die rein konzentrischen (aktinomorphen), so auch hier. Das Strahlensystem von Zooglöen ist ganz unregelmässig oder nach

einer Seite stark gefördert: Fig. 5, Taf. XI — Fig. 12, 26, 27, 29, Taf. XII — Fig. 6, Taf. XXV.

C. Kombinationen aus A und B. Die schönste Kultur auf Nährgelatine, welche beide Verhältnisse demonstriert, ist eine Wasserkultur (Fig. 4, Taf. XII). Sie ist breit elliptisch, am Rande gleichmässig doppelt gebuchtet, mit Radialstrahlen am Rande, im Mittelfeld gleichmässig mit Sternkonfigurationen bedeckt, also fast aktinomorph. Etwas exzentrisch liegt das Zentrum für die einseitig fast genau in der grossen Ellipsenaxe geförderte Zooglöenstrahlung. Diese sind Zellenketten, aussen einreihig, innen zweireihig. Der Grundbelag und dieses System sind gleichförmig einseitig polarisirt. Das Ganze ist eine elegante Kombination der Aktinomie und der zygomorphen Symmetrie.

D. Aktinomie und Randvorstösse, Zähne. Ist das Substrat homogen, haben die Keime eine stabile Lage gewonnen, sind jene Strömungen im Sinne der Sachsschen Emulsionsfiguren sistirt, so ist keine äussere Ursache mehr für die Formentwicklung aufzufinden. Von nun ab müssen es innere, in den Bakterien belegene Tendenzen sein, welche Rassen- oder Speziesunterschiede kennzeichnen. Dahin rechne ich die Gruppierung im Mittelfeld, die Randvorstösse, Zähne, Doppelzähne u. s. f. Indes werden für eine und dieselbe Bakterie hier immer noch verschiedene Substrate verschiedene Erscheinungen zustande bringen. Es müssen daher Parallelkulturen verschiedener Arten, Gattungen, auf einem und demselben Substrat hier allein massgebend sein für den spezifischen Unterschied. Dass derartige Unterschiede bestehen, geht aus der Vergleichung der Mischkulturen von Gewässern hervor, wie sie oben der Entwicklung nach geschildert wurden. Aus dem Gegebenen schon lässt sich diese Zusammenstellung geben:

I. Der Gesamtbelag ohne Zellenstruktur granulirt oder mit charakteristischen Konfigurationen:

- a) der Rand ohne merkliche Buchten.
- b) der Rand mit Zähnen oder Doppelzähnen

II. Der Gesamtbelag mit Rand- (Ring-) Zone und Mittelfeldzone

- a) wie vorher.
- b) wie vorher.
- c) die Randzone radial gestreift.

III. Der Gesamtbelag im Mittelfeld ohne Zellenstruktur, der Rand mit Epithelstruktur.

IV. Mittelfeld und Rand mit Zellenstruktur.

a) ohne Zooglöenzentralstrahlung.

b) mit solcher.

Mit Leichtigkeit lässt sich aus dem gegebenen Material von Zeichnungen ein noch mehr in Details eingehender diagnostischer Schlüssel entwerfen. Vorderhand möge hievon Abstand genommen sein, ehe der Beweis für die Formenreihenkonstanz beigebracht ist.

XII. Der Kulturbelag der Rein- und Mischkulturen.

Wiewohl von vornherein aus den gegebenen Kenntnissen der Bakteriengattungen *Micrococcus*, *Bacterium*, *Bacillus* und *Vibrio* kaum anzunehmen war, dass verschiedene Spezies a, b, c u. s. f. von *Micrococcus*, *Bacterium* u. s. f. auf einem und demselben Kulturesubstrat, Kulturbeläge Zooglöen bilden, welche einer gemeinsamen Gattungsdiagnose sich fügen, so lag doch aus den Beobachtungen in den Wasseruntersuchungen die Initiative nahe, zuerst Reinkulturen der Gattungen, sodann Mischkulturen künstlich herzustellen und in Parallelversuchen zu beobachten. Die Masse der Reinkulturen wurde mit sterilisiertem Wasser so weit verdünnt, dass die Flüssigkeit eben leise getrübt erscheint. Die Impfung geschah in Nährgelatine auf dem Objekträger.

A = *Micrococcus*, B = *Bacillus* der K. 8, C = *Bacillus* der Heidelberger Wasserleitung, D = *Bacterium monachae*.

Am Sonntag den 4. März wurden diese Reinkulturen auf Gelatinetropfen, zu gleicher Zeit wurden die Kombinationen aller in gleicher Weise zu je 2—3 Platten geimpft.

Kombination A B *Micrococcus* und *Bacillus* der Kult. (8).

„ A C „ „ „ „ „ „ Heidelb. Wasserlsg.

„ A D „ „ „ „ „ „ *Bacterium monachae*.

„ B C *Bacillus* der K. 8 und *Bacillus* der Heidelb. Wl.

„ B D „ „ „ „ „ „ „ „ *Bacterium monachae*.

„ C D *Bacillus* der Heidelberger Wasserleitung und *Bact. monach.*

Die vier Reinkulturen und die sechs Kombinationen, jede zu drei Platten, ergaben dreissig Platten. Nach zwanzig Stunden waren alle Kulturen mit grösserer und kleinerer Energie angegangen, mit Ausnahme des *Micrococcus* Rein A (und mit Ausnahme der Kombination A C). Da die Impfungen mit der gleichen Nadel ausgeführt wurden, so können Relationen des Durchmessers der sphärischen Kolonien hier verzeichnet werden:

	Durchmesser in mm
I. Reinkulturen:	
A <i>Micrococcus</i>	0,00
B <i>Bacillus</i> der K. 8	2,87
C <i>Bacillus</i> der Heidelberger Wasserleitung	3,00
D <i>Bacterium monachae</i>	3,87
II. Mischkulturen:	
A B <i>Micrococcus</i> und <i>Bacillus</i> der K. 8	2,25
A C " " " " Heidelb. Wasserl.	3,00
A D " " <i>Bacterium monachae</i>	3,25
B C <i>Bacillus</i> der K. 8 und <i>Bacillus</i> der Heidelb. Wl.	4,00
B D " " " " <i>Bacterium monachae</i>	2,87
C D <i>Bacillus</i> der Heidelberger Wasserleitung	3,58

Die Kombination A C kam spät, aber entscheidend. Da die Reinkultur *Micrococcus* nicht angegangen war, — sie stammte von einer Trockenplatte aus dem Januar 1893 ab — so wurde am 15. März ein Rein*micrococcus* von einem Fussnagel gezüchtet und nochmals aus den Trockenplatten B, C, D vom 4. März die entsprechenden Gemische hergestellt, geimpft, nach 24 und 48 Stunden präparirt, gezeichnet und alle Resultate in den Tafeln XXI—XXVII festgelegt.

XIII. Diagnose des Kulturbelages oder der Zoogloen.

A. Die Reinkulturen.

- a) Rein *Micrococcus* aus dem Abschnitt eines Fussnagels kultivirt.

(Fig. 1—3, Taf. XXII, Fig. 4—11, Taf. XXI.)

Der Belag beginnt mit einer guten aktinomorphen Figur. Diese ist hexamer mit zwei peripheren geschlossenen Zonen und einer dritten solchen (Fig. 1 A. Taf. XXII), welche durchbrochen erscheint.

Nach 24 Stunden treten Sphärenhäufungen im Sinne der Strahlen und Randhäufungen auf, mit sphärisch-mäandrischer Umgrenzung (Fig. 1 B, Taf. XXII); nach 36 Stunden fließen diese zu dichteren Zonen zusammen (Fig. 1 C). Die Figuren 4, 5, Taf. XXI ergeben die Initialen des Belages. Die dunkel gehaltenen kleinen Kreise geben die Häufung der Micrococcus-Individuen an, senkrecht zur Ebene der Zeichnung, gegenüber der Lage dieser in einer und derselben Ebene. Die Kultur beginnt mit nicht parenchymatosen Granulirungen und endet mit zusammenfließenden Sphären. Der Kreisbelag zeigt einen bogenlinig begrenzten Rand. Die genaueren Einzelheiten des Vorganges ergeben sich aus den Figuren 4 u. s. f., Taf. XXI. Der Belag beginnt mit Gruppen von Micrococcus in Ketten, Diplokokken und Gruppen im Hexagonalverband (Fig. 4, Taf. XXI). Hieran schliessen sich einschichtige Sphären, A B, Fig. 5. Wiewohl in diesen Flächen nur eine Schicht liegt, herrscht doch ein Kohäsionsunterschied. Mittelfeld und Randzone lassen in B einen kleinen Brechungsunterschied wahrnehmen. Auch Abhubreihen, Fig. 6, 7 a, und am deutlichsten Fig. 8 a a, weisen hin auf Kohäsionsunterschiede der absoluten Grenzreihen von Mikrokokken, gegenüber den Binnenflächen der Kolonie. Auch Durchbrüche bei Fig. 8 b kommen vor. Die Kreiskolonie a, muss als Sprossung oder Ejakulation aus dem durchbrochenen Rande angesehen werden. Die Massenanhäufungen zeigen grosse und kleine Halbkugeln, welche sich über die Grundmasse modeln (Fig. 10, Taf. XXI. Im Meniscus der Gelatine im Cylinder, Fig. 11, Taf. XXI, bilden sich zierliche Ketten solcher Sphären, um den Stichkanal Häufungen solcher (Fig. 3, Taf. XXII), stärkere Vergrößerung einer Partie im Gelatinemeniscus der Kultur Fig. 11, Taf. XXI.

b) Rein-Bacillus der Kult. 8, Flacherie-Nonnenraupe.
(Fig. 2—6, Taf. XXIII.)

Die Kultur beginnt mit glattbogenlinig begrenzter Sphäre (Fig. 2, Taf. XXIII); zuerst granulirt, erscheint sie bald (Fig. 2 B) im Mittelfeld sternförmig gestrichelt, am Rande gewimpert (Fig. 2 C); zuletzt ist der Rand bogenlinig doppelt gesägt. Zahlreiche kleine Halbsphären in einer Ringzone und flache Mamellen im Mittelfeld, welche scharf gestrichelt erscheinen. In der Kultur 3 eine

Sphärenzooglöa mit konzentrischer Kernzone. Die Fig. 4, Taf. XXIII ergibt die Lagerung der Bazillen in einem Zahn. Die Bazillen im Klatschpräparat unterscheiden sich: Fig. 4 die Anordnung in einem Randzahn; Fig. 5 die Kurzfäden aus mehreren Zähnen der Kultur Fig. 3. Die Bacillen der Zooglöa sind Langfäden in mycelähnlicher Verflechtung Fig. 6. Darf von einer Charakteristik des Kulturbelages Fig. 3 gesprochen werden, so lautet diese: Flacher, doppelt gezahnter Rand, erhabenes Mittelfeld, mit flachen, scharf gestrichelten Sphären, dichtergestellten kleinen Sphären nahe dem Rande, Kurzglieder der Bacillen in den Zähnen, Langfäden in den Zooglöa des Mittelfeldes.

c) *Bacillus* der Heidelberger Wasserleitung.
(Fig. 7—11, Taf. XXIII.)

Die Kultur dieses beweglichen *Bacillus* ergibt schon im ersten Zustand Fig. 7 A ein homogenes, fein granuliertes Mittelfeld, einen schwach und unregelmässig gezähnelten, hyalinen Rand. Etwas später erscheint das Mittelfeld stärker granuliert, der Rand fein dicht gezähnelte, die Randzone fein radial granuliert, gestreift. Zuletzt, nach 48 Stunden, ist der Rand tief buchtig gezahnt mit schwachen Doppelzähnen. In den Zahn hinein ragen dichtere Grundmassen, so dass die Zahnrandzone mehr hyalin zum Ausdruck kommt als das dicht granuliert Mittelfeld. Zwei Zähne, Fig. 10, zeigen den Durchbruch mehrerer Langfadenbacillen. Der Klatsch Fig. 11, Taf. XXIII deutet die Lage derselben in Mäanderfiguren an. Fig. 11 B, der Abklatsch eines Zahnes, zeigt die bogenlinige Figur der Langfäden und zwei beginnende Durchbrüche a b.

Die Charakteristik des Endzustandes unter demselben Vorbehalt: Der Kulturbelag ist am Rande doppelt gezahnt, in die Hauptzähne treten amöbäähnliche Radialbuchten ein. Das Mittelfeld ohne Sphären homogener granuliert mit einer dichteren Randzone. Der Rand ist nicht gewimpert und ist in keiner der Kulturphasen Fig. 7 ABC gewimpert. Die Zähne enthalten sehr lange, flachspiralige Fäden, die *Vibrioform* (der Autoren).

d) Rein *Bacterium monachae*.

(Fig. 1—6, Taf. XXIV.)

Der genau kreisförmige Belag Fig. 1 B ist überaus homogen in B granuliert, bei durchfallendem Licht braun, bei auffallendem etwas irisierend. Zuletzt ist die Kultur (Fig. 2) ein Teller mit etwas bogenlinig geschweiftem Rande. Die Randzone ist vom Mittelfeld durch eine erhabene Ringzone geschieden und erscheint radial von den Buchten aus gestreift. Das Mittelfeld ist homogen ohne jede scharfe sonstige Konfiguration. Ebenso charakteristisch ist der Klatsch des Randes bei $\frac{8}{1}$ (Fig. 3) und eine kleine Partie dieser Ausflussfigur bei S 7 VIII HO₂, Fig. 5. Die Bakterien liegen am Rand in Ketten. Kleine Zähne, Fig. 4 a b, durchbrechen diese Randketten. Man findet die Bakterien Fig. 5, 6 in der Kultur in allen Phasen der Teilung. Die Charakteristik: Die Kultur ist im Mittelfeld homogen, granuliert sehr dicht, die Randzone radial gestreift, schwach bogenlinig eingebuchtet. Sie irisirt und erscheint bei durchfallendem Lichte braun. Diese Charakteristik muss, gegenüber den drei vorhergehenden, relativ stark oder gut genannt werden. (Man vergl. alle Endphasen.)

B. Die Mischungen.

a b *Micrococcus* und *Bacillus* der Kult. 8.

(Fig. 7—10, Taf. XXIV.)

Der Interessent wird sich die zu a allein und die zu b allein gehörigen Bilder der Entwicklung (s. Taf. XXIII u. s. f.) möglichst genau dem Formgedächtnis einprägen. Es kommen für den Anfangszustand zur Anschauung Fig. 7, Taf. XXIV, homogen granuliertes Mittelfeld und hyaline und an der Peripherie fein gezahnte Randzone. Fig. 10 A entspricht einer Kombination zwischen Aktinomorphie und einseitiger Polarisation (s. oben) Fig. 10 B und eine berandete, rein aktinomorphe Figur mit sechs fast gleichen Strahlen. Zu der ersten Form (Fig. 7) gehört, 48 Stunden nach der Impfung, der Belag der Fig. 8. Derselbe ist im Mittelfeld mit grösseren, am Rande mit kleineren Mamellen dicht besetzt. Mehrere grosse Kugelzoogloen, im Sektor der Fig. 8 liegen deren drei. Die Peripherie ist dicht gewimpert. Die Mamellen sind scharf gestrichelt.

Die Charakteristik liegt somit: Mit Rein *Micrococcus* hat unsere Mischkultur das öftere Auftreten der aktinomorphenen Figuren (man vergl. Fig. 10 A und B mit Fig. 1, Taf. XXII A), die kleineren Halbsphären (Mamellen) und den nicht gezahnten Rand — mit der Rein *Bacillus*-kultur dagegen die gestrichelten Mamellen (Fig. 8) und den gewimperten Rand gemein. (Man vergl. Fig. 8—10 einerseits mit Fig. 2 C, Taf. XXIII andererseits.) Der gewimperte, etwas gebuchtete Rand der Kultur Fig. 8 löst sich (Fig. 9) auf in Fadenbazillen von mittlerer Länge. Der Rand Fig. 10 G zeigt in der Figur 10 H den Durchbruch der Bazillen durch die *Micrococcus*-randzone.

ac *Micrococcus* und beweglicher *Bacillus* (*Vibrio*?)
 der Heidelberger Wasserleitung.
 (Fig. 1—5, Taf. XXV.)

Die Kultur beginnt mit dem sehr dünnen Belag Fig. 1 A (zwanzig Stunden nach der Impfung), welcher am Rande sehr fein gezahnt, im Mittelfeld mit unregelmässigen Sternkolonien bedeckt erscheint. Der Rand, stärker, $\frac{360}{1}$, vergrössert, Fig. 1 B, zeigt nun in der homogenen Grundsubstanz unregelmässig eckige Vakuolen mit Bazillen und Bazillenlangfäden, welche durch die Zähne ausstrahlen. Der Rand ist doppelt gezähnt. Nach 48 Stunden ist die Kultur zu einer am Rande tief gebuchteten, im Mittelfeld mit abenteuerlichen Mäanderfiguren bedeckten Kreisfigur entwickelt (Fig. 2). Die Bazillen liegen im Zahn des Randes in Faszikeln, welche zu Polygonen geordnet sind, Fig. 3, Taf. XXV. Eine erneute Impfung am 14. März 1894 ergibt die Kultur Fig. 4 C nach 24, Fig. 4 E nach 48 Stunden. Hier liegen vom Zentrum ausstrahlende Ketten von Zoogloen, entsprechend den Radien der Figuren 4 a b. Der Rand der Kulturen ist mit kleinen Halbsphären bedeckt, welche zum Teil kurzgestielt sind. Das Mittelfeld mit flachen Erhebungen und, in der Phase C, mit zahlreichen Kugelzoogloen. Der Abklatsch ergibt in der Verdünnung die *Micrococcus*gruppen Fig. 5 A und in B die Lagerung derselben in einer *Micrococcus*-Zoogloä und in deren Nähe. Die Charakteristik liegt in dieser letzteren Kultur: Von dem *Micrococcus* hat die Mischkultur die zahlreichen kleinen Zoogloen. Die Aktinmorphie in den ersten

Phasen Fig. 4 A B den nicht gezahnten Rand (die Wimperung fehlt vollständig). Von dem Bacillus (Vibrio) die etwas ausgeprägtere Buchtung in dem Rande, welche gleichwohl nicht Zähnelung genannt werden kann.

ad Micrococcus und Bacterium monachae.

(Fig. 6—10, Taf. XXV.)

Ein sehr feiner Kreisbelag leitet die Kultur ein, Fig. 6. Abweichend von allen bisherigen zeigt dieser Zoogloen (Cysten) in vollständigstem Parenchymverband, sowohl im ganzen Mittelfeld, als auch am Rande, wo der Epitheltypus herrscht. Der Kontakt ist im Mittelfeld, bis auf drei Intercellularräume, vollständig. Von dem Zentrum strahlt ein System kleinster, aber dicht bevölkerter Zoogloen aus, welche in isolirte Radialgruppen geordnet sind. So liegt die Sache 20 Stunden nach der Impfung. Fig. 7 zeigt dieselbe Kultur nach 48 Stunden. Der Belag ist nun ein dichter, die Fläche irisirt bei auffallendem Lichte, erscheint bei durchfallendem Lichte hellbraun. Im Mittelfeld ist das Parenchymgefüge soeben noch schwach erkenntlich, der Rand ist bogenlinig gebuchtet, die Einbuchtungen entsprechen den Radialwänden der epithelartigen Randzone. Die aktinomorphen Zoogloenketten, welche vom Zentrum ausstrahlen, sind verstärkt und das Mittelfeld zeigt gegen den Rand weisse, radial gestreifte Konfigurationen (Durchbrüche des äusseren Belages).

Charakteristisch ist die Randbuchtung, die Textur des äussersten Belages, die Farbe bei durchfallendem Lichte (Bacterium) und die hellen Figurendurchbrüche (Bacillus); man vergl. die Reinkulturen.

b c Bacillus monachae (Kult. 8) und Bacillus (Vibrio der Heidelberger Wasserleitung).

(Fig. 11, 12, Taf. XXV, Fig. 1, 2, Taf. XXVI.)

Zwanzig Stunden nach der Impfung zeigt die Kultur Fig. 11, Taf. XXV einen feingezahnten Rand; derselbe erweist sich bei stärkerer, $\frac{360}{1}$, Vergrösserung gezahnt mit Sterngruppen von Bazillen in den Zähnen (Fig. 11 B). Die überaus scharfe Charakteristik der Kulturkombination kommt nach 48 Stunden (Fig. 1, Taf. XXVI) zum Ausdruck. Der Belag hat eine zentrale Radialgruppe von Kugelzoogloen. Das Mittelfeld ist mit zahlreichen grossen

und kleinen Halbsphären (Mamellen der Grundsubstanz) bedeckt. Diese sind scharf gestrichelt (man vergl. Fig. 3, Taf. XXIII). Beachtenswert ist eine Zone dichtester Kleinsphären nach dem Rande zu. Diese kommt in den Klatschpräparaten Fig. 12 A B, Taf. XXV zur besseren Übersicht. In A ist der Rand mit den Sterngruppen von Bazillen, in B sind die Bazillen der kleineren Sphären besser zum Abdruck gelangt. Der Rand der Kultur Fig. 1, Taf. XXVI ist tief gebuchtet, die Zähne doppelt gekerbt. Der Abklatsch der Randpartie ergibt im trockenen Zustand eine auffälligste Lagerung der Bazillen für einen Zahn, Fig. 2, Taf. XXVI für mehrere kleine Partien in der Nähe der Zähne. Nach diesen Aufnahmen setzt sich der Zahn zusammen aus Faszikeln von Bazillen, deren Axe in mannigfacher Richtung orientirt erscheint. Die letzten Buchten sind Einzelfaszikel oder verschobene Ketten, Fig. 2 A B, Taf. XXVI. Die Faszikel sind so geordnet, dass auf je drei Kurzstäbe ein Langstab kommt, welcher die bazillenleeren Interstitien für mehrere Kurzstabfaszikel überbrückt. Um diese eigentümliche Lagerung besser zur Anschauung zu bringen, sind in den Figuren 2 A B, Taf. XXVI die bazillenfreien Flächenstücke schwarz angelegt. Die Berandung des Zahnes zeigt auch zahlreiche Faszikel, deren Axe parallel dem Rande gerichtet, oder solche, deren Axe senkrecht zum Rande steht, bei Fig. 2 E a, Taf. XXVI. Eine Kette von Kurzstäben bildet nach aussen die endliche Begrenzung des Systemes. Unter dem Zahn liegt die aus wirr verflochtenen Langfäden zusammengesetzte Randzone des Mittelfeldes, Fig. 2 E c d. Die Charakteristik der Kultur liegt im Fehlen der Wimpern, im Vorhandensein der tiefen Buchten und Zähne, der zahlreichen gestrichelten Halbsphären, Mamellen auf homogener Grundsubstanz (vergl. Fig. 3, Taf. XXIII und Fig. 8, Taf. XXIV) und in der eigentümlichen Lage der Bazillen am Rande.

bd *Bacillus monachae* Kult. 8 und *Bacterium monachae*.
(Fig. 3—5, Taf. XXVI.)

In der ersten Phase, 20 Stunden nach der Impfung, Fig. 3 A B, ist die Kultur bei auffallendem Lichte weiss, schwach irisierend, bei durchfallendem Lichte hyalin. Die Randzone zeigt epithelähnlichen Parenchymverband, indes in dieser Hinsicht nicht von dem scharfen

Gepräge der Kontaktflächen wie Fig. 6, Taf. XXV. Diese letztere Figur ist aber durchaus massgebend, da beide Kombinationen Parenchymverband ergeben, wenigstens in der ersten Phase, da keine der beiden Bakterien, für sich allein kultiviert, den Verband zeigte, da alle Kombinationen des gegebenen Bacillus den Verband nicht zeigen (man vergl. die ersten Phasen der Kombinationen AB, BC, BD), so bleibt nach der Differenzmethode nur Bacterium als der Urheber jener Anordnung (also D ist massgebend, man vergleiche Fig. 1, Taf. XXVII für die Kombination AD). Nach 48 Stunden ist die Kultur Fig. 4, Taf. XXVI dicht im Mittelfeld belegt (der Parenchymverband ist ganz verschwunden); sie ist bei auffallendem Lichte weiss und stark irisierend, bei durchfallendem Licht braun, bis auf die hyalin farblosen sternförmigen Durchbrüche in der Nähe des Randes. Der Rand ist regelmässig buchtig bogenlinig begrenzt, zeigt flossenähnliche, tangential geschichtete, farblose Durchbrüche. Die Randpartie Fig. 5, Taf. XXVI zeigt im trockenen Klatschpräparat dichte Lage der Bakterien in der absoluten Grenze in Reihen, welche durchbrochen sind von Bazillenlangfäden, diese lockern örtlich auch das Gefüge der Bakterienlagerung, bilden Vakuolen, ein Verhalten, welches dadurch in der Fig. 5, Taf. XXVI sich herausheben liess, dass die Bazillen dunkel angelegt wurden. Die ausgetretenen Bazillen lagern bei c, c, f parallel dem Rande, brechen aus dem Rande hervor bei d, brechen durch kleine Zählungen des Bakterienbelages bei b. Konsistenz und optisches Verhalten, sowie Berandung stammen somit von dem Bacterium, die hyalinen Figuren in der Nähe des Randes und die zahnähnlichen lokalen Randdurchbrüche gehören dem Bacillus an, die Charakteristik darf eine starke genannt werden. (Man vergleiche Fig. 2, Taf. XXIV, Fig. 7, Taf. XXV, Fig. 2, Taf. XXVII die Kombinationen von D) Kombination von kleiner und grosser zentrifugaler Tendenz.

cd *Bacterium monachae* und *Bacillus* der Heidelberger Wasserleitung (*Vibrio*).

(Fig. 1—4, Taf. XXVII.)

Wie bei der vorhergehenden Kombination angedeutet, ist der erste Zustand nach 20 Stunden (Fig. 1, Taf. XXVII) durch den Parenchymverband und den Epithelcharakter der Randzone kennt-

lich. Die Sphären des Mittelfeldes bilden häufiger Radialketten, welche an eine Epithelzelle Anschluss aufweisen. Nach 48 Stunden zeigt die Kultur scharf ausgeprägte Kugelzooglöen in Radialketten im Zentrum, den im durchfallenden Lichte braun erscheinenden, sonst irisierenden Belag, welcher von bogenlinig begrenzten, sehr grossen, leichten Flächen durchbrochen ist und auch in der Nähe des regelmässig entfernt gebuchteten Randes kleine weisse Durchbrüche als Radialstrichelungen aufweist. Eine grosse, doppelt berandete Zooglöa liegt in der Nähe der Peripherie. Zwei wolkige Flossendurchbrüche an der äussersten Begrenzung geben Anschluss an Fig. 4, Taf. XXVI. In dem Klatschpräparat Fig. 3, Taf. XXVII erscheint der Kontakt der Flächen am Rande in radialer Richtung als ein vollständiger. Bogensternfiguren liegen in der Nähe der Randzone, Fig. 4, Taf. XXVII. B Bakteriengruppe mit wenig Arthrosporen bildenden Bazillen, C Bakterien in der Teilung begriffen. Auch hier ist die Charakteristik befriedigend, der grössere Anschluss liegt nach Fig. 4, Taf. XXVI. Dichter, irisirender Belag, bogenlinig gebuchteter Rand (Bacterium), mächtige hyaline Durchbrüche im Mittelfeld, kleinere nahe der Peripherie und Randedurchbrüche gehören dem Bacillus (Vibrio). (Man vergl. D und alle Kombinationen zu D, es sind die Fig. 7, Taf. XXV, Fig. 10, Taf. XXV, Fig. 4, Taf. XXVI).

XIV. Durchführung einer Flusswasser-Bakterien-Analyse.

Aus der Weser bei Münden wurde am 25. Mai (1894) Wasser geschöpft. In acht Reagensgläsern wurden Alkoholgemische dieses Wassers hergestellt.

Nr. 1	Reines Wasser.	
Nr. 2	Alkohol 1	: Wasser 72.
Nr. 3	"	: " 56.
Nr. 4	"	: " 42.
Nr. 5	"	: " 33.
Nr. 6	"	: " 28.
Nr. 7	"	: " 24.
Nr. 8	"	: " 21.

Aus den acht Cylindern wurde in acht Nährgelatinecylinder geimpft und in acht Tropfen von der gleichen Gelatine auf dem

Objekträger. Beide Reihen von Kulturen wurden für drei Tage bei einer niederen Temperatur von 10—15° C. aufgestellt.

Wasser der Weser, I. Parallelreihe.
Impfung in Nährgelatinecyylinder, Differenzirung
durch Alkoholzusatz.

Die oben beschriebene Reihe zeigte am 1. Juni, also nach fünf Tagen (Temperatur 10—14° C.), dieses Verhalten (s. Fig. 1, Taf. XXXII), wenn schon nicht eine so glatte Differenzirung, wie der nicht Eingeweihte erwarten wird, so doch die Richtigkeit der Methode:

Erste Abmusterung. (Fig. 1, Taf. XXXII.)

- Nr. 1. Reines Weserwasser. Vier weisse Sphärenkolonien, zwei Zackenkolonien, eine 4 mm grosse Orangekolonie und eine 2 cm grünschillernde Strahlung. Die letztere ohne Trübung der Gelatine, die ersteren sind Trübungen in der Gelatine.
- Nr. 2. Alkohol 1 : Weserwasser 72: Fünf weisse Kolonien, die unterste mit zwei kleinen Orangekolonien. Die grüne Strahlung fehlt hier und in allen folgenden.
- Nr. 3. Alkohol 1 : Wasser 56: Der Meniskus schwach belegt, vier Sphären und eine meniskoide Zone im Grund des Stichkanals.
- Nr. 4. Alkohol 1 : Wasser 42: Meniskus und Stichplatte belegt ohne Kolonien.
- Nr. 5. Alkohol 1 : Wasser 33: Der Meniskus schwach belegt, drei kleine Sphären.
- Nr. 6. Alkohol 1 : Wasser 28: Der Meniskus diskontinuirlich belegt, die Stichkanäle klar.
- Nr. 7. Alkohol 1 : Wasser 24: Der Meniskus belegt und eine lichte Sackzone des Stichkanals.
- Nr. 8. Alkohol 1 : Wasser 21: Der Meniskus belegt, die Gelatine sonst klar.

Zweite Abmusterung.

- Kult. 1. Reines Wasser zeigt im Anfangszustand fünf farblose Sphären, eine grüne Zone und eine Orangekolonie; sie schliesst nach 20 Tagen mit der vollständigen Verflüssigung auf 50 mm Tiefe. Die Flüssigkeit ist grünschillernd, mit gelblichem Sediment. Die Orangekolonie ist hiebei verloren gegangen (kommt aber in Nr. 6 wieder zum Vorschein).

- Kult. 2, Alkohol 1 : Wasser 72: Nahezu wie vorher.
- Kult. 3, Alk. 1 : Wasser 56: Ist nach 20 Tagen auf 48 mm verflüssigt; gelbe Flüssigkeit, gelbes Sediment.
- Kult. 4, Alk. 1 : Wasser 42: Nach derselben Zeit nicht verflüssigt, zeigt gelbweissen, scheinbar homogenen Belag.
- Kult. 5, Alk. 1 : Wasser 33: Nach derselben Zeit auf 45 mm grünflüssig, mit gelbem Sediment.
- Kult. 6, Alk. 1 : Wasser 28: Die Gelatine klar, bis auf eine einzige Orangekolonie.
- Kult. 7, Alk. 1 : Wasser 24: Verhält sich wie Kult. 1, auf 50 mm flüssig.
- Kult. 8, Alk. 1 : Wasser 21: Verhält sich wie Kult. 2, auf 50 mm flüssig.

II. Parallelreihe.

Impfung in Nährgelatinetropfen auf dem Objektträger.

Nach fünf Tagen (1. Juni) wie vorher zeigte die Reihe (siehe Fig. 3, Taf. XXXII und den vorstehenden Text) in:

- Nr. 1. Reines Wasser. Der Tropfen halbverflüssigt und hier grünschillernd, mit zahlreichen isolirten, weissen Zooglöen, eine orange Zooglöa.
- Nr. 2. Zahlreiche, weisse Zooglöen, die Gelatine fast — wie in allen mit Ausnahme von Nr. 6 — farblos.
- Nr. 3. Drei grosse lichtere Ringzonen, mehrere dichtere Sphären, diese alle weiss, daneben eine grünblau irisirende Gruppe und eine Orangegruppe.
- Nr. 4. Zwei grosse, weisse Zooglöen, eine grüne Halbsphäre, mit konzentrischer Orangehalbsphäre.
- Nr. 5. Eine grosse, farblose Sphäre, mit kleinerer Orangesphäre und zwei kleineren farblosen.
- Nr. 6. Von den zwei Platten ist der Tropfen der einen intakt, der andere ist vollständig verschwunden; der Objektträger trägt einen dünnen, irisirenden Belag.
- Nr. 7. Eine winzige, dreigliedrige Zooglöa.
- Nr. 8. Eine einzige Sphäre mit zentraler Kernzone mit bogenliniger Berandung.

Die Wassermischung Nr. 8, Alkohol 1 : Wasser 21.

(Fig. 1—10, Taf. XXXIII, Fig. 1, Taf. XXXIV.)

Die Wasser-Alkohol-Stichkultur Nr. 8 wurde konzentriert geimpft in gewöhnliche Gelatine, Fig. 1, Taf. XXXII, in Nährgelatine auf dem Objektträger, Fig. 2, Taf. XXXII. Das Wasser direkt in Nährgelatine am 25.—27. Juni. Aus den Kulturen der verdünnten Stichkultur in Nährgelatine auf dem Objektträger wurde am 26. Juni ein Klatschpräparat hergestellt.

Von einer Platte der direkten Impfung des Gemisches in Nährgelatine wurde ebenfalls ein Klatschpräparat hergestellt.

Die Objektträgerkultur der Kult. 8 wurde verdünnt und von neuem in Nährgelatine auf den Objektträger geimpft (27. Juni), von der verdünnten Kultur wurden sechs Pigmentpräparate hergestellt.

Die Impfung der konzentrierten Kultur auf gewöhnliche Gelatine (Fig. 1, Taf. XXXIII) ergibt eine nahezu kreisförmige Kultur mit gezahntem Rande und schwacher Interferenz im polarisierten Lichte. Vom Zentrum ein zierliches System zum Teil dichotomstrahliger Rillen.

Die verdünnte Kultur ergibt auf Nährgelatine (Objektträger) nach 36 Stunden granulierten Belag mit hyaliner Randzone, die Peripherie unregelmässig gebuchtet. Zahllose sehr kleine Kugelzoogloen bedecken das Mittelfeld (Fig. 2, Taf. XXXIII).

Das Wasser-Alkoholgemisch direkt in Nährgelatine geimpft, ergibt in derselben Zeit einen zentralen dichteren und peripheren lockeren Belag (Fig. 3, Taf. XXXIII). Bei $\frac{8}{10}$ zeigten diese Kugelzoogloen in Teilung und in Apposition (Verschmelzung durch Heranwachsen, vergl. Fig. 4, Taf. XXXIII).

Für die Impfung der Kultur 8 in Nährgelatine geben die Figuren 8 A nach B, Taf. XXXIII die Lagerung der Keimhäufchen. Es sind grössere und kleinere Kügelchen mit scharfem Kontur, welche rasch sprossen, das heisst wiederum kleine Keimgruppen aussenden. Durch Abplattung der zahllosen Vakuolen (Zoogloen) entsteht der zierliche Parenchymverband B Fig. 8, Taf. XXXIII (die Figur rechts), in welchem die grösseren Sphären aus A noch kenntlich, durch kleine Polygonbläschen verbunden sind.

Der analoge Vorgang für die direkte Wasserimpfung ist in Fig. 1, Taf. XXXIV nahezu entwicklungsgeschichtlich aus der Platte

Fig. 4, Taf. XXXIII zusammengestellt. a, b, c, d, e sind die Initialen der Sprossung für zweigliedrige, f, g, h, i dieselben bis zur Tetrade. Die Gruppe k—n ergibt Sprossung durch Ejakulation kleiner, zu Bläschen bei dem Austritt geformter Zoogloen mit Randwulst des Mutterbläschens um die Austrittsstelle. Die Gruppe o—s ergibt den Kettenverband mit Terminalsprossung (solcher Sprossung der Endglieder), mit Sprossung eines Mittelgliedes, so p. Die übrigen bis y sind die älteren Zustände, und z entspricht einer Verschmelzung mehrerer aus den Gruppen t—y. In der Schraffirung sind die grösseren, dichter bevölkerten dunkler gehalten.

Aus der Kultur Fig. 4, Taf. XXXIII wurde eine Probe verdünnt von neuem in Nährgelatine geimpft, am 29. Juni 1894. Die Abmusterung vom 3. Juli ergibt, Fig. 6, Taf. XXXIII, sternförmige Konfiguration des Randes. Das Mittelfeld mit sternförmigen, in gegenseitig in Verband stehenden Gruppen.

Der Zustand der Kultur Fig. 2, Taf. XXXIII hat sich bis 3. Juli nach Fig. 7, Taf. XXXIII verändert, grössere und sehr kleine Sphärenzoogloen im Kettenverband.

Am 3. Juli ergibt die Kultur Fig. 6, Taf. XXXIII den in Fig. 9, Taf. XXXIII niedergelegten Befund. Bacterium vorherrschend. Die Kultur Fig. 7 zeigt weniger Bacterium, dagegen Bacillus in Fäden a, in Kokken und Endosporen c, Fig. 10, Taf. XXXIII.

Mikroskopische Aufnahme: Das Klatschpräparat aus der Kultur Fig. 2, Taf. XXXIII ergibt in der Gruppe c Fig. 5 lang- und kurzgliedrige Bazillen, mit Arthrosporenbildung bei d. In der Gruppe b Bacterium (Diplobacterium). Im trockenen Zustand zeigen die Bazillen der Gruppe c eine lichte Umrandung nach der angrenzenden Gelatine, dunkle Menisken in den Polen und dunklere Querländer (a ist eine zeichnerische Übertreibung der Vergrösserung S. J VIII HO₂).

Aus der Kultur Fig. 6, Taf. XXXIII ergibt die mikroskopische Probe Bacterium in Ketten, Fig. 9, Taf. XXXIII. Ähnliche Aufnahme für Bacterium und Bacillus aus der Kultur Fig. 7, in Fig. 10, Taf. XXXIII. Dieselben mikroskopischen Proben bei Zeiss homogen. Imm., 2 mm, Oc. VIII ergeben in Fig. 11 und 12, Taf. XXXIII.

A Faden mit engerer Teilung in a a, den Endigungen des Fadens und zahlreiche Ellipsenzwillinge. Die Grundmasse ist mit

feinen Bazillen ausgefüllt, welche zum Teil Arthrosporen in Ketten aufweisen.

Eine zweite Aufnahme mit der Zeiss'schen Immersion, 2 mm, Ok VIII Fig. 11 ergibt: A, B, C, D, E Zustände der Fadenteilung. E Faden mit drei Gliedern, davon a und b vegetativ, c mit scheinbar endogenen Ellipsenzwillingen. F Fadenstück mit zwei solchen Ellipsenzwillingen. G zwei solcher in freier Lage. H, I, K die Ellipsenzwillinge vielleicht in früherer Entwicklungsphase.

Kult. 7. Alkohol 1 : Wasser 24.

(Fig. 2—8, Taf. XXXIV, Fig. 1—15, Taf. XXXV, Fig. 1—5, Taf. XXXVI.)

Am 3. Juli wurde, wie vorher das Alkoholwassergemisch auf Nährgelatine, die konzentrierte Kultur auf gewöhnliche Gelatine, die verdünnte Kultur auf Koch-Gelatine übertragen. Nach 20 Stunden (Temperatur 14° C.) sind alle angegangen.

Das Alkohol-Wassergemisch, direkt geimpft.

(Fig. 2—8, Taf. XXXIV.)

Zeigt am 4. Juli alle Entwicklungsstadien farbloser Kugelzoogloen. Die Kultur erweist sich aus den Zoogloen als Mischkultur:

I. Die Kugelzoogloen, Fig. 2, 3, Taf. XXXIV, beginnen mit sehr kleinen Sphären, in welchen bald eine dichtere Kernzone auftritt. Die Teilung der Sphäre kann durch Aussprossen ursprünglich kleinster Sphären erfolgen, so in Fig. 2 c; durch Halbierung der ganzen Muttersphäre, so in Fig. 2 e, o. Dies kann sich wiederholen, so dass Kettensphären entstehen, n, p. Auch die Medianteilung der Kernzone kommt vor, so in o. Auf dieses Verhalten ist im molekular-physikalischen Sinne Gewicht zu legen. Das Gleiche gilt für die Kern- und Ringzonenbildung in i und l. Die Figurenreihe 3 zeigt einige der Typen nach 46 Stunden. Sie haben alle ein scharfes Gepräge; a zwei Teilsphären, eine mit, die andere ohne Kernzone. b ebensolche mit Kernzone und scharf konturirter Scheidewand. d Klappenartig scharfe Trennung der Grenzschicht und Austritt einer kleinen Tochttersphäre ohne Kern, die Muttersphäre mit Kernzone. e und f die Initialen zu d. g die Zentral- und eine Teilsphäre mit Kernzone, die andere Teilsphäre ohne solche, scharfe Trennung der Sphären mit doppeltem Contour. h Teilung der Kern-

zone in drei. i Initialen zu e und f. k die Zentralkernzone bildet zwei seitliche Tochterkernzonen. Die Trennung in den Kommissural- oder Dehiszenzflächen der Gesamtsphäre. l Kettensphären, die zentralen mit Kernzone, die Endsphären ohne solche. m Teilung zu drei. Die zentrale Muttersphäre mit Kernzone. n Teilung der Sphäre und ihrer Kernzone mit scharfer Dehiszenzfläche und Sphärensprossung wie in d.

II. Die Stern- oder Knopfzooglöen. Fig. 4 und 5, Taf. XXXIV. Auf derselben Platte liegen stern- oder knopfförmige Sphären, mit zentraler Verdickung, aber ohne Kernzonen. Der Rand der Gebilde ist mehr oder weniger gebuchtet, oft zierlich strahlig gezahnt. Die Entwicklung der reinen Form liegt in der Figurenreihe 5 a b. Zuletzt erscheinen die Sphären im Radius sternförmig gestrichelt und mit zierlichen Ringzonen. In b sind sie in Teilung oder aber auch in Apposition (?) begriffen. Alle übrigen Figuren derselben Reihen 4, 5 sind unter den Begriff der Apposition, oder auch Einschliessung der Kugelzooglöen durch Sternzooglöen, zu bringen (gemischte Zooglöen). Es müssen in der Analogie, nach früheren, sehr kleine Keimhäufchen beider nahe beisammen gelegen haben, so dass eine gegenseitige Umschliessung stattfinden konnte.

III. Die gemischten Zooglöen. Es möge hier nochmals betont sein, dass es sich um flüssige Sphären handelt, von wechselnder Dichte, Konsistenz und wechselnder Volksdichte, um das Merkwürdige des Zusammenlebens, die volle, unabhängige Formentfaltung zweier spezifisch unterschiedener Volksanhäufungen zum Ausdruck zu bringen. b c einfache Sternzooglöa Sz mit je einer Kugelzooglöa Kz. d und e ungleich geteilte Sz mit ungleich grossen Kz. f und k ebensolche, nahezu gleiche Teilung. g zentrale Lage der Kz in der Sz. h exzentrische Lage der Kz. i Sz mit einfachen und Sz mit sich teilenden Kz. l m Ketten der Sz mit einfachen und sich teilenden Kz. n o ebensolche. q r s die späteren Zustände zu l m. Kz in Sz mit Kernzonen in p q r s. Die Figurenreihe 5 zeigt mehr oder weniger exzentrische Lagen der Kz. Teilungen und klappenartige Dehiszenz in der Gruppe g.

Mikroskopische Aufnahme. Am 5. Juli wurden unter der Präparirlupe mit sehr feinen Glasnadeln aus I der Kugel- und aus II der Sternzooglöa Partikel geholt, in sterilisiertem Wasser verdünnt, die Verdünnung in Nährgelatine auf dem Objektträger

geimpft. Von derselben Verdünnung wurden mikroskopische Präparate tingirt, von der Platte, welche beide trägt, wurde ein Klatschpräparat hergestellt.

Die mikroskopische Analyse ergibt in den Kugelzooglöen der farblosen Kultur 7: Bacterium, s. Fig. 8, Taf. XXXIV, die farblose Sternzooglöa ergibt: Micrococcus, Fig. 7, Taf. XXXIV. Die flüssige grüne Grundmasse ergibt jenen Bacillus fluorescens liquefaciens. Der Klatsch ergibt mit Genthianaviolett die feinen und kurzgliedrigen Bazillen mit Arthrosporen in dichter Adhäsionsschicht und in überaus zierlichen Verzweigungen, Fig. 14, 15, Taf. XXXV.

Die beiden Zooglöen Sz, Kz der farblosen Kultur ergeben bei Zeiss homog. Imm. 2 mm Okular VIII indes immer noch-zweierlei:

Sternzooglöa: Eine Micrococcacee mit ungleich grossen Individuen, Fig. 3, Taf. XXXV, mit Genthianaviolett gefärbt.

Kugelzooglöa: Fig. 4, Taf. XXXV. Eine Micrococcacee oder Bacterium, welches sich der Systematik nicht fügt, daher die Beschreibung:

Faden gegliedert, mit zwei polaren Spaltlingen. Jede dieser ist zweizellig; zahlreiche solcher isolirt, daneben Kugeln in Ketten, zu drei vereinzelt. Rechts eine Gruppe, mit Genthianaviolett blau gefärbt in roter Unterlage; Fadenmicrococcacee.

Synopsis der aus den Zooglöen Fig. 2, 3, Taf. XXXIV mit der Glasnadel unter der Präparirlupe derivirten Kulturen am 7. Juli.

I. Die Impfung aus der Kugelzooglöa Fig. 2, 3, Taf. XXXIV der farblosen Kultur ergibt den farblosen, irisirenden Belag Fig. 1, Taf. XXXV mit Randzone a, mehreren Ergüssen aus der Zentralkultur, von welchen diese beachtenswert sind: Gezahnte flache Sphärenauswüchse, Ringzone mit zierlichen Zooglöen c, ein Teil der Randzone a und Zooglöen im Mittelfeld d. Das Mikroskop ergibt Reinmicrococcus, gut mit Genthianaviolett gefärbt, Fig. 7, Taf. XXXIV.

II. Die aus den farblosen Sternzooglöen geimpfte Kultur ergibt grössere hyaline Sphären a und zahllose Gruppen gehäufte kleiner Sphären b, Fig. 2, Taf. XXXV; die sehr verdünnte Übertragung im Genthianaviolett-Präparat ergiebt ebenfalls Micrococcus, Fig. 7, Taf. XXXIV.

III. Die Kugelzooglöen der grünen Kultur Fig. 5—8, Taf. XXXV ergaben in Fig. 1, Taf. XXXVI eine flüssige, grüne Kultur mit zahlreichen Sphären, grossen und kleinen. Der Rand derselben ist granulirt. Die flüssige Grundmasse ist granulirt. Der mikroskopische Befund: Bacillus mit Arthrosporen, Fig. 10, Taf. XXXV.

IV. Die Sternzooglöen der grünen Kultur Fig. 5—8, Taf. XXXV in der Randzone P ergeben grüne Verflüssigung. Die Zooglöen hierin sind eigentümlich in Ketten zusammenfliessende, hyaline, fein granulirte Massen, Fig. 2, Taf. XXXVI. Das Gentianaviolettpräparat weist den kurzgliedrigen Bacillus mit geringer Arthrosporenbildung nach, Fig. 14, 15, Taf. XXXV.

Zusammen: zwei Micrococceen,

eine Micrococceae in Diplobakterien (s. weiter unten),

ein grügefärbter Bacillus (*liquefaciens*) mit Arthrosporen.

Die merkwürdigste Beobachtung in der Kulturenreihe 7 machte ich am 7. Juli mit der Platte, welche in Fig. 5—8, Taf. XXXV abgebildet ist. Die Sphären waren bei der Abmusterung schon im Zerfliessen begriffen. Es waren unregelmässig granulirte Brocken, grosse und kleine. Der Durchmesser des Kulturbelages mochte 8 mm betragen. Plötzlich zerlegte sich die Flüssigkeit in 20—30 Strudel, welche über das Gesichtsfeld hinzogen, Fig. 9, Taf. XXXVII. In jedem Strudel eine Ringzone, von welcher aus die Partikel, grössere wie kleinere, sich nach dem Centrum bewegten und in ihrer Bahn einen Ring beschrieben. Die Teilchen stürzten sich in den zentralen Trichter mit grosser Schnelligkeit und kehrten, einen vollen Kreis beschreibend, wieder nach der Peripherie zurück. Diese Strudel bewegten sich in der Masse fort, veränderten ihre Kreis- in Ellipsengestalt durch gegenseitige Störung. Das Phänomen dauerte höchstens 10 Sekunden, dann trat Ruhe ein. Die Platte mit der grünflüssigen Kultur lag vor der Beobachtung 2—3 Stunden im Exsikkator auf einer Messingplatte. Das Phänomen wurde beobachtet in dem Zeitpunkt, wo die Platte bei $\frac{80}{1}$ am Mikroskop abgemustert werden sollte. (Während der Beobachtung herrschte ein starkes Gewitter.)

Kult. 6, Alkohol 1 : Wasser 28.

(Fig. 6—8, Taf. XXXVI, Fig. 1—6, Taf. XXXVII.)

Am 3. Juli wurde das Wasser, wie vorher, geimpft. Da die Gelatine der Stiehkultur fest und klar, nur einen dünnen Belag im Meniskus und eine orange- bis mennigrote Kolonie im Innern der Gelatine trägt, so wurde ein mit der Platinöse geholter Partikel der Orangekolonie, verdünnt in gewöhnliche und in Nährgelatine, geimpft. Auch das Wassergemisch wurde in Nährgelatine geimpft. Dem Befund in Fig. 1, 2, Taf. XXXII entsprechend, müssen mindestens zwei Mikroben isolirt werden können.

I. Die verdünnte Orangekultur ergibt, ohne Verflüssigung der Nährgelatine, eine elegante kombinierte Emulsionsfigur A, Fig. 6, Taf. XXXVI. Diese ist aktinomorph mit schwacher Polarisation und zeigt Radial- und periphere Gruppen zahlloser, scharf konturirter Zooglöen, deren Teilung und Gruppierung in den kleinsten Gruppen der Fig. 6 B, Taf. XXXVI dargestellt ist. Der Rand trägt gegen 10 Zähne, als aktinomorphe Vorstösse infolge stärkerer Häufung der Keime. Die Figurenreihe C, D, E, F, G, H gibt die Anordnung der Zooglöen in den Zähnen, nach der Entwicklung geordnet. Sehr zu beachten sind volkreichere, verstärkte Doppellagen in F und G, welche wie Riffe vom Mittelfeld in den Zahn austrahlen. Die Zooglöen sind in Furchenteilung begriffen, 12 Stunden nach der Impfung maulbeerartig granulirt. Das Mittelfeld in A zeigt aktinomorphe, dichotome Gruppen, welche in durchschlagender Weise jene Theorie der Emulsionsfiguren bestätigen. H ist ein solches Partialsystem, K und I geben die Furchenteilung. L eine radial geordnete Gruppe in Teilung. Nach 36 Stunden (s. M) zeigen alle einen scharfen, einfachen Kontur, die Vakuole erscheint auf das Feinste homogen punktirt.

Die mikroskopische Analyse ergibt in Fig. 6, Taf. XXXVI Q, R, S eine Bacterium-Micrococceae mit Zweiteilung von sehr ungleicher Grösse der Individuen, in der Kultur ohne gegenseitigen festeren Verband. Mit Gentianaviolett (Q) zeigen die grösseren Individuen einen meniskenförmigen Plasmabelag. Fuchsin R zeigt vier Plasmaquadranten, Bismarckbraun eine hyaline Randquellungszone.

Die verdünnte Kultur der Orangekolonie (s. Fig. 2, Taf. XXXII) wurde am 3. Juli auch auf Platten von gewöhnlicher

Gelatine übertragen. Am 6. Juli zeigt die eine der Platten Fig. 6 N, Taf. XXXVI einen Ellipsenbelag mit bogenlinigem Rande und hirmäanderartiger, homogener, irisirender Konfiguration, Fig. 6 O, Taf. XXXVI. Die mikroskopische Analyse ergibt hier in Fig. 6 P Bacterium. Der Orangefleck in Fig. 2, Taf. XXXII ist also nicht rein, sondern ein Gemenge, in welchem jene Micrococcacee mit wenig Bacterium verunreinigt erscheint. Das Verfahren entspricht somit einer Reinzüchtung durch Fraktioniren auf zwei verschiedenen Unterlagen.

Das ursprüngliche Alkohol-Wassergemisch 6 wurde am 3. Juli ebenfalls in Nährgelatine geimpft. Erst am 6. kamen die Kugelzoogloen Fig. 1 A, Taf. XXXVII zum Vorschein. Es sind grössere und kleinere, lichtere, scharf konturirte Sphären, in deren Nähe dunklere, mit scharfer Klappenteilung des äusseren Belages in die Augen springen, so in b, c, e, Fig. 1, Taf. XXXVII. Die mikroskopische Analyse ergibt hier Reinbacterium (s. Fig. 1 c). Hierin die Kontrollebestätigung des Ergebnisses für die Kultur auf gewöhnlicher Gelatine. Fig. 1 D aktinomorphe Kultur auf gewöhnlicher Gelatine (⁵/₁).

Der Meniskus der Kultur 6. (S. Fig. 1 b, Taf. XXXII.)

Der weisse, langsam wachsende Belag wurde, um mit der Platinanadel zu dem Orangefleck zu gelangen, zerstört. Die Kultur ging nach 24 Stunden in den Zustand der Fig. 8, Taf. XXXVI über. Drei Orangesphären und eine weisse, sackartige Belagszone, welche vom Meniskus aus in die Gelatine vorrückt. Die Kultur aus diesem Belag ergibt zunächst einen sehr feinen Bacillus (s. Fig. 7), welcher durch den Zusammenhang aller seiner Glieder merkwürdig ist. Es ist ein dendritisch dichotomes System mit der falschen Astbildung des Cladothrix (s. Zopf l. c.), mit aufsteigender und rückgängiger oder absteigender Verzweigung der falschen Äste, mit Arthrosporen an einigen der letzten Auszweigungen. Derselbe Belag des Meniskus, in Wasser verdünnt, die Verdünnung in Koch-Gelatine geimpft, ergibt nach 24 Stunden (4.—5. Juli) in der Fig. 1 B, Taf. XXXVII einen weissen, irisirenden, fast homogenen Belag mit Bogen und Sphärenbegrenzung und kleinparenchymatischer Zoogloenzone im Mittelfeld. Das Klatschpräparat ergibt Reinbacterium (man vergl. die Kultur Fig. 1 B mit den Gemischen und Reinkulturen s. o.).

Synopsis aller Kulturen des Wasser-Alkoholgemisches 6
am 7. Juli.

I. Das ursprüngliche Wassergemisch, in Nährgelatine auf dem Objektträger geimpft, ergibt die Zoogloen der Fig. 1 A, Taf. XXXVII. Die mikroskopische Analyse ergibt: Rein-Bacterium.

II. Die Orangekultur zeigt am 7. Juli bei $\frac{80}{1}$, $\frac{360}{1}$ einzelne Sphären, sowohl am Rande, wie im Mittelfeld orangegefärbt. Fig. 2, Taf. XXXVII. Micrococceae rein. Die Entwicklung in Fig. 6 Q bis S, Taf. XXXVI, und Fig. 3, Taf. XXXVII mit Zeiss homog. Imm. Oc. VIII. Daneben eine Bakterie mit Fuchsin tingirt.

III. Der Meniscusbelag ergab jenen Fig. 7, Taf. XXXVI abgebildeten Bacillus subtilissimus mit dichotomen Ästen und Arthrosporen.

IV. Die Impfung der Orangekultur auf gewöhnliche Gelatine ergibt die homogene Belagkultur der Fig. 6, Taf. XXXVI. Die Untersuchung ergibt Rein-Micrococcus.

V. Der weisse Belag im Sack a Fig. 8, Taf. XXXVI, im verdünnten Zustand geimpft, Fig. 1, Taf. XXXVII, gibt am 7. Juli eine 5 mm Sphäre homogen weiss. Die Untersuchung: Rein-Bacterium.

VI. Die derivirte Kultur im Meniscusbelag in Nährgelatine ergibt, Fig. 4, Taf. XXXVII, mit Gentianaviolett gefärbte, grössere Kugeln und solche in Teilung. Zeiss homog. Imm. 2 mm Ocular VIII.

VII. Stäbe, welche sich teilen in die Reihenfolge a, b, c, d, e, mit Zwillingsellipsen oder Einzelellipsen abschliessen. Zeiss homog. Imm. 2 mm Ocular VIII. Aus einer Zoogloä des in Nährgelatine direkt geimpften Wasser-Alkoholgemisches. (Vergl. auch Fig. 6, Taf. XXXVII, aus dem Abklatsch derselben Kultur.)

Kult. 5. Alkohol 1 : Wasser 33.

(Taf. XXXVII, Fig. 7 -12. Taf. XXXVIII, Fig. 1.)

Am Sonnabend 7. Juli Nm. 6 Uhr wurden übertragen:

I. Das Alkoholwasser direkt in Nährgelatine.

II. Die verdünnte Kultur in Nährgelatine.

III. Die konzentrierte Kultur in Platten der gewöhnlichen Gelatine.

Von der verdünnten Kultur wurden zur selben Zeit 4 Tinktionspräparate hergestellt.

I. Ergab am Sonntag 8. Juli Zooglöen, gemischt aus Kugeln und flachen amöbaartigen Gebilden, die letzteren mit Kugeleinschlüssen. Ein gelungener Abklatsch mit Gentianaviolett ergibt zentral weinrote Sphären, welche von violetten umschlossen sind. Fig. C 7, Taf. XXXVII. Die Zooglöa enthält jenen sehr feinen Bacillus mit Arthrosporen Fig. 10, Taf. XXXVII. Zeiss homog. Imm. 2 mm Oc. VIII.

I A. Am Sonntag wurden unter der Präparirlupe reine Kugelzooglöen und gemischte Amöbazoooglöen mit der Glasnadel geholt und von neuem in Nährgelatine geimpft. Beide ergaben Kugelzooglöen. Die Frage blieb hier unentschieden. Fig. 1, Taf. XXXVIII.

II. Die verdünnte Kultur ergibt am morgen 9. Juli Stern und Kugelzooglöen Fig. 1, Taf. XXXVIII in solcher Lage auf der Platte, dass bei dem Übertragen mit der Glasnadel eine Mischung der beiden ausgeschlossen war.

Die Sternzooglöa ergibt Bacterium. Die Kugelzooglöa einen kurzgliedrigen Bacillus mit Arthrosporen Fig. 11, Taf. XXXVII und Beimischung von Bakterien Fig. 12, Taf. XXXVII. Zeiss homog. Imm. 2 mm Oc. VIII. Diplobacterium der Sternzooglöen.

III. Die konzentrierte Kultur auf gewöhnlicher Gelatine zeigt eine 8 mm im Durchmesser haltende Lagune flüssiger Gelatine, mit undeutlicher Parenchymazooglöen. Ihr optisches Verhalten ist Fig. 1 A, Taf. XXXVIII: In der nächsten Zone der festen Gelatine steht die Axe grösster Elastizität tangential. In der äusseren Schale steht sie radial E, E. Die Interpretation ist nun im Vergleich zu der früheren ähnlichen Beobachtung (Bacillus aus der Dottersubstanz eines faulen Hühnereis) leichter zu geben, da mit dem letztern Phänomen alle Daten erschöpft sind.

Die Prämissen lauten: 1) Ein mit Wasser gesättigtes Gelatineplättchen zeigt die Interferenz Blau — Gelb zu Gyps Rot I und ist in dieser Hinsicht homogen. Wird in ein solches Plättchen ein halbkugeliger Eindruck mit Hilfe einer an der Spitze abgerundeten Glasnadel eingebracht, so erscheint im Polariskop eine Kreiszone, in welchen die je zwei Additions- und Subtraktionsquadranten auf die tangentielle Lage der grössten Elastizitätsaxe hinweisen.

2) Zwei verschiedene Bakterien in eine solche Druckstelle ein-

geimpft verhalten sich gleich, indem sie eine kreisförmige oder breit-elliptische Lagune bilden, diese durch Assimilation und Umsetzung der Gelatine erweitern und das umliegende Gelatinefestland in Ringzonen verschiedener Elastizität zerlegen.

3) Sie verhalten sich in ihrer Wirkung auf das die Lagune begrenzende Gelatinefestland ungleich:

a) Die Ungleichheit kann für verschiedene Bakterien nur darin zum Ausdruck kommen, dass bei der einen Art die innere Schale in tangentialer Richtung negativ, die äussere positiv gespannt ist, während bei der andern für dieselben Schalen die Vorzeichen umgekehrt liegen;

b) oder darin, dass jede der zwei Arten nur eine Polarisationschale bildet, welche bei der einen tangential positiv, während sie bei der andern tangential negativ gespannt ist. Nun liegt aber, wenn man von den Interferenzen in den Strahlen der Fig. 5, Taf. XXII absieht, hier in Fig. 1 A, Taf. XXXVIII das Phänomen genau so wie dort. Da ich nach der Supposition 3) bestrebt sein musste, mehrere solcher Fälle zu untersuchen, so fand ich denn auch noch im Verlauf der vorliegenden Analyse in der Kultur 3 einen und in der Kultur 2 den letzten Fall derartiger Molekularumlagerung Fig. 8 H, Taf. XXXVIII, Fig. 6 C, XXXIX. In allen vier Aufnahmen steht die grosse Axe der Elastizität in der inneren dicht an die Bakterienkultur angrenzenden Gelatineschicht tangential. Die einzige einfache Hypothese lautet: Alle bisher untersuchten Bakterienkulturen versetzen die wassergesättigte Gelatine in der Nähe der Kultur in tangentialer Richtung in negative Spannung (Zug), weil sie der Gelatinemasse Wasser entziehen.

Kultur 4. Alkohol 1 : Wasser 42.

(Taf. XXXVIII, Fig. 2—7.)

Die Impfung in dieselben Substrate in der gleichen Weise wie vorher am Sonntag 8. Juli Vorm. 6 Uhr:

A. Verdünnte Stichkultur in Koch-Gelatine.

Am 9. Juli, 24 Stunden nach der Übertragung, zeigte der sphärische 4—5 mm im Durchmesser haltende Belag Fig. 2 A, Taf. XXXVIII wellige, doppelt gebuchtete Begrenzung, flache Mäander-Differenzirung, wie ein Hirn im Basrelief dargestellt erscheinen

würde. Im Zentrum Kugelzooglöen Fig. 2, A b. Am Rande des Belages zwei Flossen hyaliner, zierlich gezählter Ausflüsse c. Mit der feinen Glasnadel konnte die Masse aus c ganz rein, die Masse aus den Kugelzooglöen des Zentrum unrein und die Masse des Mittelfeldes rein herausgeholt werden. Das Ergebnis ist:

Die Randflosse Rein-Micrococcus in Ketten, Fig. 5, Taf. XXXVIII.

Das Mittelfeld Rein-Micrococcus in Kolonien, Fig. 6.

Die zentrale Zooglöengruppe Rein-Micrococcus in Teilungszuständen, Fig. 7.

Fig. 3, Taf. XXXVIII Probe aus der Stichkultur.

Fig. 4, Taf. XXXVIII Probe aus der Zooglöa des in Nährgelatine geimpften Alkoholwassers (decken sich mit Fig. 4; s. oben Taf. XXXVII).

B. Das ursprüngliche Alkoholwassergemisch in Koch-Gelatine zeigt einen Sphärenbelag von 4—5 mm Durchmesser mit hyalinem, zierlich doppeltgebuchtetem Rande. Zackenzooglöen, zum Teil in Verband und in Teilung, im Mittelfeld Fig. 2, Taf. XXXVIII a der Anfangszustand solcher Zackenzooglöen. Im Zentrum die Kolonie von scharfkonturirten Kugelzooglöen. Fig. 2, B b, Taf. XXXVIII. Die mit der Nadel aus dem Mittelfeld geholte Probe ergibt: Rein-Bacterium, mit geringer Beimengung langgliedriger Bazillen.

C. Die konzentrirte Stichkultur, in gewöhnliche Gelatine geimpft, ergibt den Kreisbelag C. Fig. 2, Taf. XXXVIII, mit flachen Randbuchten, sonst ohne Differenzirung im Mittelfeld. Die am Mikroskop untersuchte Probe ergibt Rein-Bacterium, mit geringer Bazillenbeimischung wie unter B. Die optische Wirkung ist bis Montag 7 Uhr Nachm. am 9. Juli gleich Null.

Die im Nachfolgenden noch abzuhandelnden Stichkulturen 3, 2, 1, wurden wie bisher auf dieselben Medien übertragen am Montag, den 9. Juli Nachm. 5 Uhr.

Die Kultur 3. Alkohol 1 : Wasser 50.

(Taf. XXXVIII, Fig. 8. Taf. XXXIX, Fig. 1—5.)

Das Alkoholwassergemisch direkt in Nährgelatine Fig. 8 A, Taf. XXXVIII ergibt nach 23 Stunden: A Kugelzooglöen, welche später wolkig trübe, mehr oder weniger buchtig kontourirt und in Teilung und Apposition begriffen sind.

Die mikroskopische Probe hieraus ergibt fast Rein-Bacterium.

Ebenso am Mittwoch, den 11. Juli, s. Fig. 1, Taf. XXXIX Diplobacterium (Zeiss); bei a zwei Diplobakterien in der Kettenlage.

Die verdünnte Kultur in Nährgelatine ergibt nach 28 Stunden die Randzone mit Buchten, das Mittelfeld mit zusammenfliessenden Kettenzooglöen; Fig. 8 D, Taf. XXXVIII.

Die mikroskopische Probe ergibt Rein-Bacillus mit Arthrosporen. Aus den Mäandern (s. Fig. G 8, Taf. XXXVIII) am 11. Juli Vorm. 10 Uhr drei Mikroben: ein feiner Bacillus a, Fig. 2, Taf. XXXIX b, c, d. Entwicklungsfolge des Diplobacterium. Die Grundmasse besteht aus den Gebilden der Fig. 3, Taf. XXXIX, welche offenbar mit b, c, d, Fig. 2, Taf. XXXIX, im genetischen Zusammenhang stehen.

Die konzentrierte Kultur in gewöhnlicher Gelatine ergibt einen fast homogenen Belag, C, Fig. 8, Taf. XXXVIII, in Ellipsenform.

Die mikroskopische Probe ergibt: Rein-Micrococcus.

Dieselbe Kultur erscheint in Mäander geordnet durch Werfung der Gelatine (Fig. 8 G). Solche Falten der Werfung konnten im Polariskop im Anschluss an frühere Aufnahmen (s. Fig. 5 B, Taf. XXII A — Fig. 1 A, Taf. XXXVIII) untersucht werden: Die Axe der grössten Elastizität steht in der nächsten Schale zur Kultur tangential. (Dritte Bestätigung.)

Die verdünnte Kultur in Nährgelatine auf dem Objektträger ergibt die Fadenform jenes Diplobacterium (Fig. 2, Taf. XXXIX), den feinen Bacillus mit Arthrosporen a, und Konglomerate eigentümlicher Kugeln c Fig. 4.

Die Stichkultur im Juli untersucht (Fig. 5, Taf. XXXIX) zeigt die Gruppe a cylindrisch, b spindelig, c die Diplobakterien, d den Bacillus.

Die Kultur 2. (Alkohol 1 : Wasser 72.)

(Taf. XXXIX, Fig. 6—10.)

I. Das Alkoholwasser direkt in Nährgelatine auf dem Objektträger ergibt (Fig. 6, Taf. XXXIX) wenig Kugelzooglöen, in Verbindung mit flachen, buchtig gelappten Zooglöen, b, welche mit den ersteren in mannigfacher Art kombinirt erscheinen.

Mikroskopische Analyse: Jenes Diplobacterium in Fäden Fig. 7A und eine Coccacee B Fig. 7.

II. Die verdünnte Stichkultur in Nährgelatine auf dem Objektträger dagegen ergibt Zooglöen Fig. 6d, welche die Entwick-

lung a, b, c, d durchlaufend, schliesslich stark zentrifugale Ausstülpungen zeigen, mit zahllosen Mäanderschraffrungen.

Die mikroskopische Analyse: Jener feine Bacillus in Stäbchen mittlerer Länge (Fig. 8, Taf. XXXIX).

III. Die konzentrierte Kultur in gewöhnliche Gelatine, Fig. 6 BC, Taf. XXXIX: B elliptische Kultur von 15 mm Durchmesser, mit polarer Strahlung, diese halbmondförmig. Die Hauptkultur ist im Mittelfeld flüssig. Der Komplex ist von einer flüssigen Sphäre umhüllt. Die Probe aus dem Mittelfeld ergibt einen ausserordentlich feinen Bacillus. Die Randzone dasselbe.

Die optische Analyse der Kultur im Polariskop Fig. 6 C ergibt die Axe der grössten Elastizität tangential. (3. Bestätigung zu der Darlegung s. oben.)

Die Kultur 1. Reines Weserwasser (ohne Alkoholzusatz). (Taf. XXXIX, Fig. 11.)

I. Die verdünnte Stiehkultur in Nährgelatine Fig. 11 AB, Taf. XXXIX zeigt einen zierlichen Kreisbelag mit zentralen Kugelzooglöen A. a in symmetrischer Sprossung und Zerreiung der peripheren Schale, b polare Sprossung der Kernzone. Apposition und Sprossung kleinster Sphären in c. Das Mittelfeld und der Rand zeigen die gebuchteten in Sprossung und Apposition begriffenen hyalinen Zooglöen B.

Die mikroskopische Analyse der Randzooglöen ergibt „Rein-Bacterium“, sehr kleine Individuen.

II. Die konzentrierte Kultur in gewöhnliche Gelatine zeigt 10—15 mm im Durchmesser aufweisende Ellipsenbelage Fig. 11C, einer derselben mit der Randausstülpung, in D bei $360/1$ flachmuschelige Erhebungen mit zierlichem Rande.

Das Mikroskop zeigt in dem Belag einen Bacillus in Langfäden.

III. Die dekantirten Bakterien im Juni aus der Stiehkultur bei Zeiss homogene Imm. 2 mm Oc. VIII sind Fig. 1, Taf. XL.

a) Langfadenbazillen.

b) Kurzgliederbazillen.

c) Kurzgliederbazillen in Spaltung.

d) e, f, g, g₁, i, k, l zusammengehörige Zustände jenes Dipobakterium.

h) Bazillengruppe, ein Stab mit zentraler Endospore.

- m) Microeoccusgruppe.
- n) Bacterium und Diplobacterium.
- o) Spindelbacterium in Zwillingen und Tetraden.
- p) Kurzstäbe: Bazillen mit Polen verschiedener Lichtbrechung.
- r) Grössere Coccacee: isolirte Kugeln.
- s) Halbseitig scharf kontourirte Gebilde mit scharfen lichtbrechenden Spindeleinschlüssen.

Synopsis aller Kulturen ihrer Zooglöen und Bakterien.

Zooglöa.

Inhalt.

Kult. 8. Farblose Kugelzooglöen	
in Apposition:	Diplobacterium. Bacillus.
Kult. 7. Farblose Kugelzooglöa:	Micrococcus.
Farblose Sternzooglöa:	Micrococcus.
Grüne Kugelzooglöa:	Bacillus und Arthrosporen.
Grüne Sternzooglöa:	Bacillus.
Kult. 6. Orange Zooglöa:	Diplobacterium (Micrococcus).
Meniscusbelag:	Bacillus mit falscher Dichotomie.
Kult. 5. Sternzooglöa:	Bacterium.
Kugelzooglöa:	Bacillus.
Kult. 4. Randflosse:	Micrococcus.
Mittelfeld:	Micrococcus.
Centralzooglöen:	Micrococcus.
Kult. 3. Kugelzooglöa:	Bacterium.
Kult. 2. Strahlenzooglöa:	Bacillus.

Die genau untersuchte Kultur 4 liefert den Beweis, dass die Belagform gestaltlich komplizirt erscheinen und doch nur eine oder wenige Bakterien enthalten kann.

XV. Theoretische Betrachtungen.

Zwischen der Zooglöa und der Bakterien-Spezies oder -Gattung besteht also keine spezifische Beziehung, wie etwa „Acer monspessulanum Blatt dreilappig, Acer campestre Blatt fünflappig“ u. s. f. Zooglöa und Belagform auf dem Substrat müssen von allgemeineren physischen Beziehungen des Verhaltens abhängig sein. Man muss zunächst untersuchen: wie benehmen sich Bakterien überhaupt auf dem Substrat?

Wir unterscheiden im physischen Sinne drei Möglichkeiten:

1) Die Keime sind von dem Substrat nach allen Richtungen eingeschlossen. (Impfung, Stichkultur im Gelatinecylinder.)

- 2) Die Keime liegen im Meniscus der Gelatine im Cylinder.
- 3) Die Keime liegen in der Fläche des Gelatineplättchens (der Gelatinetropfen auf dem Objektträger).

Vorgänge im Gelatinecylinder.

In dem Moment, wo die Füllung des Cylinders geschieht, ist die Gelatine isotrop, sie wird aber mit dem Erkalten schon anisotrop und muss dieses Verhalten mit der Zeit steigern, da sie Wasser durch Verdunstung verliert. Die Gelatinemasse im Meniscus geht über von Fig. 10 B nach Fig. 11 B, Taf. XLVII, um schliesslich, wenn die Spannung gross genug ist, von dem Glascylinder loszureissen. Die Gelatinemasse in dem Cylinder hat drei Achsen verschiedener Elastizität und Dichte, von welchen eine in der Cylinderaxe liegt. Da, abgesehen vom Meniscus selbst, jeder Stich parallel der Cylinderaxe denselben Widerstand für die feine Platinnadel, wie für wachsende Bakterien erfährt, kommt diese Richtung für die Form des Belages nicht weiter in Betracht. Anders liegt dies für die Grenzfläche im Meniscus und für jeden gedachten Transversalschnitt durch die Gelatinemasse. Hier liegt die Axe der grössten Elastizität im Anfang tangential transversal, d. h. eine Bakterie, welche von gegebenem Punkt aus in transversaler Richtung wächst, findet auf die Einheit der Weglänge (1 mm) in Richtung des Radius eine grössere Zahl von Nährmolekeln, aber einen grösseren Kohäsionswiderstand. Umgekehrt findet sie in der Richtung der Tangente eine geringere Zahl von Nährmolekeln, aber einen kleineren Kohäsionswiderstand.

Die Sache liegt für alle Bakterien demnach so: Ist a der mit der infizierten Platinnadel ausgeführte Stichkanal Fig. 14, Taf. LXVI und bedeutet der Kontour in a die gleichmässige Dichte des Belags der Impfmasse, so ist kein Grund vorhanden, warum nicht die Zuwachse an Bakterien und die Umsetzung der Gelatine so fortschreiten, wie Fig. 15, Taf. XLVI angibt, also ganz gleichmässig um den Stichkanal im Meniscus sowohl, wie in der Cylinderfläche des Kanales, sowie in dessen unterem Querschnitt. Dies kommt nicht vor, ganz abgesehen davon, dass die Impfmasse von der Nadel schon in der Nähe des Meniscus an der Gelatine abgestreift wird, so dass von den Infektionspartikeln in der Nähe des Meniscus viele, im Ende des Stichkanales wenige liegen, müssen unterschieden werden zwei

bis drei physische Faktoren und ebensoviel Momente, welche in der vitalen Energie der Bakterien begründet liegen:

A. Die Bakterie verflüssigt die Nährgelatine nicht.

Die Kultur schreitet im Meniscus in transversaler Richtung rascher fort, wie im Stichkanal Fig. A 16, Taf. XLVI. In der Nähe des Meniscus sind zwei Fälle möglich:

a) Die Gelatine ist soeben eingefüllt wasserreich, der Meniscus flach konkav, die Axe der grössten Elastizität steht, bezogen auf den Kreis, tangential, Fig. 10, Taf. XLVII (E die Elastizitätsellipse).

α. Die Bakterie hat eine stärkere Zentrifugaltendenz, findet in radialer Richtung, wie oben betont mehr Nährmolekeln, aber einen grösseren Kohäsionswiderstand: Der Belag wird aktinomorph mit tangential geordneten Belagauswüchsen. Fig. 10 A, Taf. XLVII.

β. Die Bakterie hat eine schwächere Zentrifugaltendenz, Widerstand und Elastizität sind wie vorher.

b) Die Gelatine hat einen tiefkonkaven Meniscus, Fig. 11 A, Taf. XLVII. Die Axe der grössten Elastizität steht radial. Die Bakterie (in diesem Fall *Micrococcus*) sendet zahlreiche Kugelzoogloën in radialen Strahlen hinaus und die Meniscusböschung hinauf, parallel der Axe des kleinsten Widerstandes.

c) Dieselbe Bakterie, welche im engen Stichkanal, Fig. 16, Taf. XLVI nur geringen Fortschritt macht, breitet sich rasch auf der Gelatine aus, wenn diese beim Einführen der Nadel spaltet. Fig. 16 A und B, Taf. XLVI.

d) Die Bakterie in minimaler Menge der Keime kommt im Stichkanal zur Entwicklung, Fig. 2 A, Taf. XLVII. Diese schreitet nach B fort, die obere Kolonie eilt rasch vor. Die Interpretation ist kontrovers: 1) Die dem Meniscus nähere Kolonie a wächst rascher, weil mehr Keime dort abgestreift waren. 2) Die Kolonie a wächst rascher, weil sie näher am Meniscus, also am Sauerstoffreservoir liegt. 3) Die Kolonie wächst rascher, weil in ihr mehr Keime abgestreift waren und weil sie näher am Sauerstoffreservoir liegt.

Die Kolonien wachsen von A nach C Fig. 2, Taf. XLVII heran. Hier fällt die Annahme der reicheren Keimanhäufung durch Abstreifen hinweg. Die Interpretation ist aber immer noch kontrovers: 1) Die untere Kolonie ist grösser weil sie am weitesten vom Sauer-

stoffreservoir entfernt liegt.¹⁾ 2) Der Übergang von A nach C ist ein Zufall, das heisst von unbekanntem Koïncidenzen abhängig.

B. Die Bakterie verflüssigt die Gelatine.

I. Der Übergang von A nach B nach C Fig. 9, Taf. XLVII sagt aus: Die Verflüssigung um einen Stichkanal mittlerer Dicke schreitet in transversaler Richtung rascher fort, wie in longitudinaler und in der Nähe des Meniscus rascher, wie in den tieferen Teilen des Stichkanales. (Zu vergleichen mit Fig. 3, Taf. XLVII.) Hier sind wiederum wie unter A (s. oben) diese Kontroversen zu erwägen: 1) Der Übergang von A nach C ist Folge einer grösseren Anzahl von Keimen, welche in der Nähe des Meniscus abgestreift wurden. 2) Er ist Folge der grösseren Nähe am Sauerstoffreservoir. 3) Er ist Folge beider Verhältnisse.

Der Beweis für 3) liegt in Fig. 7, wo die im unteren Querschnitt der Impfnadel haftende Impfmasse ein sphärisches Wölkchen bildet.

II. Die Verflüssigung schreitet bei derselben Bakterie in der Längsrichtung rascher fort [Fig. 3, Taf. XLVII A, B, wie in transversaler Richtung um den Stichkanal. Hier ist eine sehr feine Impfnadel angewandt worden. Der Vorgang beweist, dass der Sauerstoff der Luft von Belang ist.

III. Der Übergang Fig. 8 A, B, C, Taf. XLVII zeigt beide Faktoren in Wirkung: Einfluss der Luft vom Meniscus aus und Transversalwirkung der Keime in der Fläche des erweiterten Kanales.

IV. Die am Rande, in der Grenzfläche, zwischen intakter Gelatine und verflüssigter oder von Bakterien bewohnter Gelatine, liegenden Bakterien gleicher Art müssen sich anders verhalten oder kürzer gesagt, Grenzvolk und Binnenlandvolk müssen sich in Bezug auf ihre Ernährung unterscheiden. Der Vorstoss des Grenzvolkes führt in zentrifugaler Richtung in die intakte Gelatine, während der Vorstoss des Binnenvolkes in bewohntes zum Teil zersetztes Substrat gerichtet sein muss. Hat dieses Moment eine Bedeutung, so kommen Übergänge zum Ausdruck wie A nach B und C der Fig. 8, Taf. XLVII.

V. Die Verflüssigung schreitet in der Längsrichtung rascher

¹⁾ Vielleicht ein Anaërobier der Autoren.

Bei der Übertragung der Impfmasse in das Nährsubstrat kann der gegebene Bacillus in der Phase 1 oder 2 u. s. f. stehen und es muss, wie dies oben bei den Wässern des öfteren erwiesen ist, je nach der Phase ein verschiedenes Belagsbild entstehen.

In der nachfolgenden Zusammenstellung ist hievon abgesehen. Sie stellt eine deduktive Entwicklung der Belagsfiguren dar aus wenigen Prämissen, welche durch die Beobachtung sich leicht ergeben und hier in kurzen Überschriftssätzen definiert sind:

1) Von einem gegebenen Punkt, dem Keimpunkt in der Gelatineplatte, breitet sich die Bakterie in die Kreisform aus, wenn das Substrat homogen ist. Der Hauptbelag ist und bleibt ein Kreis.

2) In Innern dieses differenzieren sich wiederum Kreise oder Kugeln.

3) Im Innern bilden sich Sterngruppen, infolge stärkerer Zentrifugaltendenz des vegetativen Zuwachses.

Es ergeben sich somit zwei physische (mechanische) Kategorien und zwei ebensolche Momente für das Zustandekommen morphotisch scharfumschriebener Belage durch Bakterien auf Gelatine.

I. K a t e g o r i e. Das Substrat ist homogen dicht in seiner Grenzfläche, welche in der Mehrzahl der Versuche auf dem Objektträger auch die Impffläche ist.

1. M o m e n t. Es herrschen Flüssigkeitsströme im Sinne der Sachsschen Theorie der Emulsionsfiguren, welche je nach den Bedingungen der Ausstrahlung zu aktinomorphen oder zygomorphen (einseitig polarisirten), zunächst unsichtbaren Belagsfiguren der Keime führen.

a) Die Bakterie greift das Substrat nicht an, das will sagen, die Wirkung ist optisch nicht nachweisbar.

b) Die Bakterie greift das Substrat an, mehr oder weniger stark erodierend, ätzend oder das Substrat verflüssigend oder in seiner optischen Reaktion verändernd.

2. M o m e n t. Die im Rand der sichtbaren Belagsfigur belegenen Individuen gleicher Art (so bei einer Reinkultur) haben, bei zentrifugaler Tendenz der vegetativen Entwicklung, andere Ernährungsbedingungen wie die Individuen des Mittelfeldes. Daher der meist hyaline Rand gegenüber dem Mittelfeld, welches dichter granuliert ist.

A) Die gegebene Bakterie hat eine geringe Zentrifugaltendenz: *Micrococcus Sarcina*, *Bacterium* u. s. f.

Der Rand ist alsdann flach bogenlinig oder glatt.

Hierunter noch a) und b) wie in 1.

B) Die gegebene Bakterie hat eine grosse Zentrifugaltendenz: Bacillus, Vibrio alle in Fäden wachsende.

Hierunter noch a) und b) wie in 1.

Der Rand ist gezahnt oder tief gezahnt oder tief gebuchtet oder doppelt gezahnt u. s. f.

II. Kategorie. Das Substrat ist (wie in der gewöhnlichen Gelatine und mehr noch in den Additionsplatten derselben) nach zwei zu einander senkrechten Richtungen ungleich elastisch und dicht.

Unter dieser Kategorie 1. 2. Moment, unter diesen wieder a) b), unter dem 2. Moment wieder A) a) b) und B) a) b).

Diese physischen oder äusseren Kategorien II. und Momente 1. 2. mit den im inneren Wesen der Bakterien begründeten Momenten a) b) und A) B) kombinieren sich nun aber noch mit dem Phasenunterschied der Entwicklung 1 bis 4 (Seite 413).

Wir ziehen diesen aber nicht hierherin, führen die aus dem obigen herzuleitenden Belagfiguren in Abbildungen vor.

I. Mechanische Kategorie. Das Substrat ist homogen dicht und elastisch.

1. Moment nach der Impfung sehr verdünnter Bakterienkulturen herrschen in Impfstelle Emulsionströme:

A. Aktinomorphic der durch Emulsionströme entstandenen Figur.

a) Die Bakterie greift das Substrat an, verflüssigt dasselbe aber schwach.

α. Die Zentrifugaltendenz am Rande ist 0 oder sehr klein.

γ. Zoogloen werden nicht gebildet.

Der Rand (R) ist gleich dem Mittelfeld (M).

M mit Sterngruppen, Fig. 2, Taf. XL.

M mit Kreisgruppen, Fig. 3.

M vollkommen homogen granuliert, Fig. 1, Taf. XL.

Der Rand ist vom Mittelfeld verschieden.

Der Rand zeigt Häufung.

M mit Sterngruppen, Fig. 4 a, Taf. XL.

M mit Kreisgruppen, Fig. 4 b.

M ist homogen granuliert, Fig. 4 c.

Der Rand zeigt homogene Hyalinzone.

M mit Sterngruppen, Fig. 5 a, Taf. XL.

M mit Kreisgruppen, Fig. 5 b.

M ist homogen granulirt, Fig. 5 c.

Der Rand zeigt homogene Hyalinzone mit Radialgranulirung.

M mit Sterngruppen, Fig. 6 a, Taf. XL.

M mit Kreisgruppen, Fig. 6 b.

M ist homogen granulirt, Fig. 6 c.

γ. Zooglöen werden gebildet, nur ein System. (1. System.)

Nur Randparenchyma.

M homogen granulirt, Fig. 7 a, Taf. XL.

M mit Sterngruppen, Fig. 7 b.

M mit Kreisgruppen, Fig. 7 c.

Rand und Mittelparenchym.

M mit unvollkommenen Verband-Radialketten, Fig. 8, Taf. XL.

M vollkommen parenchymatos.

M Pedicelstrangform des Randes, Fig. 9, Taf. XL.

M Epithel, Epidermisform des Randes, Fig. 10.

M mit Appositionszooglöen, Fig. 11, 12.

M mit losen Ketten, welche an den Rand anschliessen.

Vollkommenen Aktinmorphie, Fig. 13, Taf. XLI.

Ausgesprochene Zygomorphie, Fig. 14.

γ. Zooglöen werden gebildet 1. und 2. System. Das 2. System auf homogener — Sterngruppen oder Kreisgruppen-Unterlage.

Zooglöen des 2. Systemes regellos zerstreut.

Randhäufung (s. unter I A a α und γ . . .).

M homogen, Fig. 15, Taf. XLI.

M mit Sterngruppen, Fig. 16.

M mit Kreisgruppen, Fig. 17.

Rand hyalin.

M homogen, Fig. 18, Taf. XLI.

M mit Sterngruppen, Fig. 19.

M mit Kreisgruppen, Fig. 20.

Rand hyalin mit Radialpunktirung.

M homogen, Fig. 21, Taf. XLI.

M mit Sterngruppen, Fig. 22.

M mit Kreisgruppen, Fig. 23.

Zooglöen des 2. Systems isolirt in Radialgruppen.

Randhäufung.

M homogen, Fig. 24, Taf. XLI.

M mit Sterngruppen, Fig. 25.

M mit Kreisgruppen, Fig. 26.

Rand hyalin.

M homogen, Fig. 27, Taf. XLI.

M mit Sterngruppen, Fig. 28.

M mit Kreisgruppen, Fig. 29.

Rand hyalin mit Radialpunktirung.

M homogen, Fig. 30, Taf. XLI.

M mit Sterngruppen, Fig. 31.

M mit Kreisgruppen, Fig. 32.

Zoogloën des 2. Systems in Algenketten. Aktinomorphie dieser, Taf. XLI, XLII.

Randhäufung:

M homogen . . Fig. 33.

M mit Sterngruppen „ 34.

M mit Kreisgruppen „ 35.

Rand hyalin:

M homogen . . Fig. 36.

M mit Sterngruppen „ 37.

M mit Kreisgruppen „ 38.

Rand hyalin mit Radialpunktirung.

M homogen . . Fig. 39.

M mit Sterngruppen „ 40.

M mit Kreisgruppen „ 41.

Zygomorphie der Algenketten Taf. XLII.

Randhäufung:

M homogen . . Fig. 42.

M mit Sterngruppen „ 43.

M mit Kreisgruppen „ 44.

Rand hyalin:

M homogen . . Fig. 45.

M mit Sterngruppen „ 46.

M mit Kreisgruppen „ 47.

Rand hyalin mit Radialpunktirung.

M homogen . . Fig. 48.

M mit Sterngruppen „ 49.

M mit Kreisgruppen „ 50.

ε. Zoogloën werden gebildet (erstes und zweites System), das erste System ist ganz oder zum Teil parenchymatos, das zweite Zoogloënsystem liegt in oder über dem ersten.

Das Mittelfeld zeigt keine Zooglöen, der Rand zeigt Zooglöen (des ersten Systems).

Die Zooglöen des zweiten Systems stehen:

Über R. und M. zerstreut.		Isolirt in Ra- dialgruppen.		Im Algenkettentypus mit			
				Aktinomor- phie.		Zygomor- phie.	
M. homogen		M. homogen		M. homogen		M. homogen	
Rand- epithel	Rand- Pediast.	Rand- epithel	Rand- Pediast.	Rand- epithel	Rand- Pediast.	Rand- epithel	Rand- Pediast.
51	52	57	58	63	64	69	70
M. mit Sterngr.		M. mit Sterngr.		M. mit Sterngr.		M. mit Sterngr.	
R.-E.	R.-P.	R.-E.	R.-P.	R.-E.	R.-P.	R.-E.	R.-P.
53	54	59	60	65	66	71	72
M. mit Kreisgr.		M. mit Kreisgr.		M. mit Kreisgr.		M. mit Kreisgr.	
R.-E.	R.-P.	R.-E.	R.-P.	R.-E.	R.-P.	R.-E.	R.-P.
55	56	61	62	67	68	73	74

Das Mittelfeld und der Rand zeigen Zooglöen des ersten Systems im Parenchymaverband.

Die Zooglöen des zweiten Systems stehen:

Über R. und M. zerstreut.		Isolirt in Ra- dialgruppen.		Im Algenkettentypus mit			
				Aktinomor- phie.		Zygomor- phie.	
Rand- epithel	Rand- Pediast.	Rand- epithel	Rand- Pediast.	Rand- epithel	Rand- Pediast.	Rand- epithel	Rand- Pediast.
75	76	77	78	79	80	81	82

- a. Die Zentrifugaltendenz ist merklich, stark bis sehr stark.
Zooglöen des ersten und zweiten Systemes fehlen, Taf. XLIII.
Der Rand ist gewimpert ohne Randabhubzone.

M homogen, Fig. 83.

M mit Sterngruppen, Fig. 84.

M mit Kreisgruppen, Fig. 85.

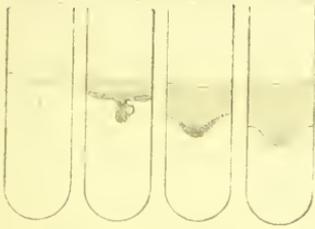
Der Rand ist gewimpert mit peripherer Abhubzone.

M homogen, Fig. 86.

M mit Sterngruppen, Fig. 87.

M mit Kreisgruppen, Fig. 88.

1.



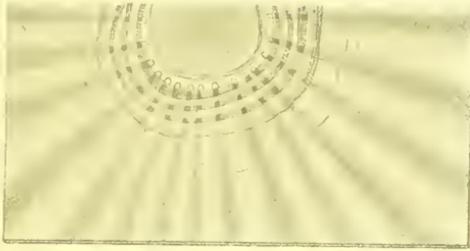
2.



4.



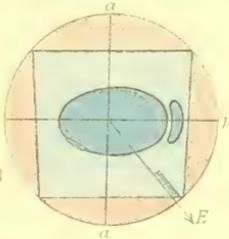
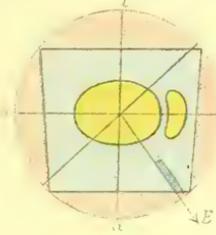
5.



9.



3.



7^b



7^a

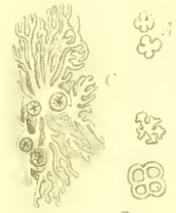


7^c

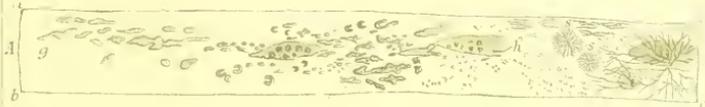
6.



12.

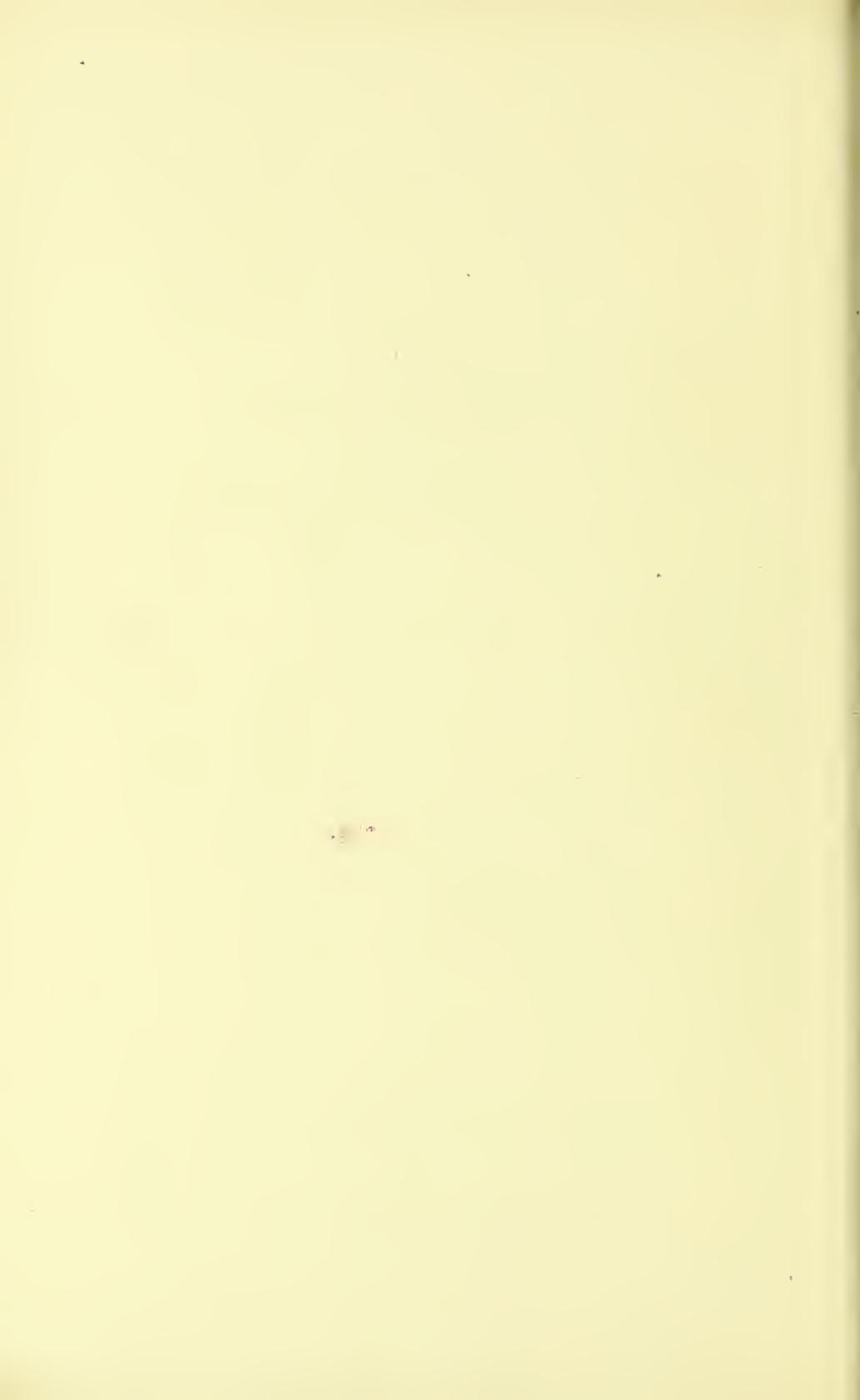


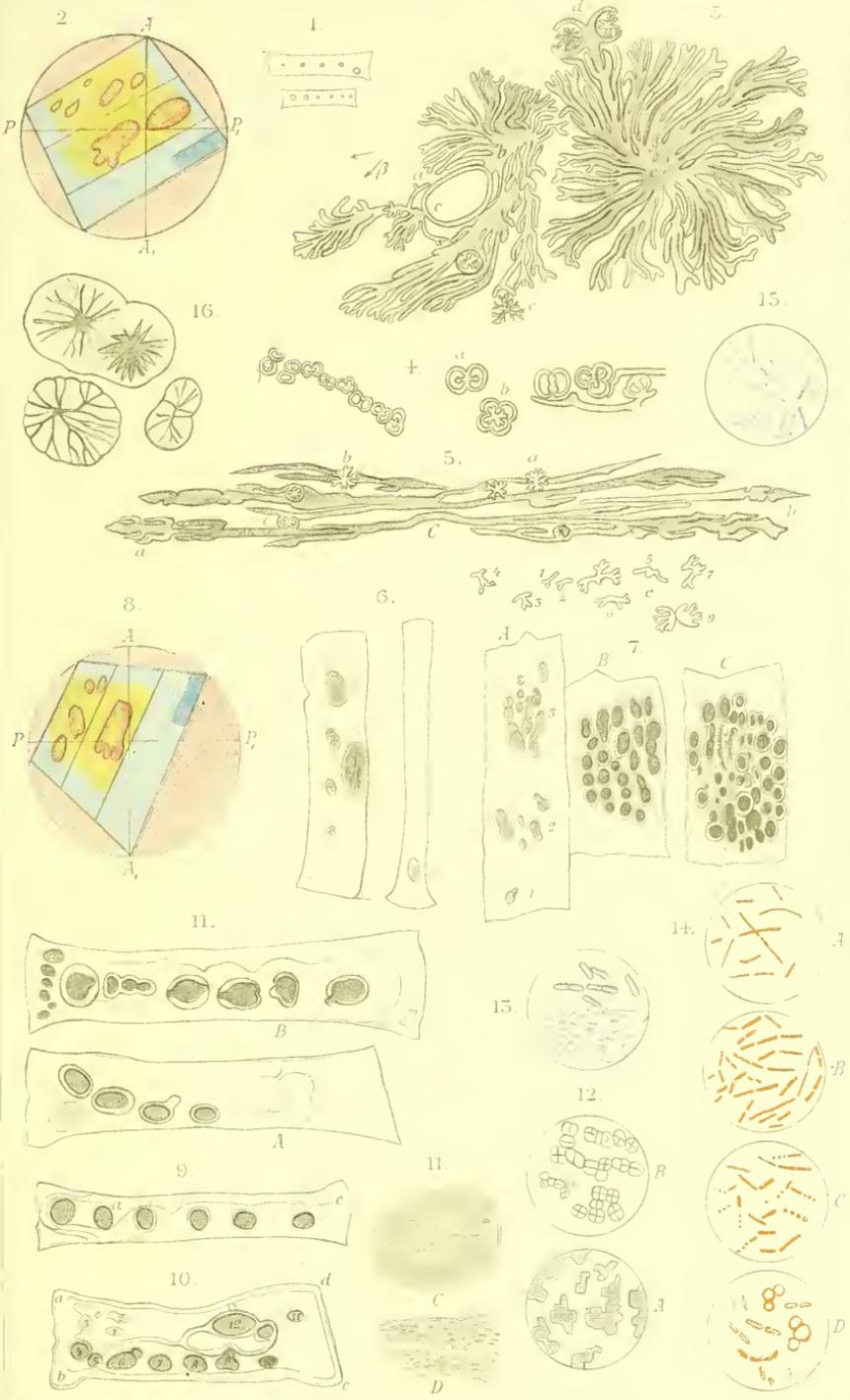
10.



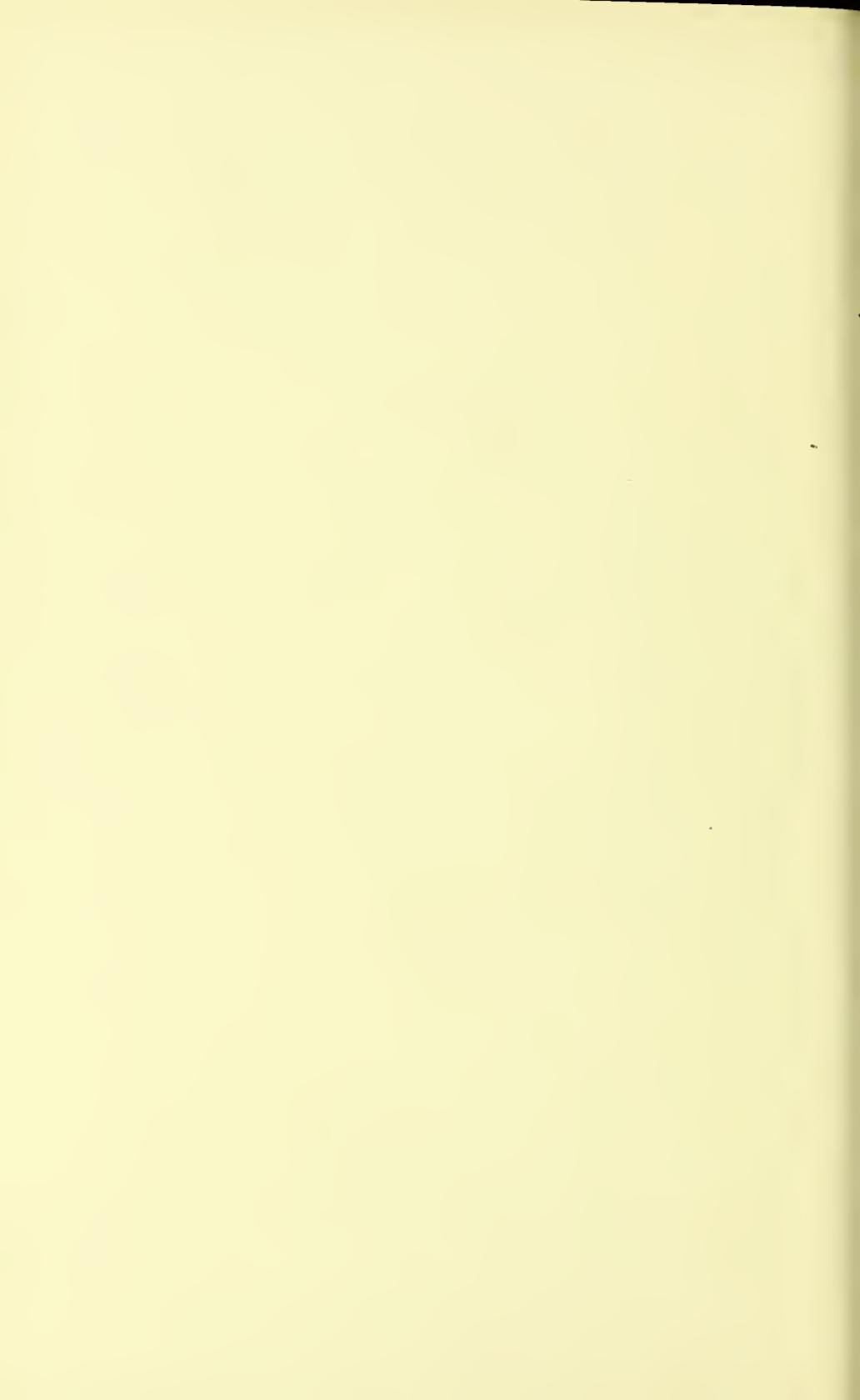
11.

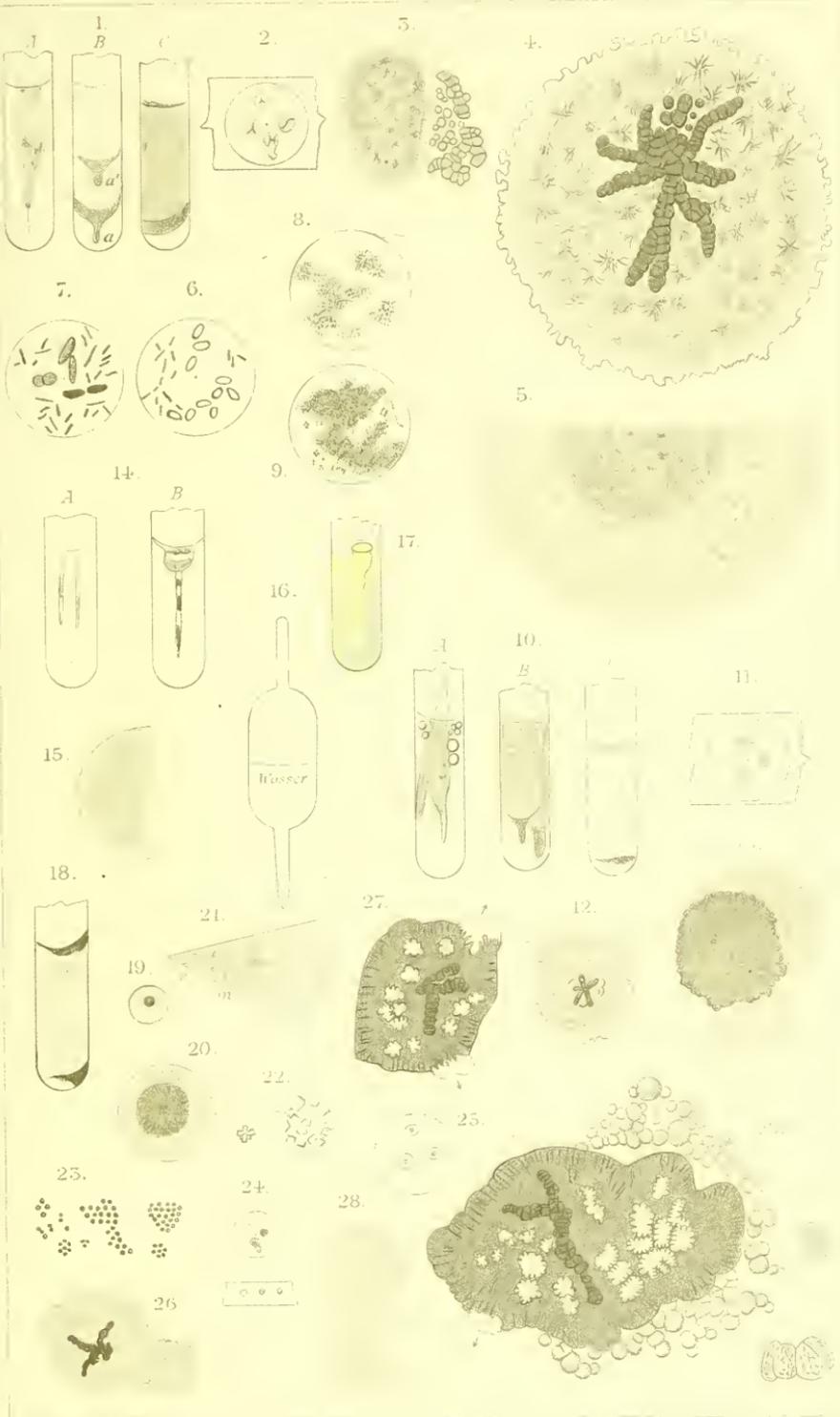


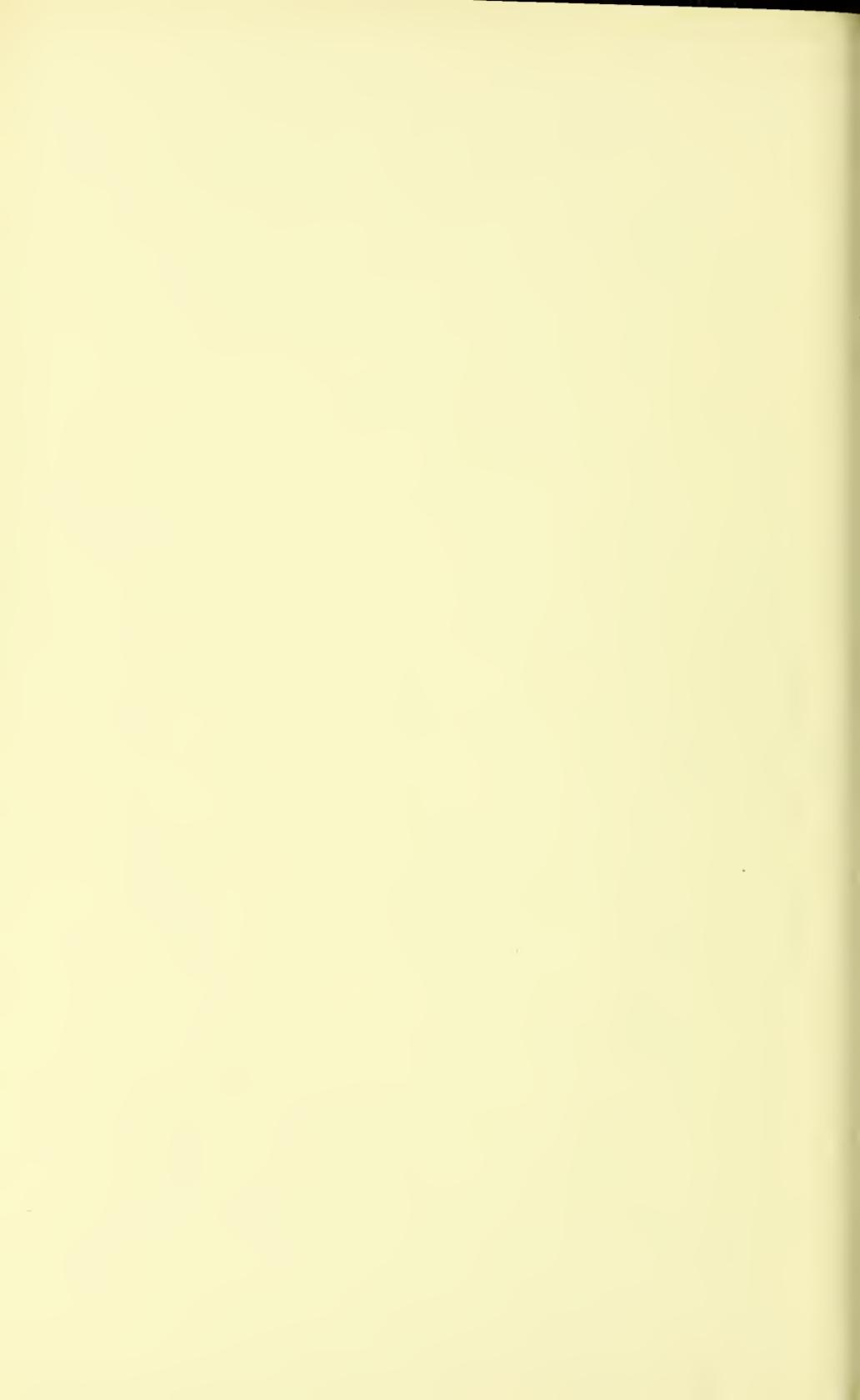




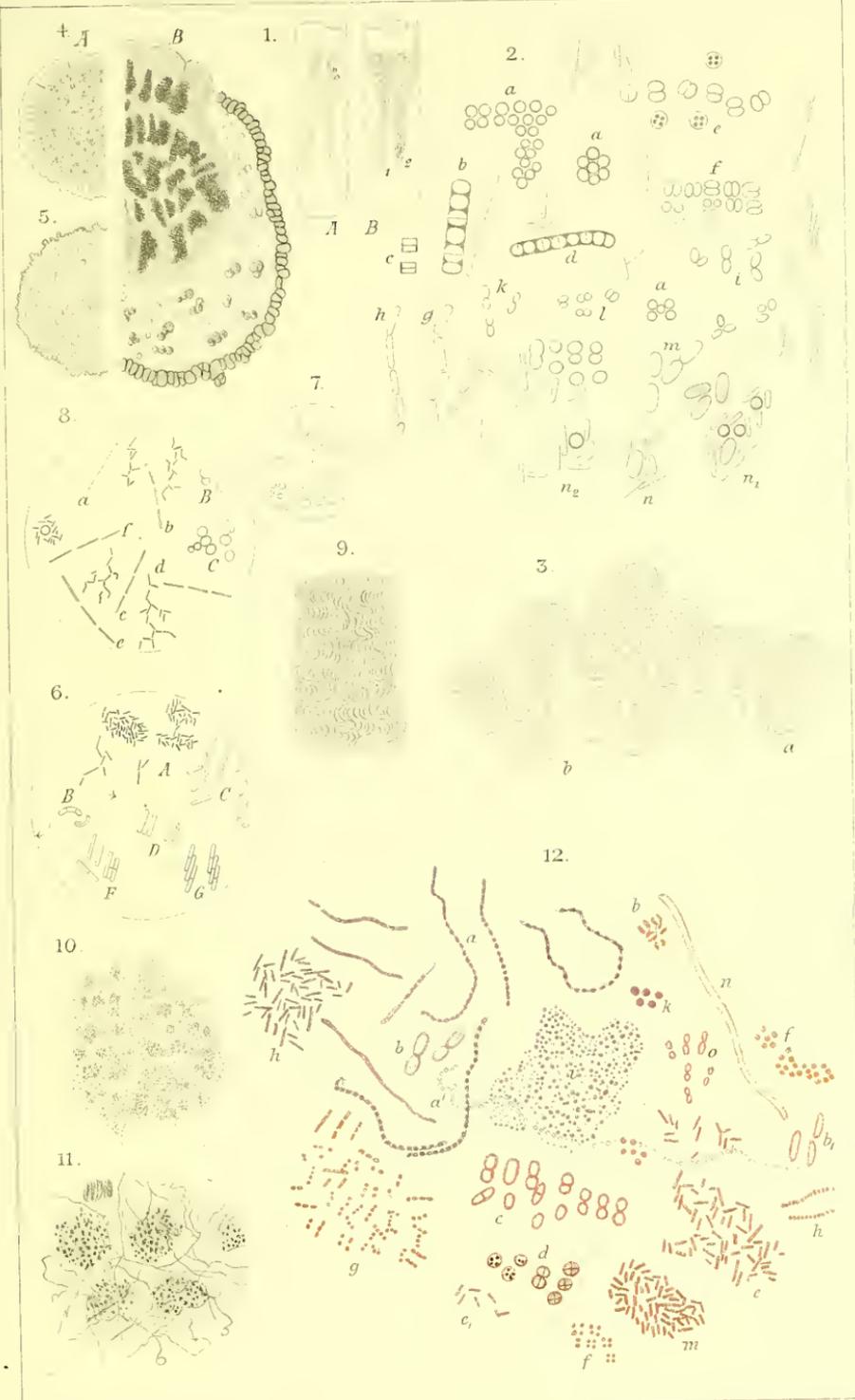




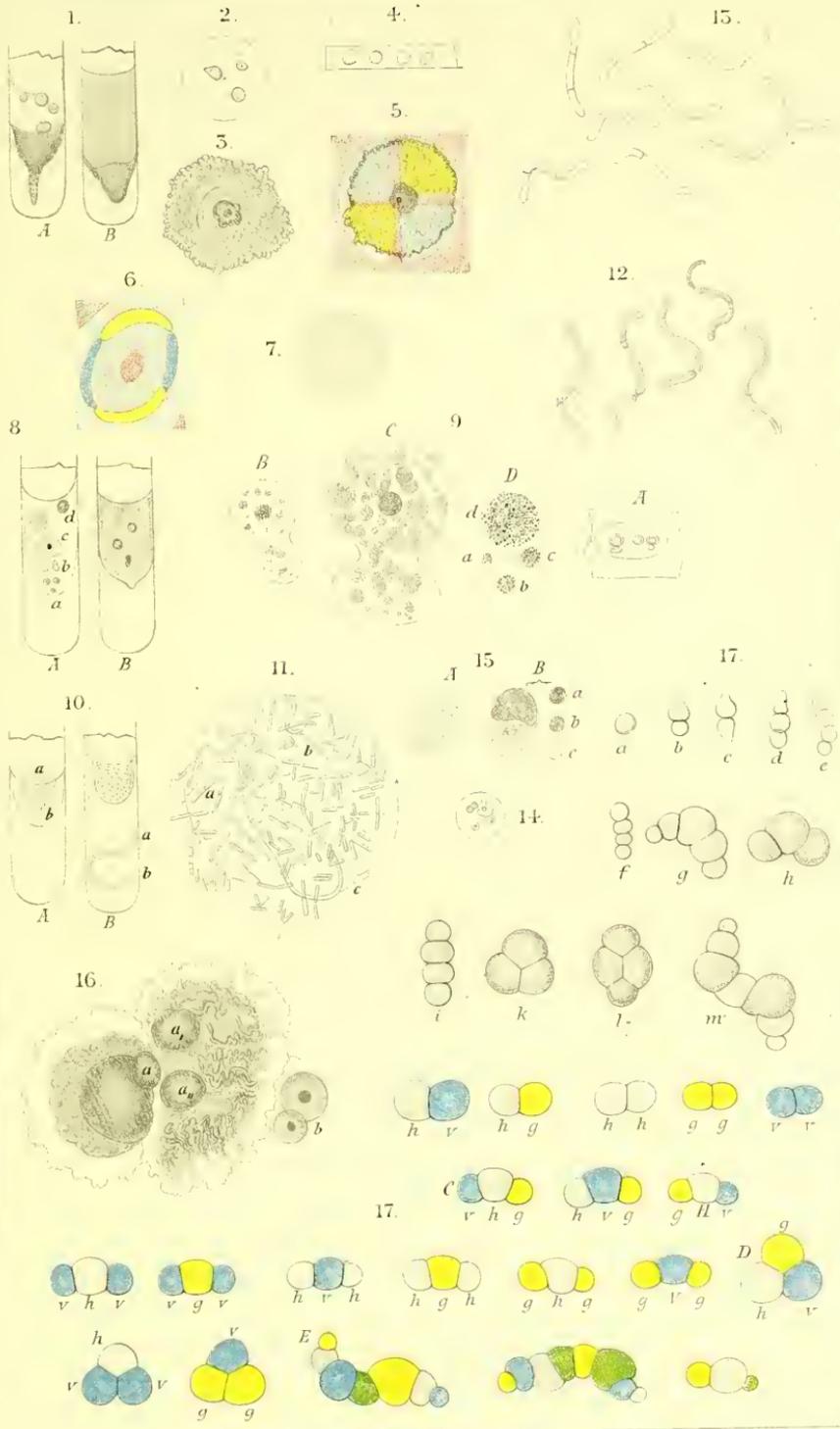












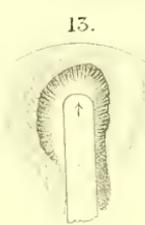
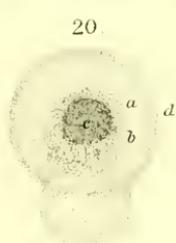
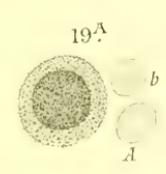
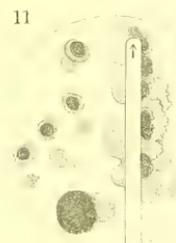
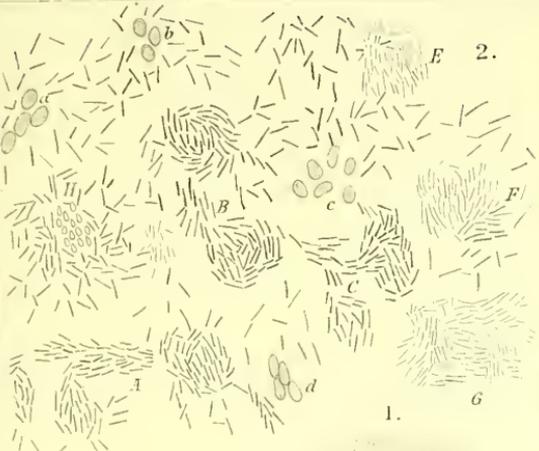


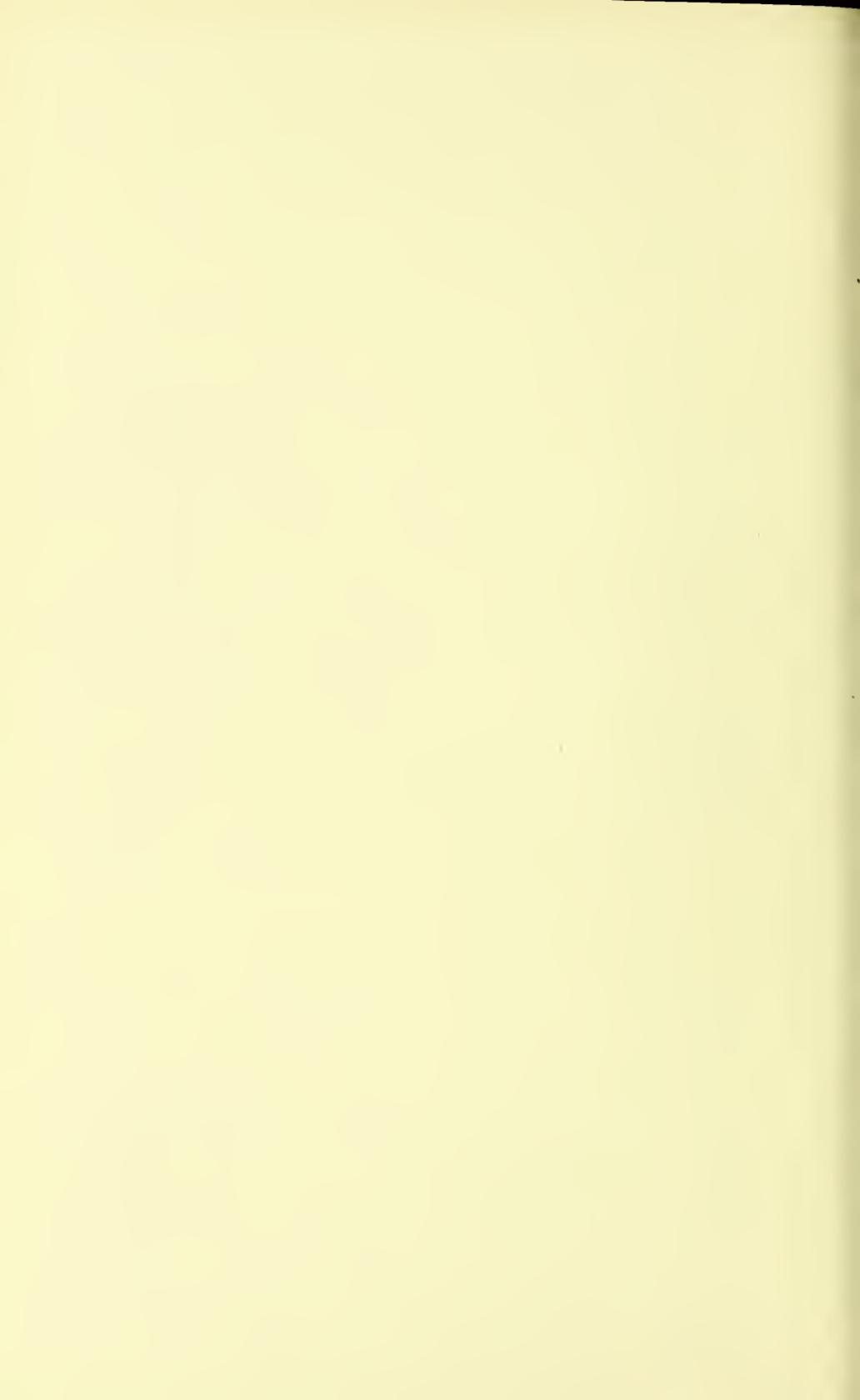


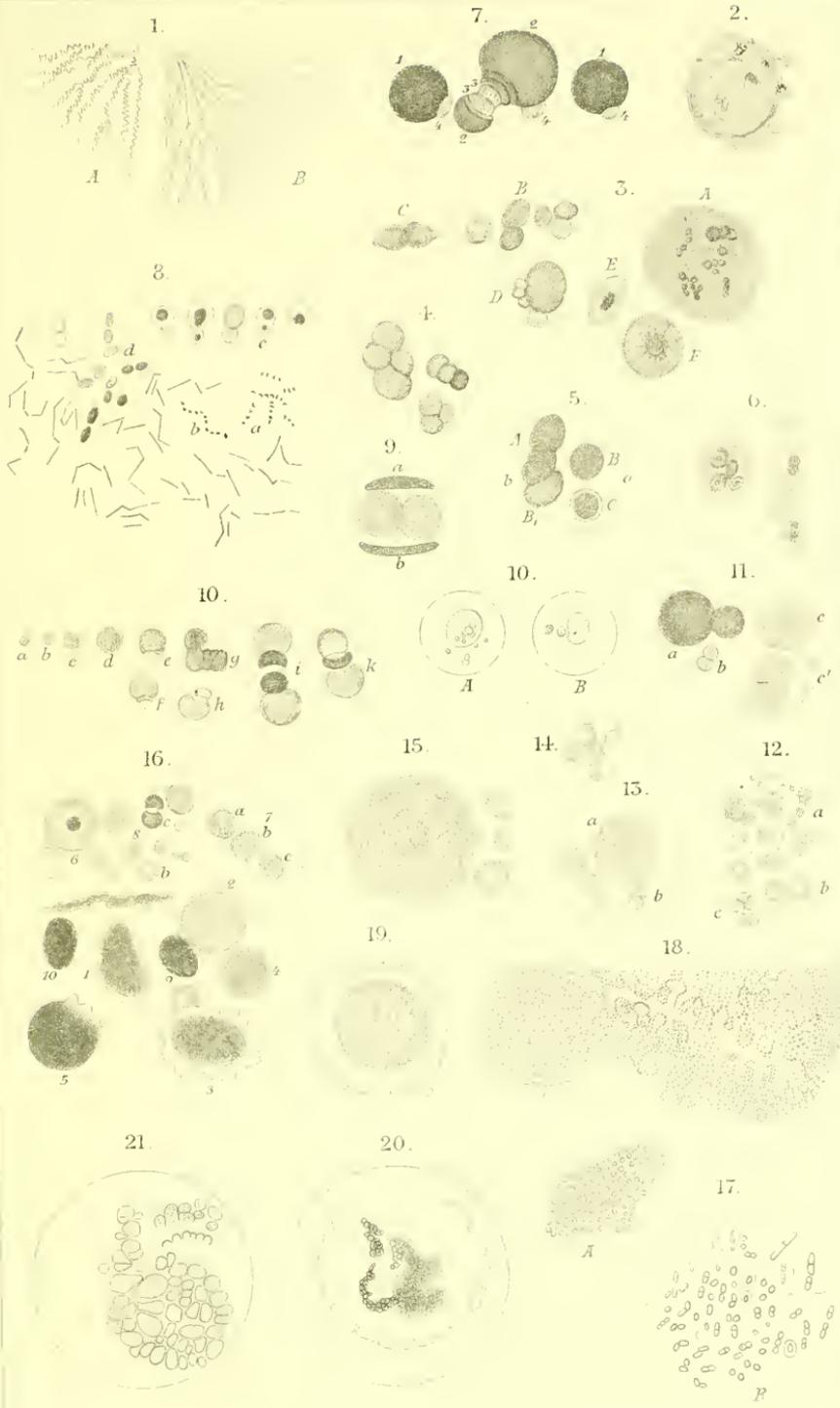
H. J. C. Müller ad nat. del.

Lith. Anst. v. Werner & Winter, Frankfurt a/M.

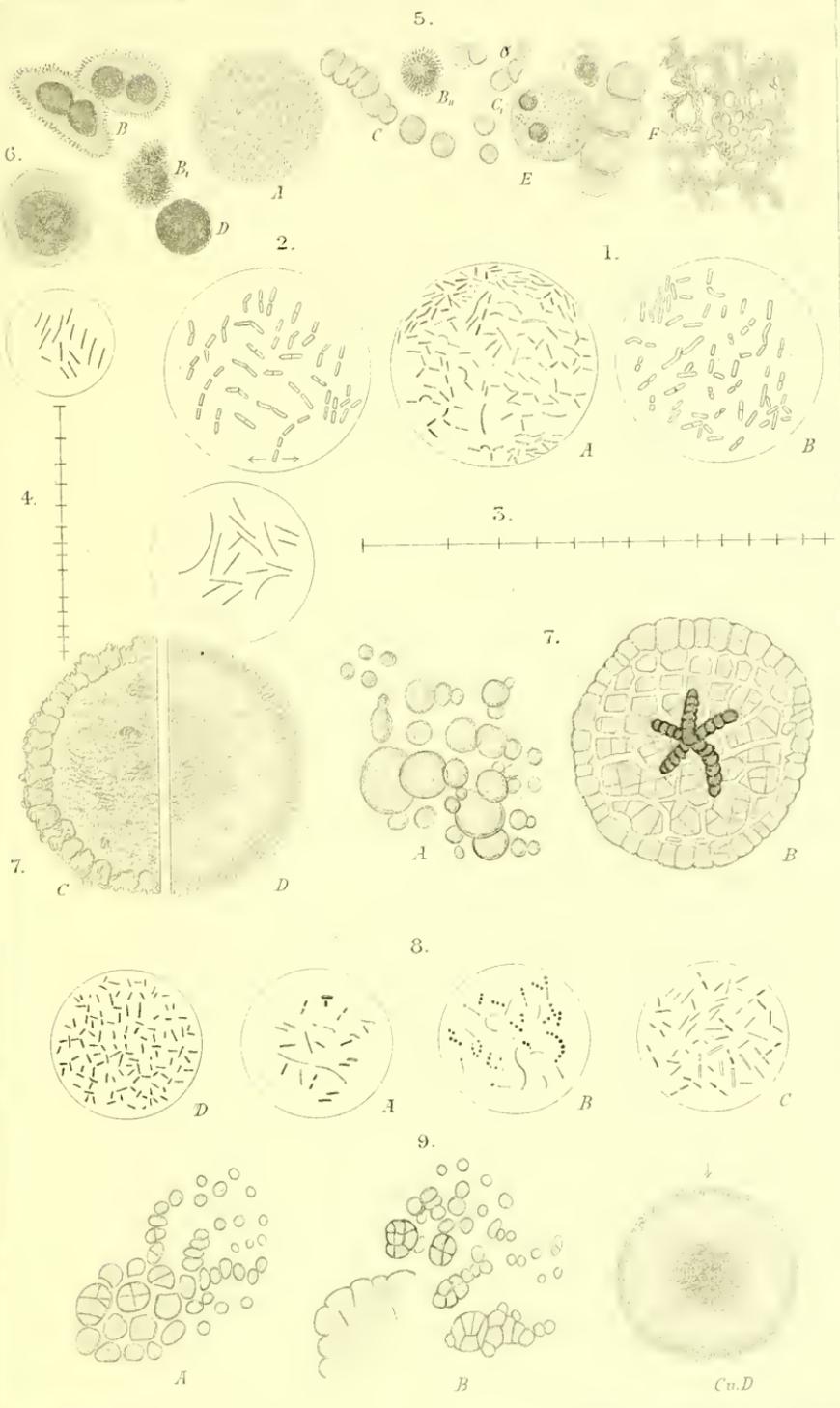
Verlag von Erwin Naegele, Stuttgart.







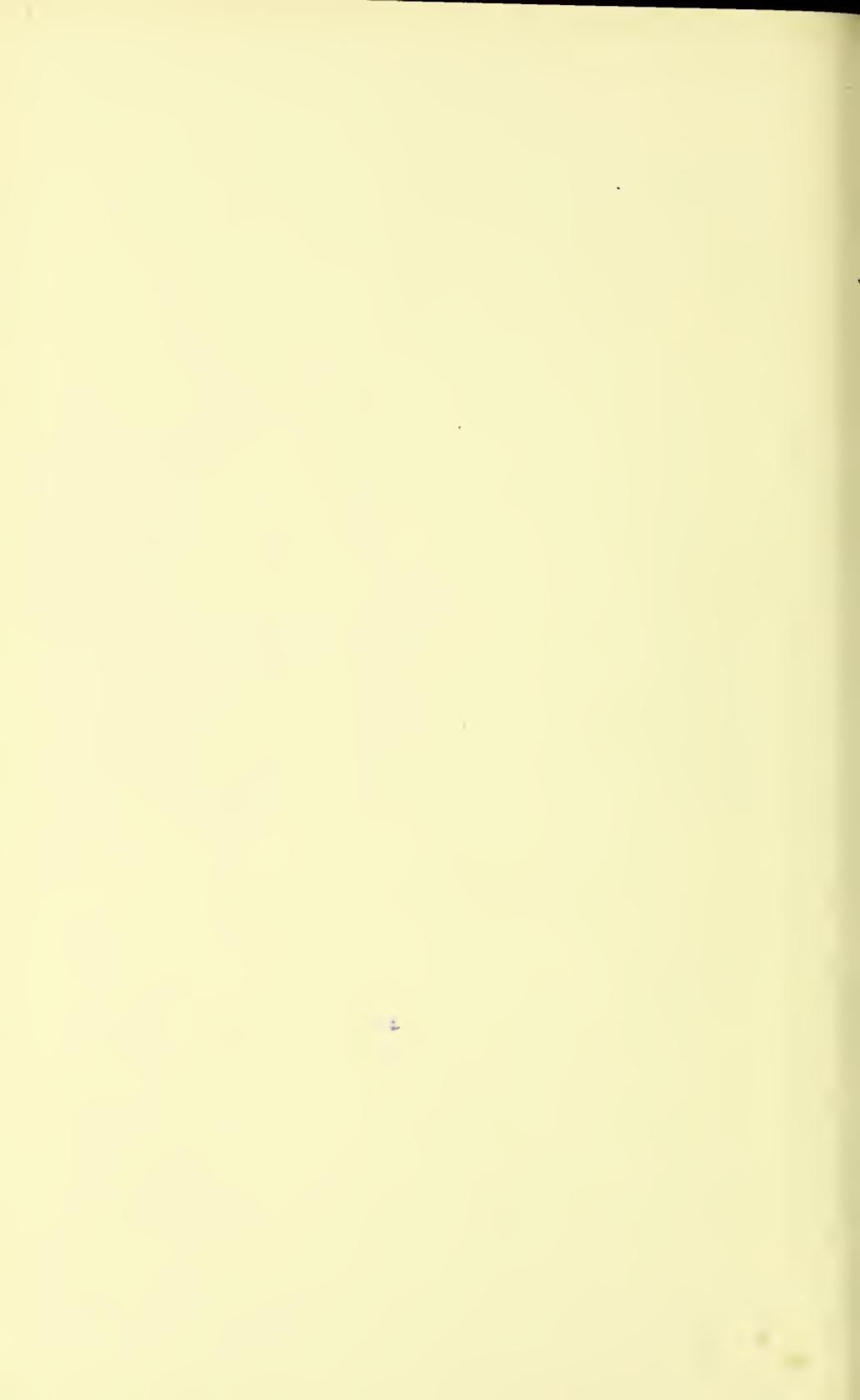


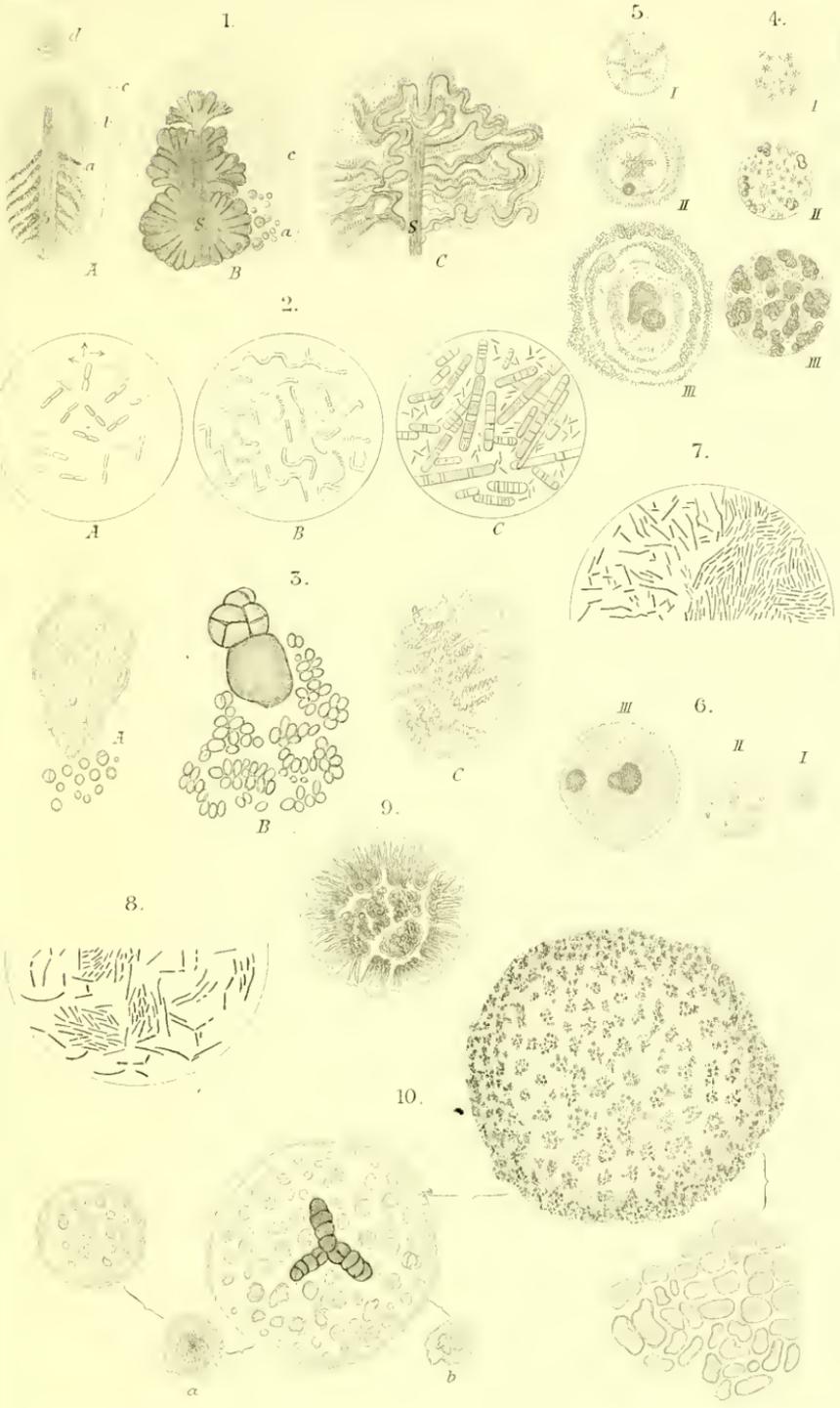


Verlag von G. Fischer.

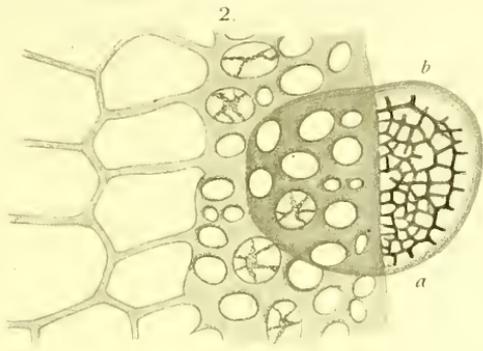
Verlag von G. Fischer, Stuttgart.

Verlag von G. Fischer, Stuttgart.

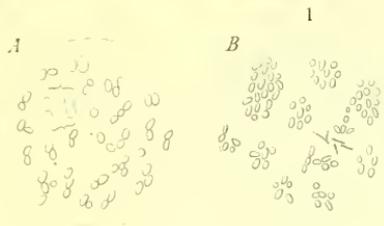








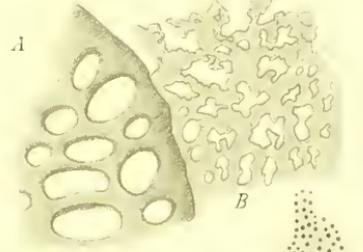
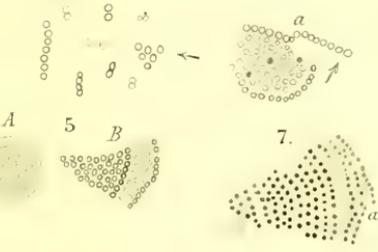
11



4.

6.

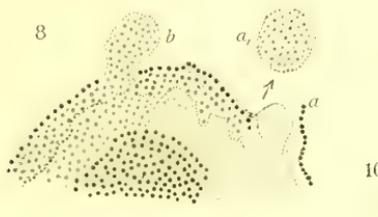
9.



8.

7.

10.



A

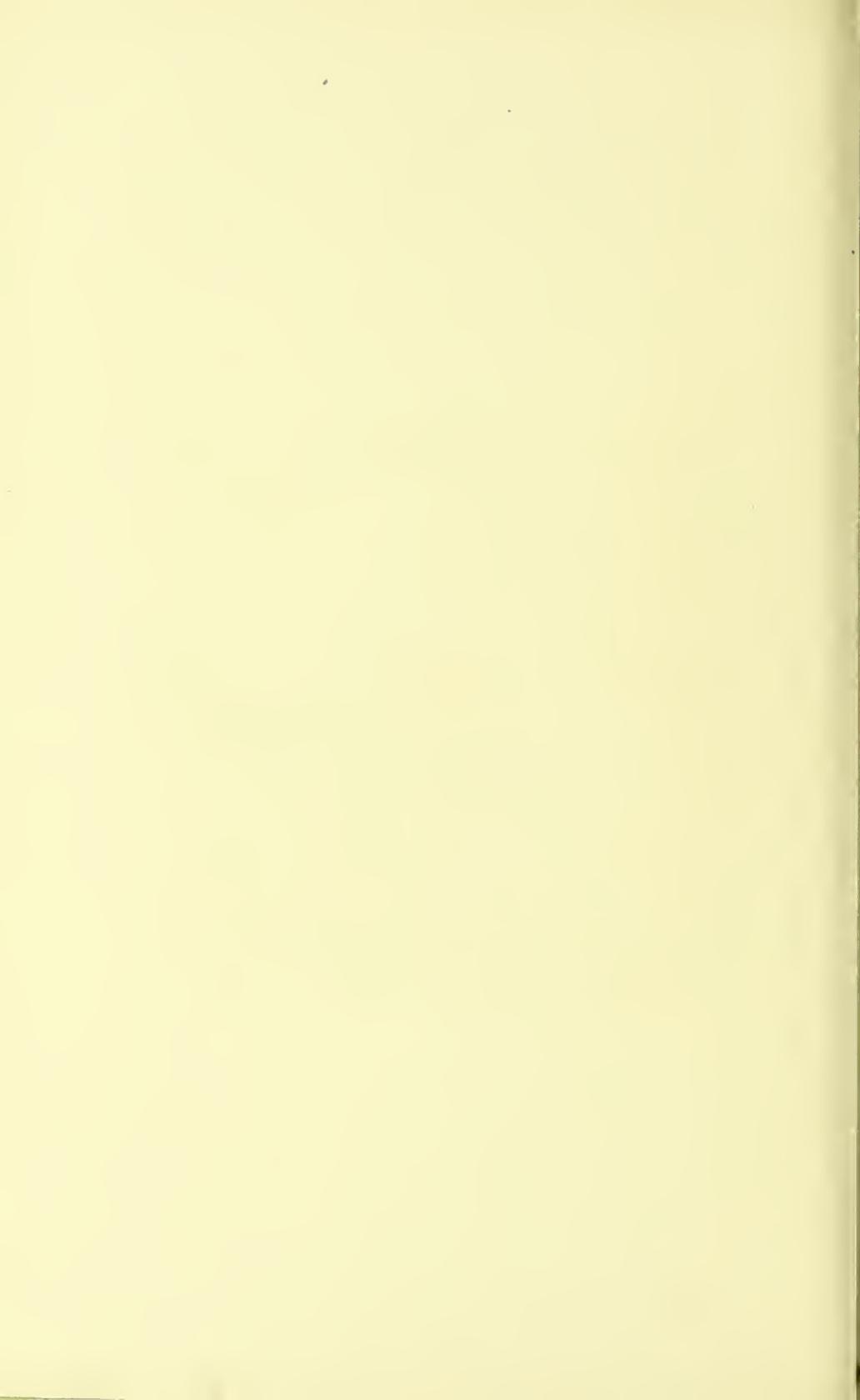
B

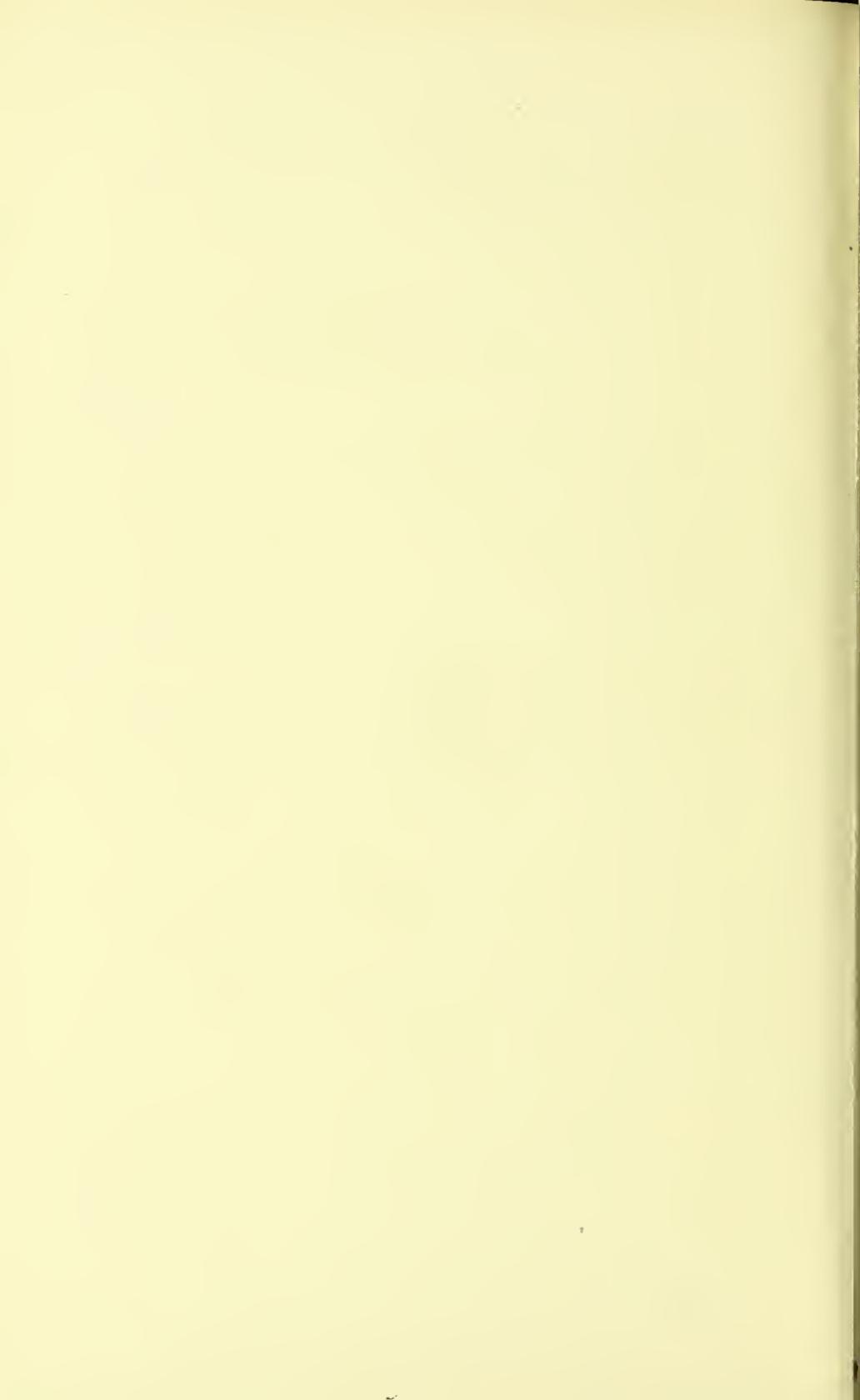
12.

C

D



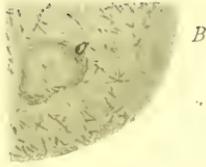




2.



A



B



C

3.



5.



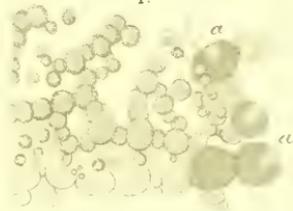
6.



4.



1.



8.



10.



11.



A

D

C

7.



C



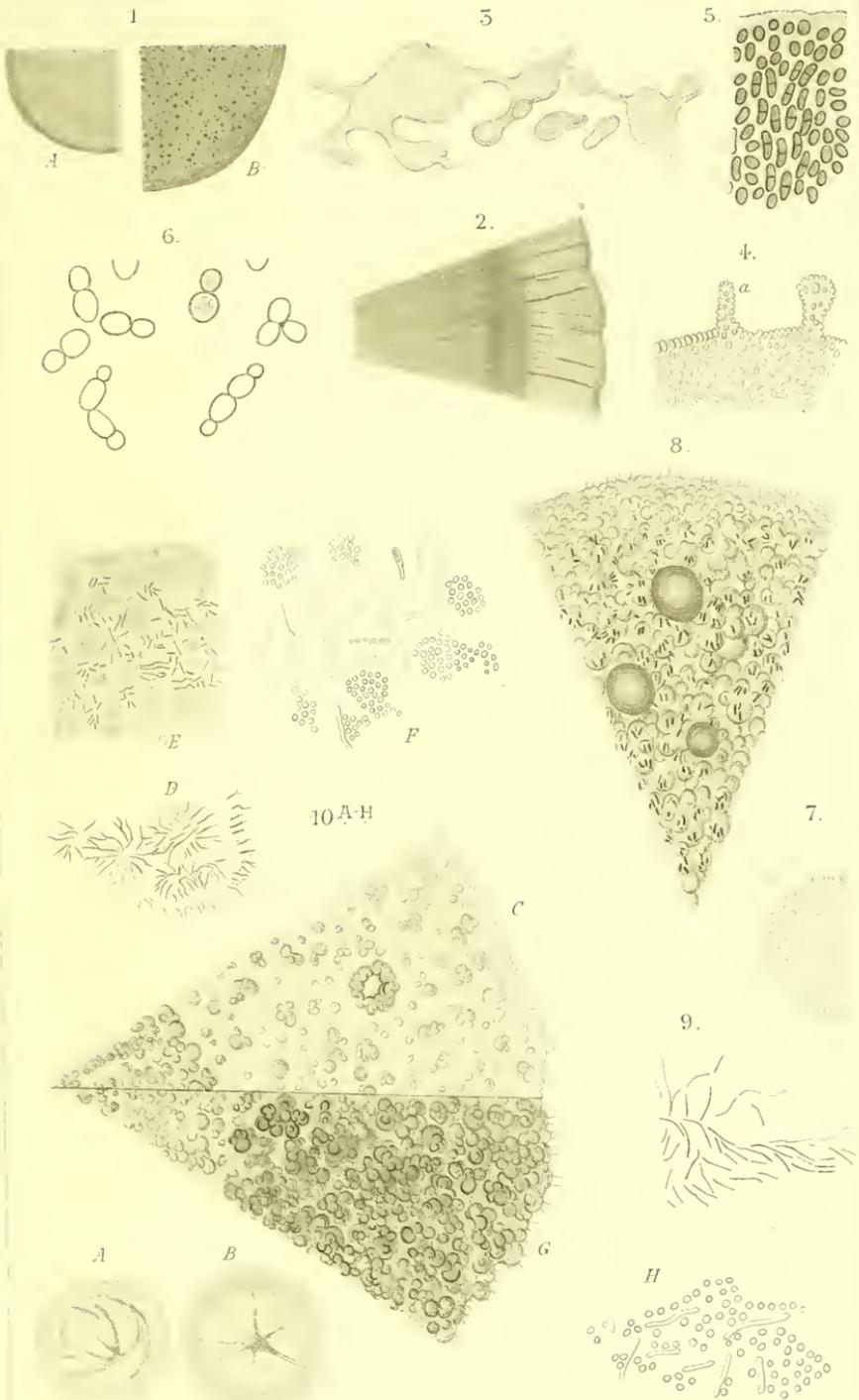
B

9.

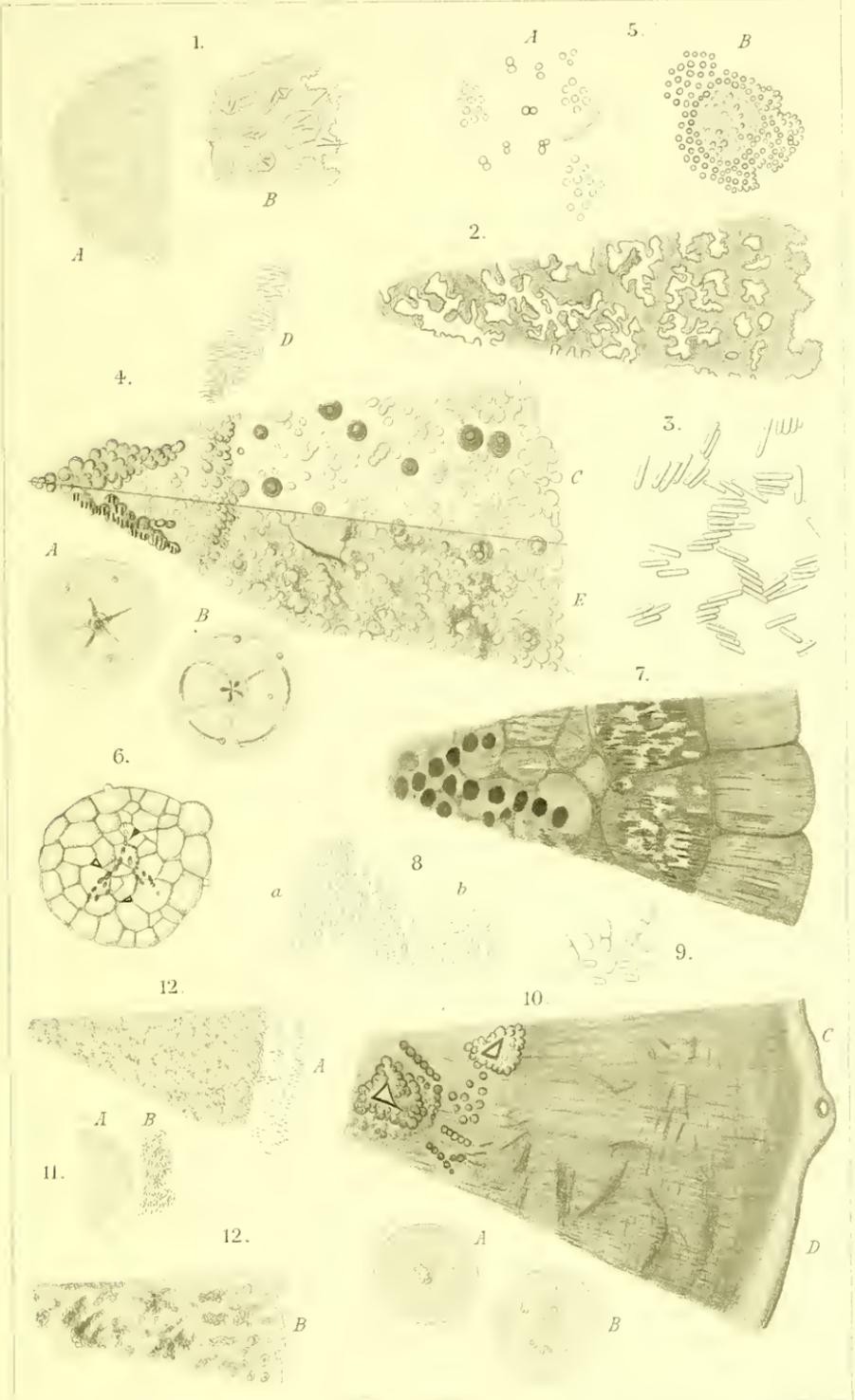


A





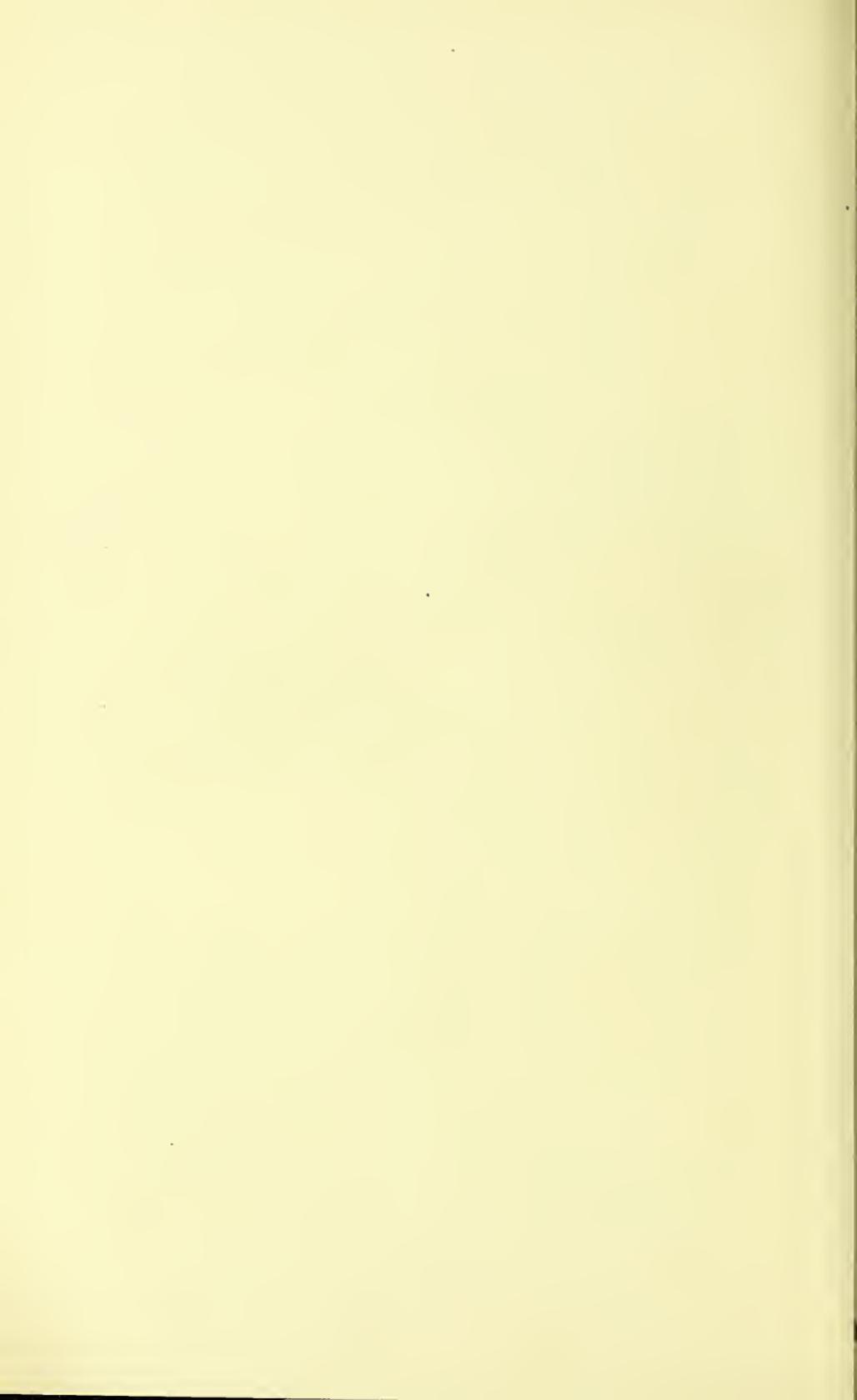


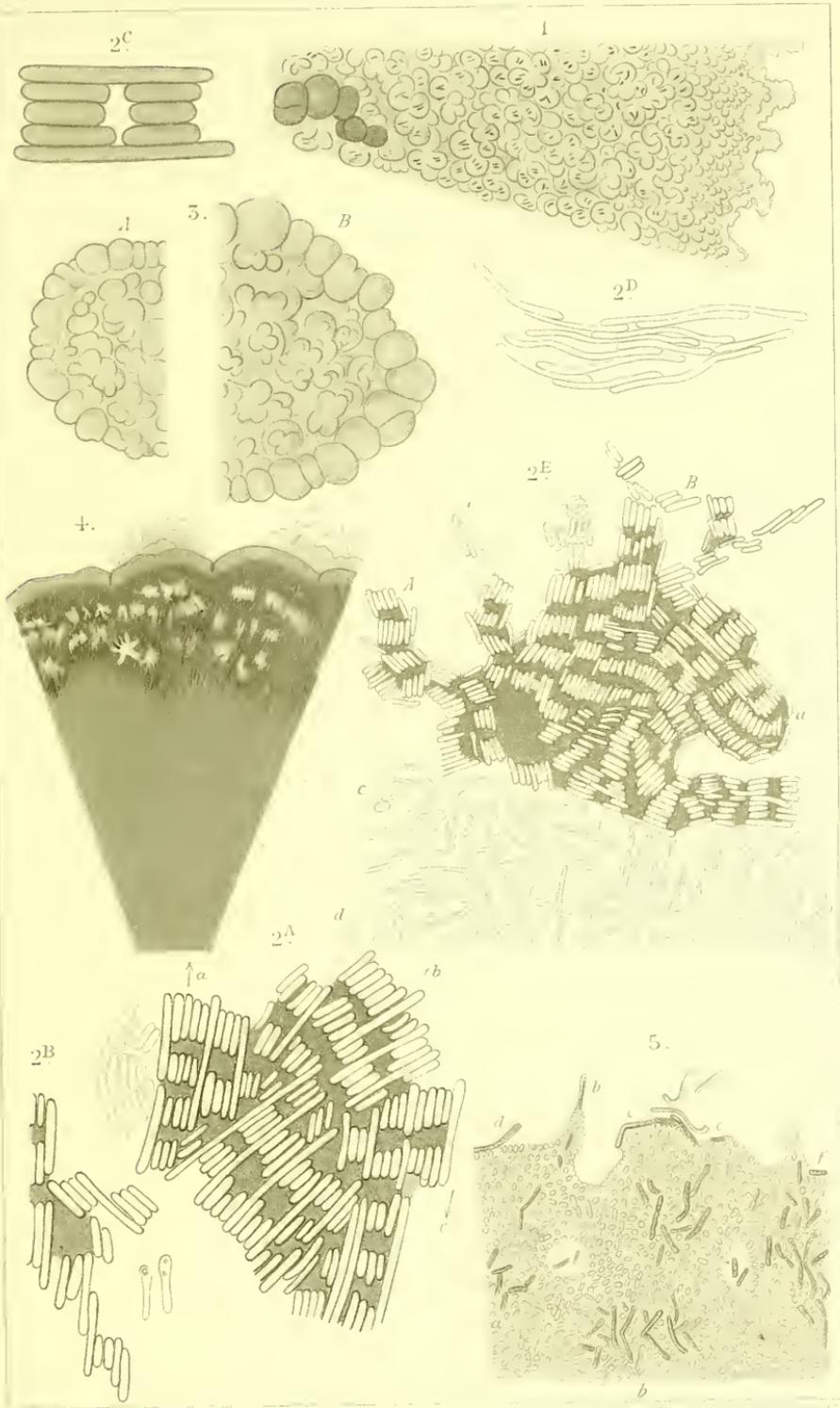


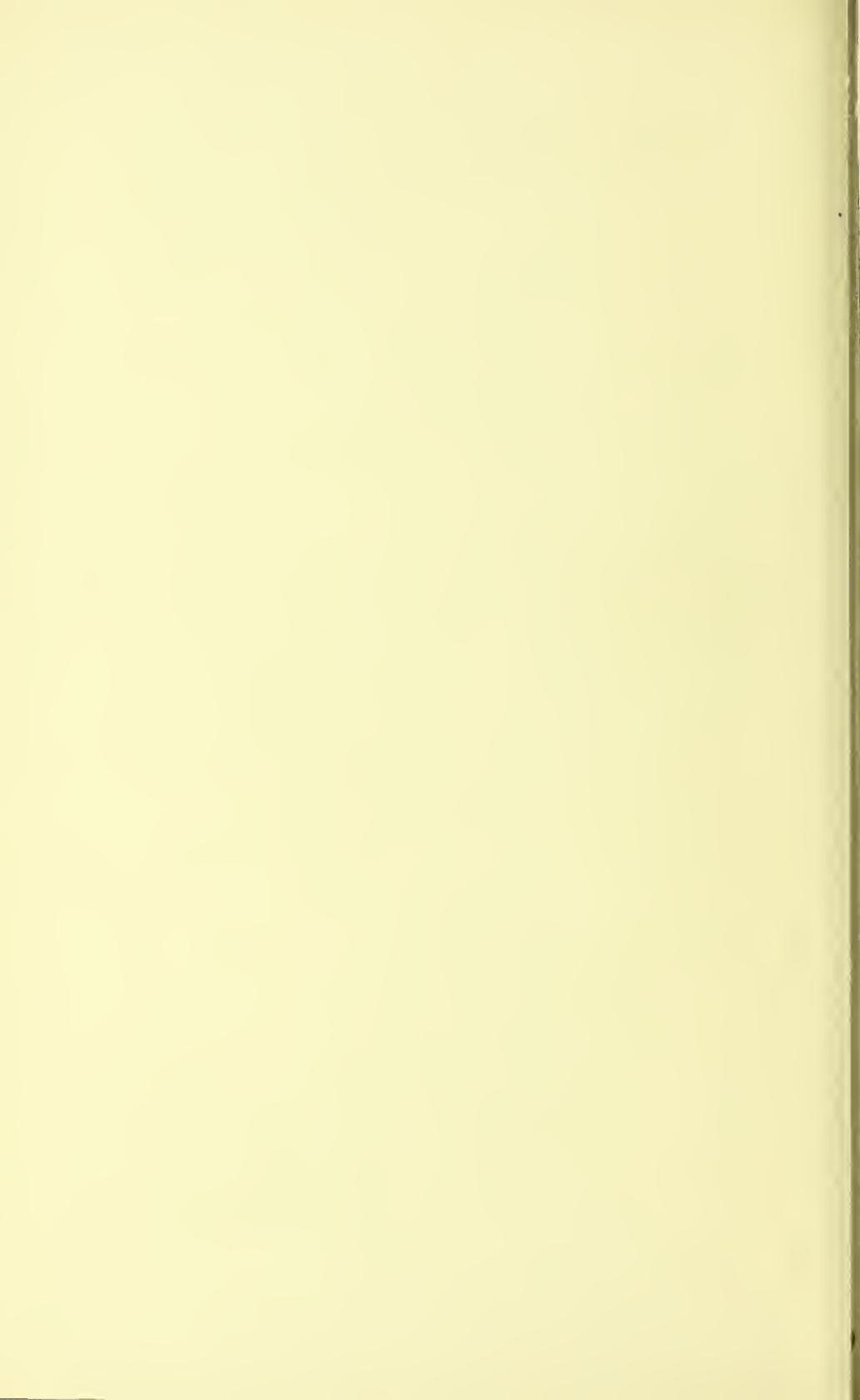
N. J. C. Müller ad nat. del.

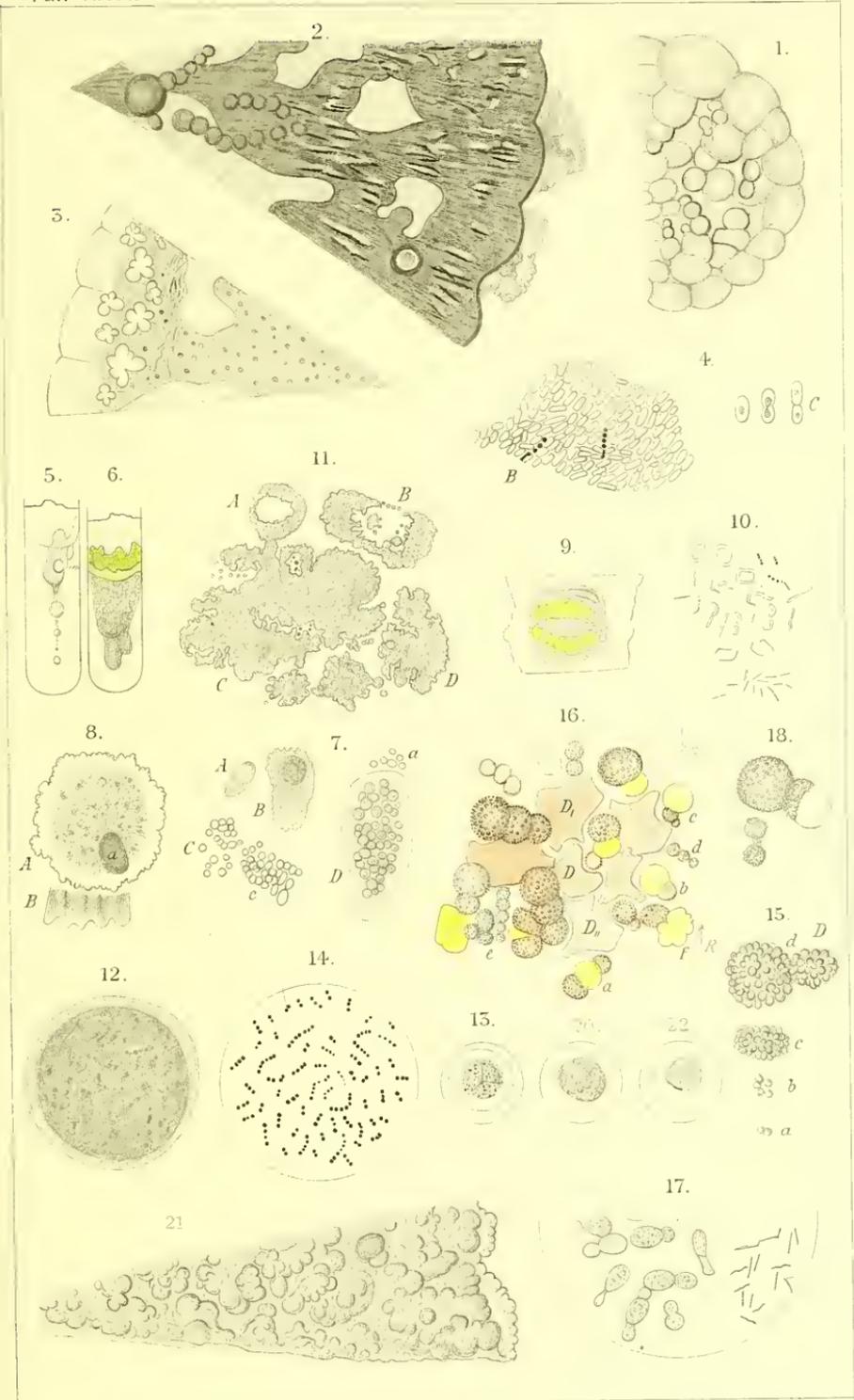
Lith. Anst. v. Wenz & Wagner, Fr. 1848, 1849, 1850, 1851, 1852, 1853, 1854, 1855, 1856, 1857, 1858, 1859, 1860, 1861, 1862, 1863, 1864, 1865, 1866, 1867, 1868, 1869, 1870, 1871, 1872, 1873, 1874, 1875, 1876, 1877, 1878, 1879, 1880, 1881, 1882, 1883, 1884, 1885, 1886, 1887, 1888, 1889, 1890, 1891, 1892, 1893, 1894, 1895, 1896, 1897, 1898, 1899, 1900.

Verlag von Erwin Nagel, Stuttgart

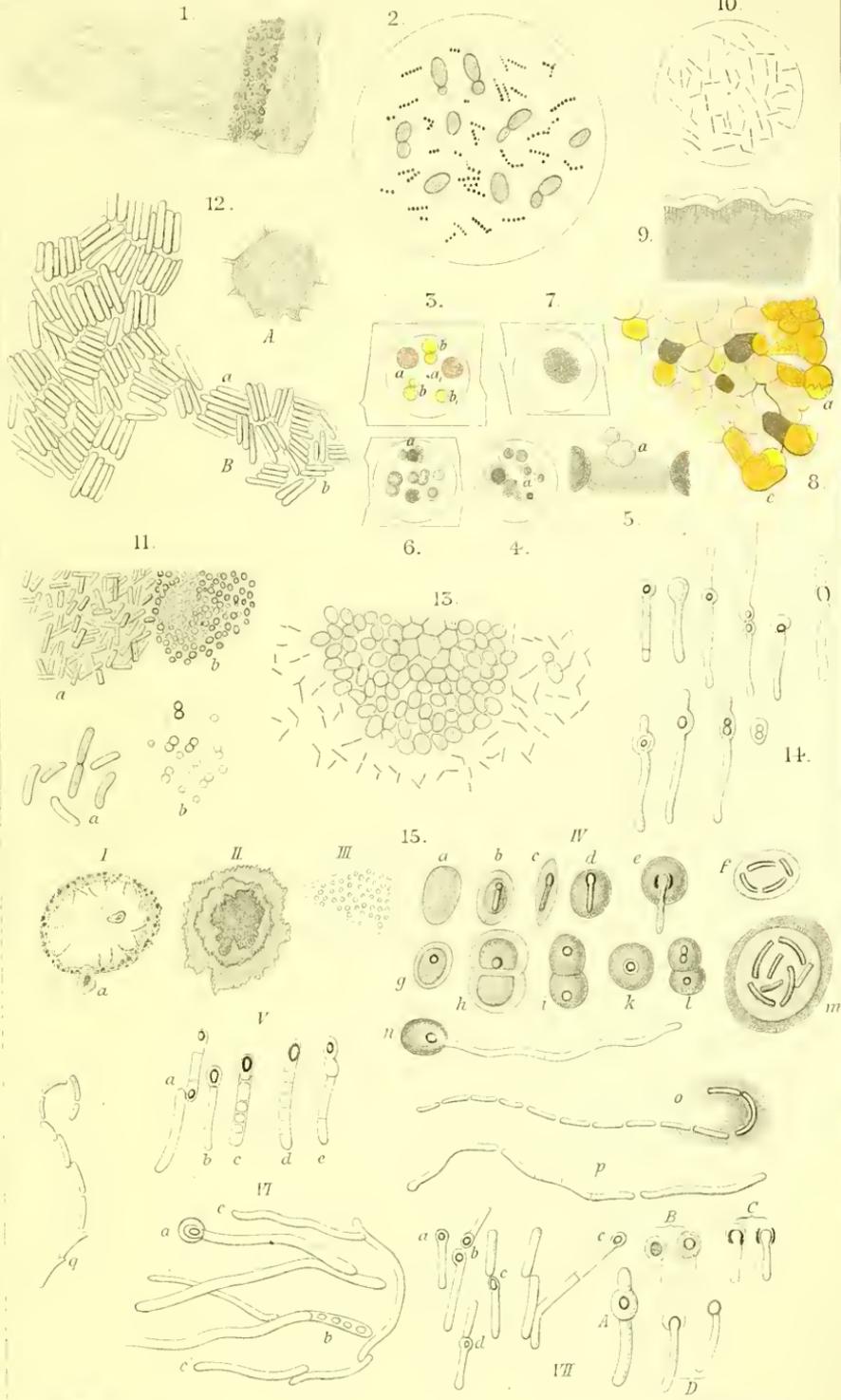






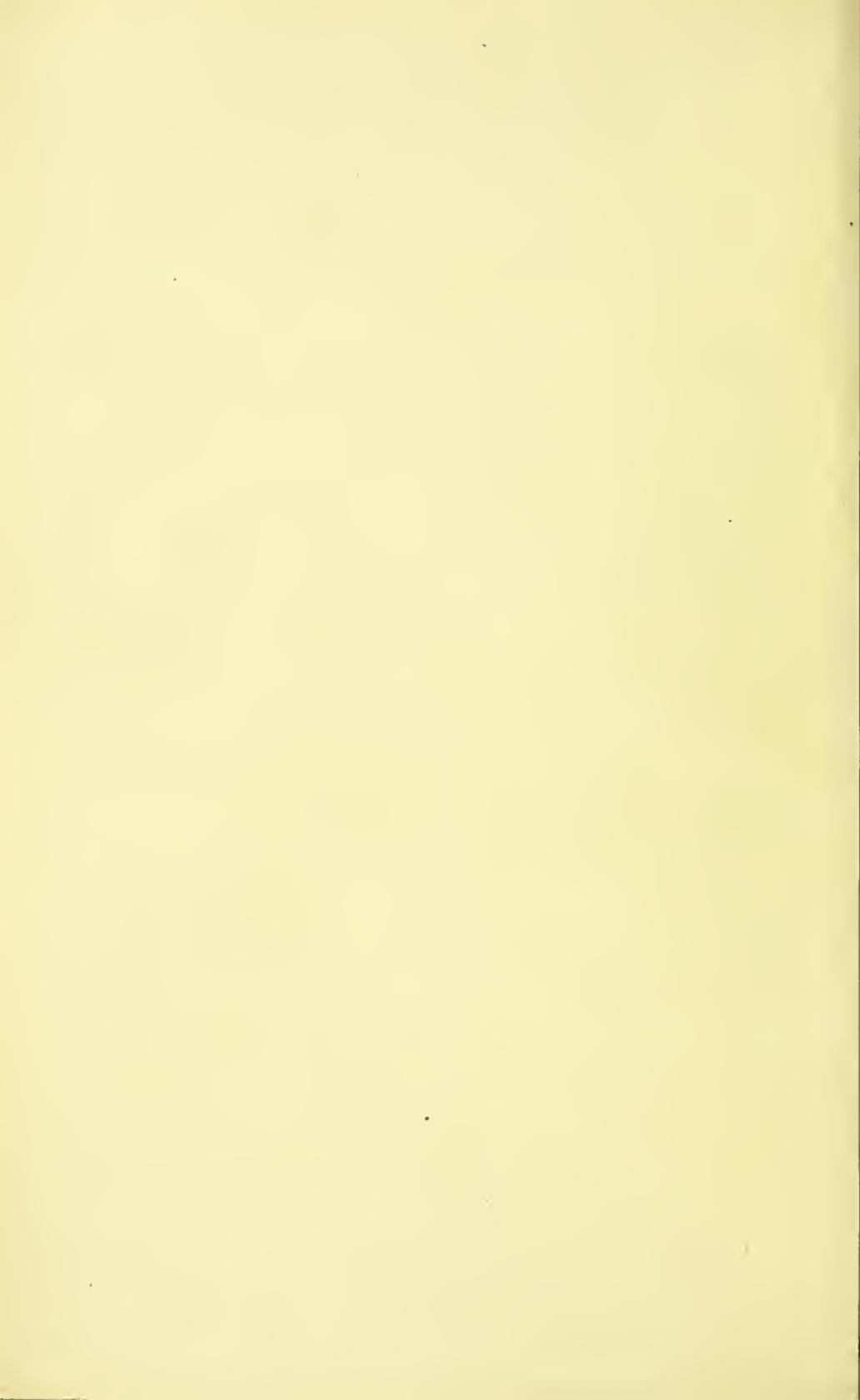






Verlag von Ernst & Sohn, Frankfurt a. M.

Verlag von Ernst & Sohn, Frankfurt a. M.



6 JUN 1963

7001

5/5

Verlag von Erwin Nägele, Stuttgart.

Bibliotheca Botanica

Abhandlungen aus dem Gesamtgebiete der Botanik

herausgegeben von

Prof. Dr. Chr. Luerssen und **Prof. Dr. B. Frank**
Königsberg. Berlin.

Die Bibliotheca Botanica erscheint in Quartformat in zwanglosen Heften mit zahlreichen, zum grossen Teil farbigen Tafeln. — Jedes Heft wird einzeln abgegeben.

Forschungsberichte

aus der

Biologischen Station zu Plön

Teil V.

Mit 4 lithographierten Tafeln und 14 Abbildungen im Text.

Herausgegeben von

Dr. Otto Zacharias

Direktor der Biologischen Station.

Preis 12 Mark.

Botanischer Taschenatlas für Touristen und Pflanzenfreunde

von

Prof. Dr. M. Fünfstück

Docent der Botanik an der Kgl. techn. Hochschule in Stuttgart

Zweite vermehrte Auflage

mit 128 kolorierten und 23 schwarzen Tafeln

Preis eleg. in Lwd. gebd. Mk. 5.40.

Durch die vorzüglichen Abbildungen, den mässigen Preis und vor allem das bequeme handliche Format hat sich der Taschenatlas allseits Freunde erworben, und so dürfte auch die zweite Auflage, in welcher verschiedenen an den Herausgeber gelangten Wünschen Rechnung getragen wurde, dazu berufen sein, das Buch in den weitesten Kreisen einzuführen, und dasselbe zu einem beliebten Begleiter bei allen Excursionen zu machen.