© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Untersuchungen über Bacterien.

III. Beiträge zur Biologie der Bacterien.

1. *Die Einwirkung verschiedener Temperaturen und des Eintrocknens auf die Entwicklung von Bacterium Termo Duj.*

Von

Dr. Eduard Eidam.

Zahlreiche und in mannigfacher Weise abgeänderte Untersuchungen sind in den letzten Jahren über die in vieler Beziehung so wichtige Frage angestellt worden, welche Temperaturgrade erforderlich seien, um die Lebensfähigkeit der Bacterien aufzuheben. Die einzelnen Forscher kamen dabei zu ganz verschiedenen, oft völlig entgegengesetzten Resultaten, so dass die Einen verhältnissmässig niedrige, die Andern ausserordentlich hohe Temperaturen als Tödtungsgrenze für die Bacterien angaben.

Zum nicht geringen Theil ist die Schuld für solche Widersprüche in den abweichenden Methoden zu suchen, welche bei diesen Experimenten befolgt wurden, hauptsächlich aber lag sie an den unklaren Vorstellungen, die man bis vor kurzer Zeit unter dem Begriff „Bacterien“ zusammenfasste.

Erst nachdem durch Aufstellung von leicht erkennbaren und constanten Merkmalen die Unterscheidung der einzelnen Bacterienarten mit Sicherheit ausgeführt werden konnte, war es möglich, die Lebensverhältnisse dieser Organismen durch die exacte Forschung kennen zu lernen; es stellt sich derselben nunmehr die Aufgabe, die Lebensbedingungen und die Entwicklungsgeschichte jeder einzelnen Bacterienspecies zu ermitteln. In den folgenden Untersuchungen habe ich mich zunächst bemüht, für das gemeinste aller Bacterien, welches als das eigentliche Fäulnissferment zu betrachten ist, einige biologische Bedingungen festzustellen. Die gedeihliche Entwicklung und Vermehrung eines jeden Organismus ist an das Vorhandensein be-

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

stimmter Temperaturgrade geknüpft, jedes Plus und jedes Minus ist von Einfluss. Wie gestaltet sich nun die Entwicklung des *Bacterium Termo* Duj. innerhalb der Grenzen verschiedener Temperaturen? Welche Temperaturen bringen die Vermehrung dieses Organismus zum Stillstand? bei welcher Temperatur beginnt seine in Zweitheilung bestehende Vermehrung und wann ist diese Vermehrung und damit im Zusammenhang die Energie des Fäulnissprocesses am lebhaftesten? Welchen Einfluss endlich hat das Austrocknen auf die Lebensfähigkeit desselben?

Dies waren die Fragen, deren Lösung ich in Folge der Aufforderung von Herrn Prof. Ferdinand Cohn nach einer von demselben vorgeschlagenen Untersuchungsmethode während des Winters 1873 im pflanzenphysiologischen Institut der Universität Breslau auszuführen mich bemühte.

Das Verhalten des *Bacterium Termo,* den extremen Temperaturen gegenüber, ist von Prof. Cohn und Dr. Horwarth im hiesigen Institut bereits untersucht und diese Untersuchungen im 2. Heft dieser Beiträge veröffentlicht worden[1]). Darnach verträgt dieses *Bacterium* nur eine Erwärmung bis zu 60°—62° C.; darüber hinaus oder bei diesen Temperaturen selbst eine Stunde lang erhitzt erlischt seine Lebensfähigkeit. Es gilt dies nur, wenn *Bacterium Termo* sich innerhalb einer klaren wässrigen Nährflüssigkeit befindet. Zu dem nämlichen Resultat kam nebst andern Forschern auch Dr. Schröter in Rastatt, welcher als wirkliche Tödtungstemperatur 59° C. angiebt. Auch dies ist nur für wässrige Flüssigkeiten gültig, innerhalb schleimiger oder fester Körper scheint *Bacterium Termo* eine höhere Temperatur auszuhalten. Dr. Horwarth hat die Versuchsreihe weiter insofern ausgedehnt, dass er die Entwicklung von Bacterien auch bei niederen Temperaturen ins Auge fasste. Er kam zu dem Resultat, dass die Bacterien eine sehr niedrige Temperatur, in seinen Versuchen bis — 18° C. zu ertragen im Stande sind, ohne dass sie desshalb getödtet werden. Vielmehr verfallen sie dabei nur in eine Art von Kältestarre und bei erhöhter Temperatur werden sie wieder lebensfähig und können sich weiter vermehren. So begannen eingefrorene Spirillen beim allmählichen Steigen der Temperatur wieder ihre schraubenartig drehenden Bewegungen[2]).

Untersuchungsmethode. Was die von mir ausgeführten Versuchsreihen zur Beantwortung der oben erwähnten Fragen anlangt, so wurde als Nährflüssigkeit für *Bacterium Termo* die bereits von Prof.

[1]) l. c. p. 213. [2]) l. c. p. 221.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Cohn vielfach benützte und von ihm als normale Bacterien-nährflüssigkeit bezeichnete Mischung verwendet mit dem Unterschiede, dass der unlösliche dreibasisch phosphorsaure Kalk durch die gleiche Menge Chlorcalcium ersetzt wurde. Die Mischung war also folgendermassen zusammengesetzt:

saures phosphorsaures Kali 1,0
schwefelsaure Magnesia 1,0
neutrales weinsteinsaures Ammoniak 2,0
Chlorcalcium 0,1
destillirtes Wasser 200,0.

Die Salze lösen sich bei gewöhnlicher Temperatur sehr leicht im Wasser, die klare sauer reagirende Lösung wird filtrirt und sie bewährt sich ausserordentlich gut zur Ernährung speciell von *Bacterium Termo*. Ich bereitete diese Flüssigkeit immer in der oben angegebenen Quantität und hielt dieselbe sehr häufig vorräthig; in der Kälte scheiden sich häufig geringe Mengen sehr kleiner Krystalle aus, welche wahrscheinlich phosphorsaure Ammoniak-Magnesia sind. Dies war jedoch bei meinen Experimenten nicht im Mindesten störend, denn die Lösung bleibt im Uebrigen völlig intact, klar und frei von Bacterien, wenn sie nur in einen Raum gebracht wird, dessen Wärme nicht + 5° C. überschreitet; denn bei so niederen Temperaturen findet, wie dies weiter unten ausführlicher angegeben wird, keine Vermehrung der Bacterien statt.

Meine Versuche gingen zunächst dahin, die niedrigste Grenze für die Vermehrungsfähigkeit der Bacterien (worunter ich hier immer nur *Bacterium Termo* verstehe) zu ermitteln und dann aufwärts ebenso die höchste Temperaturgrenze. Im hiesigen Institut sind verschiedene Räume vorhanden, deren fast ganz constante Temperatur mir vortrefflich bei Ausmittelung der niedersten Wärmegrade für die Bacterien zu Statten kam. In einem solchen Raume wechselte die Temperatur während der Monate Januar und Februar bis Mitte März von + $3\frac{1}{2}$ bis zu $6\frac{1}{2}$° C., sie blieb einmal wochenlang auf $4\frac{1}{2}$° bis $5\frac{1}{2}$° C. stehen. Eine andere Localität, welche an geheizte Zimmer anstösst, zeigte in der Nähe der Fenster während der angegebenen Zeit die Grenzen von + 6° bis $9\frac{1}{2}$° C., doch blieb auch hier die Temperatur oft tagelang gleichmässig, was auch durch Unterbringen der Versuchsgläser in einen hölzernen oben offenen Kasten einigermassen begünstigt wurde. Wärmegrade von + 10 bis 14° C. konnte ich auch öfters benützen und in den Arbeitsräumen des Instituts selbst war eine durchschnittliche Wärme von + 14 bis 16° C. vorhanden. Für höhere Temperaturen wurden sehr praktische Heiz-

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

apparate benützt, wie sie Prof. Cohn schon früher bei seinen Versuchen in Anwendung gebracht hatte; dieselben gestatten, durch Regulirung der Gasflamme beliebige Erwärmungen bis zu + 50° C. mit Tag und Nacht anhaltender Gleichmässigkeit auszuführen.

Zu den Versuchen wurden gewöhnliche Reagenscylinder mit etwa zwanzig Gramm obiger Normallösung gefüllt und in jeden derselben vermittelst eines Glasstabes ein Tropfen von einer Flüssigkeit gebracht, die reich bacterienhaltig war, hierauf umgeschüttelt und lose mit einem durchbohrten Kork geschlossen, um das Hineinfallen von Staub zu verhindern. Für die allerersten Versuche verschaffte ich mir *Bacterium Termo* durch Uebergiessen zerkleinerter Erbsen mit Wasser und mehrtägiges Stehenlassen derselben, für alle folgenden aber nahm ich den Bacteriumtropfen aus solchen Reagensgläsern mit Normallösung, für welche bereits die Beobachtung abgeschlossen war und in welchen eine reichliche Bacterienvermehrung stattgefunden hatte.

Die Vermehrung der Bacterien wird makroskopisch sehr leicht daran erkannt, dass die anfangs auch nach Zusatz des Bacteriumtropfens crystallklare Flüssigkeit ganz wenig zu opalisiren beginnt, dies schreitet fort, bis eine immer grössere Trübung entsteht, wobei sich die Bacterien besonders in den obersten Schichten der Flüssigkeit als dichte Schleimwolken ansammeln. Letztere erhält dabei an der Oberfläche eine schon von Cohn beschriebene grünlich-gelbe Färbung und sie entwickelt einen eigenthümlichen käscartigen Geruch [1]).

Je zahlreicher die Bacterien werden, desto mehr verschwindet diese Färbung und desto mehr findet eine allgemeine Vertheilung in der gesammten Flüssigkeit statt, so dass dieselbe zuletzt ziemlich gleichmässig milchige und undurchsichtige Beschaffenheit annimmt.

Um für die anfangs geringe, allmählich sich steigernde Trübung der Bacterien-haltigen Normallösung einen Maassstab zu gewinnen, versuchten wir eine Trübungsskala herzustellen in der Weise, dass kleine cylindrische Fläschchen von dem Durchmesser gewöhnlicher Reagensgläser mit einer Flüssigkeit gefüllt wurden, welche im ersten Fläschchen vollständig klar war, im zweiten spurweise, im dritten doppelt so stark sich trübte als im zweiten, im letzten endlich den höchsten Grad von Trübung zeigte. Zu diesem Zweck verwendeten wir theils eine filtrirte weingeistige Lösung von Canadabalsam, theils mit Wasser aufgeschlämmten kohlensauren Kalk und brachten diese Mischungen in bestimmtem Verhältniss in die zuerst mit je fünf

[1]) l. c. p. 197 u. 206.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Gramm destillirtem Wasser gefüllten Fläschchen. So einleuchtend aber dieses Verfahren beim ersten Anblick erscheint, so wenig bewährte es sich praktisch. Denn die durch Canadabalsam verursachte Trübung ist bei durchfallendem Lichte röthlich durchscheinend, bei auffallendem dagegen zu rein milchweiss und auch die Trübung des kohlensauren Kalkes weicht von der eigentlichen Bacterientrübung ab, so dass wir bald veranlasst wurden, diese Methode aufzugeben. Vielleicht dürfte sie mit einem andern Körper besser ausführbar sein.

Der leitende Gedanke bei meinen Experimenten ging darauf hinaus, dass die Gläser bestimmten Tag und Nacht möglichst constanten Wärmegraden lange Zeit ausgesetzt wurden. Zugleich war ein „Treibkasten" aufgestellt, dessen Temperatur fortwährend auf dem für die Entwicklung und reichliche Vermehrung von *Bacterium Termo* weitaus günstigsten Verhältniss, auf 30 bis 35° C.[1]), erhalten werden konnte.

In diesen Treibkasten wurde bei jeder Versuchsreihe ein Controllcylinder gebracht, um zu sehen, ob der den einzelnen Gläsern zugesetzte Bacteriumtropfen entwicklungsfähig sei. Auch brachte ich je nach den Umständen die Cylinder, nachdem sie die gehörige Zeit in der Versuchstemperatur zugebracht hatten, direct von letzterer aus in die des Treibkastens, also aus ungünstigen in die günstigsten Bedingungen und ich konnte so rasch und sicher in Folge der eintretenden oder ausbleibenden Trübung entscheiden, ob die vorher unthätigen Bacterien entweder ganz getödtet oder ob sie noch fähig zur Vermehrung seien.

Einfluss der Temperaturgrade auf die Lebensfähigkeit des Bacterium Termo. Ich gehe nun zur Mittheilung der ausgeführten Experimente über, deren einzelne öfters in der nämlichen Weise wiederholt wurden.

I. Versuch. In vier Reagenscylinder wurden je 20 Gramm Normallösung und ein Bacteriumtropfen gebracht und geschüttelt; drei derselben setzte ich in Eiswasser bei einer Temperatur von + 1° C., der vierte wurde zur Controlle im Treibkasten bei 30—35° C. untergebracht. Der Inhalt des letzteren opalisirte bereits nach 8 Stunden, nach 24 Stunden war er völlig getrübt; die Gläser im Eiswasser dagegen waren nach 14 Tagen noch völlig crystallhell.

II. Versuch. Dasselbe Verfahren bei einer Temperatur von + 3 bis 4° C.; die Gläser bleiben wochenlang klar.

---

[1]) Cohn, Beiträge Heft II. S. 197.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

III. Versuch. Bei + $3\frac{1}{2}$ bis 5^0 C. Die Gläser bleiben vollständig klar, in der vierten Woche erscheinen in zwei derselben sehr feine farblose Mycelflocken, welche sich an der Wandung der Gläser festgesetzt haben und ziemlich klein bleiben. Man erkennt schon mit blossem Auge, dass die Hyphen vom Centrum der einzelnen Flocke radial nach allen Seiten hin ausstrahlen, was ihr Hervorgehen aus einer gekeimten Spore andeutet.

Mit dem Mikroskop untersucht, zeigte dieses Mycel sehr feine dicht verworrene, septirte Fäden, deren Enden und deren zahlreiche Seitenästchen unregelmässige Wirtel von pfriemenförmig verlängerten Zellen entwickelten, welche an der dünn ausgezogenen Spitze je eine längliche, farblose Spore abschnürten. Der Pilz zeigte auf den ersten Anblick einen *Penicillium*-artigen Habitus, doch unterschied er sich bei näherer Betrachtung von diesem in mancher Hinsicht. Er wurde als ein *Monosporium* bestimmt, welches mit dem von Bonorden[1]) abgebildeten *Monosporium spinosum* die grösste Aehnlichkeit besass. Bemerkenswerth ist es, dass diese Hyphomycetenform bei so niedriger Temperatur sich entwickelte. Uebrigens hat auch J. Wiesner[2]) nachgewiesen, dass *Penicillium*-Mycel schon bei + $2{,}5^0$ C. entstehen kann, und dass die Sporenbildung dieses Pilzes bei + 3^0C. stattfindet. Sehr auffallend aber muss es erscheinen, dass unser *Monosporium*, obwohl dessen Mycel vollständig untergetaucht in der Flüssigkeit sich befand, dennoch die Fähigkeit besass, zu fructificiren.

Nach 4 Wochen wurde dieser Versuch beendet und die 4 Gläser, deren Inhalt abgesehen von den, in zweien entstandenen Mycelflocken durchaus klar geblieben war, behufs Untersuchung in den erwärmten Raum des Instituts gebracht, woselbst sie einige Tage lang stehen blieben. Schon nach 3 Tagen begann die Vermehrung der Bacterien; die Flüssigkeit wurde wie immer zunächst von der Oberfläche aus in steigendem Maasse getrübt und zuletzt hatten die Bacterien das Mycel gänzlich verdrängt.

IV. Versuch. Die Gläser von No. I und II wurden nach 14 Tagen in den Treibkasten gesetzt, woselbst sie nach 2 Tagen zu opalisiren anfingen und nach 3 Tagen sehr bedeutend getrübt waren.

V. Versuch. Bei $4\frac{1}{4}$ bis $5\frac{1}{2}^0$ C. Dauer 3 Wochen. Während dieses Versuchs war die Einwirkung der höchsten Temperatur (+ $5\frac{1}{2}^0$ C.) fast eine Woche lang andauernd. Nach 11 Tagen (bei

[1]) Handbuch der allg. Mycologie. Mit 12 Tafeln. Stuttgart 1851.

[2]) Unters. über den Einfluss der Temp. auf die Entwickl. des *Penicillium glaucum*. Sitzb. d. k. Akad. d. Wissensch. I. Abth. April 1873.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Wiederholung des Versuchs nach 13 Tagen) zeigte sich in allen Gläsern eine sehr geringe Opalisirung, welche äusserst langsam bis zu unvollständiger Trübung fortschritt. Letztere war auch nach Beendigung des Versuchs (20 Tage) lange nicht so bedeutend, als es die des Controllglases im Treibkasten schon nach 30 Stunden geworden war.

VI. Versuch. Bei + 4 bis $6\frac{1}{2}^{0}$ C. Eintretende Opalisirung nach 9 Tagen erkennbar, von da an sehr langsam zunehmend, rasch aber sehr intensiv trübe werdend, als die Gläser nach 14 Tagen in den Treibkasten gesetzt wurden.

VII. Versuch. Bei + 7 bis 9^{0} C. Nach 7 Tagen opalisirend, nach 9 Tagen ist eine von der Oberfläche ausgehende schwache Trübung zu bemerken.

VIII. Versuch. Bei + 8 bis $9\frac{1}{2}^{0}$ C. Nach 6 Tagen erkennbare Opalisirung.

IX. Versuch. Bei + 10 bis $12\frac{1}{2}^{0}$ C. Die Flüssigkeit opalisirte nach 4 Tagen, nach 8 war in allen Gläsern Trübung eingetreten.

X. Versuch. Bei + 12 bis 16^{0} C. Ebenfalls nach 3 bis 4 Tagen Opalisiren mit bald folgender reichlicher Trübung unter Bildung der grünlich gelben Schicht von der Oberfläche der Flüssigkeit aus.

XI. Versuch. Bei + 20 bis 25^{0} C. Nach $1\frac{1}{2}$ bis 2 Tagen war stets Trübung vorhanden.

XII. Versuch. Bei + 30 bis 35^{0} C. Diese Temperaturgrade waren dauernd im Treibkasten vorhanden, sie sind die günstigsten für die energische Vermehrung der Bacterien, gewöhnlich schon nach 6 bis 8 Stunden opalisirt die Lösung, nach 12 bis 14 Stunden stellt sich schnell zunehmende Trübung ein unter Auftreten von eigenthümlich käseartigem Geruch.

XIII. Versuch. Bei + 36 bis 40^{0} C. Nach 24 Stunden war noch keine Veränderung in der Flüssigkeit vor sich gegangen, dieselbe war vollständig klar geblieben, in den Treibkasten gesetzt, trübte sie sich nach 20 Stunden vollständig.

XIV. Versuch. Bei + 45^{0} C. Diese Temperatur wirkte Tag und Nacht mit geringen Schwankungen auf drei Versuchsgläser ein; sie waren auch nach 7 Tagen noch ganz unverändert klar geblieben und wurden nach Ablauf dieser Zeit in den Treibkasten gebracht, woselbst sie auch nach 3 Tagen noch nicht ihre durchsichtige Beschaffenheit änderten. Es hatten sich jedoch in 2 Gläsern einige Mycelflocken gebildet, welche grösser wurden, theils innerhalb der Flüssigkeit, theils an der Oberfläche derselben schwammen und an letzterer bald fructificirten. Das Mycel bestand aus langgliedrigen, septirten Hyphen,

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

von welchen sich zahlreiche, meist scheidewandlose, an der Spitze kolbig angeschwollene Fruchtträger erhoben. Das mit Sterigmen reich besetzte Köpfchen färbte sich bald grünlichschwarz und die einzelnen Sterigmen schnürten Reihen von kugligovalen, schwach bräunlichen Conidien ab. Der Pilz war die Conidienform des gemeinen *Eurotium Aspergillus flavus de Bary,* er trat in den späteren Versuchen sehr häufig auf und zwar immer allein, nie mit *Penicillium* vermischt.

XV. Versuch. Zwei Gläser, welche mit den übrigen zum vorhergehenden Versuch verwendeten die Temperatur von 45° C. während 7 Tagen durchgemacht hatten und völlig klar geblieben waren, wurden mit frischen Bacteriumtropfen versehen und dann im Treibkasten einer Wärme von 30 bis 35° C. ausgesetzt. Bereits nach 2 Tagen waren sie in Folge reichlicher Bacterienvermehrung bedeutend getrübt.

XVI. Versuch. In drei mit 20 Gramm destillirtem Wasser gefüllte Reagircylinder wird ein Bacteriumtropfen gebracht, geschüttelt und dazu kommt je eine geschälte und in kleine Stückchen zerschnittene Erbse. Ferner werden in drei weitere mit destillirtem Wasser und einem Bacteriumtropfen versehene Gläser einige Stückchen in kleine Würfel zerschnittenen hartgekochten Hühnereiweisses gethan. Sämmtliche Gläser befinden sich 14 Tage lang in einer Temperatur von + $3\frac{1}{2}$ bis 5° C. und nach Ablauf dieser Zeit ist in keinem irgend eine Vermehrung von Bacterien zu erkennen, sie sind vielmehr durchaus klar geblieben.

XVII. Versuch. Ebenso hergerichtete Gläser mit Erbsen und Eiweisswürfeln werden im Treibkasten einer Temperatur von 30 bis 35° C. ausgesetzt. Die Gläser mit den Eiweisswürfeln sind schon nach 2 Tagen trübe, am Abend des zweiten Tages entwickeln sie fauligen Geruch; später wird das Eiweiss zum grössten Theil verflüssigt und nach 14 Tagen hatte sich ausser *Bacterium Termo* auch eine *Bacillus*art entwickelt, während die Flüssigkeit einen unangenehm fauligen Geruch annahm.

In den Gläsern mit den Erbsen trat zwar auch sehr bald Trübung ein, doch zeigte sich hier ebenfalls unter dem Mikroskop, wie ich mit Herrn Professor Cohn constatirte, dass neben *Bacterium Termo* besonders zahlreiche zarte und schlanke *Bacillus*fäden vorhanden waren, welche lebhaft hin und her schlängelten und theils an einem, theils an beiden Enden Köpfchen „Dauersporen [1])“ trugen.

[1]) Vergl. Cohn, Beiträge zur Biologie Heft II. p. 176; Heft III. p. 195.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Letztere lagen auch zahlreich isolirt umher. Es entwickelten sich vom Grunde der Gläser aus, woselbst die Erbsenstückchen lagen, viele Gasblasen, die Oberfläche der Flüssigkeit schäumte und es lag klar zu Tage, dass hier neben der eigentlichen Fäulniss noch eine andere Zersetzung stattgefunden haben musste.

XVIII. Versuch. Zwei Gläser mit Erbsen und zwei mit Hühnereiweiss wurden 14 Tage lang einer Temperatur von 44 bis 46° C. ausgesetzt. Von den Gläsern mit Eiweiss blieb eines vollkommen klar und unverändert, die Eiweisswürfel waren auch nach 14 Tagen noch durchaus scharfkantig, es konnte also von einer Vermehrung des *Bacterium Termo* keine Rede sein; das zweite Glas dagegen wurde trübe, das Eiweiss floss auseinander und es bildete sich ein weisses an der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmendes Häutchen, welches aus den im vorigen Versuch erwähnten Dauersporen und *Bacillus*fäden bestand. Die Flüssigkeit zeigte einen eigenthümlichen Geruch nach Leim und Käse. In den Cylindern mit den Erbsen war ebenfalls keine Vermehrung von *Bacterium Termo* wahrzunehmen, dagegen waren reichliche Häute, aus jenem *Bacillus* und unzähligen Sporen bestehend, vorhanden, die sich später auffallend schmutzigroth färbten; oft konnte man diese „Sporen" innerhalb der Fäden selbst erblicken. Die Zersetzung und allmähliche Auflösung der Erbsen war von einer continuirlichen Gasentwicklung begleitet und die Flüssigkeit liess schwach buttersäureartigen Geruch erkennen.

Aus den mitgetheilten 18 Versuchen ist nun Folgendes zu entnehmen.

Bei Temperaturen unter + 5° C. wird *Bacterium Termo* zwar nicht getödtet, es verfällt aber in den Zustand der Kältestarre, aus dem es erwacht und zu neuem Leben angeregt wird, sobald es die Einwirkung höherer Temperaturgrade erfährt. Auch bei + 5° selbst findet noch keine Vermehrung statt, dagegen beginnt dieselbe, aber äusserst langsam, sobald die Wärme auf + $5\frac{1}{2}$° C. gestiegen ist. Diese Resultate gehen aus Versuch I. bis V. hervor. Die Vermehrung von *Bacterium Termo,* deren Anfang also bei + $5\frac{1}{2}$° C. zu suchen ist, beschleunigt sich mit jedem neuen Grad Wärme, doch ist sie auch bei + 10° C. verhältnissmässig noch immer nicht sehr bedeutend. Ueber 10° C. beginnt dagegen eine etwas energischere Vermehrung, die mehr und mehr beschleunigt wird, je grösser die Wärme, bis bei Temperaturen zwischen 30—35° C. der Höhepunkt sich geltend macht, Versuch VI. bis XII. Ueber 35° wird die Vermehrung wieder rasch eingestellt, es erfolgt gegen 40° C. der Zustand der Wärmestarre, Versuch XIII. und XIV., welcher anhält bis gegen 60° C., welche Temperatur nach den Untersuchungen der oben

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

erwähnten Forscher bei einstündiger Einwirkung den Tod für das innerhalb klarer wässriger Flüssigkeiten gleichmässig vertheilte *Bacterium Termo* zur Folge hat.

Es geht aus obigen Versuchen wie es scheint auch hervor, dass *Bacterium Termo* je nach der Dauer der Einwirkung der für seine Entwicklung ungünstigen Wärmegrade längere oder kürzere Zeit in dem Zustand der Unthätigkeit verharrt, wenn es aus seine Vermehrung nicht fördernden Temperaturen in die günstigsten versetzt wird. Im Treibkasten gleicht sich jedoch diese anfangs langsamere Vermehrung durch fortwährendes sich Potenziren der in Milliarden neu entstehenden Individuen bald aus und sie wird schnell eine äusserst rapide.

Da man es unmöglich in seiner Gewalt hat, in jedes zum Versuch zu verwendende Glas mit Normallösung vermittelst des Bacteriumtropfens auch stets die nämliche Zahl von einzelnen Bacterien-Individuen zu bringen, so ist wohl immer der Fall anzunehmen, dass in diesem Glas eine etwas grössere, in jenem eine etwas kleinere Anzahl derselben enthalten sei. Es hängt dies ganz mit der Grösse des Bacteriumtropfens zusammen, den ich übrigens zu allen Versuchen mit gleich grossen Glasstäben genommen habe. Letztere tauchte ich in die Bacterien-haltige Flüssigkeit so weit ein, dass beim Herausziehen nach einigen Secunden ein Tropfen am unteren Ende sich sammelte, welchen ich in die Versuchsgläser einfallen liess. Wegen der im Bacterientropfen vorhandenen Ungleichheit der Bacterienmenge treten daher kleine Schwankungen in der Zeit ein, bis zu welcher die Trübungen entstehen und letztere lässt sich aus diesem Grunde natürlich nicht mit positiver Sicherheit, sondern nur sehr annähernd bestimmen. Die oben angegebenen Stundenzahlen beziehen sich daher auf die jeweiligen Versuchsreihen, doch fand ich nur geringe Abweichungen von denselben bei der oftmaligen Wiederholung obiger Experimente.

Aus Versuch 17, 18 und 19 ergiebt sich, dass der gewöhnliche Fäulnissprocess mit der Vermehrung und raschen Entwicklung des *Bacterium Termo* innig zusammenhängt. Findet dieser Organismus die für ihn ungünstigen Bedingungen, bei unseren Versuchen also eine zu niedrige Temperatur vor, so unterbleibt auch die Fäulniss, letztere wird dagegen ausserordentlich beschleunigt, sobald diese Umstände in das Gegentheil umschlagen, wie es in Versuch 17 der Fall ist. Je grösser die Zahl der Bacterien wird, desto schneller erfolgt die Zersetzung der organischen Nährmittel, welche die ersteren theilweise für ihre Ernährung und Assimilation verwenden. Hand in

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Hand damit ist auch die Intensität des Fäulnissgeruches an diese Umstände geknüpft. Daher kommt es, dass unter + 5° C. und über + 45° überhaupt keine durch *Bacterium Termo* hervorgebrachten fauligen Zersetzungen mehr stattfinden, dagegen sind nach Versuch 18 bei letzterer Temperatur noch die *Bacillus*fäden lebensfähig, wie dies schon früher auch von Prof. Cohn[1]) nachgewiesen worden ist. Diese bewirken aber eine ganz andere Zersetzung als *Bacterium Termo,* sie scheinen die Buttersäuregährung hervorzurufen und dieser Umstand liefert mit einen Beweis, dass, wie diese beiden differenten Zersetzungsprocesse vom chemischen Standpunkte aus, so auch die Urheber derselben, *Bacterium Termo* einerseits und obige *Bacillus*fäden andererseits, als gesonderte Arten streng auseinandergehalten werden müssen.

Bei Versuch 17, woselbst in einem Glas mit Eiweisswürfeln eine Combination der beiden Processe stattgefunden hatte, waren die *Bacillus*keime höchst wahrscheinlich bei Zusatz des Bacteriumtropfens mit in die Flüssigkeit gelangt und so deren nachträgliche Entwicklung veranlasst worden.

Versuch 15 zeigt, dass nicht, wie es vielleicht angenommen werden könnte, durch lang fortgesetztes Erwärmen eine solche chemische Umwandlung in der Normallösung vor sich geht, welche dieselbe unfähig zur Ernährung der Bacterien machen könnte.

Einfluss der Dauer der Erwärmung. Der auffallende Umstand, der aus Versuch 13 und 14 erhellt, dass *Bacterium Termo*, sobald es einer Temperatur von 40° und höher perpetuirlich ausgesetzt wird, überhaupt sich nicht mehr entwickelt, brachte uns auf den Gedanken, zu ermitteln, ob es bei diesen ununterbrochen einwirkenden hohen Wärmegraden schon getödtet werden könne, wenn es nur gehörig lange Zeit dieselben aushalten würde und, falls dies geschehe, die Zeit zu ermitteln, welche zu diesem Zweck erforderlich wäre. Ich stellte daher neue Versuchsreihen an in der Weise, dass ich die in Reagenscylinder gefüllte Normallösung erst aufkochte, dieselbe dann auf den zum Versuch in Anwendung zu bringenden Wärmegrad erkalten liess, hierauf einen Bacteriumtropfen vermittelst eines Glasstabes in dieselbe hineinbrachte, umschüttelte und sie, lose mit einem durchbohrten Korke bedeckt, sofort der continuirlichen Einwirkung der jeweiligen Temperatur vermittelst des Heizkastens aussetzte. Nach bestimmter Zeit wurden die Gläser aus letzterem

[1]) Heft II. dieser Beiträge p. 176 u. 218.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

genommen und in den Treibkasten gestellt, um so schnell und mit Sicherheit über die etwa noch vorhandene oder nicht vorhandene Lebensfähigkeit der Bacterien entscheiden zu können.

Auch bei diesen Experimenten wurde für jede Versuchsreihe ein Controllcylinder mit Normallösung auf die für die übrigen Gläser geltende Weise vorbereitet und mit einem Bacteriumtropfen versehen, dann aber sogleich in den Treibkasten gebracht; er war stets nach Verlauf von 24 Stunden völlig getrübt.

Die zur Beantwortung obiger Fragen unternommenen Versuche waren folgende:

I. Versuch. Es werden Reagensgläser auf die angegebene Weise vorbereitet und dann einer dauernden Wärme von 40 – 42° C. ausgesetzt. Verwendet werden im Ganzen 12 Gläser; nach 10, nach 13, 16, 19, 22 und nach 25 Stunden werden immer je zwei von ihnen herausgenommen und der 30 bis 35° C. betragenden Wärme des Treibkastens ausgesetzt. Diese Gläser zeigten nun folgendes Verhalten: die 10 Stunden lang erwärmten trübten sich schon nach 24 Stunden, nach 36 Stunden zeigten sie bereits die grünliche Oberschicht verbunden mit sehr starker Trübung. Auch die längere Zeit der Temperatur von 40° C. ausgesetzt gewesenen Gläser opalisirten im Verlauf des zweiten Tages, zuerst die 13 Stunden, zuletzt die 25 Stunden lang erwärmten. Am dritten Tage ist die Trübung und folglich auch die Bacterienentwicklung in allen eine gleichmässige geworden.

II. Versuch. Erwärmung der Versuchsgläser auf 45 bis 47° C. und zwar je eine halbe Stunde, eine Stunde, zwei und drei Stunden lang, darauf Einsetzen in den Treibkasten. Auch hier kam die Trübung zuerst bei den eine halbe Stunde lang erwärmten Gläsern zum Vorschein und zwar schon nach 16 Stunden, dann folgte sie schnell auch bei den übrigen, so dass nach 24 Stunden sämmtliche Gläser getrübt waren.

III. Versuch. Erwärmung auf 45 bis 47° C., eine Temperatur, welche auf die Gläser je 4, 8, 12, 16, 20, 24 und 30 Stunden lang einwirkte. Bei den vier und achtstündig erwärmten trat das Opalisiren ziemlich gleichzeitig ein, es war nach 20 Stunden erfolgt. Es trübten sich ferner die 12 Stunden lang erwärmten Gläser nach zwei Tagen, alle übrigen blieben klar, doch entstanden in denselben, ohne dass aber die Flüssigkeit getrübt wurde, nach einigen Tagen feine Mycelflocken, welche als die oben beschriebene Conidienform von *Eurotium Aspergillus flavus de By.* fructificirten.

IV. Versuch. Erwärmung auf 45 bis 47° C. je 12, 13 und

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

14 Stunden lang. Die zwölfstündig erwärmten Gläser blieben mehrere Tage völlig klar, dann entwickelten sich Mycelflocken, bald darauf trat Opalisiren der Flüssigkeit ein und dieselbe wurde immer mehr trübe. Von den 13 Stunden lang erwärmten Gläsern blieb eines vollständig klar auch noch nach 5 Tagen, im andern entstanden Mycelflocken. Die 14 Stunden auf obiger Temperatur gehaltenen Gläser blieben aber durchaus rein und klar.

V. Versuch. Gläser mit Normallösung und einem Bacteriumtropfen werden bei constanter Temperatur von 50 bis 52° C. gehalten, zu jedem Versuch 2 Gläser je 4, 6, 8, 10 Stunden lang. Diese sämmtlichen Gläser bleiben 4 Tage lang im Treibkasten klar, dann entwickeln sich einige Mycelflocken, aber keine Bacterien.

VI. Versuch. Erwärmung auf 50 bis 52° C. je $\frac{1}{2}$, 1, 2, 3 und 4 Stunden lang. Getrübt waren die $\frac{1}{2}$ und 1 Stunde lang erwärmten nach 2 Tagen, die 2stündig bei obiger Temperatur gehaltenen trübten sich nach 4 Tagen, von den übrigen trat bei einem Mycelbildung ein, während alle andern 3 und 4 Stunden lang erwärmten auch nach mehreren Tagen klar blieben.

Die aufgeführten Versuche haben ergeben, dass ein continuirliches Erwärmen von *Bacterium Termo* in Nährlösung auf 40° C. selbst nach 25 Stunden nicht hinreicht, um dasselbe zu tödten. Doch tritt je nach der Dauer dieser Erwärmung eine Wärmestarre ein, was aus der nach dem Einsetzen in den Treibkasten anfangs etwas verzögerten Entwicklung der Bacterien zu erkennen ist. Dagegen wird die Lebensfähigkeit dieser Organismen durch constante höhere Temperaturen aufgehoben und ein 13- bis 14stündiges Erwärmen bei einer mittleren Temperatur von 46° C., sowie ein schon 3stündiges bei im Mittel 51° C. genügt, um *Bacterium Termo* zu tödten. Letztere Versuche wiederholte ich sehr oft und ich habe die hier erwähnten beliebig ausgewählt. Es war ganz besonders schwierig, die Flüssigkeiten frei von Mycelflocken zu erhalten und es gelang letzteres nur dann, wenn in dem auf gut Glück genommenen und der Normallösung zugesetzten Bacterientropfen eben keine Sporen enthalten waren. Dies ist bei Versuch 4 und 6 möglichst der Fall gewesen.

Sehr eigenthümlich ist es, dass dieses Mycelium immer dasjenige von *Eurotium Aspergillus flavus de By.* gewesen ist, niemals entwickelte sich das gemeine *Penicillium,* obwohl sich letzteres im Institut auf verschiedenen Substanzen fructificirend vorfand. Die Mycelflocken lassen zwar die Normallösung vollständig klar, sie zehren aber einen Theil der vorhandenen Nährstoffe auf und machen

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

daher das Resultat unsicher, weshalb man auch alle Gläser, in welchen sie entstanden sind, als unbrauchbar verwerfen muss. Wird einem solchen Glas, in welchem Mycel zum Vorschein gekommen ist, noch nachträglich ein Bacteriumtropfen zugesetzt, so kommt es jedoch häufig vor, dass der Pilz von den sich reichlich vermehrenden Bacterien verdrängt und dass dann die Flüssigkeit eben so sehr getrübt wird, als ob gar kein Mycel vorhanden gewesen wäre.

Ich will noch erwähnen, dass das Mycelium bei einigen Versuchen innerhalb der Nährflüssigkeit selbst noch bei einer dauernden Wärme von + 45° C. zu entstehen im Stande war.

Einfluss des Eintrocknens auf die Lebensfähigkeit des Bacterium Termo. Zur Orientirung über den Einfluss des Austrocknens auf die Lebensfähigkeit von *Bacterium Termo,* eine Frage, welche von Burdon Sanderson[1]) schon früher in Angriff genommen worden ist, ferner um das Verhalten gegen chemische Stoffe kennen zu lernen, machte ich noch folgende Versuche:

I. Versuch. (1) Glasstäbe wurden geglüht und nach dem Erkalten in Reagircylinder mit Normallösung gebracht. Das letztere geschah (2) mit anderen Glasstäbchen, welche vorher nur mit der blossen Hand berührt worden waren. Endlich wurden (3) Glasstäbe in von reichlicher Bacterienvermehrung getrübte Normallösung getaucht, dann an der Luft eine Stunde lang bei + 16° C. getrocknet und hierauf erst, vermittelst eines durchbohrten Korkes gehalten, in die Nährlösung hineingehängt. Letztere wurde zu diesen und auch zu allen folgenden Versuchen vorher aufgekocht. Die Cylinder mit den geglühten Glasstäben (1), welche zugleich als Controle für die Reinheit der Nährlösung dienten, blieben selbst nach 8 Tagen im Treibkasten klar, ebenso die mit den nicht geglühten, bloss mit der Hand berührten Glasstäben (2), dagegen war die Flüssigkeit in (3) nach 30 Stunden vollständig trübe geworden.

II. Versuch. Glasstäbe, welche in Bacterienhaltige Flüssigkeit getaucht und dann zum ersten Versuch 24 Stunden, zum zweiten 7 Tage lang bei durchschnittlicher Zimmertemperatur von + 15 bis 16° C. getrocknet worden waren, wurden ebenfalls in Cylinder mit aufgekochter Normallösung hineingehängt. Die ersteren liessen im Treibkasten nach 30 Stunden ein Opalisiren, nach 2 Tagen völlige Trübung der Flüssigkeit wahrnehmen und auch die eine Woche lang getrockneten Glasstäbe hatten nach Verlauf von zwei Tagen Trübung hervorgebracht.

---

[1]) *Quarterly Journal of the Microsc. Society.* Oct. 1871.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

III. Versuch. In reich Bacterien enthaltende Nährlösung eingetauchte Glasstäbe wurden bei andauernder Wärme von 50 bis 52° C. getrocknet und zwar je zwei 1, 2, 3, 4, 5 und 6 Stunden lang, dann in Normalflüssigkeit gebracht. Nach 30 Stunden bemerkbares Opalisiren, welches nach zwei Tagen bis zur Trübung fortgeschritten war und zwar in den Gläsern, in welchen sich die eine Stunde lang getrockneten Glasstäbe befanden. Auch die zwei und drei Stunden lang erwärmten trübten sich sehr bald, ebenso die übrigen, so dass nach zwei Tagen die Flüssigkeit sämmtlicher Gläser reichlich Bacterien enthielt.

Die Controlgläser blieben bei diesem wie beim vorigen Versuch unverändert und klar.

IV. Versuch. Glasstäbe wurden in Bacterien-haltige Flüssigkeit eingetaucht, dann eine Stunde lang bei 15° C. getrocknet, hierauf je drei derselben in Ammoniak, Alkohol, Carbolsäure (rohe) und Salzsäure (offic.) einen Moment gebracht, worauf sie wieder an der freien Luft eine Stunde lang abgetrocknet und endlich in Nährflüssigkeit eingehängt wurden. Nach 30 Stunden waren die Gläser mit den in Ammoniak und die mit den in Alkohol getauchten Glasstäben ziemlich gleichmässig getrübt, die mit „Carbolsäure-Glasstab“ versehenen trübten sich ebenfalls nach zwei Tagen, völlig klar dagegen blieben die den „Salzsäure-Glasstab“ enthaltenden Cylinder.

Diese Experimente zeigen, dass *Bacterium Termo* seine Lebensfähigkeit weder durch langes Trocknen bei gewöhnlicher Temperatur, noch selbst bei 50° C. einbüsst, auch wenn es bis sechs Stunden lang diesem Wärmegrad ausgesetzt wird.

Dass die Bacterien in trockener Luft eine viel höhere Temperatur auszuhalten im Stande sind als innerhalb von Flüssigkeiten, ist insofern wahrscheinlich, als man annehmen kann, ihre Membran trockne in solchem Falle aus, schrumpfe ein und bilde so einen schützenden Mantel um das innen befindliche Protoplasma. Denn letzteres ist wie bei allen Zellen der eigentliche Lebensstoff, dessen normaler oder abnormer Zustand auch über das Schicksal der Bacterienzelle entscheidet. Die Dicke und Resistenz der umgebenden Membran ist daher von grösstem Einfluss auf Leben und Tod des Protoplasmas, sobald schädliche Einwirkungen sich auf dasselbe geltend machen und es scheinen auch in dieser Beziehung die verschiedenen Bacterienformen von einander abzuweichen.

Nach Versuch 4 hat von den angewendeten Flüssigkeiten nur die Salzsäure die Fähigkeit, *Bacterium Termo* zu vernichten; es gilt dies nicht einmal von der Carbolsäure, wenigstens nicht für

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

die im Versuch zur Geltung gekommene kurze Dauer der Einwirkung. Dass *Bacterium Termo* nicht allgemein auf Oberflächen verbreitet sich findet, beweist das in Versuch I. erwähnte Resultat mit den bloss mit der Hand berührten Glasstäben.

Resumé. Die in Vorstehendem berichteten Untersuchungen über *Bacterium Termo* lassen sich in folgende Hauptsätze zusammenfassen:

1) *Bacterium Termo* befindet sich bei Wärmegraden unter $+ 5^0$ C. in Kältestarre, $+ 5\frac{1}{2}^0$ C. ist die Temperatur, bei welcher seine Vermehrung beginnt, welche aber in diesem Zustand nur sehr langsam vor sich geht.

2) Temperaturen von 30 bis 35^0 C. sind die günstigsten für seine rasche Vermehrung.

3) Wird *Bacterium Termo* Temperaturen von 40^0 C. und mehr continuirlich ausgesetzt, so hört seine Vermehrungsfähigkeit auf, es verfällt in den Zustand der Wärmestarre, aus dem es erwacht, sobald es wieder in günstige Bedingungen gebracht wird.

4) Ein 14stündiges andauerndes Erwärmen auf 45^0 C. und ein 3stündiges auf 50^0 C. genügt, um das innerhalb wässriger Nährlösung gleichmässig vertheilte *Bacterium Termo* zu tödten.

5) Die gewöhnlich als „Fäulniss" bezeichneten Zersetzungsprocesse werden durch die Lebensthätigkeit von *Bacterium Termo* ebenso hervorgerufen wie die Alkoholgährung durch die *Saccharomyces*arten. Lebhafte Vermehrung von *Bacterium Termo* bedeutet immer lebhafte Fäulniss und umgekehrt; letztere kommt zum Stillstand, sobald durch zu geringe oder durch zu hohe Temperaturen *Bacterium Termo* seine Vermehrung einstellt[1]).

6) Wie *Bacterium Termo* als eigentlicher Erreger der Fäulnissprocesse todter organischer Materie gelten muss, so scheinen auch die übrigen Bacterienformen Zersetzungen anzuregen, die je nach der Species in mannigfacher Weise von einander abweichen.

7) *Bacterium Termo* besitzt die Fähigkeit, langem Austrocknen bei hohen und bei niederen Temperaturen Widerstand zu leisten und seine Lebensfähigkeit zu bewahren.

Gerade der Umstand, dass die verschiedenen Bacterienformen verschiedene Ernährungsbedingungen erfordern und dass sie sich auch den chemischen und physikalischen Einflüssen gegenüber verschieden verhalten, ist ein weiterer Beweis für den streng durchzuführenden Speciesunterschied. Denn der Kampf ums Dasein in der freien Natur zwischen Pflanzen und Thieren wird auch von den

[1]) Cohn, Beiträge Heft II. p. 202.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Bacterien in gegenseitiger Vertilgung geführt und diejenigen Arten werden die Oberhand behalten, welche die grösste Widerstandsfähigkeit besitzen und sich am leichtesten den gegebenen Bedingungen anpassen.

Unsere Aufgabe muss dahin gerichtet sein, nicht allein für *Bacterium Termo,* sondern auch für die andern am leichtesten zu erlangenden Bacterienformen die biologischen Verhältnisse festzustellen und so, von Species zu Species vorwärtsschreitend, unser Wissen zu vermehren. Wäre es möglich, eine Methode aufzufinden, vermittelst welcher die einzelnen Species isolirt und getrennt von einander untersucht werden könnten, so müsste dies als grosser Fortschritt gelten. Dass die Ausführung solcher Bedingungen aber nicht unmöglich ist, zeigt der oben angegebene Versuch mit den Erbsen, woselbst sich, bei einer Temperatur von 45 ° C., allein nur noch die *Bacillus*form entwickelt und *Bacterium Termo* vollständig verdrängt hatte. Die Kenntniss der Lebensbedingungen der zahlreichen in freier Natur vorhandenen Bacterienformen, ferner die Art der von ihnen bewirkten Zersetzungen im Substrat wird nicht bloss wissenschaftliches Interesse in Anspruch nehmen, sie ist auch von hervorragend praktischer Bedeutung und sie wird besonders zur Lösung jener schwierigen Fragen über die Ursachen der Infectionskrankheiten bei höheren Thieren und beim Menschen beitragen, Untersuchungen, welche in der letzten Zeit mit so lebhaftem Eifer aufgenommen worden sind.

Abgeschlossen den 10. October 1875.

Druck von Robert Nischkowsky in Breslau.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Beiträge zur Biologie der Pflanzen

Jahr/Year: 1875

Band/Volume: 1_3

Autor(en)/Author(s): Eidam Eduard

Artikel/Article: Untersuchungen über Bacterien 208-224