

Nachdruck verboten.

Übersetzungsrecht vorbehalten.

## Depressionszustände und Regulationsvorgänge bei dem *Bact. anthracis*.

Herrn Geh. Hofrat Prof. Dr. RICH. HERTWIG  
zu dessen 25-jährigem Professoren-Jubiläum in dankbarer Verehrung  
gewidmet.

Von

Dr. Vladislav Růžička,

Privatdozent der allgemeinen Biologie in Prag.

(Hierzu Tafel X u. XI.)

### I. Zur Morphochemie der Sporenbildung.

Nachdem ich, soweit es die heutigen Mittel erlauben, von dem *Bact. anthracis* den Beweis geliefert habe,<sup>1)</sup> daß sich dasselbe durchgehend aus Nucleinstoffen zusammensetzt, lag die Frage nahe, wie sich zu dieser Tatsache die Produkte der vegetativen bakteriellen Individuen: die Sporen verhalten. Die Bearbeitung dieses Problems erwies sich als eine ziemlich komplizierte Aufgabe.

Bevor ich jedoch an die Beantwortung der gestellten Frage schreite, möchte ich darauf hinweisen, daß auch andere Autoren in neuerer Zeit auf das Vorkommen von nucleinhaltigen Körnern in den Bakterien aufmerksam gemacht haben, so insbesondere DIETRICH u. LIEBERMEISTER<sup>2)</sup> und MEYER,<sup>3)</sup> alle auf Grund microchemischer Untersuchungen.

<sup>1)</sup> VLAD. RŮŽIČKA: Über die biologische Bedeutung der färbaren Körnchen des Bacterieninhaltes. Arch. f. Hygiene Bd. 47 1903. — Weitere Untersuchungen über den Bau und die allgemein biologische Natur der Bakterien. Ibid. Bd. 51 1904.

<sup>2)</sup> DIETRICH u. LIEBERMEISTER: Sauerstoffübertragende Körnchen in Milzbrandbacillen. Centralbl. f. Bacteriol. 32. I Orig. 1902.

<sup>3)</sup> MEYER: Orientierende Versuche über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. Bot. Ztg. 62 1904.

Besonders MEYER hat ausdrücklich angegeben, daß die Volutinkörner — so benennt er die Substanz jener Körner — wohl zu den Eiweißstoffen gehören und eine bedeutende Menge von Nucleinsäureverbindungen enthalten. Freilich erklärte er die Volutinkörner für Reservestoffe, indem er zugunsten dieser Ansicht anführt, daß sie sich in keimenden Bakterien gewöhnlich zugleich mit typischen Reservestoffen — Glycogen, Fett — vorfinden, daß ihre Zahl vor der Sporenbildung am größten ist und daß sie bei derselben gerade so wie Fett und Glycogen verbraucht werden.

Von den Ausführungen MEYER'S erscheint mir die von ihm festgestellte Tatsache, daß die besprochenen Körner eine reichliche Menge Nuclein enthalten, von viel größerem Wert zu sein, als seine Deutung derselben als Reservestoffe. Denn während jene Tatsache damit übereinstimmt, was ich über die chemische Zusammensetzung der morphologischen Komponenten der Bakterien in Erfahrung gebracht habe, konnte MEYER für die Deutung der Körner als Reservestoffe nur Analogien beibringen.

Die Gegenwart der Nucleinkörner in keimenden Stäbchen, ihre Anhäufung zur Zeit der Sporulation und ihr Verbrauch bei der Ausbildung der Spore können im Einklange mit meinen Angaben von den chemischen Verhältnissen der Bakterien erklärt werden, ohne daß man gezwungen wäre, die erwähnten Körner für Reservestoffe zu halten.

Zwischen meinen Angaben und denjenigen von DIETRICH und LIEBERMEISTER, welche für eine Nucleinähnlichkeit der Körnersubstanz, nicht aber für eine Identität derselben plädieren, tritt ein scheinbarer Widerspruch zutage, der im Nachfolgenden seinen Austrag finden wird.

Es wird also die Frage nicht als überflüssig erscheinen, ob die Substanz der Milzbrandbakterien eine Differenzierung zu erkennen gibt, welche mit Differenzierungen von anderweitigen Nuclein-substanzen verglichen und in Analogie gebracht werden könnte.

Die weitreichende Bedeutung der Entscheidung dieser Frage für die Cytologie brauche ich nicht erst darzulegen.

Nach welcher Richtung hin sich meine diesbezüglichen Untersuchungen zu bewegen haben, geht aus dem Nachfolgenden hervor.

Es ist sichergestellt worden, daß in gewissen Lebensabschnitten des Zellkernes das Chromatin der Kernschleifen schwindet. Die Stelle des verschwundenen Schleifenchromatins nimmt sodann ein Liuingerüst ein, welches außer durch seine Unfärbbarkeit mit basischen Farbstoffen auch durch Unterschiede von ganz zweifellos

chemischer Natur dem Chromatin gegenüber charakterisiert ist. Gemeinschaftlich ist den beiden Substanzen die Widerstandsfähigkeit gegen den Einfluß der künstlichen Magensaftverdauung.

Aus dem beschriebenen Vorgange hat man gefolgert, daß das Linin die Grundsubstanz sei, in welche das Chromatin der Kernschleifen eingebettet ist. Doch kann bei voller Entwicklung der letzteren das Liningerüst morphologisch nicht konstatiert werden. woraus man den weiteren Schluß zog, daß das Chromatin dasselbe verdecke.

Es ist jedoch klar, daß man mit demselben Rechte behaupten könnte, daß — da das Linin erst nach dem Schwunde des Chromatins oder noch vor der vollen Entwicklung desselben sichtbar wird — dasselbe in das Chromatin und umgekehrt umgewandelt werde.

Lassen wir jedoch diesen Umstand vorläufig beiseite und begnügen wir uns mit der Tatsache, daß eine morphologische Substituierung der beiden Substanzen vorkommen kann. Dieselbe ist histologisch so prägnant, daß bereits HÆCKER die Vermutung ausgesprochen hat, daß die Bedeutung der persistierenden Chromosomen nicht im Chromatin, sondern im Gegenteil im achromatischen Substrat derselben beruht. Freilich erscheint es mir zweifelhaft, ob man — wie es geschieht — die chromatinfreien Gebilde noch als Chromosomen bezeichnen darf, da das Chromatin, wie FRANK SCHWARZ gezeigt hat, kein rein morphologischer Begriff ist, sondern auch chemischen Sinn besitzt, und zwar einen solchen, der von dem des Linins vielfach abweicht.

Wenden wir uns nun dem Objekt der vorliegenden Publikation zu.

Um nun vor allem meine Arbeitsmethode zu kennzeichnen, so ließ ich die von mir geprüften Reagentien nicht auf mikroskopische Präparate einwirken, wie es sonst üblich sein mag, sondern ich habe größere Kulturmengen in Uhrschildchen der Wirkung der Reagentien ausgesetzt, welche sich also der eingebrachten Bacterienmenge gegenüber in großem Überschuß befanden.

Ich habe besonders auf die Wirkung der folgenden Reagentien mein Augenmerk gerichtet: 20proz. Kochsalz, konzentrierte Lösung von Magnesiumsulfat, Ferrocyankalium, Kupfersulfat, 5proz. Lösung von salpetersaurem Natron, 1proz. und 5proz. Monokaliumphosphatlösung.

Meine Versuche ergaben das folgende Resultat.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Eine ausführliche Schilderung dieses Befundes findet man in meiner Abhandlung „Der morphologische Metabolismus des lebenden Protoplasmas“. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 21 1906 S. 342 ff.

In allen den angeführten Lösungen sieht man die Chromatinleiber der Milzbrandbacillen entweder erblassen oder selbst zu winzigen Körnchen zerfallen.

Diese Versuchsergebnisse gestatten nur eine Interpretation, und zwar im Sinne des Schwundes der in den Bakterien enthaltenen färbbaren Substanz.

Vergleicht man nun dieses Resultat mit dem über die (mit basischen Farbstoffen) färbbare Substanz der Kerne von pflanzlichen und tierischen Zellen Bekannten, so springt sofort das analoge Verhalten beider in die Augen, so daß man mit gleichzeitiger Berücksichtigung der übrigen Kongruenzen, zu der Schlußfolgerung gedrängt wird, daß sich die färbbare Substanz des Milzbrandbacteriums der Einwirkung der oben angeführten Agentien gegenüber in derselben Weise wie das Chromatin der Zellkerne verhält. In diesem Sinne ist das Resultat der citierten Versuche als eine weitere Vervollständigung meines Beweises, daß die das Anthraxbacterium zusammensetzende Substanz Kernsubstanz ist, anzusehen.

Von besonderer Wichtigkeit erscheint jedoch der nachfolgende Umstand. Aus der Einwirkung der oben citierten Chemikalien geht nämlich klar hervor, daß dieselben auf die färbbare Substanz und auf die Sporen in verschiedener Weise einwirken. Während nämlich jene Substanz schwindet, bleiben die Sporen unverändert.

Dieser Umstand bietet aber vom cytologischen Standpunkt aus großes Interesse.

Denn während nach den von vielen Seiten bestätigten Angaben FRANK SCHWARZ' das Kernchromatin von den angeführten Agentien aufgelöst wird, bleibt das Linin von denselben unangetastet. Aus dem Umstande, daß die Sporen von ihnen nicht verändert werden, ergäbe sich — da sie auch der Wirkung des künstlichen Magensaftes nicht unterliegen — der Schluß, daß die Sporen aus Substanzen bestehen, welche die Reaktionen des Linins geben.

Es sind nun freilich gegen die Aufstellung des Begriffes „Linin“ verschiedene Einwendungen gemacht worden. So wendet z. B. TELLYESNICZKY <sup>1)</sup> gegen F. SCHWARZ folgendes ein: „Für die Existenzberechtigung seines Linins suchen wir in seiner Arbeit vergebens irgend ein nennenswertes Argument“ (S. 703). Trotzdem ist auch

<sup>1)</sup> TELLYESNICZKY: Zur Kritik der Kernstrukturen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 60 1902.

TELLYENICZKY der Ansicht, daß das Linin „als eine Transformation des Chromatins erscheint, indem eigentlich SCHWARZ auf Grund irr-tümlicherweise supponierter Lösungen das verschwunden gedachte, in Wirklichkeit aber vorhandene Chromatin mit einem neuen Namen taufte“ (S. 704). Diese Auffassung ist jedoch, wie ich des weiteren zeigen werde, eine irr-tümliche. Denn die erwähnten Substanzen differieren in ihren Lebensäußerungen derartig voneinander, daß von einer Identifizierung in dem Sinne des letztzitierten Ausspruches von TELLYENICZKY keine Rede sein kann. Etwas anderes ist freilich — und ich glaube, daß wohl auch TELLYENICZKY Ähnliches vorgeschwebt haben dürfte, wengleich er es auch nicht klar ausgesprochen hat —, ob angenommen werden kann, daß die beiden früher genannten Substanzen zu jeder Zeit vorhandene Komponenten der Zelle bilden. Und da möchte ich mich, meinen Untersuchungen ein wenig vorgreifend, dahin äußern, daß eine solche Annahme wohl kaum begründet erscheint, jedenfalls auf keinen Fall verallgemeinert werden darf; nach meinen Erfahrungen erscheint es mir viel wahrscheinlicher, anzunehmen, daß das gleichzeitige Vorkommen von Linin und Chromatin zwar möglich, jedoch keineswegs für alle Zustände des Kernes bewiesen ist und daß wir uns mit den jeweiligen Befunden am besten abfinden, wenn wir das Linin als ein physiologisches Umwandlungsprodukt des Chromatins ansehen, dessen Entstehung mit gewissen Funktions- und Lebensvorgängen verknüpft ist. Zugleich möchte ich bemerken, daß vorausgesetzt werden muß, daß die Substanzen, welche in verschiedenen Zellen die Lininreaktionen geben, ebenso verschieden sein können und es jedenfalls auch sind, wie die Chromatinsubstanz von Zellen verschiedener Arten.

Wenn ich somit konstatiere, daß die Sporensubstanz der Bacterien dem Linin entspricht, so soll hiermit natürlich keine analytisch-chemische Charakteristik der Sporen gegeben werden. Die Wichtigkeit dieser Feststellung beruht vielmehr in der Erkenntnis, daß gewisse, in chemischer Beziehung bestimmt gekennzeichnete morphologische Gebilde in einem direkten Abhängigkeitsverhältnisse zu anderen in chemischer Hinsicht andersgearteten stehen können, sowie in dem Umstande, daß dieses Verhalten auf ein allgemeiner gültiges Gesetz hinzuweisen scheint.

Da nämlich die Sporen das Produkt von vegetativen Stäbchen sind, das direkt aus der Substanz der letzteren entsteht, so muß geschlossen werden, daß die Sporen durch eine chemische

Umwandlung der Chromatinsubstanz der Bacterien zustande kommen. Denn die sporenfreien vegetativen Stäbchen verlieren, wie meine früher angeführten Versuche zeigen, durch die Einwirkung der meisten oben genannten Reagentien völlig ihre färbare Substanz, so daß sie wie leer aussehen; durch 20proz. NaCl werden sie sogar gänzlich aufgelöst; somit muß die dem Kernchromatin entsprechende Substanz bei weitem den Hauptteil derselben ansprechen. Dies ist auch in Ansehung meiner chemischen Analyse des Milzbrandbacteriums, welche einen sehr hohen Nuclein-gehalt ergab,<sup>1)</sup> wahrscheinlich geworden, sofern man das Chromatin mit dem Nuclein identifiziert. Doch erscheint mir das letztere Vorgehen, wiewohl es ziemlich allgemein ist, nicht ganz richtig zu sein, da in der durch Magensaftverdauung bereiteten Substanz nicht nur das Chromatin allein, sondern auch das Linin und das Pyrenin enthalten sein können, Substanzen, welche entschieden und zwar nicht bloß in morphologischer, sondern auch in chemischer Beziehung von dem Chromatin unterschieden werden müssen. Auf diese Weise werden wir auf die Bahn einer morphologisch-chemischen Untersuchung gedrängt, und zwar um so mehr, als es sich immer klarer zeigt, daß es tatsächlich geformte Gebilde gibt, deren Charakteristik ohne eine bestimmte chemische Kennzeichnung undenkbar wäre, die also einen morpho-chemischen Begriff bilden — wie ich mir dies zu bezeichnen gestattet habe<sup>2)</sup> — und die nur in Ansehung ihrer morphologischen und chemischen Charaktere bestehen und fallen, sobald sich irgend eins derselben geändert hat.

Eben das Milzbrandbacterium erscheint als ein Objekt, wie man schwerlich ein zweites finden würde, um die vitalen Umwandlungen des Chromatins und die diesbezüglichen morpho-chemischen Vorgänge daran studieren zu können, die hier in einer von keinerlei störenden Einflüssen komplizierten Reinheit zutage treten.

In welcher Weise die Sporen durch Umwandlung der chromatischen Substanz der Bacterien entstehen, lehren meine weiter unten nachfolgenden Mitteilungen.

Die morphologische Seite der Sporenbildung bedarf trotz der zahlreichen auf diesen Punkt gerichteten Publikationen noch immer einer definitiven Klärung.

<sup>1)</sup> l. c. 1904.

<sup>2)</sup> Der morphologische Metabolismus des lebenden Protoplasmas. Arch. f. Entwicklunsmech. Bd. 21 1906.

Nach dem Vorbilde von PREISZ<sup>1)</sup> können die Ansichten der Autoren über die Sporenbildung in zwei Hauptgruppen geschieden werden.

Die einen behaupten, daß die Sporen durch Zusammenfließen gewisser im Sporenkeimling gebildeter Körnchen zustande kommen, während die anderen, und zwar zum Teil auf Grund von Untersuchung derselben Objekte, der Ansicht sind, daß die Spore von einem einzigen Korn aus zu ihrer schließlichen Ausbildung gelangt. Gerade in neuerer Zeit haben sich mehrere Forscher wiederum zu dieser Ansicht, welche die älteste von allen Angaben über die Sporenbildung ist, bekannt. Diese von BREFELD herrührende Meinung gipfelt in der Angabe, daß sich die Spore aus dem Körper des Keimlings als ein unscharf begrenztes Körperchen „herausdifferenziert“ und allmählich alle für die Spore charakteristischen Eigenschaften akquiriert. Somit würde es sich um eine Kondensation des nicht differenzierten Keimlingsprotoplasmas handeln, während nach der zuerst angeführten Ansicht erst Körnchen einer besonderen sporogenen Substanz gebildet werden sollen, die nachträglich zur Spore zusammenfließen. Die Auffassung ist also in beiden Ansichten wesentlich unterschieden.

Wenn man ans den beiderseitigen Arbeiten das Tatsächliche herauschält, so erhält man den folgenden Tatbestand:

Man hat die Beobachtung gemacht, daß vor dem Auftreten der Spore im Keimling Protoplasma-Körnchen erscheinen, welche im Laufe der weiteren Sporenentwicklung entweder nicht mehr oder in geringerer Anzahl vorgefunden werden. Aus diesem Umstande schloß man, daß die Sporensubstanz aus den verschwundenen, der Spore in Aussehen und anderen Eigenschaften ähnlichen Körnchen gebildet worden ist. Andererseits hat man die Beobachtung gemacht, daß ein Protoplasma-Korn, oft bereits von der Größe der definitiven Spore durch Änderung des Lichtbrechungsindexes sich zur Spore umwandeln kann. Beide Vorgänge werden öfters für dieselbe Bacterienart verzeichnet, was auch von dem *Bact. anthracis* Geltung hat.

Die nachstehenden Untersuchungen werden ergeben, ob und in welcher Weise diese beiden Beobachtungen zu einem einheitlichen Gesamtbilde der Sporenbildung vereint werden können.

Erinnert man sich der Angaben von DIETRICH und LIEBERMEISTER über die chemische Zusammensetzung der mit dem Naphtholblau färb-

<sup>1)</sup> PREISZ: Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus. Centralbl. f. Bacteriol. I. 35 1904.

baren Granula des Bacterienleibes, welche sie für nucleinähnlich erklärt haben, so findet man die — freilich negativen — Kennzeichen, daß sie durch die folgenden Reagentien: 5proz. Kalilauge, 10proz. Mononatriumphosphat, verdünnte Essigsäure, Eisessig und Magensaft — nicht verändert werden.

Ich habe vor allem festzustellen gesocht, wie sich diese Körnchen in Präparaten von Milzbrandbakterien verhalten, welche der Einwirkung von chromatinolytischen Stoffen ausgesetzt worden waren. Es zeigte sich bei diesen Versuchen, daß die solchermaßen behandelten Bacterien — aus gewöhnlichen Agarkulturen — einige Partien enthalten, welche sich mit dem Naphtholblau färben, und zwar: kugelige, beliebig gelagerte und in verschiedener, jedoch nicht beträchtlicher Anzahl auftretende Körnchen, weiterhin die Innkörper, die letzteren in der Weise, daß das Ectogranulum meistens (manchmal bedeutend) schwächer gefärbt erschien, als das zumeist intensiver gefärbte Entogranulum; schließlich nahm ich auch eine mittelstarke bis schwächere Färbung der Sporen wahr, welche sowohl in Stäbchen eingeschlossene, als auch freie Sporen betraf.

Ich habe diese Verhältnisse, von denen ich mir ein tieferes Eindringen in die Art der Sporenbildung versprach, unter Kombination der Naphtholblaufärbung mit der Fuchsinfärbung bei gleichzeitiger Anwendung weiter studiert. Es stellte sich bei vielen Bacterien eine Doppelfärbung ein, bei welcher sich die Umrisse des Bacteriums, die Zwischenwände unvollkommen getrennter Bacterien, die Netzstrukturen der Bacterienkörper und die Ectogrannla rot, die Entogranula und in gewissen Kulturen große sporenhähnliche Körper, außerdem noch eine Anzahl von Grannla blau gefärbt haben.

Dieses Resultat bestärkte meine Hoffnung, daß diese Methode, welche zur gleichzeitigen Färbung der beiden bei der Sporenbildung in Betracht kommenden Substanzen führt, zum tieferen Eindringen in die Art derselben leiten wird. Vor allem war das Schicksal der analog wie die Sporen färbbaren DIETRICH-LIEBERMEISTER'schen Körnchen zu verfolgen.

Nunmehr muß ich daran erinnern, daß sich in keimenden Sporen nach PREISZ<sup>1)</sup> ein mit Fuchsin färbbares Körnchen befindet, welches dieser Autor als den Sporenkern ansieht und das sich mit einer bestimmten Menge Plasma von den übrigen Stäbchen an einem der Pole vermittels einer Zwischenwand absondert. Dieser Kern schwindet

<sup>1)</sup> PREISZ: Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus. Centralbl. f. Bacteriol. I. 35 1904.



jedoch in der Sporenanlage, wobei sich die letztere in einem bestimmten Zeitpunkte dunkler färbt als der übrige Bacillus; darauf erlischt die Tinktionsfähigkeit derselben und zugleich wird die Substanz der Anlage stark lichtbrechend und glänzend, dabei grenzt sie sich immer schärfer ab.

Angaben über ein färbbares Körnchen, als Sporenkern, findet man schon früher, z. B. von CATTERINA,<sup>1)</sup> MEYER,<sup>2)</sup> MÜHLSCHLEGEL.<sup>3)</sup>

Daß jedoch das färbbare Körnchen in der Spore kein Kern sein kann, geht aus dem von mir eruierten analogen Verhalten der Sporen und der vegetativen Stäbchen der künstlichen Magensaftverdauung gegenüber hervor.

Diese Erkenntnis macht eine andere Deutung des färbbaren Kernes der Sporen zur Notwendigkeit.

Diesbezüglich haben wir vor allem die nachstehenden Umstände, auf welche bereits PREINZ aufmerksam gemacht hat, im Auge zu behalten.

1. Selbst in den jüngsten Sporenanlagen ist „der Kern“ oder, wie ich ihn besser bezeichnen will: das Chromatinkorn, stets schon enthalten und erreicht daselbst manchmal Dimensionen, welche „der Kern“ des Bacteriums selbst nie erreicht. PREINZ gibt selbst zu, daß er nicht imstande war, den Übertritt des „Bacteriumkernes“ in die Spore direkt zu beobachten, sondern daß er auf einen solchen bloß aus der Ähnlichkeit beider und aus dem Umstande schloß, daß Bacterien mit Sporenanlage den „Kern“ oft nur in dieser Anlage, nicht außerhalb derselben, besitzen.

2. Zu beachten ist, daß in der Spore späterhin kein „Kern“ mehr nachgewiesen werden kann. PREINZ glaubt dies in der Weise erklären zu dürfen, daß der „Kern“ von dem färbbaren Plasma der Sporenanlage entweder verdeckt sein kann oder daß es in der Entwicklung des Kernes eine Periode geben kann, in welcher die üblichen Färbungsmethoden zur Kenntlichmachung desselben nicht genügen.

3. Schließlich muß hervorgehoben werden, daß in der keimenden Spore das in der reifen und freigewordenen Spore abwesende Chromatinkorn wiederum leicht nachgewiesen werden kann.

Es ist klar, daß diese drei Tatsachen ein außerordentlich

<sup>1)</sup> CATTERINA: Ric. sull' intima strutt. delle spore dei batteri. Atti d. Soc. veneto-trent. III. 1898.

<sup>2)</sup> MEYER: Studien über die Morphologie und Entwicklungsgesch. der Bakterien. Flora 1897.

<sup>3)</sup> MÜHLSCHLEGEL: Über die Bildung und den Bau der Bacteriensporen. Centralbl. f. Bacteriol. II. Bd. 6 1900.

schwieriges Rätsel darstellen, solange man auf dem Boden der cellulären Theorie der Bacterien stehen bleibt. Es ist jedoch unabweichlich, daß diejenigen Forscher, welche außerstande sind, sich die Bacterien als kernlose Organismen vorzustellen, bei den Sporen dieses Zugeständnis machen müssen. Man kann sich nämlich der Tatsache nicht verschließen, daß es unmöglich ist, in der reifen Spore ein Gebilde nachzuweisen, das man für den Kern zu halten berechtigt wäre. Die Spore erscheint als ein Protoplasma, das allen Theorien zum Trotze ein, wenn auch minimales, so doch ganz unzweifelhaftes Leben ohne jeden Kern zu führen imstande ist und zwar eine Zeit hindurch, welche der Lebenslänge eines vegetativen, nach jenen Autoren mit einem Kerne versehenen, Individuums gegenüber, als in *Potentia* unendlich länger bezeichnet werden muß. Die Anhänger der Zelltheorie der Bacterien sind mit Hinblick auf die Tatsache, daß die Spore zuerst einen Kern besitzt, ihn dann nicht mehr besitzt, während er in der keimenden Spore wieder auftaucht, sofern sie sich nicht gewaltsamen Deutungen zuwenden wollen, zu der Anerkennung gezwungen, daß in diesem Falle der Kern während des Lebens schwindet und später wieder auftaucht, eine Tatsache, die für andere Zellen bestritten worden ist, obwohl sie auch für diese unter bestimmten Bedingungen nachgewiesen werden kann.

Für mich stehen nun zwar die Dinge — sofern es die Sporen anlangt — freilich anders. Nachdem infolge meines Beweises der Kernnatur der strukturellen Komponenten des *BACT. ANTHRACIS* von einer Auflösung des Kernes keine Rede sein kann, so ist es klar, daß es sich in dem vorliegenden Falle nur um einen Ausdruck des morphologischen Metabolismus des Protoplasmas, bestimmter angedrückt, um einen Fall von Umwandlung des Chromatins in eine chemisch unterschiedene und gleichzeitig morphologisch andersgeartete Substanz handeln könne. Aus meinen oben gemachten Äußerungen geht hervor, daß diese Substanz dem *Linin* analog ist.

Bei Anwendung der oben dargelegten Doppelfärbungsmethode mit Fuchsin und Naphtholblau kann Schritt für Schritt gezeigt werden, daß der Sporenbildung ein Anhäufen von Chromatinkörnern auf dem fertilen Pole vorausgeht. Das stimmt mit den früher zitierten Angaben von MEYER über die Anhäufung der „Volutinkörner“ in den vegetativen Stäbchen vor der Sporenbildung<sup>1)</sup> überein.

<sup>1)</sup> l. c. siehe auch MÜLSCHLEGEL l. c.

Die Chromatinkörnchen sondern sich weiterhin von dem übrigen Bakterienkörper vermittelt einer Zwischenwand ab; dieselbe entsteht gewöhnlich in der Weise, daß sich ein Körnchen in die Länge zieht und zu einer Membran ansbreitet. In einem bestimmten Augenblicke dieses Vorganges kann das Bild den Eindruck hervorrufen, daß — wie PREISZ z. B. angibt — das Körnchen von der Scheidewand mitten entzwei geteilt wird. Steht man auf dem Standpunkte, daß dieses Körnchen dem Bacteriumkerne entspricht, so könnte das erwähnte Bild die Deutung erfahren, daß es sich um eine passive Zerteilung des Kernes handelt. Meinen Beobachtungen zufolge ist dem jedoch nicht so; es würde auch allen unseren Vorstellungen von der Rolle des Kernes bei der Teilung widersprechen, wenn er in passiver Weise geteilt werden sollte. Die Beobachtungen von LILLIE<sup>1)</sup> an *Chaetopterus pergamentaceus* können nicht hierher bezogen werden, da es sich bei ihm um keine geformten Kerne, sondern um diffuse Kernsubstanzterritorien gehandelt hat.

Ist die Sporenanlage einmal abgesondert, so kommt es zur Morpholyse der in derselben angehäuften Chromatinkörnchen; dieselben fließen znsammen. Dieses Stadium entspricht demjenigen, in welchem die Sporenanlage stark färbbar erscheint. Es ist eben dasjenige Stadium, welches mehrere Forscher bewogen hat, die Bacterienspore in morphologischer Beziehung mit dem Zellkern zu analogisieren. So sprach sich FRENZEL<sup>2)</sup> darüber in folgendem Sinne aus: „Beginnt mithin die Spore als ein kernartiger Körper, so werden allmählich die Bestandteile der gesamten Zelle in sie aufgenommen, morphologisch ist nun die Spore wahrscheinlich ein Kern.“

Einen analogen Gedanken äußerte neuerdings SCHAUDINN.<sup>3)</sup>

Dieser uns leider zu früh entrissene Forscher fand bei *Bac. bütschlii*, daß sich zur Zeit der Sporenbildung die früher regellos im Bacterienleibe zerstreuten Nucleinkörnchen zu einem wellig verlaufenden Faden gruppieren, dessen Enden zu eiförmigen Gebilden anwachsen, später ihre Tinktionsfähigkeit verlieren und zu Sporen werden. Das ganze erwähnte Gebilde macht den Eindruck eines Kernes. „Ich habe die Vorstellung“, sagt SCHAUDINN, „daß die Kernsubstanzen, welche schon bei höheren Microorganismen (vielleicht

<sup>1)</sup> LILLIE: Arch. f. Entwicklungsmech. 14 1902.

<sup>2)</sup> FRENZEL: Der Zellkern und die Bacterienspore. Biol. Centralbl. 1891. — Über den Bau und Sporenbildung grüner Kaulquappenbazillen. Zeitschr. f. Hyg. I 1892.

<sup>3)</sup> SCHAUDINN: Beiträge zur Kenntnis der Bacterien und verwandter Organismen. I. BAC. BÜTSCHLI. Arch. f. Protistenk. I 1902. — II. BAC. SPORONEMA. Ibid. II 1903.

auch bei anderen Bakterien im Centalkörper BÜTSCHLI's in einem morphologisch differenzierten Gebilde, dem Zellkern eine bestimmte Gruppierung und Organisation angenommen haben, bei unserem Bacillus während des größten Teiles seines Lebens diffus durch das ganze Protoplasma verteilt sind; nur bei der Sporenbildung kommt es zur Ausbildung eines den echten Zellkernen der höheren Organismen vergleichbaren Gebildes; ich meine die erste Anlage der Spore, die morphologisch einem einfachen Zellkern, wie wir ihn von vielen Protisten kennen, außerordentlich ähnlich ist. Also nur für eine kurze Lebensperiode kommt es zur morphologischen Sonderung von Kernsubstanz (in Form eines Zellkernes) und Protoplasma.“

Der in dem letzten Satze ausgesprochenen Ansicht SCHAUDINN's wurde freilich durch meine microchemischen Untersuchungen für das *Bact. anthracis* völlig der Boden entzogen, indem ich bewiesen habe, daß sich Bacterienleib und Spore der künstlichen Magensaftverdauung gegenüber zwar gleich, den chromatinolytischen Stoffen gegenüber aber verschieden verhalten, so daß beide zwar aus Kernsubstanzen bestehen, jedoch der Leib dem Chromatin, die Spore aber dem Linin entspricht.

Aus diesem Sachbestande ergibt sich somit, daß die Vermutung von FRENZEL und SCHAUDINN, betreffend die Analogisierbarkeit der Spore mit dem Zellkerne dahin richtigzustellen ist, daß die Sporenanlage auf einem bestimmten Stadium ihrer Entwicklung eine Anhäufung von Chromatinsubstanz darstellt.

Nach Erreichung dieses Stadiums schwindet die Färbungsfähigkeit der Sporenanlage.

Es ist nicht unwahrscheinlich, daß an dem Schwunde der substantiven Färbbarkeit mit basischen Farbstoffen auch die Innenkörper des Milzbrandbacteriums beteiligt sind.

Auf eine solche sind wohl die Angaben von MÜHLSCHLEGEL,<sup>1)</sup> NAKANISHI<sup>2)</sup> und ASCOLI,<sup>3)</sup> welche eine Zusammenwirkung von Plasma und Körnchen an der Sporenbildung behaupten, zurückzuführen. Es soll im Plasma ein grauer Fleck entstehen, mit dem die sporogenen Körner, welche sich um ihn gruppiert haben, verschmelzen. Dieses Stadium kann insofern färberisch dargestellt werden, als sich die Sporenanlage auf einem Bildungsstadium im Mischtone des bei der gewöhnlichen Sporendoppelfärbung verwendeten roten und blauen Farbstoffes tingiert. Diese Färbung ist jedoch so vieldeutig, daß sie

<sup>1)</sup> MÜHLSCHLEGEL: l. c.

<sup>2)</sup> NAKANISHI: Münch. med. Wochenschr. Nr. 20 1900.

<sup>3)</sup> ASCOLI: Deutsch. med. Wochenschr. Nr. 20 1901.

einen präziseren Schluß auf die Bildungsweise des gefärbten Elementes wohl kann zuläßt.

Bisher hat man sich von der Beteiligung der Innenkörper die folgenden Vorstellungen gebildet.

BUNGE<sup>1)</sup> hat den von ihm entdeckten schärfsten Körper, den ich mit dem Ectogranulum des Innenkörpers identifiziert habe und der nach seinem Entdecker durch Zusammenfließen kleiner säurefester Körner entsteht, als Vorspore bezeichnet.

KROMPACHER<sup>2)</sup> schloß auf eine Beteiligung der von ihm entdeckten metachromatischen, von mir mit dem Entogranulum des Innenkörpers identifizierten Körnchen, bei der Sporenbildung aus dem Umstande, daß er die Entogrannla nur in sporenbildenden Arten vorfand, ans ihrer Resistenz der Hitze gegenüber, und darans, daß sie sich gleichzeitig mit dem Ectogranulum zu Körnerhaufen umwandeln, wenn das letztere sich zu einer diffus färbbaren Scholle umbildet.

PREISZ<sup>3)</sup> versuchte die beiden eben citierten Meinungen derart zu vereinigen, daß er das Entogranulum an der Sporenbildung direkt teilnehmen ließ, das Ectogranulum aber als einen Reservestoff auffaßt, der „irgendwie, keinesfalls aber förmlich, zum Aufbau der Spore verwendet wird“.

Hierzu möchte ich mir die Bemerkung erlauben, daß diese Deutung auf keiner direkten Beobachtung beruht; PREISZ hebt selbst nachdrücklich hervor, daß er den Übergang vom Zellkern zum Kern der Sporenanlage direkt nicht verfolgen konnte. Es scheint mir nämlich klar, daß PREISZ bei seiner Deutung verschiedene Gebilde zusammengeworfen hat, woran die von ihm gebrauchte Untersuchungsmethode die Schuld trägt. Ich glaube dies aus seinen nachstehenden Angaben schließen zu dürfen: Nach PREISZ steht der Bacterienkern in enger Beziehung zu den Scheidewänden, welche die Sporenanlage gegen die Mutterzelle abgrenzen, seiner Meinung nach können Kernteilung und Scheidewandbildung in Einem vor sich gehen; weiterhin gibt er an, daß das in die Spore gelangte Kernteilungsprodukt zu sonst ungewohnten Dimensionen anwächst, und daß sich diese Gebilde mit verdünnter Fuchsinlösung tingieren.

Ich habe des öfteren bei vitaler Färbung direkt beobachten können, wie sich ein derartig gefärbtes Körnchen zu einer Scheidewand umgebildet hat. Derartige Körnchen zeigten sich in keiner

<sup>1)</sup> BUNGE: Über Sporenbildung bei Bacterien. Fortschr. d. Mediz. 1895.

<sup>2)</sup> KROMPACHER: Untersuchungen über das Vorkommen metachromatischer Körnchen bei sporentragenden Bacterien. Centralbl. f. Bacter. I 90 1901.

<sup>3)</sup> PREISZ: l. c.

Weise von den übrigen, in jenen Bakterien enthaltenen unterschieden. Auch die Färbbarkeit mit Fuchsin genügt nicht zur Differentialdiagnose dem Bakterienkern gegenüber, weil sich die färbbaren Körner des Bakterieninhaltes überhaupt zum größten Teil mit dem ihnen physikalisch adäquaten Fuchsin besser als mit anderen basischen Farbstoffen tingieren.<sup>2)</sup> Meine Meinung geht somit dahin, daß die von PREISZ angenommene Beteiligung des Entogranulums an der Bildung der Spore einfach auf die Einbeziehung der im Bakterienleibe enthaltenen Nucleinkörnchen in die Sporenanlage zurückzuführen ist. Damit will ich nun aber keineswegs die Beteiligung des Entogranulums an der Sporenbildung in Abrede stellen. Ich habe einigemale die Beobachtung gemacht, daß in jenem Stadium, in welchem die Sporenanlage färbbar erscheint, in ihrem Inneren mit Hilfe der oben mitgeteilten Doppelfärbung mit Naphtholblau und Fuchsin, ein blaugefärbtes Körnchen dargestellt werden kann. Dies könnte, da wie früher angeführt, das Entogranulum mit Naphtholblau färbbar ist, auf eine direkte Beteiligung desselben an der Sporenbildung bezogen werden. Es kann jedoch auch sein, daß das erwähnte Bild nur der Ausdruck der beginnenden Umwandlung der färbbaren Sporenanlage in die eigentliche Sporensubstanz ist, die sich ja auch mit dem Naphtholblau tingiert. Da auch die microchemischen Reaktionen der Sporensubstanz mit denjenigen der mit Naphtholblau gefärbten Körnchen übereinstimmen, zu welchen auch das Entogranulum gehört, so muß ich die Frage der Beteiligung des letzteren an der Ausbildung der Spore als eine offene gelten lassen. Unmöglich ist sie nicht; denn die Innenkörper unterliegen während der Sporenbildung der Morpholyse. Dies ergibt sich daraus, daß sie in den Resten der Bakterien nicht vorhanden sind. Da die beiden Innenkörper Gebilde von geringerer Basizität sind, als der Chromatinanteil des Bacteriums, so könnte die Morpholyse derselben sehr wohl zur Herabsetzung der substantiven Färbbarkeit der Spore beitragen, falls Teile von demselben in die Sporenanlage gelangen. Aber mit den jetzigen Hilfsmitteln wird sich das bei der großen Schwierigkeit der Beobachtung am *Bact. anthracis* wohl kaum entscheiden lassen.

Wie dem nun sein mag, in einem bestimmten Zeitpunkte ist die Färbung der Spore so weit zurückgegangen, daß nur noch ein Chromatinkorn in der Spore vorhanden ist — es ist dann die gekernte Spore der Autoren. Bei Benützung der Doppelfärbung mit Naphthol-

<sup>2)</sup> Siehe hierüber meine Arbeit „Weitere Untersuchungen über den Bau und die allgemein biologische Natur der Bakterien“. Arch. f. Hyg. 51 1904.

blau und Fuchsine kann man dann in der blauen Spore einen roten Punkt konstatieren.

Sobald einmal die Färbbarkeit der Sporenanlage erloschen ist, erweisen sich die chromatinolytischen Stoffe bei microchemischen Reaktionen als unwirksam, die Spore gibt nunmehr die Reaktionen des Linins. Aus dieser Beobachtung muß mit Notwendigkeit geschlossen werden, daß hier zugleich mit dem morphologischen ein chemischer Vorgang stattgefunden hat. Nach Erreichung dieses Stadiums ist es nicht mehr möglich, in der Spore ein Chromatinkorn nachzuweisen.

In diesem Verhalten sehen wir einen Wandel eintreten, sobald es zur Auskeimung der Spore kommen soll. Sobald der regere Stoffwechsel einsetzt, der zum Auswachsen der Spore führt, beginnt sich auch in derselben das Chromatin wieder zu zeigen, zuerst als ein feines Chromatinpünktchen, bis es sich so weit vermehrt hat, daß das aus der Spore aufgewachsene Stäbchen wieder zum größten Teil aus Chromatin besteht.

Wenn wir auf die angeführten Resultate zurückblicken, so entnehmen wir denselben vor allem, daß meine Auffassung der Sporenbildung alle Umstände, welche von verschiedenen Seiten her zur Morphologie derselben beigebracht worden sind, in Übereinstimmung bringt, daß sie dieselbe bis auf Stoffwechselfvorgänge zurückführt und die Morphologie derselben zu anderen, an Zellkernen beobachteten, Vorgängen in Analogie bringt. Aus dieser Analogie scheint hervorzugehen, daß die Fähigkeit des Chromatins, sich in das Linin umzuwandeln, auf ein morphochemisches Gesetz von allgemeiner Gültigkeit hinweist. Die allgemeine Verbreitung dieses Vorganges nachzuweisen, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

---

## II. Die Differenzen im Wachstum und Entwicklungscyclus des *Bact. anthracis* auf gewöhnlichem und glycerinhaltigem Agarnährboden.

Vergleicht man die Art, in welcher der Milzbrandbacillus auf den genannten Nährböden wächst, so bemerkt man bereits im äußeren Aussehen der Kulturen gewisse Differenzen. Während der auf dem gewöhnlichen Agar gebildete Belag nach einiger Zeit ein feuchtes,

weißlich graues, durchscheinendes Aussehen gewinnt, erscheint er auf dem Glycerinagar undurchsichtig und nimmt eine milchweiße Farbe an. Bei der Berührung erweist sich der erstere als viscos, bis brei- ja selbst gallertartig, der letztere aber als auffallend brüchig.

Untersucht man solche Kulturen mikroskopisch, so findet man, daß das Wachstum des Milzbrandbacteriums auf den obgeannten Nährböden in verschiedener Weise verläuft.

Zur mikroskopischen Untersuchung fixierte ich die möglichst rasch getrockneten Präparate mit einem Gemische von 2 Teilen einer konz. wässer. Sublimatlösung und 1 Teil absol. Alkohol, und färbte nach Abspülen mit destilliertem Wasser mit verdünnter wässriger Fuchsinlösung.

Von den Resultaten meiner Untersuchungen möchte ich vor allem hervorheben, daß auf dem Glycerinagar das Wachstum unseres Bacillus ein viel üppigeres ist, als auf dem gewöhnlichen Agar. Dies ist weniger oft aus dem Aussehen der Kultur zu erkennen; der Grund mag darin liegen, daß wir nicht imstande sind, die auf die Nährböden verimpften Teile genau gleich groß abzumessen und weil wohl die Menge der wirklich lebenden und vermehrungsfähigen Individuen in den verimpften Kulturteilchen nicht immer die gleiche ist. Im mikroskopischen Präparate tritt dagegen die beschriebene Differenz für gewöhnlich mit aller notwendigen Prägnanz zutage.

Aus dem Studium derselben ergibt sich, daß die Kultur auf dem gewöhnlichen Agar aus dünnen, schlanken Individuen zusammengesetzte Fäden enthält, die Glycerinagarkultur dagegen bedeutend voluminösere Individuen beherbergt. Von dem ersteren bringt man drei der Breite nach uebeneinandergelegte Individuen auf einem Intervalle des micrometrischen Oculars unter, von der zweiten dagegen nur 2—2,3. Außerdem schwanken die Dimensionen der Agarkulturindividuen fast gar nicht, während diejenigen der Glycerinagarkulturindividuen eine ziemlich bedeutende Variabilität an den Tag legen.

Der erwähnte Wachstumsunterschied ist eine konstante Erscheinung. Freilich muß sie nicht gleich in den ersten Stunden, ja selbst Tagen der Kultivierung jedes Milzbrandstammes offenbar werden. Manchmal genügt es dann, eine derartige Kultur auf frischen Nährboden zu übertragen, um den besprochenen Unterschied sofort zu erhalten.

Wenn man nun der Ursache dieses Wachstumsunterschiedes nachgeht, so findet man, daß derjenige Nährboden, der das üppigere



Wachstum zu erkennen gibt, von dem anderen nur darin differiert, daß er eine bestimmte Quantität (7 Proz.) Glycerin enthält.

Glycerinzusatz zum Nährboden hat zuerst KOCH verwendet, um den Tuberkelbacillus zu üppigerem Wachstum zu bringen. Derselbe Effekt wird auch bei einer Reihe anderer Bacterien erreicht und — wie aus dem Obigen zu ersehen ist — trifft es auch bei dem Milzbrandbacterium zu.

Bei dieser Sachlage liegt der Schluß nahe, daß das Glycerin in irgendwelcher Weise die Assimilation des *Bact. anthracis* erhöht.

Vergleicht man nun die Art, in welcher sich das Milzbrandbacterium auf den erwähnten Nährböden entwickelt, so sieht man sich den obenerwähnten noch andere, in den Bau dieses Bacteriums tief eingreifende Differenzen zugesellen.

Um diese Differenzen besser hervortreten zu lassen, möchte ich in aller Kürze das über den Entwicklungszyclus des Milzbrandbacillus Bekannte rekapitulieren.

Befindet sich das *Bact. anthracis* in ihm zusagenden Bedingungen so teilt sich dasselbe sehr lebhaft und bildet Fäden; nach einer Reihe von Generationen (im Durchschnitte 30—70 Generationen bei 37° auf Agar) kommt es infolge der Erschöpfung der im Nährboden enthaltenen Nährstoffe und besonders, wie A. FISCHER<sup>1)</sup> anführt, infolge der Anhäufung von Stoffwechselprodukten, zur Sporenbildung, wenn gewisse, dazu unerläßliche Bedingungen erfüllt sind, so hauptsächlich eine bestimmte Temperatur und die Gegenwart freien Sauerstoffes. Nach der am meisten verbreiteten Ansicht keimen die Sporen auf dem Boden, in welchem sie entstanden sind, nicht mehr aus.<sup>2)</sup> Ein jeder Bacillus bildet nur eine Spore von eiförmiger Gestalt, deren Durchmesser denjenigen des Bacterienkörpers niemals übersteigt<sup>3)</sup> und welche stark lichtbrechend ist. Die Sporenbildung wird als ein teleologisches Moment angesehen, daß der Arterhaltung dient.<sup>4)</sup> Der bei der Sporenbildung übrig bleibende Rest des Bacteriums geht unter Zerfall zugrunde.

Befindet sich das Milzbrandbacterium in Bedingungen, welche seinem Leben und Wachstum ungünstig sind, so treten sog. Involutionsformen, Absterbeerscheinungen<sup>5)</sup> auf. Der Bacillus bläht sich dabei auf, vergrößert sich, erleidet Mißbildungen, verkrümmt

<sup>1)</sup> A. FISCHER: Vorlesungen über Bacterien. Jena 1903 S. 41.

<sup>2)</sup> GÜNTHER: Einführung in das Studium der Bakteriologie. 5. Aufl. 1898 S. 312.

<sup>3)</sup> KOLLE-HETSCH: Die experimentelle Bakteriologie usw. 1906 S. 22.

<sup>4)</sup> KOLLE-HETSCH: l. c. S. 110.

<sup>5)</sup> GÜNTHER: l. c. S. 16.

sich in der verschiedenartigsten Weise, sein Protoplasma durchsetzt sich mit „Vacuolen“, er geht seiner Färbbarkeit und scharfen Begrenzung verlustig. Dann sind die Bacillen nicht mehr imstande, sich zu vermehren, selbst wenn man sie auf einen frischen Nährboden gebracht hat, sie sind abgestorben.

Kommt es zur geeigneten Zeit nicht zur Sporenbildung, so gehen die betreffenden Bacterien unter der Bildung von Involutionsformen<sup>1)</sup> zugrunde.

Dies ist in aller Bündigkeit die Quintessenz dessen, was heute vom Entwicklungszyclus des *Bact. anthracis* allgemein gelehrt wird.

Unterwirft man jedoch diese Angaben einer Revision, so merkt man bald, daß keineswegs alle so feststehen, als es den Anschein hat.

Ich möchte nur auf jene Momente die Aufmerksamkeit lenken, welche in der vorliegenden Arbeit berührt werden. Da sehen wir die folgenden Fragen vor uns erstehen: Welche Bedeutung kommt der Sporenbildung zu? Wenn sie eine zweckmäßige Einrichtung ist, welche der Arterhaltung in teleologischem Sinne zu dienen hat, auf welche Weise erhalten sich dann die asporogenen Stämme und wie kommt es, daß man durch Einwirkung äußerer Faktoren, welche die Entstehung solcher Stämme bewirken, jene zweckmäßige Einrichtung vernichten kann? Was ist weiterhin die Ursache der Sporenbildung? Hängt sie tatsächlich mit der Erschöpfung der Nährstoffe zusammen und können daher die Sporen auf ihrem Mutterboden nicht wieder anskeimen? Welche Bedeutung kommt den Involutionsformen zu? Sind sie tatsächlich Absterbeerscheinungen? Bei KOLLE-HETSCH<sup>2)</sup> kann man lesen: „Während — bestimmte Bacterienarten unter ungünstigen Ernährungsverhältnissen allmählich absterben<sup>3)</sup>, ist anderen in diesem Falle durch die Bildung von Dauerformen die Möglichkeit gegeben, sich lebensfähig zu erhalten.“ Bei dem *Bact. anthracis* begegnen wir nun sowohl Involutionsformen als auch Sporen — in welchen gegenseitigen Beziehungen stehen nun die beiden zueinander?

Um die Entwicklung des Milzbrandbacteriums auf dem gewöhnlichen und glycerinhaltigen Agar vergleichen zu können, habe ich

<sup>1)</sup> LEHMANN-NEUMANN: Atl. und Grundriß der Bacteriologie. 1904 S. 38.

<sup>2)</sup> KOLLE-HETSCH: l. c. S. 22.

<sup>3)</sup> Unter Bildung von Involutionsformen, wie ich oben nach LEHMANN-NEUMANN citiert habe.

die beiden Nährboden mit einem Partikelchen der Mutterkultur besetzt und von den neu angelegten Kulturen stets die Proben zu gleicher Zeit genommen.

Ich schreite nunmehr zur Beschreibung der Entwicklung unseres Bacillus auf dem Glycerinagar.

Die Kulturen, deren Typus ich zur Beschreibung wähle, stammten von virulenten Stämmen und wurden bei 37° gezüchtet. Die geschilderten Erscheinungen traten jedoch auch in Kulturen, welche bei 17° wuchsen, wenn auch etwas später, auf.

In den ersten Stunden sieht man in der Glycerinagarkultur nur homogene, diffus gefärbte, zu Fäden verbundene Individuen von hohem Glanze und einer bemerkenswerten Prallheit des Inhaltes. Bald sieht man jedoch den letzteren sich differenzieren (Fig. 2 A). Um die 4. Stunde herum beginnen in den Stäbchen zuerst unscharfe, bei der verwendeten Präparationsmethode ungefärbte Flecken aufzutreten, welche aus einer stark lichtbrechenden Substanz bestehen. Die Zahl derselben kann schwanken; oft trifft man in den hintereinander folgenden Gliedern des Fadenverbandes die folgende Anordnung der erwähnten Körner. Nimmt man ein mit einem zentralen Kerne versehenes Stäbchen als erstes hin, so enthält das zweite zwei, das dritte drei, das vierte vier kleinere oder zwei größere, in einem größeren Abstände voneinander postierte, das fünfte schließlich zwei noch größere und noch weiter voneinander entfernte Körnchen, während man statt des sechsten Stäbchens zwei mit etwas abgeplatteten Polen aneinanderstoßende große, glänzende Körper findet, welche im Faden die Stelle von ganzen Bacillen einnehmen, oder zwei kugelige, sonst ähnliche, nebeneinanderliegende Körper. Daraus kann man entnehmen, daß sich die oben erwähnten Körnchen vermehren und eventuell bis zur Größe des Bacterien-individuums anwachsen (Fig. 1 A, 2 A, 4 c, f).

Diese Körner, die eine große Ähnlichkeit mit den sog. sporogenen Körnern zeigen, werde ich im weiteren als sporoiden Körner (Körper, Gebilde, Kugeln) bezeichnen.

Die Vermehrung derselben geht jedoch nicht in allen Fäden in der oben beschriebenen eintönigen Weise vor sich. Man findet verschieden große, in der mannigfachsten Weise gelagerte Körnchen, die oft so in dem Stäbchen angeordnet sind, daß sie wie eine, das Individuum in der Mittellängslinie ausfüllende Lakune aussehen, welche von mehreren, vertikal auf die Längsachse verlaufenden, in regelmäßigen Abständen postierten Scheidewänden durchzogen wird.

Manchmal begegnet man kurzen Fäden, deren Glieder, kurze

Bacillen, je einen größeren, kugeligen, zentral gelegenen, sporoiden Körper enthalten, der einer Spore auffallend ähnlich ist, trotzdem aber mit einer solchen nicht verwechselt werden darf. Zuweilen erscheint ein größerer sporoider Körper selbst von einer Querscheidewand geteilt. Weiterhin kann man in einem Faden mehrere Sporoidkörper hintereinander oft nur durch etwas dickere Scheidewände voneinander getrennt sehen (Fig. 12 a, 13), es können Sporoidkörper von der Größe längerer Bacillen vorkommen, zwischen den Sporoidkörpern kann man längere Abteile bemerken, welche nicht in Bakterien geteilt erscheinen, also Scheinfäden sind.

Nach 18 Stunden können im Präparate lange Fäden überwiegen, geteilt in sehr kleine Bakterienindividuen mit kleinen sporoiden Körnern; offenbar ist die Teilung sehr rege (Fig. 3).

Nach Ablauf von 24 Stunden ist die Vermehrung der sporoiden Körper augenscheinlich; Stäbchen, welche mehrere sporoiden Körper enthalten, müssen nicht größer sein, als ein Bacillus, der nur einen solchen beherbergt. Die Form des Bacteriums kann regelmäßig cylindrisch bleiben, manchmal aber, wenn der Sporoidkörper eine bestimmte Größe erreicht hat, kann sich die cylindrische in eine Clostridiumform umwandeln und kann diese Veränderung entweder kaum kenntlich oder auch sehr auffallend sein, in welchem letzterem Falle nicht bloß das Wachstum der Sporoidkugel, sondern wahrscheinlich auch der gesteigerte Turgor an der Hervorwölbung des Bakterienkörpers Schuld trägt. Doch ist dies keinesfalls die Regel. Manchmal sind die Sporoidkugeln groß, der Bakterienleib folgt aber nicht ihrem Wachstum (Fig. 4 e, 21 a).

Um diese Zeit wird auch das Bestreben nach beschleunigter Teilung offenbar. Der Faden, in welchem sich eine größere Menge sporoider Körper angesammelt hat, sucht sich augenscheinlich auf Partikel zu zerteilen, welche nur je einen solchen Körper enthalten (Fig. 3 a), woraus Gebilde resultieren, die sich als kaum in die Länge gezogene Sphäroide darstellen, es entstehen fast isodiametrische Gebilde (Fig. 24). Daß es sich überhaupt um einen Bacillus handelt, erkennt man gegebenenfalls oft nur daran, daß die aus der Teilung hervorgegangenen „kokkenförmigen“ Gebilde durch die Hülle (Kapsel des Bacteriums) zu einem Fadengebilde verbunden sind. Somit sehen wir auch bei dem Milzbrandbacterium den Entwicklungspleomorphismus in weitgehender Weise zutage treten, freilich in einem anderen Sinne, als ZOPF gelehrt hat. Es hat den Anschein, als wenn die „kokkenförmigen“ Endprodukte der Teilung im Sinne der Verkleinerung des Organismus die kleinsten Teile wären, welche noch alle

Funktionen der lebenden Substanz auszuüben und alle Arteigenschaften des *Bact. anthracis* zu erhalten vermögen.

Die ausgebildeten Sporoidkugeln vergrößern sich, ohne jedoch die von dem Dickendurchmesser des Bacteriums bestimmten Dimensionen zu überschreiten. In den übrigen Individuen nehmen die Sporoidkörner an Zahl zu, so daß die Bacillen manchmal geradezu vollgepfropft erscheinen. Es sieht manchmal so aus, als wenn die Bakterien die in ihrem Innern gebildete Sporoidsubstanz durch zahlreiche, vielfach auch schräg zur Längsachse gerichtete Scheidewände aufteilen würden (Fig. 4 b, e), oft macht es äußerlich den Eindruck einer Vacuolisation; eine solche ist jedoch, wie ich später zeigen werde, nicht vorhanden. Was die Färbung der Bakterien anbelangt, so tingiert sich oft jener Teil derselben, welcher mehrere kleinere Sporoidkörper enthält, intensiver, als derjenige Teil, der keine aufweist (Fig. 4 a). Des öfteren stößt man auf größere sporoiden Kugeln, welche von einer oder mehreren Querscheidewänden durchzogen sind (Fig. 4 d).

Einige Stunden später beginnen die Sporoidkörper den Stäbchendurchmesser zu überschreiten, man sieht auch die sporoiden Bacillen (Fig. 2 a, 12 b, 23) (d. h. Sporoidkörper, welche die Dimensionen, Form und Lage regelmäßiger Individuen besitzen) häufiger. Manche Bacillen erscheinen gänzlich von Sporoidkörnern durchsetzt. Das Bestreben, durch fortgesetzte Teilung einen Zustand zu erreichen, in welchem jedes Korn in einem abgesonderten Chromatinteile liegt, erscheint bei vielen derartigen Individuen noch erhalten. Trotz des Zuwachses an sporoider Substanz überwiegt der färbbare Teil noch immer. Je später, desto größer wird die Unregelmäßigkeit in der Lagerung der ersteren, einzelne Sporoidgebilde fließen selbst zu unregelmäßig begrenzten Gebilden zusammen. Außerdem treten voluminösere, aber blasser gefärbte und von unregelmäßig angelegten Scheidewänden durchzogene (vielleicht infolge des unregelmäßigen Wachstums der einzelnen Sporoidkörper) Fäden in Sicht, in welchen die Sporoidsubstanz dem Chromatin bereits den Rang abgelaufen hat (Fig. 4 b, e, 9, 12). Es sind meistens Scheinfäden, da die Grenzen der einzelnen Bacillen nicht zu unterscheiden sind.

In einigen weiteren Stunden merkt man, daß die Sporoidkugeln wiederum vergrößert sind. Dagegen färben sich die Bacillen im allgemeinen schwächer und lassen in ihrer Körpermasse intensiver tingierte Körnchen erblicken, welche denjenigen entsprechen, die ich in meinen früheren Arbeiten beschrieben habe (Fig. 11, 12). Die meisten Bakterien sind vergrößert. Einzelne sind fast gänzlich ihres

Chromatins entblößt, sie haben das früher beschriebene Aussehen von Stäbchen, welche der Wirkung von chromatinolytischen Stoffen ausgesetzt waren. Hier und da bemerkt man jedoch spindelförmige Anschwellungen des Bakterienkörpers, welche sich sehr intensiv gefärbt haben. Noch immer kann man auf Scheinfäden stoßen.

Zwischen der 65. und 70. Stunde nimmt man eine weitere Verminderung des Chromatins wahr. Oft treten Reihen von Sporoidkugeln in Sicht, welche nur durch mehr oder minder dicke Scheidewände voneinander getrennt erscheinen (Fig. 12, 13). Zugleich sind die zwischen den Kugeln befindlichen Bakterienkörper nicht mehr stets homogen wie früher, sondern sie zeigen, sofern sie nur etwas länger sind, meistens eine Netzstruktur. Doch können auch nur Körner in ihnen zugegen sein (Fig. 5, 6). Andere Bakterien sind durch Querscheidewände in sporoidale Abteile geschieden, die noch kleiner sind als die kokkenförmigen, durch hastige Teilung entstandenen, früher erwähnten Chromatinpartikel (Fig. 6, 7, 8). Viele Fäden nehmen bizarre Formen an, welche dadurch entstehen, daß in Fäden von regelmäßiger Dicke entweder vergrößerte Sporoidkörper oder vergrößerte Chromatinteile eingereiht sind. Die in Frage kommenden hypertrophischen Chromatinteile sind regelmäßig auch hyperchromatisch (Fig. 8, 9, 14, 16 a, b, 19 c, d). Ich bemerke ausdrücklich, daß ich nur ganz klare Fälle abbilde, also keine unlösbaren Fadenschlingen oder übereinandergelegte Bacillen. Zuweilen kommt es nun auch zu Verschmelzungen nebeneinanderliegender Elemente, wodurch oft die phantastischsten Bildungen entstehen (Fig. 14, 16 b, 19). Desgleichen verschmelzen auch die Sporoidkörper zu absonderlichen Formen (Fig. 14 a). Viele Fäden bestehen zu dieser Zeit nurmehr aus sporoiden Elementen von verschiedener Größe und Form, nur dünne Wände eines Chromatinkittes, die letzten Reste der Bakterienleiber, sind zwischen sie geschoben (Fig. 14, 16 c). An den Enden der Fäden befinden sich oft besonders große Sporoidkugeln. Noch immer tauchen scheinfadentartige längere und dickere Bacillen auf.

Hier und da lösen sich bereits vereinzelte Sporoidkugeln aus den Fadenverbänden. Vor der definitiven Anflösung in isolierte Kugeln verlieren viele Fäden ihre Färbbarkeit, jedoch nicht alle, so daß sehr viele freigewordenen Kugeln von einer dünnen Chromatinhülle umgeben bleiben. Trotz des fortschreitenden Zerfalles sieht man noch weiterhin hypertrophische Formen von verschiedener Gestalt (von verdickten Stäbchen an bis zu keulenförmigen Gebilden) auftauchen, außerdem noch verschiedenartig gekrümmte Fäden, die

insgesamt hyperchromatisch erscheinen. Schließlich bemerkt man um die 80. Stunde herum auch verschiedene bizarre, kokarden- oder rosettenförmige Gebilde, deren Chromatinanteil durchwegs hyperchromatisch ist und die oft an den Enden fast gar kein Chromatin mehr enthaltender Fäden liegen.

Um die 88. Stunde schwindet das Chromatin bereits zusehends. Nur in der Nähe großer sporoider Kugeln bleiben größere Partien der färbaren Substanz erhalten, die das Aussehen von Hypertrophien haben. Schätzungsweise scheint die Sporoidsubstanz das Chromatin an Masse zu übertreffen. Große Anhäufungen von Sporoidkugeln bedecken große Teile des Gesichtsfeldes. Der Zerfall der Fäden in isolierte Kugeln kommt durch Anflösung der Chromatinreste zuwege (Fig. 17, 18). Dieser Zerfall greift immer mehr um sich, trifft immer mehr Fäden.

In einer 102 Stunden alten Kultur ist derselbe bereits allgemein. Die schon früher aufgetretenen hypertrophischen Chromatinformen können sich nun diese Zeit sehr vergrößern und vermehren. Sie sind gleichzeitig intensiv hyperchromatisch (Fig. 21). Auch einzelne normalgewachsene Fäden können die starke Färbung zu erkennen geben, aber die meisten sind entweder hypochromatisch oder überhaupt entfärbt, so daß das Chromatin hauptsächlich nur noch als dünne Hülle der Sporoidkugeln zum Vorschein kommt. Die stark gefärbten Fäden enthalten eine große Menge ganz kleiner Sporoidkörner, zugleich pflegen sie etwas dicker zu sein.

In Präparaten aus der 106. Stunde erblickt man Haufen von Sporoidkugeln, deren Zwischenräume eine zumeist formlose Chromatinsubstanz füllt. Mitunter kann man in den Haufen die früheren Fäden an der Lagerung der Kugeln und an dem Umstande erkennen, daß das Chromatin die Lage derselben markiert (Fig. 17, 20, 23). Das Chromatin nebeneinanderliegender Fäden fließt bei dem Zerfalle in Kugeln zu einem einheitlichen Ganzen zusammen, das den Dimensionen der verschmolzenen Bacillen entspricht.

In der 165. Stunde ist der Zerfall so fortgeschritten, daß fast alles Chromatin sämtlicher Fäden schon verschwunden ist. Nur hier und da können von den farblosen Fäden hyperchromatische und zugleich hypertrophische Gebilde in auffallender Weise abstechen (Fig. 23).

Eine 8 Tage alte Kultur bietet das Bild des vollkommensten Zerfalles. Nur freie Kugeln (Fig. 20 a) oder höchstens aus sporoiden Kugeln bestehende Fäden sind zu sehen, kaum daß ein Chromatinrest hier und da vorkommt.

Nur in vereinzelt Fällen trifft man auf kleine, dünne, zu Fäden angeordnete stark gefärbte Bacillen von homogener Beschaffenheit, die jedoch nur  $\frac{1}{2}$  oder  $\frac{1}{3}$  der Dicke der ursprünglichen Bakterien besitzen, so daß wohl niemand ahnen würde, daß es sich um Milzbrandbakterien handelt, sondern eher auf eine Verunreinigung der Kultur zu schließen geneigt wäre. Zahlreiche Untersuchungen (Platteverfahren) und kontinuierliche Beobachtung haben mich jedoch davon überzeugt, daß die Kulturen reingeblieden sind, daß es sich um eine neue Generation des Milzbrandbacteriums — sozusagen um eine diminierte Generation — handelt. Diese verkleinerten Bakterien treten nicht in jeder Kultur auf. Die Bedingungen ihres Auftretens sind mir nicht bekannt. Oft schwinden sie nach einigen Tagen und zwar, wie ich feststellen konnte, durch Bildung von sporoiden Körpern, wobei ich gleichfalls hypertrophische, keulenähnliche Formen, freilich in verkleinertem Maßstabe erkennen konnte. Die verkleinerten Bakterien können in derselben Kultur wieder noch einmal zum Vorschein kommen. Eine meiner Kulturen zeigte die diminierte Generation am 8. Tage zum ersten Male, am 11. enthielt sie dieselbe nicht mehr, am 13. aber schon wieder, darauf verschwand dieselbe, um am 34. Tage noch einmal und zwar zum letzten Male in Sicht zu kommen.

Dann aber enthielten die Kulturen nichts mehr, als nur Haufen von Sporoidkugeln, denn auch die zuerst vorhandenen Chromatinreste verschwinden schließlich völlig.

### Das Verhalten der asporogenen Stämme.

Ein asporogener Stamm, der auf gewöhnlichem Agar bei 17° kultiviert worden ist, wies auf den beiden Nährboden ein mit den sporogenen Stämmen kongruentes Wachstum auf. Auch sein Wachstum wies also auf dem Glycerinagar auf eine regere Assimilationstätigkeit hin, während es auf dem gewöhnlichen (bei 37°) minder kräftig war.

Auf dem gewöhnlichen Agar sind die Stäbchen dünner, schlanker, bilden zeitlich (bereits um die 20. Stunde herum) gekrümmte, zu Knäueln verschlungene Formen, erst später treten in ihnen winzige sporoiden Körnchen auf. Während die Stäbchen etwas dicker und besser färbbar werden, vergrößern sich die Körnchen nur sehr wenig. Darauf erscheinen hyperchromatische, stark hypertrophierte Individuen und Sporoidkörpern ähnliche Gebilde; weiterhin in einzelnen hypertrophischen, aber zugleich hyperchromatischen



Individuen stark gefärbte ovale Partien — allem Anscheine nach wohl Sporenanlagen (Fig. 25), aber zur Ausbildung und Freiwerdung der Sporen kommt es nicht. Die Hypertrophien sind hier unregelmäßiger, weniger diffus als bei normalen Stämmen. Auch die Färbbarkeit ist im allgemeinen ganz deutlich herabgesetzt. Es kann geschlossen werden, daß nicht so viel Chromatin gebildet werde, um zur Entstehung von Sporen zu führen. Den Schluß des Entwicklungscyclus bildet das Überwiegen von gekrümmten, knäueiförmigen, mehr oder minder hypochromatischen Formen. Stellenweise zerfallen die Fäden in ovale, schwach gefärbte Gebilde von der Größe der Sporen.

Auf dem Glycerinagar begegnet man schon zeitlich stark hyperchromatischen Individuen, welche mit kleinen Sporoidkörnern versehen sind und deren, stellenweise bis zur Knäuelsform herabgesetzten, Dimensionen auf eine rasche Vermehrung hinweisen. Die sporoiden Körperchen wachsen und vermehren sich intensiv; infolgedessen werden die kleinsten kubusförmigen Individuen durch das Wachstum der Sporoidsubstanz und die Erhöhung des Turgor zu kugeligen, mit einer Chromatinhülle versehenen Gebilden von Coccengröße reduziert (Fig. 24). Gleichzeitig erblickt man auffallende hypertrophische Formen, doch von geringeren Dimensionen, welche sehr oft von sporoiden Körpern durchsetzt erscheinen. Am 4. Tage befinden sich die Sporoidkugeln bereits den Chromatinteilen gegenüber im Übergewicht, dann werden sie frei. Um dieselbe Zeit treten auch größere hypertrophische und hyperchromatische Formen, sowie kürzere Scheinfäden auf. Auch die zum Kitt der Sporoidkugeln gewordenen Reste der früheren Bacterienleiber pflegen hyperchromatisch zu sein.

Interessant und für die besprochenen Vorgänge sehr charakteristisch erscheint mir der Umstand, daß ein anderer Milzbrandstamm, der schon Jahre hindurch keine Sporen mehr produziert hat und diese ganze Zeit auf gewöhnlichem Agar bei 17° gezüchtet worden ist, nach Überimpfung auf gewöhnlichen und Glycerinagar, die bei 37° gehalten wurden, auf diesem in analoger Weise wuchs wie der vorhergehende, auf jenem aber wirkliche Sporen ansgebildet hat. Da die Sporen nach kurzer Zeit (8 Tagen) aus der Kultur fast gänzlich verschwunden sind, so nehme ich an, daß sie zu neuen Fäden ausgewachsen sind, welche dann gekrümmte, knäueiförmige und andere hypertrophische Formen ansgebildet haben. Darauf zerfielen viele Fäden in ovale, schwach gefärbte, mit Chromatinkörnchen versehene

Partikel, unter welchen hier und da auch ein kleines sporoides Korn frei wurde.

Der Lebenscyclus der asporogenen Stämme des Milzbrandbacillus zeigt somit keine bemerkenswerten Abweichungen von der Norm — bis auf den Umstand natürlich, daß er auf dem gewöhnlichen Agar mit der Ausbildung der gekrümmten, hypertrophischen (Involution-) Formen endigt.

Nicht die Fähigkeit der Sporensubstanzbildung geht den asporogenen Stämmen ab; die sporoiden Substanz wird gebildet und selbst nach jahrelangem Schlummern der Sporenbildungsfähigkeit kann es wiederum zur Sporenbildung kommen. In unserem Falle hat die Versetzung in eine höhere Temperatur genügt, um sie herbeizuführen. Es scheint also nur die Fähigkeit abhanden gekommen zu sein, die Bildung der Sporensubstanz zu regulieren. Bei den erblich asporogenen Stämmen geht allem Anscheine nach die Regulationsfähigkeit dieser Substanz dauernd zugrunde, daher kommt es bei ihnen unter keinen Umständen zur Ausbildung von Sporen. Mit Rücksicht auf die weiter nachfolgenden Darlegungen erscheint es gewiß nicht ohne Interesse, daß die Individuen dieser Stämme eine relative Hypochromasie zur Schau tragen. Von diesem Standpunkte aus ist es interessant, daß als sehr seltene Erscheinung in den Kulturen auf gewöhnlichem Agar vom 11. Tage ab einzelne hypertrophische, ganz besonders auffallend hyperchromatische Fäden auftreten, in welchen dann immer ziemlich große sporoiden Körper konstatiert werden können.

### Scheinbare Ausnahmen von der Regel.

Wahrscheinlich sind die von PREISZ<sup>1)</sup> in den sogenannten sekundären Kolonien auf gewöhnlichem Agar beobachteten Körper, die er für vergrößerte BUNGE'sche säurefeste Körper hielt, mit den von mir oben geschilderten Sporoidkörpern identisch.

Da die sekundären Kolonien PREISZ' nicht in jeder Kultur des Milzbrandbacteriums zur Entwicklung kommen, wenn sie aber auftreten, ein Zeichen starker Wucherung sind, so steht die Angabe von PREISZ in keinem Widerspruche zu meinen Beobachtungen. Sie beweist nur, daß es unzulässig wäre, die besprochenen Erscheinungen schematisch beurteilen zu wollen.

Weitere Beispiele scheinbarer Ausnahmen von der von mir aufgestellten Wachstumsregel sollen hier noch Erwähnung finden.

<sup>1)</sup> PREISZ: l. c. S. 285.

So vermögen einzelne Milzbrandstämmen auf dem Glycerinagar neben den Sporoidkugeln auch Sporen auszubilden; ich werde später klarmachen, daß auch diese Fälle von dem in dieser Arbeit entwickelten Standpunkte aus begriffen werden können. So viel möchte ich jedoch hervorheben, daß die Sporen sich in einem solchen von mir beobachteten Falle aus Stäbchen entwickelt haben, welche ein ganz ähnliches Aussehen aufwiesen, wie die auf dem gewöhnlichen Agar gewachsenen Bacillen. Dagegen waren diejenigen Individuen, welche Sporoidkugeln ausgebildet haben, in konstanter Weise viel voluminöser. Außerdem kamen die Sporen nur im Beginne der Zeit, in welcher es zur Entwicklung der sporoiden Substanz kam, zur Beobachtung; später fand ich in der Kultur nichts als sporoiden Körper.

Trotzdem kann man — wiewohl ich einen derartigen Fall bis jetzt nicht beobachtet habe — auch den Fall theoretisch für möglich halten, daß Sporen neben Sporoidkörpern gleichzeitig in einer Kultur zugegen sein können.

Von demselben Standpunkte aus sind die Fälle zu beurteilen, in welchen Sporen und Sporoidkörper auf dem gewöhnlichen Agar zur gleichzeitigen Ausbildung gelangten. Dieser Fall trat bei demselben Stamme ein, der auf dem Glycerinagar Sporen gebildet hat. Ich schließe daraus, daß bei diesem Stamme ein individuell geregelter Chemismus gewaltet hat. Die Provenienz und Züchtungsweise desselben ist mir unbekannt; ich erhielt denselben durch die Freundlichkeit des Herrn Prof. BALL aus dem Institute des Herrn Prof. HUEPPE; ich selbst habe ihn auf Glycerinagar bei 37° gezüchtet. In diesem Falle wiesen die Individuen auf dem gewöhnlichen Agar ein bedeutend größeres Volumen auf als sonst — und dieser Umstand bildet, wie ich noch später darlegen werde, wohl den Schlüssel zur Erklärung der obenerwähnten Erscheinung. Um sekundäre Kolonien im Sinne von PREISZ hat es sich nicht gehandelt. Da diese jedoch später aufgetreten sind, so mag die besprochene Erscheinung auf diesen Umstand Bezug gehabt haben.

Vergleicht man nun den Entwicklungsgang des Milzbrandbacillus auf dem Glycerinagar mit demjenigen auf dem gewöhnlichen Agar, so bemerkt man, daß die Differenzen in den folgenden Punkten liegen:

I. Die Individuen der Glycerinagarkultur sind im Durchschnitte dicker, als die Individuen der gewöhnlichen Agarkultur.

II. Zur Zeit, da sich auf dem gewöhnlichen Agar eine Menge Sporen ausgebildet hat und frei wird, kommt es auf dem Glycerinagar zur reichlichen Bildung von Sporoidkugeln, während Sporen für gewöhnlich nicht gebildet werden.

III. Die Bildung der Sporen ist in derselben Weise wie die Bildung der Sporoidkugeln von dem Auftreten verbogener, hypertrophischer und zugleich auch hyperchromatischer Formen begleitet; auf dem gewöhnlichen Agar bilden diese Formen zum Teil Sporen, zum Teil entwickeln sie sich nicht weiter, während auf dem Glycerinagar auch diese Formen sporoidische Körper hervorbringen und schließlich zerfallen. Infolgedessen findet man

IV. in alten Kulturen vom gewöhnlichen Agar gekrümmte, knänelartige, die Normalgröße gewöhnlich nicht überschreitende, nur stellenweise stark hypertrophische, eventuell neue, aber von dünnen und kleineren Individuen gebildete Fäden und freie Sporen;

in alten Kulturen vom Glycerinagar dagegen nichts als Haufen von Sporoidkugeln, die höchstens in zerfallenem, diffus sich färbendem Chromatin liegen.

---

### III. Zur Mikrochemie der Sporoidkörper.

Da nach Ablauf einiger Zeit die ganze Glycerinagarkultur sich zu Sporoidkörpern umwandelt, so erscheint es wichtig zu erfahren, ob die Substanz der letzteren sich irgendwie chemisch charakterisieren läßt.

Da mir der Gang meiner Untersuchungen dies wünschenswert erscheinen ließ, so habe ich mich vorläufig auf die mikrochemische Untersuchung beschränkt, indem ich mir eine vergleichende makrochemische Untersuchung der in Betracht kommenden Verhältnisse vorbehalte.

Die Sporoidkörper erscheinen, ob klein ob groß, als farblose, stark lichtbrechende, daher hochglänzende Gebilde. Ihr Glanz gleicht völlig dem Glanze der Sporen.

Was das Verhalten den Farbstoffen gegenüber anlangt, so hebe ich hervor, daß sich die Sporoidkörper substantiv weder mit basischen, noch mit sauren Farbstoffen, weder vital noch nach physikalischer Fixation tingieren. Auch bei Verwendung der Sporenfärbungsverfahren gelingt es nicht diese Körper zur Färbung zu bringen.

Ein, freilich nur kleiner, Teil der Sporoidkörper färbt sich bei Benützung des Carbolmethylenblanes nach der Angabe von KROMPECHER metachromatisch. Da die Färbung nur auf einen kleinen Teil der Körper, vorwiegend auf die in den Stäbchen befindlichen Körner und Kugeln, beschränkt ist, bei den freien Sporoidkugeln aber zumeist negativ ausfällt, so muß geschlossen werden, daß die Substanz der Mehrzahl der sporoiden Körper mit der säurefesten Substanz der KROMPECHER'schen Gebilde nicht identisch ist. Es ist jedoch nicht ausgeschlossen, daß die letzteren ein jüngeres Entwicklungsstadium der Sporoidkörper darstellen.

Wie ich bereits erwähnt habe, so hat wohl auch PREISZ die Entwicklung von Sporoidkörpern und zwar in den von ihm entdeckten sekundären Kolonien beobachtet. Er hält diese Gebilde für gewucherte Substanz der säurefesten Körper BUNGE's (Ectogranula). Es ist jedoch auf den ersten Blick klar, daß hiermit jene Substanz keineswegs genügend charakterisiert erscheint. Außerdem gibt jedoch PREISZ an, daß die besprochene Substanz ihre Säurefestigkeit selbst gänzlich verlieren kann. PREISZ gibt zwar nicht an, aus welchen Beobachtungen er diesen Schluß abgeleitet hat. Da er jedoch die Säurefestigkeit mit Hilfe der Färbung durch Carbofuchsin und nachträglicher Übertragung in 5 proz. Schwefelsäure festgestellt hat, so glaube ich, daß er die obige Schlußfolgerung auf den negativen Anfall dieser Färbung begründet hat. Tatsächlich kann man wahrnehmen, daß sich ein bedeutender Teil der Sporoidkörper bei Anwendung jener Methode nicht färbt. Darf man jedoch hierans einen Schluß auf ihre Säurefestigkeit ziehen? Meiner Ansicht nach nicht, denn ich fand in meinen Präparaten die Körper auch dann vor, wenn sie sich bei Benützung des obigen Färbeverfahrens nicht tingiert haben. Die Säurefestigkeit derselben wird am besten durch den Umstand bewiesen, daß sie sich im Magensaft nicht auflösen und auch in Salzsäure 4:3 Wasser erhalten bleiben.

Es ist mir gelungen folgende Methoden erfindlich zu machen, um die Färbung der Kugeln zu bewirken, während die Sporen sich nicht damit färben lassen, so daß diese Methoden, mit Ausnahme der Methode IV, als differentiell-diagnostische Hilfsmittel in Betracht kommen.

I. Man mischt gleiche Teile einer konz. wäss. Sublimatlösung und einer mit Wasser verdünnten alkoholischen Fuchsinlösung. Der hierbei entstehende starke Niederschlag behindert die Färbung nicht im mindesten, da er beim Abspülen mit Wasser weggeschwemmt wird; man darf nur kein lange stehengebliebenes Gemisch benützen.

Mit diesem Gemisch fixiert und färbt man das luftgetrocknete Präparat gleichzeitig. Als Resultat ergibt sich die Rotfärbung eines großen Teiles der sporoiden Körper. Die Färbung ist diffus, im Centrum am stärksten und läßt bei einer Anzahl der Körper eine dünne, ungefärbte, peripherische, unter dem umhüllenden Chromatinsaum liegende Zone erkennen. Ein Teil der Körper bleibt jedoch auch bei dieser Methode ungefärbt.

II. Das lufttrockene Präparat wird mit konz. wäss. Sublimatlösung fixiert, mit verdünntem Fuchsin gefärbt, darauf der Einwirkung der LUGOL'schen Lösung ausgesetzt; es folgt Abspülung mit Wasser, Abtrocknen, Einschluf in Kanadabalsam. Bei Benützung dieses Verfahrens färbt sich die Mehrzahl der Sporoidkugeln und ist die Färbung der einzelnen Körper gleichmäßig, aber im Tone verschieden. Man sieht nämlich 1. ungefärbte, 2. rein blau gefärbte, 3. blänlich und 4. dunkelvioletttingierte Körper. Es ist gewiß erlanbt, dieses Färbungsresultat als den Ausdruck verschiedener chemischer Zustände anzufassen, die vielleicht mit Entwicklungsstadien der Sporoidkörper im Zusammenhang stehen. Nur ein kleiner Teil (zumeist der freien) Kngeln bleibt bei dieser Methode ungefärbt.

III. Den Wert eines direkten Reagens auf die Sporoidkugeln muß ich jedoch für die LUGOL'sche Lösung, allein angewendet, beanspruchen. Mischt man (auf dem Objektträger) ein Kulturteilchen direkt in die Lösung hinein, so färben sich sämtliche Sporoidkörper des Präparates in gelbem bis braunem Tone.

IV. Nicht minder präzis ist die Färbung mit Naphtholblau nach der Vorschrift von DIETRICH und LIEBERMEISTER; kurz nach der Vermischung des Dimethylparaphenylendiamins und  $\alpha$ -Naphthols mit dem das Kulturteilchen enthaltenden hängenden Tropfen, stellt sich die sattblaue Färbung der Sporoidkörper ein.

Was die eigentlichen chemischen Reaktionen betrifft, so gibt das Millon'sche Reagens eine makroskopische Rotfärbung des ans Sporoidkugeln bestehenden Kulturteilchens; mit dem Mikroskope kann man aber nur feststellen, daß diese Färbung diffus ist und von einer schwach gelben Färbung der einzelnen Elemente herrührt. Der Bacterien gibt es im Präparate so wenig, daß die erwähnte Reaktion einzig auf die Sporoidkörper bezogen werden kann. Darans ginge jedoch hervor, daß dieselben aus Eiweißstoffen bestehen.

Dieses Resultat ist insofern von Bedeutung, als die positive Jod-Jodkaliumfärbung an die Deutung denken lassen könnte, daß es sich um Glykogen handelt. Daß dem jedoch nicht so ist, geht schon aus der Unlöslichkeit der Körper im Wasser hervor, die sich selbst dann

offenbart, wenn die vollkommen freien Kugeln nicht die geringste Spur einer Chromatinhülle zeigen und von dem umgebenden Medium nur durch ihr stärkeres Lichtbrechungsvermögen abstechen. Denn das Glykogen ist im Wasser löslich.

Im Alkohol sind die sporoiden Kugeln unlöslich, desgleichen in einem Gemisch von gleichen Teilen Alkohol und Äther, wodurch die durch das Aussehen, besonders den Glanz der Körper gestützte Annahme, daß sie aus Fett oder einer fettartigen Reservesubstanz bestehen, gegenstandslos wird.

Wichtig ist, daß die Sporoidkugeln der künstlichen Magensaftverdauung nicht unterliegen. Da sie, wie der Ausgang der Reaktion mit Alkoholäther zeigt, nicht aus Fett gebildet sind, die Zusammensetzung derselben aus Keratin aber ausgeschlossen ist, so bleibt nur der eine Schluß übrig, daß sie nämlich aus Kernsubstanz bestehen.

Ich suchte, soweit dies angängig, auch noch und zwar auf Grund der von FRANK SCHWARZ angegebenen Reaktionen zu bestimmen, um welche Kernsubstanz es sich handle.

Dabei ergab sich, daß die Sporoidkugeln von konzentrierten Lösungen von Kupfersulfat, Magnesiumsulfat und Ferrocyankalium (in welchen sie höchstens schrumpfen), ferner von 20proz. NaCl-Lösung und Salzsäure 4:3 Wasser unberührt bleiben.

Ich halte es für wichtig, hervorzuheben, daß die Sporoidkörper diese Reaktionen, sowie auch die Färbung mit Naphtholblau mit den Sporen gemeinschaftlich haben.

Auf Grund der angeführten Ergebnisse ist der Schluß zulässig, daß die Sporoidkörper ein Entwicklungsprodukt des *Bact. anthracis* darstellen, das im wesentlichen die mikrochemischen Reaktionen der Sporen gibt. Abweichungen geben sich bloß in den Färbungsergebnissen nach den von mir angegebenen Verfahren I und II, weiterhin in der Reaktion mit LUGOL'Scher Lösung kund.

Der Schluß, daß die Sporoidkörper Stoffwechselprodukte im Sinne von Reservestoffen darstellen, erscheint mir nach dem Angeführten sehr unwahrscheinlich.

#### IV. Zur Physiologie der Sporoidkörper.

Als erste Frage bietet sich nun, ob die Sporoidkugeln den Sporen homologe Gebilde sind, ob sie die Sporen zu

vertreten, wie die Sporen die Kontinuität der Art zu erhalten vermögen?

Um dies zu eruieren, unternahm ich eine Reihe von Versuchen. Da es unmöglich ist, die ganze Kultur mikroskopisch zu untersuchen, um festzustellen, ob sich etwa zwischen den Massen von Sporoidkugeln nicht auch ein vermehrungsfähiger Bacillus befindet, so habe ich die Kontrolle des zur Überimpfung gelangenden Materials in der nachstehenden Weise ausgeführt. Von der Mutterkultur, welche nach der mikroskopischen Durchmusterung nichts als Sporoidkörper enthielt, verimpfte ich ein Teilchen auf frische Nährböden. Das verimpfte, sehr kleine Teilchen wurde mit Hilfe des Kondensationswassers auf der Oberfläche des frischen Nährbodens verrieben, der Ausstrich gemischt und nach gründlicher Vermischung von demselben ein Teilchen zur Anfertigung des mikroskopischen Präparates benützt.

Durch solches Vorgehen glaube ich die Möglichkeit eines Irrtums bezüglich der Gegenwart oder Abwesenheit von vermehrungsfähigen Bakterien in dem auf den frischen Boden gebrachten Teilchen auf das geringste Maß beschränkt zu haben.

Ich lasse nun einige meiner Versuchsprotokolle folgen.

In allen nachstehenden Versuchen wurden nur Sporoidkugeln und Chromatinreste, aber durchaus keine erhaltene Bakterien enthaltende Glycerinagarkulturen auf gewöhnliche und glycerinhaltigen Agar verimpft und die neuangelegten Kulturen bei 37° weitergezüchtet.

Nr. 12. 22 Tage bei 37° gehaltene Kultur, verimpft, zeigt nach Ablauf von 43 Stunden gutes, für die betreffenden Nährböden typisches Wachstum.

Nr. 14. Gleich alte, analog gezüchtete Kultur, zeigte nach 43 Stunden reichliches Wachstum.

Nr. 15. 25 Tage alte, bei 37° kultivierte Kultur. Auf dem gewöhnlichen Agar ging die Saat in 24 Stunden ausgezeichnet an; das mikroskopische Bild war für das Wachstum auf dem gewöhnlichen Agar typisch. Aber auf dem Glycerinagar kam es zu keiner Entwicklung. Das mikroskopische, in der 24. Stunde entnommene Präparat, enthielt Sporoidkugeln und halbfärbte Bakterienreste, daneben aber auch gekrümmte hyperchromatische Formen. Fadenzäuel und auch gerade Fädchen von gut färbbaren, kurzen Bacillen gebildet, welche sporoiden Körner enthielten, die zwar, absolut betrachtet, klein, aber im Verhältnisse zu denjenigen, welche um dieselbe Zeit auf dem gewöhnlichen Agar aufgetreten sind, viel größer



waren. Ich glaube schließen zu dürfen, daß in dieser Kultur das überimpfte Material zu wuchern anfang, daß aber das Wachstum, wohl infolge von Zerfall in Sporoidkugeln aufgehört hat, da sich die Kultur weiter nicht vergrößert hat.

Nr. 16. 25 Tage alte, bei 37° gehaltene Kultur; die Saat ging binnen 24 Stunden auf dem gewöhnlichen Agar sehr gut an. In der Glycerinagarkultur kann man wiederum Spuren begonnener Vermehrung konstatieren (aus kurzen Gliedern gebildete Bacillenfädchen, welche manchmal direkt mit Häufchen von Sporoidkugeln in Zusammenhang stehen, Fig. 26) doch hat sie keinen größeren Grad erreicht und sistierte schließlich.

Nr. 20. Bei 37° gezüchtete, 30 Tage alte Kultur. In den beiden neuen Kulturen trat ein für die betreffenden Nährböden völlig typisches Wachstum ein.

Nr. 23. 24 Tage bei 17° kultivierte Kultur in zwei Portionen (bei 37° und 17°) angelegt; keine von diesen Kulturen ist aufgewachsen.

Nr. 24. Eine 38 Tage bei 17° gehaltene Kultur wurde einem starken Meerschweinchen verimpft. Das Tier ging am 4. Tage zugrunde. Aus dem Blute desselben wurde ein völlig typisches Milzbrandbacterium gezüchtet, das auf gewöhnlichem Agar üppig wuchs.

Nr. 25. 34 Tage bei 17° gewachsene Kultur wies auf gewöhnlichem Agar im Laufe von 44 Stunden typisches, reichliches Wachstum, die Glycerinagarkultur blieb dagegen steril.

Nr. 26. Eine 32tägige bei 37° gezüchtete Kultur blieb nach Verimpfung beiderseits steril.

Nr. 29. 35 Tage alte, bei 37° gehaltene, Kultur ging auf keinem der beiden Nährböden an.

Nr. 32. Eine 53 Tage bei 17° gezüchtete Kultur zeigte am 3. Tage auf dem Glycerinagar noch kein Wachstum, dasselbe blieb auch weiterhin aus, während auf dem gewöhnlichen eine überaus üppige Wucherung eintrat.

Die angeführten Resultate scheinen auf den ersten Blick so zersplittert zu sein, daß ein einheitlicher Schluß unmöglich erscheint. Während die jüngeren Stadien mehr positive Ergebnisse liefern, weisen die älteren mehr negative Resultate auf. Doch findet man mitten unter den positiven Resultaten auch ein negatives (Versuch Nr. 23) und umgekehrt unter den negativen auch ein positives (Versuch Nr. 20). In letzterer Beziehung ist namentlich auch das Ergebnis des Versuches Nr. 24, in welchem eine Kultur, deren mikroskopisches Bild nichts als Sporoidkugeln zu erkennen gab, den Tod

des Versuchstieres im Laufe des 4. Tages nach der Infektion herbeigeführt hat und aus dem Blute des letzteren ein typischer Milzbrandbacillus herangezüchtet wurde.

Wiewohl bei der von mir gebrauchten Untersuchungsmethode des auf die frischen Nährböden übertragenen Materiales die Wahrscheinlichkeit, daß in jenen Versuchen nur sporoiden Elemente zur Überimpfung gelangt sind, so groß, als überhaupt erreichbar war, so kann doch die Eventualität nicht ausgeschlossen werden, daß sich zwischen denselben ein vermehrungsfähiger Bacillus befand, auf dessen Rechnung das zutage getretene Wachstum gesetzt werden könnte. Nichtsdestoweniger stehe ich nicht an, eine solche Annahme als sehr wenig wahrscheinlich zu bezeichnen. Doch habe ich in den Präparaten aus den neuangelegten Kulturen, welche gut angegangen sind, selbst in den zeitlichsten Stadien und beim genauesten Studium niemals solche Bilder gesehen, welche den Schluß daß das Wachstum dieser Kulturen von den Sporoidkugeln selbst ausgegangen ist, wie es in den Kulturen auf gewöhnlichem Agar von den Sporen ausgeht, zur unabweislichen Notwendigkeit gemacht hätten.

Ich habe daher mikroskopische Kulturen von gewöhnlichem und glycerinhaltigem Agar angelegt, die ich mit nur Sporoidkugeln enthaltenden Kulturteilchen besetzt habe. Bestimmte Gruppen der Kugeln wurden mit Hilfe des Kreuztisches fixiert und mehrere Tage hindurch kontinuierlich beobachtet. Wiewohl es in allen diesen Kulturen zur Entwicklung neuer Fäden kam, konnte ich in keinem einzigen Falle konstatieren, daß sie von jenen Kugeln ausgegangen wäre. Die Sporoidkugeln blieben unverändert, selbst wenn die Kultur üppig anging.

Da dieses Resultat durch direkte Beobachtung gewonnen wurde, während der Ursprung der positiven Resultate bei der Übertragung von nur sporoidkörperhaltigen Kulturen auf frische Nährböden direkt nicht festgestellt werden kann, so muß ich dem ersteren bei der Bewertung der Bedeutung der Sporoidkugeln ein größeres Gewicht beimessen. Ich neige daher zu der Ansicht hin, daß die Sporoidkugeln zu der Zeit, da sie eigentlich allein die ganze Kultur zusammensetzen, nicht mehr lebendig sind.

Wenn vielleicht zwischen den Sporoidkugeln irgendwelche Sporen verborgen geblieben wären, welche meiner Beobachtung sich entzogen hätten, so wäre es unmöglich, die negativen Resultate auf dem Glycerinagar bei gleichzeitigem positiven Ergebnis auf dem gewöhnlichen zu erklären. Denn die Sporen kommen auf dem Glycerinagar ebensogut zur Keimung.

In Anbetracht dieser Umstände bleibt die Frage, wie das Wachstum der Kulturen aus den überimpften Sporoidkugeln möglich ist, auch fernerhin offen. Immerhin möchte ich mir gestatten darauf aufmerksam zu machen, daß mit den Sporoidkugeln stets eine mehr oder minder große Menge von Chromatindetritus mitübertragen wird.

Die Frage der Bacterienmerotomie wurde bis jetzt überhaupt nicht in Angriff genommen; wir wissen somit nicht, wie kleine Bruchstücke des Bacterienkörpers noch einer Regeneration zu ganzen Individuen fähig sind, ja wir wissen sogar noch nicht einmal, ob merotomierte Bacterien überhaupt regenerationsfähig sind. Mit den darauf bezüglichen Versuchen beschäftige ich mich schon einige Zeit und werde nicht ermangeln, baldmöglichst über dieselben zu berichten.

An dieser Stelle möchte ich jedoch hervorheben, daß in jenen Fällen, in welchen meine Versuche ein Wachstum auf den beiden zur Verwendung gelangten Nährböden ergeben haben (also in den Versuchen Nr. 12, 14, 20), in dem Impfmateriel verhältnismäßig zahlreiche gut färbbare, geformte Chromatinreste mitenthalten waren; in den Versuchen mit negativem Resultat auf den beiden Nährböden (Versuch Nr. 23, 26, 29) fehlten entweder solche Reste, oder sie waren schlecht färbbar. Schlechte Färbbarkeit von sonst gut färbbaren Objekten gilt jedoch allgemein als ein Zeichen herabgesetzter oder erloschener Vitalität.

Mit diesem Hinweis stimmt die Tatsache überein, daß die älteren Stadien der Sporoidkörper, wie oben erwähnt wurde, mehr negative Resultate bei der Umimpfung ergeben, wissen wir ja doch aus der im Kapitel II gegebenen Schilderung der Entwicklung der Sporoidkörper, daß das Chromatin der Fäden mit dem Fortschritte der letzteren immer mehr und mehr schwindet.

Daß die in den besprochenen Versuchsergebnissen zutage tretenden Differenzen von dem Umstande, ob die verimpften Sporoidkugeln lebendig oder tot sind, überhaupt nicht abhängig sind, zeigen übrigens die Versuche Nr. 15, 16, 25, 32, in welchen die aus der Mutterkultur überimpften Teilchen nur auf einem der ihnen unter sonst gleichen Bedingungen gebotenen Nährböden und zwar übereinstimmend nur auf dem gewöhnlichen Agar aufgewachsen sind. Die auf das Glycerinagar übertragenen Teilchen sind in diesen Versuchen niemals angegangen.

Mit Hinblick auf den von mir gleich eingangs dieser Abhandlung hervorgehobenen Umstand, daß nämlich das Milzbrandbacterium

auf dem Glycerinagar kräftiger wächst, als auf dem gewöhnlichen, könnte das Ergebnis der eben citierten Versuche paradox erscheinen.

Es wird von weiteren Versuchen abhängen, ob die in den eruierten Tatsachen zutage tretende Differenz wird ausgeglichen werden können.

## V. Die biologische Bedeutung der Sporoidkörperbildung.

Man beachte vor allem die nachstehenden Tatsachen:

Bis zu einem gewissen Entwicklungspunkte geht die Bildung der Sporen und der Sporoidkörper parallel und in völliger Analogie vor sich;

beide Gebilde entstehen auf demselben chemischen Substrate, dem vegetativen Milzbrandstäbchen;

die mikrochemischen Reaktionen weisen auf eine im wesentlichen analoge Zusammensetzung hin;

der morphologische Unterschied zwischen den beiden Gebilden beruht darauf, daß die Sporoidkörper durch progressives Wachstum und Vermehrung, sowie schließlich auch eine chemische Umwandlung derselben Substanz, aus welcher auch die Sporen entstehen, zustande kommen.

Zieht man alle diese Umstände in Betracht, so wird man wohl keinen Fehlgriff tun, wenn man die Bildung der Sporoidkörper als abnormale Entwicklung jener Substanz bezeichnet, welche — wenn das Bacterium sich in anderen Lebensbedingungen befindet — auch die Sporen bildet. Gewisse Differenzen, welche sich bezüglich des mikrochemischen Verhaltens zwischen den fertigen Sporen und fertigen Sporoidkörpern aus meinen Untersuchungen ergeben, sind augenscheinlich auf die Rechnung der erwähnten Weiterentwicklung jener Substanz zu setzen.

Erinnern wir uns nunmehr, daß die Entwicklung der Sporoidkörper auf dem Glycerinagar vor sich geht. In derselben Zeit, da in der gewöhnlichen Agarkultur die Sporen sich frei zu machen beginnen, nimmt der Zerfall der Milzbrandbazillenfäden zu Haufen sporoider Körper seinen Anfang. Es ist klar, daß auf dem Glycerinagar ein abnormal starkes Wachstum jener Substanz vor sich geht, die auf dem gewöhnlichen Agar die DIETRICH-LIEBERMEISTER'schen Körnchen und die Sporen bildet, also daß in abnormaler Weise eine Substanz gebildet werde, welche auch unter normalen Verhältnissen in dem Milzbrandstäbchen zur Bildung gelangt.

Da wir wissen, daß es dem Milzbrandbacterium auf dem Glycerinagar besser ergeht, daß auf demselben seine Assimilationstätigkeit erhöht ist, so vermögen wir zu begreifen, daß es auf diesem Nährboden zum abnormalen Wachstum der Sporoidsubstanz kommt. Die letztere ist als eine Transformation des ursprünglichen Nucleinprotoplasmas des Milzbrandbacillus aufzufassen. Diese Transformation kommt in einer für den morphologischen Metabolismus des Protoplasmas charakteristischen Weise durch erhöhten Stoffwechsel, gesteigerte Assimilation zustande.

Es fragt sich zunächst, ob dieser Ausspruch durch Beobachtungen geziemend gestützt werden kann?

Diesbezüglich wird es genügen, wenn wir einen Blick auf die Entwicklungsgeschichte des Milzbrandbacteriums auf dem Glycerinagar werfen.

Da beobachtet man vor allem eine sehr rege Teilung, die einen nicht minder regen Stoffwechsel zur Voraussetzung hat; weiterhin beobachtet man die Ausbildung von Scheinfäden und voluminöseren, dickeren und längeren Individuen überhaupt, Erscheinungen, welche nicht anders, als durch erhöhtes Wachstum erklärt werden können, das nur auf Grund einer besseren Ernährung möglich ist. Schließlich beobachtet man das auffallende Auftreten von hypertrophischen Formen, welche geradezu gigantische Dimensionen zu erreichen vermögen; auch diese hypertrophischen Formen können nur durch erhöhte Assimilation erklärt werden.

In der Auffassung, daß die Sporoidkörperbildung einer erhöhten Assimilation ihren Ursprung verdankt, bestärkt mich auch der Umstand, daß — wie durch aufmerksames Studium der Präparate festgestellt werden kann — die hypertrophischen Formen im Beginne ihres Auftretens entweder homogen sind oder nur wenige kleinere sporoiden Körper enthalten, später aber sich vergrößern und je länger, desto mehr mit sporoiden Körpern anfüllen, so daß sie schließlich vollgestopft von ihnen sind und zugrunde gehen, indem sie sich in freiwerdende Kugeln zerlegen (Fig. 21 *c-l*, *n*, *u-z* und *a*).

Eine weitere Stütze der Ansicht, daß es sich um einen Ausdruck gesteigerter Assimilation handelt, bildet der Umstand, daß die hypertrophischen Formen wenigstens im Beginne ihres Auftretens, zumeist jedoch noch viel länger, sich gleichzeitig auch anfallend hyperchromatisch zeigen. Diese Hyperchromasie führt mitunter bis zur Undurchsichtigkeit jener Elemente und kann nur darauf beruhen, daß dieselben auf gleichem Raume mehr färbbare Substanz

enthalten (wie sich aus dem Vergleiche mit normal gefärbten hypertrophischen Formen ergibt), was wiederum nur die Folge einer vergrößerten Produktion jener Substanz auf Grund eines erhöhten Stoffwechsels sein kann.

Den Schluß der Entwicklung auf dem Glyceriagar bildet in der Regel die Umwandlung sämtlicher Fäden in Sporoidkugeln.

Während sich die Bildung der sporoiden Substanz auf dem gewöhnlichen Agar — meiner Meinung nach muß dieser Nährboden dem Milzbrandbacterium ganz besonders günstige Bedingungen bieten, da es auf demselben in der Regel seinen ganzen Entwicklungscyclus durchmacht — in bestimmten Grenzen hält, welche durch das Größenverhältnis der Spore zum Stäbchen bestimmt werden, so daß eine gewisse Proportionalität derselben, eine bestimmte Relation zwischen der Spore und dem Körper gewahrt wird, vermischt sich auf dem Glyceriagar dieses Verhältnis, ein übermäßiges Wachstum der Sporoidsubstanz und der Untergang des Chromatiuleibes stellt sich ein.

Diese Änderung des Stoffwechsels hat zur Folge, daß die durch das Freiwerden der Sporoidkugeln aufgelösten Fäden absterben.

Daß im Laufe der Kultivation eine große Menge Bacterien absterbt war schon seit langem aus den Arbeiten von FICKER<sup>1)</sup> und LONDON<sup>2)</sup> bekannt. GOTTSCHLICH und WEIGANG<sup>3)</sup> haben gezeigt, daß dieses Absterben die Folge des auf die große anfängliche Vermehrung folgenden Nahrungsmangels ist.

Studiert man irgend eine Kultur längere Zeit hindurch, so bemerkt man, besonders in einzelnen Kulturen, daß ein tatsächlich immenses Absterben eintritt; es kommt bei dem Milzbrandbacterium auch auf gewöhnlichem Agar vor. Vielleicht liegt es wirklich am nächsten, sich als die Ursache dieses Absterbens den Nahrungsmangel zu denken. Aber dieses Absterben kann mit dem Untergange der Bacterien auf dem Glyceriagar nicht verglichen werden. Seine Morphologie ist völlig verschieden. Da sieht man, wie die Fäden dünner, blässer werden, immer mehr von ihrem Chromatin verlieren und schließlich zu ovalen, schwach gefärbten Partikeln zerfallen oder schwinden, indem sie sich gänzlich abfärben (Fig. 1 B, 22). Der große Hungertod der Bacterien unterscheidet sich somit sehr bedeutend von dem Massentode derselben auf dem Glyceriagar.

<sup>1)</sup> FICKER Zeitschr. f. Hyg. 29 1898.

<sup>2)</sup> LONDON: Arch. des sc. Biol. St. Petersburg VI 1897.

<sup>3)</sup> GOTTSCHLICH u. WEIGANG: Zeitschr. f. Hyg. 1895.

In den Büchern über Bacteriologie findet man jedoch noch von einem anderen Absterben der Bacterien Nachricht und zwar in alten Kulturen, das nach der allgemein geläufigen Auffassung teils durch Erschöpfung der Nährstoffe, teils durch Anhäufung der Stoffwechselprodukte bedingt ist. „Wir sehen dann“, sagt GÜNTHER, „an den Bacterienzellen zunächst sog. Absterbeerscheinungen, Involutionsercheinungen auftreten. Die Zellen blähen sich auf, werden voluminöser, Mißbildungen, Schnörkelformen der mannigfachsten Gestaltung bilden sich aus, das Protoplasma durchsetzt sich mit „Vacuolen“,\*) verliert seine normale chemische Eigenschaften (z. B. färbt sich lückenhaft und schlecht mit Anilinfarbstoffen), der Contour der Zellen wird undeutlicher; und dann sind die Zellen nicht mehr fähig sich weiter zu vermehren, selbst wenn sie auf frischen Nährboden übertragen werden, sie sind abgestorben.“<sup>1)</sup>

Eine analoge Beschreibung, selbst die Vacuolisation nicht ausgenommen, geben KOLLE und HETSCH<sup>2)</sup>, welche den von GÜNTHER angeführten Ursachen dieses Absterbens noch die Änderung in der Reaktion des Nährbodens hinzufügen, die sich in alten Kulturen einstellt und sehr wahrscheinlich von den Stoffwechselprodukten herrührt.

Bei einer flüchtigen Durchmusterung der meiner Arbeit beigefügten Abbildungen könnte es den Anschein gewinnen, daß der von mir beschriebene Vorgang der Sporoidkörperbildung mit dem von den citierten Autoren gemeinten identisch ist. Dem ist jedoch nicht so. Die Beschreibungen der letztcitirten Autoren beziehen sich auf alte Kulturen, während man die Bildung der Sporoidkörper bereits in 4—5 Tage alten, somit relativ jungen Kulturen mit Sicherheit konstatieren kann. Um diese Zeit sind aber weder die Nährstoffe des Nährbodens erschöpft, noch hat sich die Reaktion derselben in merklicher Weise verändert, außerdem besitzt eine solche Kultur noch lange die Fähigkeit sich zu vermehren, wenn sie auf frischen Nährboden gebracht wird.

Schließlich kann bewiesen werden, daß die von mir beschriebenen Gebilde keine Vacuolen sind. Die Form derselben ist nämlich keineswegs in jedem Falle kugelig, wie es bei einer Vacuole der Fall sein müßte, sie pflegt oft cylindrisch, spindelförmig oder auch un-

<sup>1)</sup> GÜNTHER: l. c. S. 16. Anführungszeichen und Fettdruck bei \*) von GÜNTHER selbst.

<sup>2)</sup> KOLLE-HETSCH: l. c. S. 21.

regelmäßig zu sein und erhält sich auch dann, wenn die betreffenden Körper nach Einhuße ihrer Chromatiumhülle ganz frei im Präparate liegen. Wenn es sich um eine Vacuole handeln würde, so müßten in einem solchen Falle die fraglichen Gehilde auseinandertreffen, oder wenn trotz des Chromatinschwundes eine zähere Außenschicht ihnen anhaften würde, so müßten sie, bekannten physikalischen Gesetzen folgend, wenigstens Kugelform annehmen. Da dies jedoch nicht der Fall ist, so muß geschlossen werden, daß die sporoiden Gehilde keine Vacuolen sind, sondern aus einer festeren Substanz bestehen, welche — wie ich oben gezeigt habe — eine Transformation der auch normal den Milzbrandbacillus zusammensetzenden Nucleinsubstanz darstellt.

Aus meinen Beobachtungen geht freilich mit Wahrscheinlichkeit hervor, daß die sporoiden Gehilde keine lebenden Elemente sind. Nicht minder wahrscheinlich erscheint es, daß die Substanz derselben keinen Reservestoff darstellt; sie ist, wie uns die histologische Untersuchung ihres Entwicklungsvorganges lehrt, umgewandelte Bakterienkörpersubstanz, denn das Chromatium weicht nicht bloß vor ihr zurück, um einfach zu atrophieren, wenigstens nicht in der Zeit, da die Sporoidkörperbildung in voller Blüte steht, sondern es wandelt sich selbst in die Sporoidsubstanz um. Nur ein verhältnismäßig kleiner Teil des Chromatins geht in den Spätstadium unter Zerfall und Auflösung zugrunde.

Aber die Art, in welcher sich die Sporoidsubstanz entwickelt, zeigt, daß die Ursache des auf diese Entwicklung folgenden Absterbens eine andere sein muß, als Nahrungsmangel. Da sich die Sporoidkörper auf einem Nährboden entwickeln, auf welchem die Ernährung des *Bact. anthracis* ausgiebiger ist, auf dem es üppiger wächst und stärker hypertrophiert, so bleibt wohl nur der Schluß übrig, daß das Absterben des Milzbrandbacillus auf dem Glycerinagar die Folge einer Überfütterung ist.

Hiermit gelangen wir jedoch zu dem Punkt, von welchem aus eine Erklärung der Bedeutung der Sporoidkörperbildung möglich erscheint.

Alles, was ich nämlich bis jetzt angeführt habe, bringt mich zu der Überzeugung, daß das Milzbrandbacterium auf dem Glycerinagar in einen Zustand gerät, welcher mit den Depressionszuständen der Protozoen analog ist.

Um dies näher darzulegen, wolle man sich erinnern, unter welchen Umständen der Depressionszustand bei Protozoen eintritt und wodurch derselbe charakterisiert wird.



Nach CALKINS und RICH. HERTWIG<sup>1)</sup> kommt es bei reichlicher Fütterung der Protozoen, also bei ununterbrochener Assimilations-tätigkeit, trotz der fortlaufenden Teilungen, durch welche die Kern-substanz doch eine fortgesetzte Reduktion erfährt, zu einem Riesen-wachstum der letzteren. Bei dem *Actinosphaerium*, bei welchem R. HERTWIG diese „physiologische Degeneration“ festgestellt hat, resultieren schließlich Tiere, deren Kerndurchmesser die zehnfache Größe des normalen erreichte, so daß sich die Kernsubstanz etwa tausendfach vergrößert hat. Das Ende dieses Prozesses war jedoch stets dasselbe. Die Riesenkerne wurden ausgestoßen, das zurück-bleibende Cytoplasma enthielt dann keine Kerne mehr und starb bald ab. Der Tod ist durch eine Störung des cytotypischen Wachstums, durch eine Störung der normalen Kernplasmarelation bedingt, durch welche das Gleichgewicht der Substanzen in der Zelle derartig irritiert wird, daß eine weitere Assimilation und in weiterer Kon-sequenz auch das weitere Wachstum und die Vermehrung unmöglich gemacht werden.

Solchermaßen wäre unter den angeführten Verhältnissen die Art dem Untergange geweiht, wenn es nicht gelänge, die Assimilations-fähigkeit durch Verkleinerung der hypertrophierten Kernsubstanz zu reaktivieren, was durch Befruchtung oder Encystierung erreicht wird.

So stellt sich die amphigene Entwicklung (bei welcher durch Zusammenfließen von Individuen die normale Kernplasmarelation restituiert wird) als ein Kompensationsvorgang, als ein cellnlärer Regulationsvorgang, in einem gewissen Gegensatz zu der autogenen Entwicklung (bei der es sich um Umwandlungen aus „eigenen Mitteln“ eines Individuums handelt).

Das *Bact. anthracis* ist ein Organismus mit autogener Entwick-lung; bislang ist keine Tatsache bekannt geworden, welche zu der Annahme berechtigen würde, daß auch dieses Bacterium eine amphigene Entwicklung besitzt, daß bei demselben ein und sei es noch so primitiver, sexueller Vorgang vorkommt. Ich habe bis jetzt trotz unzähliger daraufgerichteter Beobachtungen nicht die geringste Spur des Vorhandenseins eines Vorganges feststellen können, der auch nur entfernt etwa der von SCHAUDINN bei dem *Bact. Bütschlii* beschriebenen Isoplasmogamie geähnelt hätte.

Dauernde autogene Entwicklung führt jedoch, wie R. HERTWIG bei einer Reihe von Protozoen in überzeugender Weise gezeigt

<sup>1)</sup> R. HERTWIG: Über physiologische Degeneration bei *Actinosphaerium eich-hornii*. Festschr. f. HAECKEL 1904.

hat, zu einer Störung der Kernplasmarelation und zwar nach der Richtung hin, daß die Kernsubstanz auf Kosten des Cytoplasmas anwächst.

Wie steht es nun damit bei dem Milzbrandbacterium?

Auf einem Nährboden, auf welchem sein ganzer Entwicklungscyclus zur Entfaltung gelangt, z. B. auf dem gewöhnlichen Agar, beobachtet man, daß nach einer Reihe durch autogene Entwicklung d. h. vegetative Teilungen zuwegegekommener Generationen, sich gleichzeitig die Bildung gekrümmter, mäßig hypertrophischer, stets hyperchromatischer Fäden und Sporen einstellt.

An diesem Orte möge mir gestattet sein, einige Worte über jene gekrümmten, oft knänelartigen und hyperchromatischen Formen einzuschalten. Es sind dies die sogenannten Involutionsformen.

Von diesen wird oft behauptet, daß es Absterbeformen sind, was mit der Behauptung, daß sie dem Nahrungsmangel und Anhäufen von Stoffwechselprodukten ihre Entstehung verdanken, im Einklang steht. Die Richtigkeit dieser Behauptung bestreite ich indessen; vor allem verfüge ich über Beobachtungen, welche mit denjenigen von BEHRING<sup>1)</sup> übereinstimmen, aus welchen hervorgeht, daß diese Formen in wenige Tage alten Kulturen auftreten können, in welchen die erwähnten Entstehungsbedingungen keinesfalls erfüllt sein können; des weiteren habe ich beobachtet, daß die „Involutionsformen“ aus Kulturen, in welchen sie entstanden sind, verschwanden, um erst später wieder aufzutreten, während die Kultur in der Zwischenzeit von Sporen geradezu überschwemmt wurde.

Meiner Ansicht nach spielt der Nahrungsmangel bei der Entstehung der „Involutionsformen“ eine viel geringere Rolle, als der von A. FISCHER<sup>2)</sup> mit den Worten: „Involutionsformen bilden alle Bacterien, wenn sie längere Zeit in ihnen nicht zusagenden Bedingungen<sup>3)</sup> leben müssen“, wenn auch unklar charakterisierter Umstand. Nichtzusagende Bedingungen müssen eben nicht gerade Nahrungsmangel oder die Sättigung des Nährbodens mit schädlichen Stoffwechselprodukten sein.

Daß auch von einer Wirkung der letztgenannten Produkte nicht gesprochen werden kann, zeigen einige meiner Beobachtungen, nach welchen auf einem Nährboden, der besonders fruchtbar war an „Involutionsformen“, die Entwicklung des Milzbrandbacteriums noch

<sup>1)</sup> BEHRING: Zeitschr. f. Hyg. VIII 1889.

<sup>2)</sup> A. FISCHER: l. c. S. 46.

<sup>3)</sup> Von mir gesperrt.

möglich ist. Eine alte Milzbrandkultur, welche eine große Menge „Involutionsformen“ und eine Anzahl Sporen enthielt, wies nach Ablauf von weiteren 14 Tagen außerordentlich viel weniger „Involutionsformen“, neben den Sporen jedoch auch viele ganz neue Fäden auf; diese neuen Fäden sind in der Zeit nach der Ausbildung einer großen Anzahl von „Involutionsformen“ entstanden; somit konnte eine Sättigung des Nährbodens mit Stoffwechselprodukten, welche die normale Entwicklung unmöglich machen, keineswegs die Entstehungsursache jener Formen bilden.

Die zweite Beobachtung betrifft den Umstand, daß — wie ja oft behauptet wird — die „Involutionsformen“ schlecht färbbar sind. Diese Behauptung hat nur relative Geltung. Die auf das Absterben hinweisende schlechte Färbbarkeit stellt sich bei den „Involutionsformen“ zumeist erst in späterer Zeit ein. In dem Zeitpunkte, da ihre Bildung den Gipfelpunkt erreicht hat, habe ich stets das direkte Gegenteil von jener Behauptung feststellen können: die „Involutionsformen“ waren vorwiegend hyperchromatisch und blieben es oft sehr lange. Zieht man weiterhin gleichzeitig in Erwägung, daß diese Formen regelmäßig auch hypertrophisch zu sein pflegen — auch A. FISCHER<sup>1)</sup> sagt: „Aber außer Rand und Band geratenes Wachstum ist es doch gewiß, was die aufgeblähten, gabeligen und anderen Mißgestalten der Involutionsformen hervorbringt“, — so fällt hiermit meiner Ansicht nach, auch jene zweite Annahme, daß nämlich dieselben durch Nahrungsmangel entstehen, hin. Hypertrophie kann doch wohl nur durch erhöhte Assimilation hervorgebracht werden.

Tatsächlich sind auch jene hypertrophischen Formen (so werde ich die „Involutionsformen“ fernerhin, meiner Ansicht nach richtiger, nennen) zur Zeit ihrer vollen Entwicklung keine Absterbeformen, sondern lebendige Gebilde. Schon BEHRING<sup>2)</sup> und KRUSE<sup>3)</sup> haben die Beobachtung gemacht, daß die Involutionsformen asporogener Milzbrandbacillenstämme mehrere Wochen lang lebens- und vermehrungsfähig bleiben; auf frische Nährböden gebracht, wachsen sie rasch an.

Ich kann diese Beobachtung auf Grund eigener Versuche auch für sporogene Stämme bestätigen.

Meiner Ansicht gemäß muß das Auftreten der hypertrophischen Formen eine wesentlich andere Deutung erfahren. Zu diesem Zwecke

<sup>1)</sup> FISCHER: l. c. S. 49.

<sup>2)</sup> BEHRING: l. c.

<sup>3)</sup> KRUSE: FLÜGGE'S Microorganismen. 3. Aufl. I S. 60 1896.

erscheint es notwendig, auf das Verhältnis der hypertrophischen Formen zu den Sporen einzugehen.

Diesbezüglich kann man nun die Beobachtung machen, daß diese beiden morphologischen Gebilde entweder gleichzeitig oder in so kurzen Zeitintervallen hintereinander in Sicht treten, daß man sie meistens zu gleicher Zeit nebeneinander trifft.

Man erinnere sich nun der Ausführungen im ersten Kapitel dieser Arbeit, in welchem die Spore als ein Produkt des morphologischen Metabolismus der das Bacterium znsammensetzenden Substanz hingestellt wird, das auf Grund von Assimilationsvorgängen durch chemische Umwandlung des Bacterienchromatins entsteht. Es wird gewiß ganz natürlich erscheinen, daß dieser Vorgang von einer Hypertrophie der Stäbchen begleitet wird. Mit dieser Beobachtung steht auch der Umstand im Einklange, daß — wie ich konstatieren konnte — die hypertrophischen Formen das letzte Glied des Entwicklungscyclus der asporogenen Milzbrandstämmen bilden. Zur Ausbildung der Sporen kommt es nicht mehr.

Meiner Meinung nach wird also durch die Bildung der Sporen das Wachstum des Chromatinkörpers reguliert. Übereinstimmend damit wird zugestanden, daß zur Bildung der Sporen eine vorausgegangene gute Ernährung der Bacterien notwendig ist (z. B. A. FISCHER<sup>1)</sup>).

Ich habe bereits im ersten Kapitel ausgeführt, daß sich in den durch Teilung sich vermehrenden Stäbchen, freilich in nur beschränkter Zahl, die DIETRICH-LIEBERMEISTER'schen Körner bilden, deren Substanz alle Reaktionen der Sporensubstanz gibt. Wenn sich unter bestimmten äußeren Bedingungen, unter welchen die Entwicklung der Sporen zur Beobachtung gelangt, der Stoffwechsel des Bacteriums steigert, — und daß sich derselbe steigert, geht unter anderem aus der von MEYER<sup>2)</sup> konstatierten Tatsache hervor, daß vor der Sporenbildung alle im Keimling angesammelten Reservestoffe verbraucht werden — so wird mehr Chromatin gebildet. Dementsprechend kommt es zur Ausbildung der Hyperchromasie und Hypertrophie der Stäbchen. Steht jedoch das Bacterium unter dem Einflusse von ihm völlig zusagenden Verhältnissen, wie dies z. B. für das Milzbrandbacterium auf dem gewöhnlichen Agar der Fall ist, so übersteigt die Chromatinbildung eine bestimmte, nicht sehr hochgelegene physiologische Grenze nicht, da sofort die Sporenbildung

<sup>1)</sup> FISCHER: l. c. S. 42.

<sup>2)</sup> MEYER: l. c.

eingreift. Die Spore wächst bis zu einer bestimmten Größe, welche in einem konstanten Verhältnis zu der Körpergröße des Bacteriums bleibt, in welchem sie entstanden ist. Zwischen der Körper- und der Sporengröße besteht eine ganz bestimmte quantitative Beziehung, die man als Sporen-Körperrelation bezeichnen könnte. Die fertigen Sporen befinden sich in Bacterien von bestimmter Größe und diese Größe ist ebenso konstant, wie die Größe der Spore. Eben weil diese Größe konstant ist, geht der Rest des Bacteriums durch Zerfall zugrunde und läßt keine zweite, etwa kleinere Spore entstehen. Deshalb gehen jene hypertrophischen Formen, die ans welchen immer Ursachen keine normale Sporen auszubilden vermochten, zugrunde, wie aus ihrer schlechten Färbbarkeit hervorgeht, und so kann man in diesem Sinne, bei Auffassung der Sporenbildung als regulativen morphochemischen Vorganges für das Wachstum des Chromatinkörpers, auch die Spore für eine Art von Cyste halten, wie dies z. B. KRUSE<sup>1)</sup> getan, da ja auch viele Protozoen durch Encystierung ihre gestörte Kernplasmarelation regulieren.

Ans dem Angeführten geht vor allem hervor, daß zur Sporenbildung durchaus kein teleologisches Moment notwendig ist, wie z. B. KOLLE-HEITSCH<sup>2)</sup> voraussetzen. Die Sporenbildung ist einfach das Resultat des Stoffwechsels des Bacteriums unter bestimmten äußeren und inneren Bedingungen. Daß aber die inneren Bedingungen keineswegs die Zweckmäßigkeit dieses Vorganges bestimmen, ist aus der Sporoidkörperbildung zu ersehen, bei welcher doch die Zusammensetzung des Bacteriums gleich bleibt und nur andere äußere Bedingungen eingetreten sind, während das Resultat für die Art-erhaltung nicht mehr zweckdienlich ist.

Ich habe oben den Schluß gezogen, daß das *Bact. anthracis* auf dem Glycerinagar in einen Zustand gerät, welcher dem Depressionszustand der Protozoen analog ist. Auf Grund der Angaben, welche ich über die Sporenbildung als Regulationsvorgang der unter günstigen Lebensbedingungen zuwege gekommenen Hypertrophie des Chromatinkörpers, gemacht habe, kann man nunmehr ein tieferes Verständnis der Sporoidkörperbildung anzubahnen versuchen.

Die Sporoidkörper gleichen in ihren Anfangsstadien völlig denjenigen Körnchen, aus welchen auf gewöhnlichem Agar die Sporen entstehen; bald nimmt man jedoch wahr, daß in einzelnen Bacterien eine größere Anzahl solcher Körnchen gebildet wird, als man in

<sup>1)</sup> KRUSE: l. c. 1896.

<sup>2)</sup> KOLLE-HEITSCH: l. c. S. 110.

sporulierenden Bacterien sonst zu sehen gewohnt ist. Und da tritt sofort eine neue Erscheinung zutage: es kommt zu einer beschleunigten Teilung, so daß nahezu isodiametrische kokkenförmige Gebilde zustande gebracht werden, deren jedes je ein sporoides Korn enthält. Es liegt auf der Hand, daß durch solche Teilung die Wahrung der Proportionalität zwischen Körper- und Sporoidkorngröße erzielt wird. Solange eine solche Teilung möglich ist, erhält sich die konstante Relation zwischen der Menge der Sporoid- und Bacterienkörpersubstanz. Zugleich ergibt sich hieraus, daß um diese Zeit die erhöhte Assimilationstätigkeit noch immer in normalen Bahnen verläuft. Später sieht man, daß sowohl die Sporoidkörper, als selbst ganze Bacillen, ja ganze Fäden durch Chromatinquerscheidewände oft in sehr kleine Abteile (Fig. 7, 8) zerlegt erscheinen, eine Tatsache, die mir gleich im Beginne meiner Bacterienarbeiten<sup>1)</sup> angefallen ist, und die — anthropomorphistisch gesprochen — den Eindruck hervorruft, als wenn sich der Faden der gebildeten Sporoidkörper durch Abschnürung möglichst entledigen wollte. Da jedoch der Stoffwechsel erhöht ist, so genügt die beschleunigte Teilung nicht zur Wiedererreichung der Normalrelation der beiden in Frage kommenden Substanzen. Da beobachtet man dann, wie sich im Faden lokale Hyperchromasien einstellen, wie die Fäden dicker werden und Scheinfäden auftreten. Somit ist also nicht nur die Assimilation gesteigert, sondern, wie das Auftreten der Scheinfäden beweist, auch die Vermehrung durch Teilung erniedrigt; die normale Relation der Chromatin- und Sporoidsubstanz wird dadurch jedoch nicht erreicht. Die Hypertrophie des Chromatinkörpers nimmt stets größere Dimensionen an, die Sporoidkörper vergrößern und vermehren sich gleichfalls. Es ist klar, daß die Entwicklung des Bacteriums in einen verhängnisvollen *Circulus vitiosus* geraten ist. Da gleichzeitig bei einzelnen Fäden auch eine Abfärbung des Chromatins erfolgt, so ist der Schluß berechtigt, daß die Assimilation sistiert ist.

Um diesen Zeitpunkt habe ich in meinen Präparaten des öfteren Formationen sehen können, die darauf hinzuweisen scheinen, daß es nun auch zum Verschmelzen einzelner nebeneinander liegender Chromatinkörper, paarweis aber auch mehrfach, kommt, ein Vorgang, der wohl gleichfalls als Regulation der exzessiven Sporoidkörperbildung aufgefaßt werden kann. Ich wage es jedoch keineswegs, zu behaupten, daß es sich dabei um ein Analogon der Conjugation

<sup>1)</sup> VLAD. RUKICHA: Arch. f. Hyg. Bd. 47 1903 Taf. II Fig. 1, 4, 18. — Arch. f. Hyg. Bd. 51 1904 S. 292.

von Protozoen handelt, da alle diese Versuche, das Wachstum durch Reaktivierung des normalen Verhältnisses der Chromatin- und Sporoidsubstanz zu regnieren, in diesem Stadium fruchtlos bleiben. Vergeblich bilden sich die bizarrsten, mit auffallender Hyperchromasie verbundenen Hypertrophien der Bakterien ans; nach kurzem Bestehen bildet sich auch in ihnen die sporoidische Substanz und zwar in einer unregelmäßigen und im weiteren Verlaufe zum Zerfall der hypertrophischen Formen (infolge der auf Grund der sistierten Assimilation auftretenden Atrophie des Chromatins) in Sporoidkörper von verschiedener Größe führender Weise.

Dieser *Circulus vitiosus* kann in einzelnen Kulturen von dem Auftreten einer diminierten Generation unterbrochen werden, deren Ausbildung auf Grund des Angeführten nicht mehr unbegreiflich erscheinen dürfte. Doch selbst diese, wie man schließen könnte, den Ernährungsverhältnissen bereits angepaßte, Generation, erscheint nicht fähig, arterhaltende Elemente hervorzubringen. Nach Maßgabe der ernierten Prinzipie kann geschlossen werden, daß auch sie nicht imstande sein wird, eine ihrer Größe adäquate Menge Sporensbstanz anzubilden. In der Tat sehen wir sie infolge von Ausbildung der Sporoidsubstanz der Vernichtung anheimfallen.

Die ganze Kultur setzt sich schließlich aus lauter Sporoidkugeln zusammen, mit hier und da beigemischten Resten der Chromatinleiber. Die sporoidischen Elemente sind tot, die ganze Kultur stirbt schließlich ab (Vers. Nr. 23, 26, 29).

Die Analogie mit den Depressionszuständen der Protozoen gibt sich in den nachstehenden Momenten kund:

1. In der gesteigerten Assimilationsfähigkeit.
2. In der außergewöhnlichen Vermehrung einer von den Substanzen, durch deren Proportionalität der normale Lebenslauf des Bakteriums verbürgt wird.
3. In dem Zugrundegehen der ganzen Kultur, zu welchem es kommt, wenn es nicht gelingt einen derartigen Wandel im Stoffwechsel zu vollbringen, daß dadurch die Reaktivierung der normalen Sporenkörperrelation ermöglicht wird.

Diesen Punkten gestatte ich mir einige Bemerkungen anzuschließen.

Es scheint klar zu sein, daß durch die sozusagen gesteigerte autogene Entwicklung auf dem Glycerinagar infolge der erhöhten Assimilation, eine mächtige Störung der Sporenkörperrelation erfolgt, gerade so wie bei den Protozoen derartige Umstände eine Störung der Kernplasmarelation hervorrufen.

Bei den letzteren beruht diese Störung nach den Befunden von RICH. HERTWIG auf dem übermäßigen Wachstum der Kernsubstanz. Bei dem *Bact. anthracis* kommt es zu einem Riesenwachstum der Sporoidsubstanz. Diese Substanz verhält sich bei den von mir beschriebenen Prozessen analog, wie die Kernsubstanz bei den Depressionszuständen der Protozoen.

Es wäre jedoch verfehlt, wenn man aus dieser Analogie den Schluß ziehen wollte, daß die Sporoidkörper den Kernen dieses Bacteriums entsprechen. Eine solche Behauptung würde den völlig sichergestellten mikrochemischen Verhältnissen dieses Organismus widersprechen. Ich habe diese Frage bereits im ersten Kapitel besprochen und glaube dargetan zu haben, daß die zutage tretenden Analogien nur äußerliche sind, da sowohl die Sporen, als auch ihre Mutterelemente, die Bacterienkörper, aus Kernsubstanz bestehen.

Bei der durch das exzessive Wachstum der Sporoidsubstanz gekennzeichneten Regulationsstörung scheint überdies selbst jene äußerliche Analogie mit dem Zellkern nicht in Betracht zu kommen weil bei der Entwicklung der Sporoidkörper ein in Analogie der Zellkerne färbbares Stadium in der Regel nicht konstatiert werden kann.

Der Regulationsvorgang legt in unserem Falle einen ganz anderen Charakter an den Tag, als bei der autogenen Entwicklung der Protozoen.

Daß das abnormale Wachstum der Sporoidsubstanz zur Vernichtung der Kultur führen kann, beweisen die Versuche Nr. 23, 26, 29, in welchen ich vergeblich versucht habe, aus sporoiden Kugeln auf differenten Nährböden neue Kulturen heranzuzüchten, sowie die direkte Beobachtung dieser Gebilde in mikroskopischen Kulturen, in welchen sie unverändert geblieben sind.

Demgegenüber scheint es angezeigt, sich jener Versuche zu erinnern, in welchen (Nr. 15, 16, 25, 32) Teilchen einer bloß aus Sporoidkugeln bestehenden Kultur bei der Übertragung nur auf einem der ihnen gebotenen Nährböden und zwar, übereinstimmend in allen diesen Versuchen, nur auf dem gewöhnlichen Agar angegangen sind.

Ich habe bereits in Ansehung des Umstandes, daß sich das *Bact. anthracis* auf dem Glycerinagar einer erhöhten Assimilationsfähigkeit erfreut, auf das Paradoxe jenes Versuchsergebnisses hingewiesen. Doch bietet dasselbe nur auf den ersten Blick hin eine Überraschung.

Die Art, in welcher ich die in den überimpften Kulturteilchen enthaltenen Elemente bestimmt habe, erscheint freilich nicht so be-



schaffen, daß alle Zweifel, ob doch nicht welche vermehrungsfähige, vegetative Individuen oder Sporen mitübertragen worden sind, die auf dem frischen Nährboden hätten weiterwuchern resp. auskeimen können, schwinden würden. Aber diese, sonst gewiß naheliegende Eventualität wird eben durch das oben mitgeteilte Resultat der Versuche Nr. 15, 16, 25, 32 ausgeschlossen.

Es ist doch nicht anzunehmen, daß es der Zufall konstant gewollt hätte, daß jene lebensfähigen Elemente bei der Überimpfung eben stets nur auf den gewöhnlichen und niemals auf den glycerinhaltigen Agar gelangt. Das Konstante dieses Ergebnisses schließt gewiß einen solchen Zufall ans. Außerdem ist in Betracht zu ziehen, daß das Wachstum, wenn es auch oft erst verhältnismäßig spät augenfällig wurde, auf dem gewöhnlichen Agar regelmäßig so üppig war, daß man, um dies zu erklären, bei Anwendung der üblichen Logik, schließen müßte, daß eine große Anzahl von entwicklungsfähigen Keimen übertragen worden ist. Damit steht nun aber das negative Ergebnis der mikroskopischen Untersuchung in einem unerklärlichen Gegensatz.

Ich muß jedoch aufmerksam machen, daß in einigen der citierten Versuche (Nr. 15, 16) auch auf dem Glycerinagar eine Initialvermehrung stattgefunden hat. Doch wurde das Wachstum offenbar dadurch eingestellt, daß die neugebildeten Individuen durch Veränderung der Assimilationstätigkeit soviel Sporoidsubstanz gebildet haben, daß der weitere Fortgang der ersteren sistiert wurde und die Keime zugrunde gingen. Meiner Ansicht nach versetzt uns diese Beobachtung in die Lage, das diskutierte Problem zu beleuchten.

Ich habe schon früher darauf aufmerksam gemacht, daß mit den Sporoidkörpern auch eine gewisse Menge von Chromatinkörperresten zur Verimpfung gelangt. Aus der Beobachtung, daß es auch auf dem Glycerinagar zur Entwicklung einer Anzahl von Individuen kommen kann, muß in Gemeinschaft mit der ebenerwähnten Tatsache geschlossen werden, daß die Entwicklung von gewissen solchen Chromatinkörperresten auszugehen vermag. Schon KRUSE glaubte derartige Reste in alten Kulturen bei Übertragung auf frisches Substrat für regenerationsfähig halten zu dürfen, hat jedoch für diese Annahme keinen Beweis geliefert. Fig. 26 stellt vielleicht die Art dar, in welcher jene Entwicklung vor sich geht. Die neuen Individuen sind bedeutend dünner, als die normalen, ihre Kürze weist auf eine rege Teilung hin. Ohne den Tatsachen irgend einen Zwang anzuerlegen, kann man die Folgerung tun, daß die Ent-

wicklung auf Grund der gesteigerten Assimilation durch Einwirkung des Nährbodens zustande gekommen ist. Da sich derselben jedoch infolge der Wirkung des Nährsubstrates sofort die Bildung von Sporoidkörpern angeschlossen hat, so tritt der bereits bekannte *Circulus vitiosus* in Aktion und die angegangene Saat geht im Depressionszustande zu Grunde.

Auf dem gewöhnlichen Agar kommt es gleichfalls zu einer Vermehrung des Chromatins. Die neugebildeten Fäden sind gleichfalls dünner, aber sie besitzen auch doch reichlich Chromatin. Da jedoch die assimilatorischen Vorgänge auf diesem Nährboden nicht so gesteigert sind, wie auf dem Glycerinagar, so ist auch die Bildung der Sporoidkörper nicht gesteigert, im Gegenteile wird die normale Sporenkörperrelation reaktiviert, die Folge davon ist dann normales Wachstum.

Eine analoge Erklärung glaube ich auch für das Resultat des Versuches Nr. 24 annehmen zu dürfen, in dem aus dem Blute des am 4. Tage nach der Verimpfung mit einer nur Sporoidkörper enthaltenden Kultur ein vollkommen typisches Milzbrandbacterium in reichlichem Maße gewonnen werden konnte. Aus diesem Versuche geht hervor, daß das Wachstum von einem mit allen Artmerkmalen des *Bact. anthracis* ausgestatteten Teilchen angehen mußte, da selbst die Virulenz bewahrt erscheint. Desgleichen kann man demselben entnehmen, daß die Behauptung, daß gewisse tierische Organismen ein ausnehmend günstiges Nährsubstrat für unser Bacterium abgeben, nur *cum grano salis* gelten kann. Meiner Ansicht gemäß gleicht der tierische Organismus in dieser Beziehung nicht einmal dem gewöhnlichen Agar, weil das Milzbrandbacterium wahrscheinlich wegen Mangel an freiem Sauerstoff und auch aus anderen Ursachen außerstande ist, in demselben seinen ganzen Entwicklungscyclus zu entfalten. Der tierische Organismus zwingt das *Bact. anthracis* durch fortgesetztes Wachstum seines Chromatinkörpers in unnatürliche Verhältnisse. Dasselbe lebt im Tiere unter ähnlichen Verhältnissen, wie die in den Flechten symbiotisch mit Pilzen lebenden Algen. Auch diese Algen vermögen sich, solange sie in jener Lebensgemeinschaft verharren, sexuell nicht zu vermehren d. h. vermögen ihren ganzen Entwicklungscyclus nicht zu entfalten, sie reproduzieren sich nur auf vegetativem Wege. Ich stimme vollauf NÉMEC<sup>1)</sup> zu, wenn er ein solches Verhältnis als ungesund bezeichnet.

Bevor ich schließe, möchte ich auf den für die besprochenen

<sup>1)</sup> NÉMEC: Vztahy rostlin k vnějšimu světu (Pflanzenökologie). Prag (Otto) 1907.

Regulationsvorgänge charakteristischen Umstand hinweisen, daß nämlich das Auftreten oder Unterbleiben derselben direkt von dem Einflusse anderer Faktoren abhängig erscheint. Ich halte diese Feststellung deshalb für nötig, weil DRIESCH gerade in der Zweckmäßigkeit der Regulationen ein ans mechanischen Ursachen unerklärliches Moment erblickt. Daß es sich eher um eine Komplexität, als um eine Unerklärlichkeit handelt, dürften die vorbesprochenen Regulationen des *Bact. anthracis* wohl deutlich genug gezeigt haben.

## VI. Die Unsterblichkeit des Milzbrandbacteriums.

Daß das von WEISMANN<sup>1)</sup> auf Grund theoretischer Erwägungen konstruierte Problem der Unsterblichkeit der Protozoen als eine Fiktion erkannt worden ist, bildet ein unbestrittenes Verdienst der tatsächlichen Eruiernngen von MAUPAS<sup>2)</sup> und RICH. HERTWIG.<sup>3)</sup> Indem die letztgenannten Autoren die Depressionszustände der Protozoen entdeckt haben, haben sie zugleich den Beweis erbracht, daß auch diese Organismen natürlichen Todes sterben.

Unter dem Eindrucke dieser Feststellungen könnte man sich eigentlich versucht fühlen, eine der WEISMANN'schen entgegengesetzte allgemeine Theorie allein auf Grund von Erwägungen aufzubauen. Erscheint ja doch das Leben im Grunde genommen als ein ökologisches Problem und daher in seiner Entstehung, Dauer und Beendigung von den Verhältnissen der Außenwelt abhängig.

Aber wir wollen naturphilosophische Erwägungen beiseite lassen und uns der realen Feststellung der konkreten Verhältnisse zuwenden, welche uns mit Bezug auf die aufgeworfene Frage des *Bact. anthracis* bietet.

Die Bacterien sind nämlich zum Ultimum refugium der Lehre von der Unsterblichkeit der Protozoen geworden. Der Umstand, daß man durch Verimpfen von Bacterien, ehe sie noch Sporen ausgebildet haben, auf frische Nährböden, stets neue vegetative Generationen erzielen kann, galt als Beweis der Unsterblichkeit der Bacterien. Es ist daher begreiflich, wenn wir noch 1906 bei O. HERTWIG<sup>4)</sup> die Worte lesen: „Nur die allerniedrigsten Organismen,

<sup>1)</sup> Über die Dauer des Lebens. Jena 1882. — Über Leben und Tod. 1884.

<sup>2)</sup> MAUPAS: Arch. de zool. expér. et gén. VI 2. — Compt. rend. III 1890.

<sup>3)</sup> R. HERTWIG: Abh. d. kgl. bayr. Akad. Bd. 17 1889.

<sup>4)</sup> O. HERTWIG: Allg. Biologie 1906 S. 265.

wie die Spaltpilze, scheinen sich allein durch fortgesetzte Teilung in das Unbegrenzte vermehren zu können.“

Aber es ist fraglich, ob aus dem ebenerwähnten Versuche eine so allgemeine Schlußfolgerung gezogen werden darf. Es wird ja bei demselben eine Bedingung gesetzt, die in der Natur geradezu unerfüllbar erscheint. Jener Versuch stellt damit nur eine fiktive Frage und das Resultat desselben ist nicht geeignet, die aufgeworfene Frage zum Austrage zu bringen.

Anders, wenn wir uns den in der Natur erreichbaren kulturellen Bedingungen zuwenden. Solche Bedingungen vorausgesetzt, nehmen wir wahr, daß im großen und ganzen die Ansichten über das Absterben der Bacterien enig zu sein scheinen.

So gibt GÜNTHER<sup>1)</sup> an: „Denken wir uns irgendeine Bacterienart unter günstigen äußeren Bedingungen, denken wir uns den Nährboden möglichst günstig zusammengesetzt, die Temperaturverhältnisse günstig, und denken wir uns diese Bedingungen ungeändert in gleicher Weise forbestehen, so wäre kein Grund einzusehen, weshalb die Bacterien sich nicht in infinitum in gleicher Weise weiter teilen sollten.“ Aber in den Kulturen werden die Nährstoffe erschöpft, Stoffwechselprodukte angehäuft und diese Umstände bilden nach GÜNTHER die Ursache des Bacterientodes.

GAMALEIA<sup>2)</sup>, der gleichfalls eine theoretische Unsterblichkeit der Bacterien zugibt, sieht als Hauptursache des Absterbens derselben eine gewisse durch die rasche Vermehrung herbeigeführte gegenseitige Konkurrenz an. Doch läßt auch diese Todesursache, wie GOTTSCHLICH und WEIGANG<sup>3)</sup> gezeigt haben, schließlich wieder auf den Nahrungsmangel hinaus.

Es ist jedoch fraglich, ob eine derartige Todesart zur Lösung der Unsterblichkeitsfrage herangezogen werden kann. Ich glaube dies nicht bejahen zu können. Es kann jedoch nicht bestritten werden, daß der Hungertod, trete er nur in alten oder in jungen Kulturen auf, für einen natürlichen Tod nicht angesehen werden kann. Und doch kann nur durch den Beweis des letzteren die Theorie von der Unsterblichkeit der Bacterien zu Falle gebracht werden.

Es muß gezeigt werden, ob in guten Lebensbedingungen befindliche Bacterien instande sind, sich in das Unbegrenzte hin zu vermehren.

<sup>1)</sup> GÜNTHER: l. c. S. 15.

<sup>2)</sup> GAMALEIA: Elemente der allgemeinen Bacteriologie. Berlin 1900 S. 167.

<sup>3)</sup> GOTTSCHLICH u. WEIGANG: l. c.

Dazu eignet sich die Züchtung auf dem Glycerinagar.

Das Ergebnis derselben belehrt uns jedoch, daß die Milzbrandbakterien unter derartigen Bedingungen in einem mit den Depressionszuständen der Protozoen analogen Zustände infolge einer unkorrigierbaren Störung der Sporenkörperrelation zugrunde gehen.

## VII. Das Wesen der Regulationsvorgänge des *Bact. anthracis* und die Konsequenzen desselben für die allgemein-biologische Natur der Bakterien.

Der Depressionszustand der Protozoen beruht nach den Entdeckungen RICH. HERTWIG's auf einer solchen Störung der Kernplasmarelation, infolge welcher die Kernsubstanz riesige Dimensionen annimmt und in ein großes quantitatives Mißverhältnis zur Bakterienkörpersubstanz gerät.

Das von STRASSBURGER <sup>1)</sup> geahnte, von GERASSIMOV <sup>2)</sup> zum ersten Male richtig erfaßte und von RICH. HERTWIG <sup>3)</sup> präzise formulierte und detailliert ausgearbeitete Gesetz der Kernplasmarelation ist für sehr viele Organismen in einer Weise begründet worden, welche dasselbe zu einem anerkannten allgemein-biologischen Grundprinzip erhoben hat.

Nachdem dieses Gesetz bereits vielfach zur Erklärung verschiedener physiologischer Vorgänge und so manchen embryogenetischen Geschehens herangezogen worden ist, so erscheint es mir notwendig, in Konsequenz meiner Beobachtungen und Versuche über das Milzbrandbakterium darauf hinzuweisen, daß dieses Gesetz Ausnahmen zuzulassen scheint, welche geeignet sind, das Prinzip desselben näher zu definieren.

<sup>1)</sup> STRASSBURGER: Über die Wirkungssphäre der Kerne und die Zellgröße. *Histologische Beiträge* V. Jena 1893.

<sup>2)</sup> GERASSIMOV: Über den Einfluß des Kernes auf das Wachstum der Zellen. *Bull. Soc. Imp. Nat. Moskau* 1901. — Abhängigkeit der Größe der Zelle von der Menge ihrer Kernmasse. *Zeitschr. f. allg. Physiol.* I 1902.

<sup>3)</sup> R. HERTWIG: Was veranlaßt die Befruchtung bei den Protozoen. *Sitz-Ber. Ges. Morph. u. Phys. München* 1899. — Über die physiologische Degeneration bei Protozoen. *Ibid.* 1900. — Über Wesen und Bedeutung der Befruchtung. *Sitz-Ber. bayr. Akad.* 32 1902. — Über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. *Sitz-Ber. Ges. Morph. u. Phys. München* 1902. — Korrelation von Zell- und Kerngröße usw. *Biol. Centralbl.* 23 1903.

Sollte das Gesetz der Kernplasmarelation allgemeine Geltung besitzen, so dürfte es keine Organismen geben, die allein aus Kernsubstanzen bestehen.

Welche Momente sind es nun, die dafür sprechen, daß das Milzbrandbacterium eben nur aus solchen Stoffen gebildet ist?

Aus meinen früheren Arbeiten ergeben sich die nachstehenden Punkte:

**Histologische Kongruenzen.** Die von mir in dem *Bact. anthracis* beobachteten Strukturen stimmen sowohl im allgemeinen mit den von Zellkernen bekannten, als auch im besonderen mit den von KORSCHULT bei Raupenkernen beschriebenen Verhältnissen völlig überein; die Mannigfaltigkeit dieser Strukturen konnte ich durch Feststellung ihrer vitalen Wandelbarkeit bei Beobachtung unter Benützung der intravitalen Färbung erklären.

**Chemische Kongruenzen.** Die Färbbarkeit der Milzbrandbacillen entspricht derjenigen der Gewebszellkerne; beide sind amphophil-basophile Objekte. Nur darin besteht ein Unterschied, der jedoch kein wesentlicher ist, daß die Basophilie der Bacterien etwas niedriger ist, als diejenige der Zellkerne; noch tiefer steht die Basophilie der BUNGE'schen, am tiefsten die der KROMPECHER'schen Körperchen. Diese Gebilde, die man nacheinander für Kerne des Milzbrandbacillus ansah, verhalten sich somit nicht wie Kerne, sondern eher wie Nucleolen, d. h. Teile der Kernsubstanz.

Durch chemische Analyse gelang es mir im *Bact. anthracis* bis 70% Nuclein nachzuweisen; bei der Analyse geht jedoch infolge der unzulänglichen Darstellungsmethode eine große Menge Nuclein verloren, so daß die, an sich schon hohe, von mir erzielte Zahl keine entscheidende Bedeutung beanspruchen kann.

Dagegen habe ich durch mikrochemische Untersuchung, bei Anwendung desselben Verfahrens wie bei der Analyse im großen, in Erfahrung gebracht, daß sich die vegetativen Stäbchen des *Bact. anthracis* durch den künstlichen Magensaft überhaupt nicht verändern, woraus geschlossen werden muß, daß sie durchgehends aus Kernsubstanz bestehen. Auch die BUNGE'schen und KROMPECHER'schen Körper bleiben dabei erhalten, so daß sie nicht für Bacterienkerne erklärt werden können, da ja dann ein Kern zwei weitere ineinandergeschobene Kerne enthalten würde. In chromatinolytischen Stoffen lösen sich auch die Milzbrandbacterien entweder ganz oder wenigstens der Inhalt derselben auf.

Daß auch die Sporen nicht als Bacterienkerne gelten können, habe ich bereits im Kapitel I dargetan.

Nachdem wir so die bislang eruierten für die Kernnatur des Milzbrandbacteriums sprechenden Tatsachen rekapitliert haben, erscheint es als zweckmäßig, sich daran zu erinnern, was ich über den Depressionszustand des *Bact. anthracis* früher angegeben habe.

Sind die an jener Stelle gezogenen Schlüsse richtig, — und von der Richtigkeit derselben bin ich überzeugt, denn sie

1. erklären am besten meine neuen Beobachtungen,
2. bringen zahlreiche und sonst einander widersprechende ältere Beobachtungen mit den ersteren und auch untereinander in Übereinstimmung,
3. setzen die Bacterien bezüglich der allgemeinen biologischen Gesetze in Einklang mit den Protozoen —

sind also jene Schlußfolgerungen richtig, so kann man an denselben sehr interessante und wichtige Konsequenzen bezüglich des allgemeinbiologischen Charakters des Milzbrandbacteriums ziehen.

Diejenigen, welche zu der Annahme hinneigen, daß die kleinen, mit Kernfarbstoffen tingiblen in den Bacterien enthaltenen Körnchen Kerne darstellen, vermögen die leicht zu beobachtende Tatsache, daß diese Körnchen gleich groß bleiben und sich oft auch überhaupt nicht vermehren, mag der Bacterienkörper noch so sehr wachsen, absolut nicht zu erklären. Man kann sehr lange Bacillen, nahezu schon Scheinfäden beobachten, welche 1—2 solcher Körnchen enthalten, geradeso wie 8—10 mal kleinere Stäbchen, wobei sie auch genau dieselbe Größe wie in den letzteren besitzen. Handelt es sich um Kerne, so widerspricht dieses Verhalten vollkommen dem Gesetze der Kernplasmarelation, das für alle einzelligen Organismen Geltung hat.

Wie nun meine Beobachtungen über die Entwicklung des Milzbrandbacillus auf dem Glycerinagar zeigen, so darf man aus diesem Widerspruch nicht etwa folgern, daß das durch die Sporen-Körperrelation, als Analogie der Kernplasmarelation ansgedrückte Gesetz, für den Milzbrandbacillus keine Geltung habe. Im Gegenteile ergeben sich aus meinen Beobachtungen die nachstehenden Konsequenzen.

Vor allem ist es klar, daß die autogene Entwicklung nicht bei allen Organismen zu einer solchen Störung führen muß, bei welcher die Kernsubstanz auf Rechnung des Cytoplasmas anwüchse. Bei dem *Bact. anthracis* wächst unter den besprochenen Bedingungen freilich auch eine Kernsubstanz exzessiv an; aber es ist kein Chromatin, sondern eine Achromatin-(Linin-)Substanz, während die Chromatin-(Körper-)Substanz in das

Minoritätsverhältnis gerät. Auf Grund mikrochemischer Untersuchungen kann mit Sicherheit behauptet werden, daß die Regulationen des Milzbrandbacteriums niemals den Rahmen der Kernsubstanzen überschreiten.

Dies ist nur unter dem Gesichtspunkte begreiflich, wenn man zugibt, daß das Milzbrandbacterium alleine aus Kernsubstanzen besteht. Wenn ein Cytoplasma in demselben zugegen wäre, so müßte dessen Gegenwart bei den besprochenen, der Kernplasmarelation analogen, Regulationen offenbar werden. Da dies nicht der Fall ist, so muß angenommen werden daß kein Cytoplasma vorhanden ist.

Somit führt das Studium der oben geschilderten Regulationsvorgänge zu demselben Resultate, zu welchem mich auch die histologischen und mikrochemischen Studien hingeführt haben, daß nämlich das Milzbrandbacterium einem nackten Kerne entspreche.

In Ansehung der Tatsache, daß die besprochenen Regulationsvorgänge auf Relationen von Substanzen beruhen, welche beide den Kernsubstanzen entsprechen, wäre es gewiß nicht unstatthaft nachzusehen, ob nicht auch in den Gewebszellkernen etwa ähnliche Vorgänge vorkommen. Ohne mich an dieser Stelle in dieses weitläufige Thema einzulassen, mache ich nur auf das Verhalten des Linins und Chromatins in Kernen, welche sich zur Teilung vorbereiten, auf den Zerfall und die Neubildung der Nucleolen, auf die Entstehung der Centrosomen (sei es aus der chromatischen oder achromatischen Kernsubstanz) aufmerksam, indem ich mir vorbehalte, auf diese Verhältnisse ausführlich zurückzukommen. Es ist mir klar, daß alle die physiologischen Umwandlungen, welche in den Zellkernen vor sich gehen und oft die Einleitung der wichtigsten biologischen Vorgänge bilden, auf Störungen ähnlicher Relationen, als es die Sporenkörperrelation ist, beruhen.

Mit Hinblick auf den fundamentalen Charakter dieser Relationen dürfte die Bezeichnung derselben als intranucleäre Relationen nicht unstatthaft erscheinen.

Zu Schlusse noch eine Bemerkung. Wie aus dem Angeführten hervorgeht, so ist die Sporenkörperrelation von äußeren, auf die



Assimilation des Milzbrandbacteriums einwirkenden Faktoren abhängig.

Es handelt sich um Vorgänge, welche ich als morphochemische bezeichnet habe und die wir zum Teil durch Benützung chemischer Agentien zu beherrschen vermögen. Wir sind in der Lage, den Chemismus des Milzbrandbacteriums in Bahnen zu drängen, in welchen es nur Chromatin neubildet (sich nur vegetativ vermehrt) oder in Bahnen, in welchen es Sporen oder Sporoidkörper bildet.

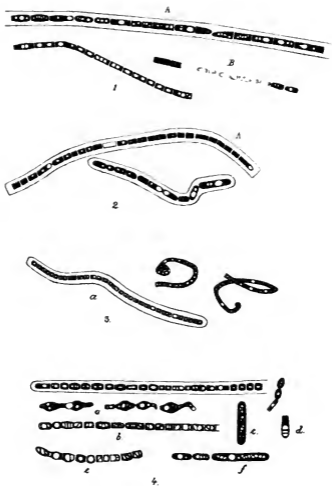
Wir sind somit in der Lage, durch chemische Mittel das gegenseitige Verhältnis gewisser, in chemischer und morphologischer Beziehung selbständiger und einheitlicher Formationen zu beherrschen, indem wir die Assimilation, die Morphogenese und dadurch eben das gegenseitige Verhältnis jener auf diese Weise entstehenden morphochemischen Einheiten d. h. eben die regulativen morphogenetischen Vorgänge beeinflussen.

Es scheint mir nicht ausgeschlossen, daß wir durch Verfolgung derartiger intracellulärer Regulationen — morphochemischer Vorgänge — schließlich zur Kenntnis der normalen Beziehungen gewisser chemisch genau gekennzeichnete Substanzengruppen in lebenden Körpern, zu einer Morphochemie der lebenden Substanz gelangen könnten, als einer leichter erreichbaren Etappe auf dem Wege zur Lösung der Grundprobleme des Lebens mit Hilfe der chemischen Analyse.

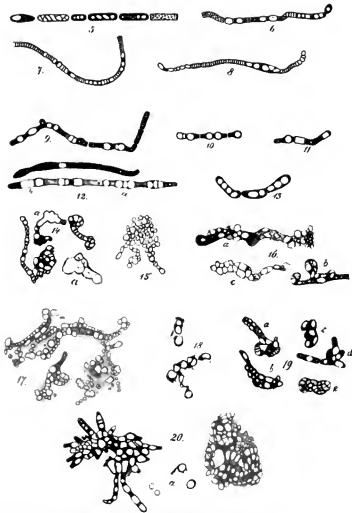
Zum Schlusse gestatte ich mir die Anzeige zu machen, daß ich in nächster Zeit über gewisse Regulationsvorgänge bei Coccen Bericht erstatten werde.

Erklärung der Tafel X und XI im Text.

---

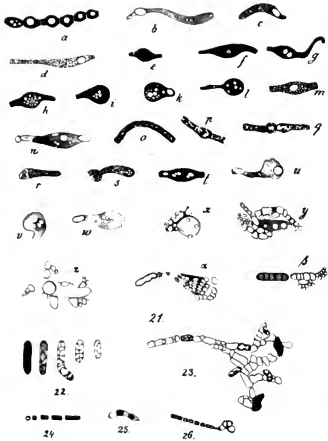


Die Tafel stellt das nach der Natur bei Zeiß homog. Immersion 3 mm



1 und Komp. Ok. 12 aufgenommene  $\frac{1}{4}$  verkleinerte Original dar.

Fischer in Jena.



Die Tafel stellt das nach der Natur bei Zeiß homog. Immersion 3 mm und Komp. Ok. 12 aufgenommene  $\frac{1}{4}$  verkleinerte Original dar.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1907

Band/Volume: [10 1907](#)

Autor(en)/Author(s): Ruzicka Vladislav

Artikel/Article: [Depressionszustände und Regulationsvorgänge bei dem Bact. anthracis. 247-305](#)