

Die KUHNschen Bakteriophagen

Von MAX KOCH (Königsberg i. Pr.)

HISTORISCHER TEIL.

Wenige Gebiete der biologischen Wissenschaft bieten in den grundlegendsten Fragen derartige Meinungsverschiedenheiten, wie gerade die Bakteriologie. Von FERDINAND COHN an, dem Begründer der systematischen Bakteriologie (1872) bis in die neueste Zeit hinein geht der Kampf der Meinungen über prinzipielle Dinge, die bei dem heutigen Stand der Biologie im allgemeinen als längst geklärt zu erwarten wären.

Das Nächstliegende war nach der Entdeckung der Bakterien das Studium ihrer typischen Erscheinungsform, der Zelle, als Einzelindividuum. Die Cytologie der Bakterien wurde und ist noch bis zum heutigen Tage der Gegenstand von sehr ungenauen Vorstellungen und dementsprechenden geteilten Ansichten: Obwohl Einschlüsse korpuskulären Charakters zuerst als direkte Zellkernbestandteile resp. auch als sogenannte "Chromatinkörper" von vielen Forschern angesprochen wurden, möchte ich trotzdem doch zuerst diese Einlagerungen von einem anderen Gesichtspunkt betrachten, der in der Geschichte der Bakteriologie, wenn auch nicht sehr stark, so doch schon seit relativ langer Zeit vertreten wird, nämlich diese eingelagerten Gebilde als Reservestoffe anzusehen.

Als erster hatte LAUFERBORN (1896)¹ darauf aufmerksam gemacht, dass die vorher immer als Kernsubstanzteile gedeuteten "Chromatinkörper" beim Eintreten einer Zellteilung eines Bakteriums nicht mehr sichtbar sind. Man könnte also demnach annehmen, dass sie als Reservestoffe, ganz gleich welcher Art, bei der Teilung verbraucht werden.

So trat z.B. A. FISCHER (1897)² der Annahme, dass die stärker färbbaren Chromatinkörper als Zellkernsubstanzen anzusehen wären, vollkommen entgegen. Er hat nämlich (1895)³ durch einen überaus wichtigen und instruktiven Versuch gezeigt, dass die zu damaliger Zeit angewendeten Färbungsreaktionen für chemische Zwecke nicht verwendbar waren. Er fällte 3% und 0.3% wässrige Albuminlösung (Deutero-albumin) aus; erstere bildete grosse Granula, letztere winzige kokkenähnliche Körnchen; beide mischte er und wandte auf getrocknetem Deckglasausstrich Doppelfärbung an. Der Erfolg war überraschend. Bei Verwendung von FLEMMINGs Safranin-Gentiana färbten sich die grossen Granula rot, die kleinen violett. Wenn aber erst Gentiana, dann nach Differenzierung mit Säurealkohol Safranin gebraucht wurde, nahmen umgekehrt die grossen die violette die kleinen die rote Färbung an. Derselbe Körper, der als chemische Einheit aufgefasst wurde, war somit nach Belieben safranophil oder gentianophil. Ganz gleiche Resultate ergaben Doppelfärbungen mit GRAMscher Färbung, mit ZIEHLscher Färbung und mit DELAFIELDs Hämatoxylin und Eosin. Damit war die chemische Theorie der meisten Histologen erschüttert und die physikalische Auffassung, die übrigens schon GIERKE (Färberei zu mikroskopischen Zwecken, Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie, II. Band) vertrat, scharf betont. Damit war aber auch zugleich die Möglichkeit genommen, die Färbungsreaktion für vergleichendes morphologisches Identifizieren von Zellbestandteilen zu verwenden.

Ausserdem hat ROWLAND (1899)⁴ bei Beurteilung der Chromatinkörper als Zellkernsubstanzen darauf hingewiesen, dass ein Teil von ihnen auch als Absonderungsprodukte aufzufassen sei.

Auch MACALLUM (1899)⁵ und MASSART (1901)⁶ sind geneigt, die im Innern der Bakterienzelle auftretenden Körnchen als Reservestoffe zu deuten.

Weiterhin hat ERNST (1902)⁷ darauf hingewiesen, dass die Chromatinkörper in der Zelle eines Bakteriums aus Fetten, Cholestearin, Lecithin oder Glykogen beständen, somit also hier gewissermassen als Behälter für "Reservestoff-Ablagerungen" oder "Sekret- oder Exkretsammler" anzusehen wären; allerdings könnten hierbei gewisse Struktur-Elemente nicht ausschliessen sein.

Bei *Spirillum volutans* werden dann die Chromatinkörper von GRIMME (1902)⁸ auch

als Reservestoffe gedeutet. Ausserdem hat GUILLIERMOND (1902)⁹ den Verbrauch von Chromatinkörnern bezüglich seiner "corpuscules metachromatiques" bei der Sporenbildung nachgewiesen.

Diesem Umstand in extremer Form hat vornehmlich A. MEYER (1903 und 1904)¹⁰ bezüglich seiner "Volutin"-Theorie auf Grund eingehender chemischer Untersuchungen gestützt.

ENDERLEIN berichtet über die Anschauungen A. MEYERs folgendes: "Er führt für die Materie dieser Körper den Namen Volutin ein; dies soll jedoch als chemischer Begriff gelten. Die *Volutans-Kugeln* resp. alle entsprechenden Chromatinkörner bezeichnet er mit Volutinkörner. Nach seiner Meinung tritt bei Intensivfärbung mit Methylenblau stets Quellung des Volutins auf, und die Volutinkörner quellen zuweilen zu Hohlkugeln auf. Im Hinblick auf den Nucleohiston-Gehalt der Lymphocyten der Thymsdrüse und auf die Nucleoproteide automobiler Leucocyten und von Spermatozoiden, die wesentlich als Reservestoffe und Energiequelle dienen dürften, nimmt Verf. auch für das Volutin, einen der Nucleinsäure ausserordentlich nahe verwandten Körper resp. eine Nucleinsäure-Verbindung an, dass es ein ergastisches Gebilde (= Reservestoff) darstellt. Als Begründung wird angeführt, dass die Speicherung von Volutin in den Bakterien, die kurz vor der Sporenbildung stehen, ihr Maximum erreicht, während bei der Ausbildung der Sporen das Volutin wie Fett und Glycogen verbraucht wird." Vergl. Seite

Ebenfalls ist WAGNER (1905)¹¹ als Anhänger der Reservestoffaufnahme zu erwähnen. Weiter wäre vielleicht noch die Ansicht von DOFLEIN (1911)¹² zu berücksichtigen. Er sagt bezüglich der *Spirochaete plicatilis*: "In regelmässiger Anordnung liegen zu beiden Seiten dieses Axenfadens Körner, welche hohl sind und aus Volutin bestehen."

Die Deutung der mit den Färbungen sichtbaren Körner als Reservestoff ist naheliegend. Es soll in diesem Zusammenhange besonders darauf hingewiesen werden, dass ein Teil der in Bakterien beobachteten Körner dieselben Farbreaktionen gibt, wie der Nucleoli der Zellkerne. Da man in neuester Zeit mehr und mehr der Ansicht zuneigt, diese Nucleoli seien "Reservestoffe" des Kernes und würden bei der Fermentproduktion verbraucht, so ist es garnicht unbedingt nötig, einen Gegensatz von Zellkern und Volutin zu konstruieren. Ja, man kann sich sehr wohl vorstellen, dass das Volutin mit den Nucleoli winzigster Zellkerne identisch sei. Aber damit ist bei weitem nicht ihre Zugehörigkeit zum Körper der Bakterien selbst bewiesen. Es könnte sich sehr wohl um besonders sichtbare Nucleoli aus Parasitenkernen handeln. Andererseits ist es wieder möglich, dass die Nucleoli sich im Kern von Bakterien zu bestimmten Zeiten herausdifferenzieren. Die Reservestoff-Theorie ist demnach garkein Gegensatz zu den folgenden Gedankengängen.

Als Nächstes behandeln wir:

DIE KERNE DER BAKTERIEN.

Schon zu Anfang der bakteriologischen Aera war man gewöhnt, für die begrenzte Zelle, wie es ja das Bakterien-Individuum darstellt, einen Kern als Funktionszentrum anzunehmen. Man vermutete einen Kern im Innern des Bakteriums und suchte ihn zu finden. Auch hier begann sich bezüglich dieses einen Punktes auf Grund der beobachteten Forschung ein Aufspalten in verschiedene Richtungen zu bilden.

Anfänglich wohl infolge der Kleinheit der Bakterienzellen haben sich die Forscher auf den Standpunkt gestellt, dass das Plasma des Bakteriums hauptsächlich aus Karyoplasma bestände, so z.B. HUEPPE (1886)¹³ und KLEBS (1887)¹⁴, dass Trennung des Karyoplasma vom Protoplasma noch nicht vorhanden wäre, nahm WEIGERT (1887)¹⁵ und MITROPHANOW (1889)¹⁶ an.

Ebenso sah WAHRLICH (1890)¹⁷ die ganze Zelle als Kern an; weiterhin hat BÜTSCHLI (1890)¹⁸ und (1896)¹⁹ von einem wabigen Zentralkörper umgeben von einer dünnen Plasmaschicht gesprochen.

ZETTNOW (1891)²⁰ ist der Ansicht vom undifferenzierten Proto- und Karyoplasma; SCHEWIAKOFF (1893)²¹ stimmt der Meinung vom wabigen Zentralkörper bei. BUNGE (1894)²² LÖWIT (1896)²³ und NOETZEL (1896)²⁴ betrachten den grössten Teil des Bakteriums als Kern.

Ja, selbst in relativ neuerer Zeit tauchen nochmals diese Ansichten auf.

FEINBERG (1900)²⁵ betrachtet den gesamten Teil des färbbaren Zellinhalts als Kern, er stellt also fest, dass der Kern fast die ganze Zelle bildet. Ferner sieht MARPMANN (1900)²⁶ sogar die ganze Zelle als Kern an und bezeichnet nur die ausgeschiedene Schleimhülle als Zellplasma.

Selbst 1902 ist BÜTSCHLI²⁷ noch immer von der Richtigkeit seiner Annahme (siehe oben) bezüglich des Zentralkörpers als Kern überzeugt.

Vorsichtigerweise sagt SCHAUDINN (1902)²⁸ bei Beschreibung einer grossen Bakterienform, dass "die Kernsubstanzen, welche bei anderen Zellen zu einem morphologisch differenzierten Zellkern vereinigt sind, hier im vegetativen Zustand noch diffus durch das Plasma verteilt sind".

Überleitend zu einer anderen Art von Differenzierung zwischen Karyoplasma und Protoplasma kommt OTTOLENGHI (1904)²⁹ zu folgender Meinung: "Aus grossen durch Netzstruktur verbundenen Kügelchen entsteht, unter wesentlicher Verkleinerung und Verlagerung der Kügelchen, der "Zentralkörper".

Ferner nimmt RUZICKA (1904³⁰ und 1907³¹) an, dass das Bakterium ein aus Nucleinsubstanzen bestehender "nakter Kern" wäre, zumal man bei der Färbung der Bakterien zeitweise ein nicht differenziertes Aufnehmen der Farbe beobachtet. Aus diesem Grunde müsste man, wenn man die färbbaren Körnchen als Zellkerne ansehen wollte, zu der Annahme kommen, dass zeitweise die Bakterien kernlos werden könnten.

Neuerdings spricht DEUSSEN (1921)³² grampositiven Bakterien Nuclein, also Kernsubstanz zu, welche bei gramnegativen Bakterien fehlen soll.

Parallel zu diesen Anschauungen, bei denen also fast die ganze Bakterienzelle als Kern angesprochen wird, läuft eine andere Richtung, auch von der erwähnten Zeit an, ja sogar bis in die allerneueste Zeit hinein, bei der aber der grösste Teil des Zellinhalts der Bakterienzelle aus Protoplasma besteht, der Kern also aus dem Protoplasma herausdifferenziertes Karyoplasma, demnach als eigentlicher "Zellkern" angesprochen wird.

Als erster gebraucht SCHOTTELIUS (1888)³³ sowohl bei Stäbchen- wie auch bei Kokkenformen den Ausdruck "Kern", indem er aber "damit vorläufig nur die zentrale Lage dieses Bestandteiles habe bezeichnen wollen."

Bei dieser Forschungsrichtung hatte allerdings schon LÖFFLER (1887)³⁴ zum ersten Male auf die verschiedene Färbungsfähigkeit einzelner Komplexe bei den Bakterien hingewiesen. LÖFFLER wusste aber damals noch nicht, dass er durch seine Beobachtung den Grundstein zu einer neuen Theorie gelegt hatte, zumal er den Ausfall seiner Färbetechnik als durch besondere äussere Umstände hervorgerufen betrachtete. Hiertüber zitiert ENDERLEIN einen Passus von LÖFFLER: "Die (Bazillen-)Gruppe von rechts zeigt eine Ablagerung des Farbstoffes in Form feiner Körnchen auf den Bazillen, in deren Mitte ausserdem ein schwach gefärbter zentraler Faden zu erkennen ist. Die gröbere und feinere Körnung rührt von nicht genügend langer Färbung der Bazillen und langem Auswaschen derselben in Alkohol her".

BABES (1887)³⁵ hat auf Körnchen beim Tuberkelbazillus und 1889³⁶ bei anderen Bakterien hingewiesen, die seiner Meinung nach bei Sporenbildung irgend eine Rolle spielten.

Schon genauer in seiner Definition wird ERNST (1889)³⁷ bei Beschreibung seiner "sporogenen Körner", die er als Bakterienkerne anspricht. Als Kernteilungsfiguren eines Nucleus sieht WAGNER (1891)³⁸ ein in der Mitte eines Bazillus sich hartelförmig streckendes Gebilde an, dass sich schliesslich sogar teilen soll.

Ausgesprochene Kernteilungsfiguren will SJÖBRING (1892)³⁹ beim Milzbranderreger und Mikrokokken beobachtet haben. Ebenso vertreten TRAMBUSTI und GALEOTTI (1892)⁴⁰ bei einem Wasserbakterium dieselbe Ansicht.

BABES (1895)⁴¹ spricht wiederum über "metachromatische Körperchen". Die gleichen Gebilde hatte auch BUNGE (1895)⁴² beobachtet. Weiter hatte ZETTNOW (1897)⁴³ bei Spirillen auf "zerstreut liegende Chromatinkugeln" hingewiesen.

A. MEYER (1897)⁴⁴ hatte gesagt, dass der Kern bei *Bacillus asterosporus* sogar lebend zu beobachten wäre: 1899 hatte er den Kern mit Formolfuchsin und Methylenblau gefärbt und deutet in einer Abbildung auf Kernteilung hin. Ausserdem hatte A. MEYER an Objekten seiner Schüler GRIMME (1902)⁸ bei *Bacillus tumefaciens* und ELLIS (1903)⁴⁵ und 1906)⁴⁶ bei *Sarcina* und *Micrococcus* nachgewiesen, dass das in Betracht kommende Körnchen nicht als Volutinkorn anzusehen wäre.

Vorher weist WAGNER (1898)⁴⁷, der von einem "meist zentral gelegenen Kern" bei Koli- und Typhusbakterien spricht, auch auf Kernteilungsfiguren hin. Auch MUCH spricht (1898)⁴⁸ von Chromatinkörnern bei Tuberkelbazillen. Ferner deuten auch RUIZICKA (1898)⁴⁹ und CATTERINA (1898)⁵⁰ auf stärker färbbare Körnchen in den Bakterienzellen hin.

Bei Beschreibung von "Chromatinkörnchen" der Bakterienzelle glaubt ROWLAND (1899)⁴ nicht alle als Nucleolarsubstanz ansehen zu müssen.

Chromatinkörnchen werden auch von MARX und WOITHE (1900)⁵¹ beschrieben - diese Verfasser bilden den in seiner Ansicht nicht dasselbe enthaltenden Begriff: "BABES-ERNSTsche Körperchen" - und den Centrosomen gleichartig gehaltenen; ausserdem wird auch auf Teilungsfiguren bei ihnen aufmerksam gemacht. Kerne allerdings negieren die Autoren.

Hingegen spricht VEJDOVSKY (1900)⁵² bei einem mitten in einem Bakterium gelegenen Chromatinkorn von einem Kern.

Kerne und Kernteilungsfiguren beschreibt NAKANISHI (1901)⁵³. Beim Diphtheriebazillus äussert er sich sogar über "polynucleäre Stäbchen".

Über Kerne bei Sporenbildnern und Nichtsporenbildnern spricht FEDOROWITSCH (1902)⁵⁴. Bei den ersten sollen die Kerne in Sporen übergehen können, während sich bei den letzten sogenannte "Protesporen" bilden sollen. Nochmals behandelt VEJDOVSKY (1904)⁵⁵ die Kernfrage bei *Bacterium gammari* und kommt wieder fast zur gleichen Ansicht bezüglich des Kernes als Zentralkörper wie 1900.

Ausserst vielseitig in seinen Anschauungen ist PREISS (1904)⁵⁶. Er bezeichnet als echte Kerne nur die "mit verdünntem Fuchsin intensiv färbbaren Körnchen in jungen Zellen" und spricht dann auch von Teilungsformen.

Vom Zellkern spricht auch MENCL (1904)⁵⁷ und bestätigt auch den Kernbefund an dem *Bacterium gammari* VEJDOVSKYS.

Anhänger der Ein- und Zweikernigkeit ist SWELLENGREBEL (1907)⁵⁸ bei *Bacillus maximus buccalis* und *Bacterium binucleatum*.

GUILLIERMOND (1907)⁵⁹ und 1910)⁶⁰ spricht feine, färbbare Granulationen, weil der Kernsubstanz ähnlich, als einen diffusen Kern an.

Bei der Prüfung einiger Myxobakterien kam VAHLE (1909)⁶¹ zu dem Resultat, dass regelmässig zwei Körperchen, die mit MEYERS Kernen übereinstimmten, anzutreffen wären. Traten drei bis vier auf, so waren sie meistens durch feine Bildungen so mit einander verbunden, dass sie trotzdem als nur zwei von einander getrennte Gebilde anzusprechen waren.

Dass die Bakterien sowohl ein- wie auch mehrkernig sein könnten, nahm HOELLING (1910)⁶² an. Wiederum berichtet MENCL (1910)⁶³, diesmal allerdings bei Mikrokokken, über die Kernfrage: "excentrische Lage oder Wandständigkeit" spricht er als vorübergehend an.

Nach A. MEYER (1911)⁶⁴ war bei Dunkelfeldbeobachtung der Kern als optisch leer zu betrachten. Beim Absterben der Bakterienzelle tritt Zerstörung des Kernes ein.

Von "Kernen mit zwei Chromatinpolen" sprechen DOUGLAS und DISTASO (1912)⁶⁵, ebenso von Längsteilung und auch völligem Verschwinden des Kernes.

Nach TISCHLER ist HOTTINGER (1915)⁶⁶ der Ansicht, dass der Grad der Färbbarkeit mit der Einzelteilchengrösse der "chromatischen Substanz" zusammenhänge. So soll z.B. bei den GRAM-Negativen das gefärbte Nucleoproteid ein Kolloid von so hoher Dispersion bilden, dass die optische Auflösung der einzelnen Teilchen nicht mehr gelingt.

PENAU (1915)⁶⁷ ist der Meinung, dass ein "basophiles Chromidialnetz" neben einem "echten Kern" nachweisbar wäre, der zeitweilig auch verschwinden könne. Bei *Bacillus anthracis* und ähnlich bei *Bacillus verdunensis* sollen sogar 5 verschiedene "karyologische Phasen" zu beachten sein.

In neuester Zeit hat weiter PARAVICINI (1918)⁶⁸ bei *Bacillus mycoides* und *Bac. megatherium* Kerne in der vegetativen Zelle als punktförmige Gebilde nachgewiesen, ausserdem will er sie auch in der jungen Spore gesehen haben. Bei *Bacterium aerogenes* hat er in unregelmässiger Lage sogar 6 Kerne beobachtet, die bei Zellteilung jeder in zwei, also zwölf, zerfielen. PARAVICINI spricht die Vermutung aus, dass ein ähnliches Verhalten bezüglich der Mehrkernigkeit bei Nichtsporenbildnern nicht ausgeschlossen wäre.

Vorher will KRUIS (1913)⁶⁹ durch Photographieren der Bakterienzellen in gewöhnlichem oder ultraviolettem Licht, für welches die Kerne undurchlässig sein sollen, diese als gesonderte Gebilde nachgewiesen haben. Eine Methode, die vielleicht nicht ganz unberücksichtigt bleiben sollte (der Verfasser).

KIRCHENSTEINS (1921)⁷⁰ behauptet, dass es bei den Bakterien Kerne gäbe.

Schliesslich verweise ich auf GUTSTEIN (1925)⁷¹, der die einen Granula im Bakterium nach ihrer Färbungsfähigkeit als Macronuclei bezeichnet, während er ein Gram-festes und eisenhaltiges Mikrogranulum als Mikronucleus anspricht. Ebenso verweise ich auf BUSSUBETZ (1925)^{72a} bezüglich seines Nachweises der Bakterienkerne.

Aber nicht nur in den Bakterien selbst, sondern auch bei ihren Dauerformen, den Sporen, will man Kerne festgestellt haben.

So spricht BILLET (1890)⁷³ einen stärker färbaren Fleck, z.B. bei Sporen von *Bacterium osteophilum* zwar nicht als Kern an, weist aber als erster darauf hin.

Dann sollen nach ILKEWICZ (1894)⁷⁴ die Sporen des Milzbrandbazillus zwei Kerne aufweisen.

Weiter sagt SCHAUDINN (1902)²⁸ über den Zellkern: "Nur bei der Sporenbildung kommt es zur Ausbildung eines den echten Zellkernen der höheren Organismen vergleichbaren Gebildes".

Bei den Sporen lässt sich VAHLE (1909)⁶¹ bezüglich der Kernfrage folgendermassen aus: "Die kernsubstanzhaltigen Gebilde hatten die Form kurzer, dicker, gewöhnlich spindelförmiger Bänder, deren Längsaxe entweder der Längsaxe der Stäbchen parallel ist oder mit ihr einen Winkel bildet".

Auch BREDEMANN (1909)⁷⁵ will den Zellkern in dem Sporenzustand nachgewiesen und ihn von Volutin durch Färbung mit Methylenblau und nachfolgender Behandlung mit einprozentiger Schwefelsäure unterschieden haben. Die Nuclei sollen im Gegensatz zum Volutin sich dann entfärben; jedoch soll die Färbung selbst nicht immer zuverlässig sein.

In neuester Zeit ist es wieder GUTSTEIN (1925)⁷¹, der den Sporen auch einen Kern zuschreibt.

Aus allen diesen Ausführungen haben wir gesehen, dass, obwohl beide erwähnten Richtungen das Bestehen eines, sei es nun als vom Protoplasma noch nicht getrennten Karyoplasmas, oder sei es als eines vom Protoplasma schon differenzierten Zellkerns vertreten, beide Anschauungen keineswegs geklärt sind und befriedigen.

Es müssen aber auch noch andere Punkte hierbei Berücksichtigung finden, nämlich die, dass einzelne Forscher wesentliche Veränderungen in der Bakterienzelle bezüglich des Zellkernes beobachtet haben.

Während nämlich, wie vorher erwähnt, GUILLIERMOND (1907)⁵⁹ zahlreiche kleine, das Innere der Bakterienzelle durchsetzende Körnchen als diffusen Kern gedeutet hatte, beobachtete er u.a. zum Beispiel auch bei *Bacillus mycoides* und *Bac. subtilis*, dass in einzelnen Entwicklungsstadien sich diese kleinen Gebilde garnicht einfinden.

Auch RUCICKA (1907)³¹ kommt nach TISCHLER⁷² zu einem ähnlichen Schluss: "Er argumentiert mit der zeitweise bei Anwendung von Farbstoffen eintretenden "Farblosigkeit". Wollte man nur in den sich färbenden "Körnchen" Kernäquivalente sehen, so müsste man zu der Schlussfolgerung kommen, dass die Organismen zeitweise ganz kernlos werden könnten".

Nach PRAZMOWSKI (1912)¹⁰⁹ soll bei "*Bacillus azotobacter chroococcum*" in bestimmten Stadien eine Zusammenballung einzelner chromatischer kleiner Körnchen zu einem "Kern" stattfinden, der sich nach Art einer Mitose sogar teilen soll, und 1913¹¹⁰ spricht derselbe Autor bei anderen Bakterien vom Halbieren von Chromatinkügelchen derart, dass die "Grundsubstanz" des Kerns sich in die Länge strecke, tonnenförmig anschwellt und sich in der Mitte durchteilt. Weiter spricht PRAZMOWSKI über Fusion von "Kernen" und "Ausstossungen von Kernen". Nun sollen aber auch noch diese Kerne sich dann zu einer Normalzelle regenerieren können (? !).

Wenn wir unsere oben geäusserte Ansicht, dass es sich bei diesen Kernen weniger um die Kerne selbst, als vielmehr um die Nucleoli derselben handelt, festhalten, so muss es uns doch sehr befremden, diese "Kerne" nicht in allen Lebensformen erscheinen zu sehen. Es kann sich somit eigentlich nur um zwei Fragen handeln.

1) Entweder sind die Kerne in den meisten Erscheinungsformen nicht vorhanden, sondern bilden sich in bestimmten Entwicklungszuständen heraus. Ob es sich nun dabei um besonders geartete Dauerzustände, ob es sich um sexuelle Zellen handelt, das müssen unsere weiteren Betrachtungen ergeben.

2) Oder die Kerne gehören garnicht zu den Körpern der Bakterien. Sie sind gewissen Schmarotzern eigen. Diese Ansicht muss nicht einmal der ersten völlig widersprechen, denn auch sexuelle Formen könnten bei diesen intrazellulären Parasiten ebenfalls auftreten.

Die erste Antwort auf diese Alternative ist eingehend in der Literatur vertreten, und so sei sie nachstehend behandelt.

Sexualität und Sexualkerne der Bakterien.

Während wir nun gesehen haben, in wie starkem Masse sich der Forschergeist mit der Klärung der Frage über die Einzelzelle abgegeben hat, wird es nicht verwundern, wenn einzelne Bakteriologen auch die Umwelt der Einzelzelle in ihren Beobachtungen in Betracht gezogen und das Verhalten der einen Zelle zur anderen sowohl in physiologischer wie auch morphologischer Hinsicht beobachtet haben. Gerade die morphologischen Differenzen führten zu einem Gebiet der Bakteriologie, das in der allerneuesten Zeit einen stark aktuellen Charakter angenommen hat, zur Frage nach der Sexualität der Bakterien.

Die ersten Angaben über die Möglichkeit einer solchen bei den Bakterien gehen auf VINCENTINI (1892)¹¹¹ zurück. Die Annahme von geschlechtlichen Befruchtungsvorgängen bei Mundhöhlenbakterien dürfte allerdings auf einem Irrtum des Verfassers beruhen, da er alle in der Mundhöhle wie auch im Sputum vorkommenden Bakterien, so auch den Tuberkelbazillus, als Entwicklungsstadien der "*Syncretis buccalis*" (= *Leptothrix buccalis*) ansah.

Bei seinen Arbeiten mit *Chromatium Okenii*, einem roten Schwefelbakterium, ist FOERSTER (1892)⁷⁶, der eine sogenannte "Brückenbildung" bei zusammengelagerten Bakterien beobachtet hatte, zur Annahme von einem sexuellen Vorgang gekommen, obwohl er das Entstehen einer solchen Verbindung nicht gesehen hatte.

Weiter wäre SCHAUDINN (1902)²⁸ zu erwähnen. Er spricht bei Beobachtungen über *Bacillus Bitschlii* und *Bac. sporenuma* von einer "primitiven Art der Selbstbefruchtung". Bei beiden Arten beobachtete er kurz vor der Sporenbildung in der Mitte der Zelle das Entstehen einer Querwand und kurz darauf ihre Resorption. Bei *Bac. sporenuma* trat nach Angaben des Verfassers ausserdem eine Einschnürung in der Mitte der Bakterienzelle auf. Die nach Auflösen der Querwand eintretende Verschmelzung sah er als "primitivste Art der Kopulation" an.

Zu ähnlichen Resultaten wie FOERSTER kam FUHRMANN (1906)⁷⁷ bei Beobachtung von aus Flaschenbier isoliertem *Pseudomonas cerevisiae*. Auch hier fand der Verfasser, dass zwei sich mit der Breitseite an einander lagernde Bakterien, die an einem Ende kolbig verdickt sind, durch eine feine Fadenbildung mit einander verbunden waren.

Auch v. PROWAZEK (1906)⁷⁸ stellt sich zu einer eventuellen Sexualität bei Bakterien nicht abgeneigt. Nach seiner Ansicht sind derartige Erscheinungen nicht als blosse Degenerations-Erscheinungen hinzustellen, sondern sie könnten auch "besondere Ruhestadien darstellen, auf denen das Protoplasma mit dem Chromatingehalt eine innige Durchmischung und Verbindung erfährt und denen eigenartige Geschlechtsvorgänge vielleicht vorhergegangen sind".

Nach den Ansichten SCHAUDINNS äussern sich MÜHLENS und HARTMANN (1906)⁷⁹ folgendermassen: "Man könnte sich vorstellen, dass die zuvor beschriebenen langen Einzelindividuen besondere Wuchsformen darstellen, die durch Querteilung in eine Anzahl kurzer, breiter Formen zerfallen, und dass hier zur Erzeugung bestimmter evtl. geschlechtlicher Entwicklungsformen eine Art multiple Vermehrung stattfindet. In diesem Zusammenhange liessen sich event. auch kleine Formen mit einer heller gefärbten Auftreibung bringen, die noch zwei dunkler gefärbte Punkte zeigten. Es liesse sich denken, dass auf diese Weise Dauerformen entstünden".

Weiterhin hat POTTHOFF (1922)⁸⁰ sich in seiner Arbeit mit der Sexualität der Bakterien beschäftigt. Er machte seine diesbezüglichen Beobachtungen an *Chromatium*

Okenii, *Chromatium Weissii*, *Rhodospirillum photometricum*, *Spirillum volutans* und einer *Pseudomonas*-Art. Auch dieser Verfasser kam bei den Beobachtungen des Aneinanderlagerns und der Brückenbildung zu der Sexualitätstheorie. Seine Beobachtungen bezogen sich sowohl auf vital gefärbte wie auf abgetötete gefärbte Bakterien. Unter anderem hat POTTHOFF auch die GIEMSA-Färbung verwendet. Hierüber sagt er: "Färbung nach GIEMSA ergab blau-violett gefärbte Brücken, bei rot-violett gefärbtem Spirillenkörper mit blau-violetten Einschlüssen und hellen Vakuolen".

POTTHOFF sagt aber bei der Auswertung seiner Untersuchungen folgendes: "Bei dem jetzigen Stand unserer Kenntnisse weitgehende Schlüsse aus den referierten Beobachtungen zu ziehen, wäre verfrüht. Doch steht wohl jetzt schon ausser Zweifel, dass wir in den geschilderten Erscheinungen sexuelle Vorgänge irgend welcher Art vor uns haben".

Man muss es dem Verfasser anrechnen, dass er sich nicht so ohne weiteres ganz fest auf seinen Standpunkt versteift, zumal ja doch die Beobachtungen immer als, wenn auch unter anderen Gesichtspunkten, richtige bestehen bleiben werden.

Schon im Jahre 1916 haben LÖHNIS und N.R. SMITH⁸¹ sich auch der Sexualitätstheorie zugewendet. Ich lasse die Ausführungen hierüber (da mir das Original nicht zugänglich) kurz in einem Teil aus einem Referat von MEYER⁸² folgen.

"Auf Grund der Untersuchung von 42 Bakterienstämmen kommen Verfasser zu dem Ergebnis, dass die Bakterien einen nicht weniger komplizierten Entwicklungszyklus durchmachen als andere Mikroorganismen.

Alle Bakterien kommen in einem organisierten und einem amorphen Stadium vor. Das letztere wird als symplastisches bezeichnet, da es durch vollständige Auflösung der Bakterienzelle oder durch Verschmelzung mehrerer Zellen entsteht.

Im ersteren Falle bleibt es leicht färbbar, während es im zweiten Falle seine Färbbarkeit verliert.

Die Entwicklung neuer Zellen aus dem Symplasma geht auf verschiedenen Wegen vor sich. Zunächst werden stets "regenerative Einheiten", kleinste Granula, sichtbar. Diese wachsen zu "regenerativen Körperchen" heran, aus denen Zellen von normaler Gestalt hervorgehen. In manchen Fällen bilden sich die regenerativen Körperchen wieder in das symplastische Stadium zurück.

Ausser der Symplasmabildung kommt noch eine andere Art von Wechselwirkung zwischen den plasmatischen Substanzen der Bakterien-Zellen vor, die in der direkten Vereinigung zweier oder mehrerer Einzelzellen besteht.

Alle Bakterien vermehren sich nicht nur durch Teilung, sondern auch durch Bildung von "Gonidien". Diese werden gewöhnlich zunächst regenerative Körperchen oder gelegentlich Exosporen. Bisweilen wachsen die Gonidien direkt zu voll ausgebildeten Zellen heran, doch können sie auch in das symplastische Stadium eintreten. Die Gonidien werden entweder frei durch Auflösung der Zellwand oder entwickeln sich innerhalb der Mutterzelle, wobei sie die Zellwand durchwachsen und zu Knospen oder Verzweigungen werden können.

Manche Gonidien passieren CHAMBERLAND-Filter. Sie bilden neue Bakterien, entweder direkt, oder nachdem sie ins symplastische Stadium eingetreten sind.

Der Entwicklungszyklus jeder Bakterienart setzt sich aus mehreren Urcyklen zusammen, die grosse morphologische und physiologische Differenzen zeigen. Sie sind unter einander durch das symplastische Stadium verbunden. Direkte Übergänge von einem Urcyklus zum anderen bilden die Ausnahme. Die Umwandlung sporenfreier in sporenbildende Bakterien scheint von Bedingungen abhängig zu sein, die auf das Symplasma und die regenerativen Körperchen einwirken".

Im Anschluss an diese Ausführungen wären die Beschreibungen von LÖHNIS⁸¹ aus dem Jahre 1921 zu berücksichtigen, die in der Hauptsache eine Ergänzung der Arbeit von 1916 darstellen. Auch diese Beobachtungen lasse ich in wesentlichen Teilen - da mir das Original nicht zugänglich - nach einem Referat von GILDEMEISTER⁸⁴ folgen:

"In jungen, in etwa 2 - 4 Tage alten Kulturen sind die mehr oder weniger gleichgestalteten Zellen meist im Zustande der Konjunktion anzutreffen, d.h. sie sind zu je zwei oder zu mehreren seitlich oder terminal vereinigt, und zwar entweder durch direkte Berührung oder durch Ausbildung von Schnabel- oder Brücken-förmi-

gen Verbindungsstücken. Weiterhin gelangen in den Bakterien-Zellen, je nach der Grösse 1 - 4 oder mehr, meist bewegliche Gonidien zur Entstehung, die entweder unmittelbar der Reproduktion dienen, oder die sich zu Regenerativkörpern, Arthro-, Exo- oder Endosporen entwickeln. Sie können Knospen und Zweige an der Mutterzelle bilden und sind befähigt, sich vegetativ durch Teilung oder Knospung zu vermehren, indem sie durch teilweise oder vollständige Auflösung der Zellwand in Freiheit gesetzt werden. Sie sind zum Teil so klein, dass sie Bakterien-Filter passieren und scheinen in dieser Form als filtrierbare Virus wirksam werden zu können. Mitunter vergrössern sich die gonidienbildenden Zellen zu Kugel-, Birnen-, Spindel- oder Schlauch-förmigen Gonidangien, aus denen entweder zahlreiche Gonidien hervorgehen, oder in deren Innerem neue vegetative Zellen heranwachsen können. Die Gonidangien selbst können sich vegetativ vermehren. Die fast immer kugelförmig gestalteten Regenerativkörper sind ebenfalls zu vegetativer Vermehrung durch Teilung oder Knospung befähigt. Zuweilen verharren sie Jahre hindurch in diesem Zustande und können dann als Mikrokokken angesprochen werden. Zum Teil entstehen sie als typische Zygo-sporen. Wie die vegetativen Zellen können auch Regenerativkörper und Sporen in Konjunktion treten. Brückenbildung ist in diesem Falle deutlich sichtbar. Vegetative Zellen und Gonidangien können sich encystieren. Die so entstehenden Mikrozysten stellen neben Arthro- und Endosporen Dauerzustände der Bakterien dar, die sämtlich später durch Teilung oder Streckung, im Falle encystierter Gonidangien auch durch Segmentation, neue vegetative Generationen entstehen lassen können. Sowohl vegetative Zellen wie Reproduktionsorgane der Bakterien können nach kürzerer oder längerer Zeit (in Kulturen gewöhnlich nach 2 - 3 Wochen) sich auflösen und durch Verschmelzung und Vermischung der plasmatischen Substanz Symplasma bilden. Dieses bleibt entweder amorph oder rundet sich zu einer Kugel ab, umgibt sich mit einer Membran und bildet so eine Makrocyste. Im Innern des Symplasma sind stets lebhaft Bewegungen wahrnehmbar; zuweilen werden auch amöboide Ortsveränderungen gesehen. Nach einiger Zeit treten im Symplasma kleinste Regenerativ-Einheiten auf, die entweder durch allmähliges Heranwachsen oder durch Vereinigung neue vegetative Zellen oder Regenerativkörper, mitunter auch sogleich wieder normale Sporen entstehen lassen. Grosse, gonidangienartige Gebilde sowie allerhand unregelmässige, verzweigte und fadenförmige Wuchsformen sind in diesem Stadium gleichfalls nicht selten. Entweder findet schliesslich eine allmähliche Rückkehr zur Ausgangsform statt, die deshalb in sehr alten Kulturen im Gefolge der sogenannten Involutionsformen angetroffen werden kann, oder die verschiedenartigen Wuchsformen vermehren sich als solche und führen so zu typisch pleomorphen Kulturen. Auch an den natürlichen Standorten der Bakterien kommt das Symplasma regelmässig zur Entstehung. Insbesondere kann es im infizierten Organismus eine sehr beachtenswerte Rolle spielen".

Auch ALMQUIST (1925) ⁸⁵ berichtet von diesen Arbeiten: Es sollen LÖHNIS und SMITH (1916) ⁸¹ dreimal bei *Bacillus fluorescens* und zweimal bei *Bac. subtilis* nach Filtrieren durch CHAMBERLAND-Filter kleinste Gonidangien filtriert haben, die dann in Ammoncitrat Wuchsveränderungen zeigten. Ihre Vermutung bezüglich des Auswachsens zu den Ausgangszellen stützte dann LÖHNIS in seiner Arbeit von 1921, wobei er schreibt: "Gonidien wachsen leicht zu neuen Zellen aus, solange sie noch in Verbindung mit den Mutterzellen bleiben, oder wenn ihnen abgestorbene oder sterbende Zellen von Pilzen oder Algen zugänglich sind. In gewöhnlichen Kulturmedien der Laboratorien geschieht es seltener".

Während LÖHNIS in seinen Ausführungen von einem "Symplasma"-Stadium spricht, bezeichnet dasselbe ALMQUIST (1925) ⁸⁵ in seinen Beobachtungen als "Bakterienplasmodium". Er schreibt den Bakterien im Kreislauf der Ontogenese einen ziemlich ausgedehnten Pleomorphismus und den pathogenen Bakterien zwecks Wiedergewinnung ihrer Virulenz sogar einen obligat saprophytischen Lebensabschnitt zu. Auch er ist Vertreter der Sexualitätstheorie: Er spricht nämlich bei den Sexualorganen von "Oosporien" und "Mikrokonidien" oder "Antheridiensporen", die zu feinen, körnigen Antheridien-schläuchen auswachsen.

Obwohl er eine Kopulation nicht beobachtet hat, erwähnt er doch "männliche Antheridien", die er "zweifelsohne oft in seinen Präparaten gesehen" hat. Ausserdem lässt sich ALMQUIST über haploide und diploide Kerne aus, die er aber eigentlich nur nach ihrer Dicke unterscheidet (!). Weiterhin lasse ich den Verfasser selbst sprechen.

"Das Plasmodium entwickelt sich bei manchen parasitischen Bakterien nach dem Wirtsverlassen schnell. Einige Arten fordern dafür niedrige Temperatur und trockene Nahrung. Dabei löst sich die feste Membran der Stäbchen auf; der Inhalt liegt mehr oder weniger formlos da und ballt sich manchmal zu kleinen Massen zusammen. Ein Teil geht als Kugel oder mehr formlose Bildungen durch die Membran hinaus". - Mehrere Stäbchen tragen an den Seiten Mikrokonidien."

Über die Plasmodien selbst sagt der Verfasser folgendes: "Ähnliche Kugelchen sind auch an der Oberfläche der grösseren Kugeln sichtbar. - Die feinsten keimenden Kugelchen halte ich für Antheridierschlümche. Zuletzt müssen wir beachten, dass einzelne Kugeln an der Seite ein Kugelchen tragen (vergl. S.), was ein Spriessen, vielleicht auch eine Kopulation bedeuten kann." Ausserdem weist ALMQUIST auch auf beobachtete Reduktionsteilung in den Sporangien (vergl. S.) und auf das Verschwinden der Membran hin. So sagt er auch u. a.: "Ich spreche von einem Zerfallen der Stäbchen in Körnchen oder Sporen." - In seinen "Schlussfolgerungen" sagt der Verf. folgendes: "Gewisse kleine spezialisierte Bakterien-Zellen können als selbständige Organismen weiterleben. In einigen Bakterien-Kulturen sind diese wenig bemerkbar und vielleicht nur nach der Isolation selbständig; in alten Chalerakulturen und in Typhuskulturen in Algenschlamm sind sie aber mehr oder weniger vorherrschend. Im menschlichen oder tierischen Körper scheint eine Isolation oder gar Selektion vor sich zu gehen. Aus derselben Art sind verschiedene filtrierbare Formen gewonnen worden. - Die filtrierbaren Formen können einen Entwicklungszyklus durchmachen und sogar sexuelle Organe erzeugen. - Ich betrachte die Entstehung der neuen filtrierbaren, konstanten Formen als Verlustmutation".

Dem Verfasser gelang es, "spezialisierte oder mutierte Bakterien-Zellen zu isolieren". So z.B. soll bei Typhusbakterien der Mutant *B. Typhi antityphosum* "ganz andere Morphologie und ganz andere Fähigkeiten" zeigen als die Mutterart. Der Verfasser macht darauf aufmerksam, dass die Rasse nicht als krank anzusehen wäre. "Sie macht einen ganzen Entwicklungszyklus mit Fruktifikation durch. Die isolierten Zellen erzeugen Oosporen und Antheridien etwa wie *Bacterium Typhi*. *B. antityphosum* muss also als sexuelle Art betrachtet werden".

Obwohl nun einige der filtrierbaren isolierten Formen, die Verfasser als "Verlustmutanten" bezeichnet, sich miteinander "kreuzen" liessen, und sich dann nach seiner Ansicht in der Mischkultur bewegliche Stäbchen bildeten, die dem Typhusstäbchen glichen, aber sich nicht völlig als *Bacterium Typhi* erwiesen, zumal sie immer weiter filtrierbare Formen produzierten, ist es dem Verfasser doch nie gelungen, aus diesen Formen wieder den Ausgangsstamm sich rückbilden zu sehen.

Als letzten Vertreter der Sexualitätstheorie möchte ich ENDERLEIN (1925) 68 anführen, der auf Grund seiner Forschungen zu einem bald einfachen, bald verwickelteren Formwechsel der Bakterienarten innerhalb ihrer Cyclogenie (Entwicklungskreislauf) gelangt.

Bevor ich kurz auf die "biologischen Begriffe" von ENDERLEIN eingehe, sei es mir gestattet, ein Motto, das der Autor selbst zitiert, an den Anfang zu setzen:

"Denn eben wo Begriffe fehlen, da stellt ein Wort zur rechten Zeit sich ein".

Von der Zelle mit einem Kern ("Mych"), den "Mychit" angefangen, über die Zelle mit zwei Urkernen ("Dimychit") = "Dimychose", zur Vereinigung zweier "Dimychose" zu einer Zelle ("Didimychit"), zur Vereinigung von einer grösseren Anzahl als zwei "Dimychose" zu einem Gebilde, dem "Sydimychit", das aus mehreren morphologischen Gruppen besteht, so "Ascit", "Synascit", "Pseudascit" und "Thecit" und den Unterabteilungen davon weiterlaufend, wieder, nachdem sämtliche Stadien erledigt, also nach einmaligem Ablauf der Cyklogenie, (einer "Cyklode") mit dem Mychit seinen Anfang nehmend, stellt dieses den Formenwechsel innerhalb dieses Entwicklungszyklus dar. Zum näheren Verständnis dieser Begriffsbildungen muss ich leider auf ein eingehendes Studium des ENDERLEIN'schen Werkes hinweisen, zumal eine Erläuterung dieser Begriffe einen grösseren Raum in Anspruch nehmen würde.

Zum vollständigen Entwicklungskreislauf (Cyklode) gehörig, ausser der "Monogonie" (der Teilung des Mychits) und der "Arthrogonie" (der vegetativen Vermehrung der Di-, Didi- und Syndimychite) noch die geschlechtliche Fortpflanzung (die mit der Bildung von "Goniten" aus den Mychiten durch Teilung des Mychs unter Degeneration des einen "Mychomers" (eines Teiles des Urkerns) beginnt, und dadurch, dass

sich aus den "Goniten" "Spermiten" und "Oiten" bilden, die mit einander kopulieren, fortgesetzt wird. Bei den Bakterien besteht nach Ansicht ENDERLEINS die Möglichkeit einer unbegrenzten vegetativen Vermehrung jedes Entwicklungsstadiums, sowohl der Mychite, wie der Dimychite u. s. w., ohne morphologische Veränderung ihrerseits, also unter Aufhebung eines Entwicklungsfortschrittes ("Probaenogenie") als sog. "Mochlose". Die "Mochlolyse", die Aufhebung der "Mochlose", unter Wiederkehr der fortschreitenden Entwicklungsfähigkeit im Sinne der Cyklogenie ist nur, wenn die äusseren Umstände es gestatten, möglich.

Aus den Ansichten des Verfassers will ich nur einige Punkte kurz zusammenfassen: Neben dem angeblichen Nachweis des "Bakterienkernes", dem Urkern als Mych, wäre noch beachten, dass der Verfasser bei allen Bakterienarten als grundlegende Form asexueller Fruktifikation die Gonidienbildung, wie sie z. B. bis jetzt u. a. bei *Crenothrix* beschrieben war, allgemein annimmt. Weiter wäre auf die Behauptung der sexuellen Fortpflanzung bei Bakterien aufmerksam zu machen, und ebenso auf die Annahme, dass das Sporit, das bis jetzt unter dem Namen Bakterienspore bei einem kleinen Teil der Bakterien bekannt war, als Sonderform der sogenannten "Oidienbildung" anzusehen ist.

Auf Grund dieser behandelten Sexualitätstheorie verschiedener Richtungen kann man nicht leugnen, dass hiermit wieder eine alte Anschauung der Bakteriologie im Grundprinzip zu neuer Theorie Anlass gegeben hat, zum Aufleben der Polymorphie-Theorie, den Pleomorphismus der Bakterien. ENDERLEIN selbst sagt ja in der Einführung zu seiner "Skizze" (man beachte: 24 Druckbogen!) wie folgt:

"So möge aus dem Staube vergangener Jahrzehnte ein neuer Vergleich morphologisch geklärt" (durch 8 Druckseiten vollkommen neuer Nomenklatur geklärt! ?) "Pleomorphismus erstehen, der die Mutationslehre und den Monocytismus in der Bakteriologie verdrängt und die Cyklogenie und den Pleocytismus an ihre Stelle setzt, damit die Bakteriologie aus dem Stadium der Erklärungsversuche in den Zustand absoluten biologisch-morphologischen Wissens eintrete".

Abgesehen von einigen Forschern ältester Zeit wie z. B. HALLIER (1867)⁸⁷ und anderen, die der Meinung waren, dass eine Bakterien-Species aus der anderen entstehen könnte, wären, wenn auch nicht in so krasser Weise, doch auch andere Forscher unter der Rubrik der Polymorphisten zu behandeln.

Nach ENDERLEIN⁸⁶ soll schon COHN (1870)⁸⁸ dadurch, dass er bei *Crenothrix* von "Gonidien" spricht, als Anhänger der Polymorphie anzusehen sein, eine Behauptung, die für COHN als den Begründer der Bakterien-Systematik wohl unter keinen Umständen zu Recht am Platze ist.

Bei der Beschreibung des *Bacterium rubescens* macht LANKESTER (1873)⁸⁹ auf eine Reihe verschiedener Wuchsformen dieser Form aufmerksam.

Ebenso wäre wohl auch LISTER (1873)⁹⁰, trotzdem er kaum unter sterilen Kautelen gearbeitet hat, bezüglich seiner Angabe über verschiedene Wuchsformen bei *Bacterium lactis* zu den Polymorphisten zu rechnen.

Weiter wäre nach ENDERLEIN⁸⁶ auch CIEBKOWSKI (1877) infolge seiner Ausführungen als Pleomorphist anzusprechen.

Von einer "labilen Formbeständigkeit bei Bakterien" spricht WEINREICH (1880)⁹¹.

PRAZMOWSKI (1880)⁹² weist auf den grossen Formenreichtum bei *Microspira rugula* und *Bacillus subtilis* hin, ebenso bei dem letzten auch BREFELD (1881)⁹³.

Bei *Bacillus Zoppi* ist KURTH (1883)⁹⁴ nun wieder als Polymorphist in weitestem Sinne zu nennen, weil es nach seiner Meinung nur wenige Arten von Bakterien gäbe, da die verschiedensten Arten und Gattungen in einander übergehen könnten.

Genau derselben Ansicht ist ZOPF (1883)⁹⁵, der kugelförmige Individuen, wie z. B. die Gattung *Micrococcus Cohn* als ontogenetische Entwicklungsformen morphologisch höher stehender Bakterien ansah, und aus diesem Grunde die Gattung *Micrococcus* nur als morphologisches Diagnostikum gebrauchte.

Dass es neben verhältnismässig einförmigen Arten auch pleomorphe geben könnte, betonte HUEPPE (1886)¹³, da nach seiner Meinung bei Spaltpflanzen, je höher sie im System ständen, dementsprechend auch in höherem Grade die Wahrscheinlichkeit bestände, dass in ihrer Ontogenese die phylogenetisch nicht so hoch stehenden Formenspecies nur als Wuchsformen entstehen könnten.

BUCHNER (1885)⁹⁶ sagt: "Die von vielen Bakteriologen bislang festgehaltene Theorie des Monomorphismus der Spaltpilze muss als überwundener Standpunkt definitiv aufgegeben werden".

Nach GASPERINI (1887)⁹⁷, der die Bakterien als degenerierte Pilze auffasst, sollen die Involutionsformen zwecks Erhaltung der Art das Bedürfnis der Bakterien darstellen, zu höher organisierten und darum ursprünglicheren Arten zurückkehren.

Ganz auf dem Gebiet des Pleomorphismus steht METSCHNIKOFF (1889)⁹⁸ bezüglich seiner Untersuchungen des *Spirobacillus* und des *Bacillus prodigiosus*. Er will Formveränderungen zwischen *Bacillus*, *Spirillum* und *Micrococcus* einwandfrei festgestellt haben.

Vertreter der Polymerphie vom ontogenetischen Standpunkt aus ist BILLET (1890)⁷³ bei Untersuchungen über *Sphaerotilus (Cladethrix) dichotoma* und einer grossen Anzahl anderer Arten.

Eine leise Andeutung als Vertreter des Polymorphismus macht MACCHIATTI (1899)⁹⁹, der zwei *Streptococcus*-Arten (?) beschreibt, die sowohl in Kokken, wie auch in Stäbchenform wachsen könnten.

Ausserdem wäre auch noch FUHRMANN (1907)¹⁰⁰ zu erwähnen, der an Hand seiner Untersuchungen über *Pseudomonas cerevisiae* und *Ps. myxogenes* sogar von Entwicklungsstadien spricht.

Als weitere Vertreter des Pleomorphismus, bedingt durch die von ihnen behauptete Sexualität der Bakterien, sind die schon erwähnten Forscher ENDERLEIN⁸⁶, LÖHNIS⁸³, SMITH⁸¹ und ALMQUIST⁸⁵ zu nennen.

Im Gegensatz zu den Poly- resp. Pleomorphismus der Bakterien stand die Anschauung der Monomorphisten, die zum Teil natürliche, auch morphologische Veränderungen beim Wachstum der Bakterien beobachtet hatten. Sie suchten für diese Erscheinungen eine Erklärung auf anderem Gebiet und kamen so zu der Mutation der Bakterien.

In dieser Richtung machte zum ersten Male WASSERZUG (1888)¹⁰¹ auf die Mutationserscheinung aufmerksam. Er züchtete auf saurem Nährboden die asporogene Form des Milzbrandbazillus, und diese Asporogenie erhielt sich auf modifizierten Nährböden vollkommen oder variierte doch nur sehr wenig. Verfasser nahm also hierbei, wie schon erwähnt, das Beibehalten einer erworbenen Eigenschaft oder Form, also Mutation an.

Von der grossen Anzahl anderer Forscher bezüglich der Annahme der Mutation will ich nur die folgenden drei Vertreter besonders nennen: WINOGRATZKI (1889)¹⁰², ebenso NEISSER (1906)¹⁰³ und MASSINI (1907)¹⁰⁴.

Wenn man alle diese Beobachtungen an sich vorbeiziehen sieht, so kann man nicht leugnen, dass eine ganze Anzahl von Forschern doch zu ähnlichen Ergebnissen gelangt ist.

Eine Sexualität, oder sagen wir vorsichtiger, die Verschmelzung von Lebewesen in den Bakterienkulturen, kann als gesichert betrachtet werden. Dagegen ist es garnicht sicher, ob diese geschlechtlichen Formen und "Körnchen" wirklich zum Entwicklungskreise der Bakterien selbst gehören. Den Gedankengang, der in ihnen die Parasiten, ihre Geschlechtszellen, ihre Sympiasmabildung, ihre Dauerformen sieht, ist ebenso richtig. Wie so häufig kann die Wahrheit in der Mitte liegen.

DIE PARASITEN DER BAKTERIEN.

Als einziger Forscher, der auf Grund von beobachteten Tatsachen die Annahme eines in den Bakterien auftretenden Parasiten vertritt, ist nur KUHN zu nennen. Im Jahre 1919¹⁰⁵ trat er zum ersten Male bezüglich seiner Beobachtungen in die Öffentlichkeit und - wurde nicht gehört. Als er dann, wohl zuletzt 1924¹⁰⁶ bei der zehnten Tagung der "Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie" in Göttingen in seinen Ausführungen bezüglich der "*Pettentoferia*-Formen" "Weitere Einblicke in die Entwicklung der A.-Formen" gab, wurde er, wie 1922¹⁰⁷, so auch hier wieder von GILDEMEISTER¹⁰⁸ nach seinen Ausführungen in der Diskussion ziemlich stark "beiseite geschoben".

Herr GILDEMEISTER scheint doch sonst für Neuerungen auf bakteriologischem Gebiet zu haben zu sein. Ich verweise nur auf sein schon zitiertes Referat über LÖHNIS' "Zur Morphologie und Biologie der Bakterien". Hier passieren doch eigentlich noch viel haarsträubendere Dinge wie bei KUHN. Und doch nimmt er alles als ziemlich si-

cher hin und spricht dabei von "einem weiten Arbeitsfeld, dessen Bearbeitung zahlreiche, bisher unlösbare Probleme der Lösung zuführen wird".

Sobald man die Sexualität der Bakterien nur "referiert", kann man auch nicht mit Recht den "Parasitismus" bei den Bakterien leugnen, wenn es auch nach KUHN "Zeit und Geduld erfordert, das Geheimnis der A-Formen zu entschleiern". Denn KUHN hat recht wenn er sagt: "Die A-Formen sind nicht tot, trotz GILDEMEISTER, sie leben!" Ja, sie leben und scheinen sogar selbst eine "Sexualität" zu haben.

Die Beobachtungen von LÖHNIS⁸³ scheinen auch mir wenigstens zum Teil richtig zu sein, nur kann man sie auch anders deuten. Nach GILDEMEISTER⁸⁴ wird es ja wohl wieder "für die angewandte Bakteriologie allerdings auch weiterhin in vielen Fällen genügen, wenn die jeweils in Betracht kommenden Formen als im wesentlichen konstant hingenommen werden".

Nach dieser kleinen Abschweifung möchte ich KUHNs Arbeit in kurzen Zügen streifen.

Nach KUHN¹⁰⁶, der sich hauptsächlich seiner Agarfixierungs-Methode, verbunden mit der GIEMSA-Färbung bedient hat, wachsen die Formen z.B. bei *Vibrio Metschnikoffi* "als kleinste rundliche Gebilde an oder in den Bakterien zu eckigen oder runden Formen heran. Dabei tritt Zerfall der Bakterien ein. - Die Formen vermehren sich durch Teilung, die bereits einsetzen kann, wenn von dem Bakterienleib noch Reste zu sehen sind. Meist sieht man Teilungsformen, ohne dass vom Bakterienleib noch etwas sichtbar ist. - Sie wachsen von einer bestimmten Grösse ab, auch ohne Zusammenhang mit den Bakterien und können eine stattliche Grösse erreichen. Diese Formen zeigen amöboide Bewegung und strecken Fortsätze der verschiedensten Art aus. Man sieht fingerförmige, spiessförmige und bandartige Fortsätze. - Das wichtigste Ergebnis ist, dass in manchen Kulturen nach gewisser Zeit je zwei Formen mit einander verschmelzen. - Die beiden Formen wachsen mit einander zu erstaunlicher Grösse heran."

"Die Luftballonformen wachsen zu grossen runden Säcken aus, die zerfallen, wobei die Licht-brechenden Körnchen frei werden."

Weiterhin macht der Verfasser auf ähnliche, bereits von einigen wenigen Forschern früher beschriebene Gebilde aufmerksam und auch auf die Ausführungen von LÖHNIS: "Auch alles, was LÖHNIS über Konjunktion, Gonidien, Gonidangien, Regenerativkörper, Mikrocyten und Makrocyten, Symplasma und Regenerativheiten bei Bakterien sagt, steht mit unseren Ergebnissen nicht im Einklang. Ich behalte mir vor, diese Verknüpfung einzelner Beobachtungen zu unhaltbaren Entwicklungsvorstellungen in einer späteren Arbeit zu behandeln".

Ausserdem möchte ich noch auf einen Passus von KUHN¹¹⁶ hinweisen: "Endlich ist das Auftreten der A-Formen von gewissen klimatischen Bedingungen abhängig, die wir trotz aller Bemühungen noch nicht aufgeklärt haben. Wir werden aber durch bestimmte Beobachtungen immer wieder veranlasst, die Jahreszeiten und das Wetter als Einflüsse zu beachten". Ich komme in meinen Beobachtungen hierauf zurück.

Unbeachtet wäre auch nicht zu lassen, was KUHN bezüglich der Klärung von Bouillon-Kulturen sagt. Es sollen nämlich die A-Formen durch ihr Auftreten zur Klärung und dementsprechender Bodensatzbildung beitragen.

Der Annahme, diese Gebilde als Entwicklungsformen von Bakterien zu betrachten, stehe die Tatsache gegenüber, dass es "trotz vieler Bemühungen" nicht möglich gewesen sei, die *Pettenkoferia*-Formen in Bakterien-Formen zurück zu führen, zumal trotz sorgfältiger Lebensbeobachtungen unter dem Mikroskop diese in dieser Beziehung zu keinem positiven Resultat geführt haben.

"Die Ergebnisse D'HERELLES und seiner Nachfolger" bezüglich der "Bakteriophagie" wären nur "als kleiner Ausschnitt des Gesamtproblems" zu betrachten.

Zusammenfassend äussert sich KUHN folgendermassen: "Es wäre denkbar, dass die *Pettenkoferia*-Form in Gestalt feinsten Sporen das Bakterium befällt, auf seine Kosten heranwächst und sich durch Teilung vermehrt. Bei den Luftballon-Formen muss man an geschlechtliche Formen denken, welche mit einander eine Verbindung eingehen, und aus denen sich wieder die kleinsten Anfangsformen entwickeln. Weitere Untersuchungen werden die Entscheidung bringen".

In seiner letzten Arbeit über dieses Problem, die mir kurz vor dem Druck meiner Ausführungen zugänglich wurde, betont KUHN (1926)^{106a} ausdrücklich, dass seiner

Meinung nach die Bakteriophagen die Urheber des D'HERELLESchen Phänomens, auf das ich in einem der nächsten Kapitel eingehe, wären. Er weist darauf unter anderem folgendermassen hin:

"Die lichtbrechenden Körnchen sieht man zahlreich an der Stelle solcher zerfallenen Formen noch als Körnchenhaufen liegen und beobachtet, dass benachbarte Bakterienkolonien zahlreiche Bakterien mit solchen Formen aufweisen. Viele Körnchen scheinen auch in den Bakterien zu sitzen. Ja näher die Bakterien den zerfallenen grossen Formen benachbart sind, desto mehr Körnchen weisen sie an oder in ihrem Leibe auf. Man beobachtet nun, dass solche kleinen Formen auf Kosten des Bakteriums wachsen; das letztere schwillt dabei an, wird aber schliesslich zerstört.- Manchmal kann man noch einen Rest in Gestalt eines dünnen Fädchens erkennen, allmählig ist aber nichts mehr von dem Bakterium zu sehen, und das Gebilde wächst selbständig weiter bis zu den Ausgangsformen. - Damit erscheint der Zyklus geschlossen.

Es handelt sich also um einen Mikroorganismus, der zusammen mit den Bakterien vorkommt: er befällt in Gestalt filtrierbarer Keime die Bakterien, auf deren Kosten er heranwächst. Er vermehrt sich durch Teilung; die feinen Vermehrungsstadien entstehen aus einer Kopulation. Während ich früher die Frage offen gelassen habe, ob es sich bei den A-Formen um Entwicklungsformen der Bakterien, oder ob es sich um ein selbständiges Lebewesen handelt, bin ich jetzt nicht mehr imstande, die erste Möglichkeit zuzugeben.

Denn einmal haben sich alle Versuche, das Entstehen von Bakterien aus den Körnchen zu beobachten, als unmöglich erwiesen. Sodann konnte bis ins einzelne verfolgt werden, dass diese Formen das D'HERELLESche Phänomen der Bakterienvernichtung durch Stuhlfiltrate hervorgerufen. Es gelingt auf dem Grunde der Löcher in Bakterien-Kulturen alle die Formen nachzuweisen. In Löchern, aus denen man wieder wirksame Filtrate gewinnt, kann man die Sporen massenhaft nachweisen. Der HERELLE-Forscher, der mit einer Öse das D'HERELLESche Virus aus einem Loche abimpft, überträgt eine Unzahl von Körnchen, welche die Bakterien befallen und auf die beschriebene Weise vernichten. Ich betone aber, dass alle durch zahlreiche D'HERELLE-Forscher übereinstimmend berichteten Ergebnisse völlig ungezwungen durch unsere Entdeckung erklärt werden".

Zu gleicher Zeit mit mir, vollkommen unabhängig von einander, hat KUHN auf Grund seiner Forschungen im Prinzip genau dasselbe ausgesprochen, was auch mir meine Beobachtungen zeigten.

Die Parasiten-Theorie und das bei der Bakteriophagie zu behandelnde D'HERELLESche Phänomen haben sich demnach im Prinzip als zusammengehörig erwiesen.

Nachdem wir die KUHNschen Gedankengänge eines Parasitismus abgehandelt haben, wollen wir eine weitere Erklärung dieser so sonderbaren Gebilde berücksichtigen.

DIE INVOLUTIONSFORMEN-THEORIE.

Auf eine mikro-photographische Aufnahme, die ROBERT KOCH im Jahre 1877 gemacht hat, deutet ALMQUIST ⁸⁵ (1925) mit folgenden Worten hin: "Wir sehen feine exogene Kügelchen und auch gröbere geschwollene Teile der Stäbchen". Also, kaum ein Jahr, nachdem FERDINAND COHN (1876)¹¹² die Sporenbildung bei Bakterien beschrieben hatte, schenkte man diesen Erscheinungen schon solche Aufmerksamkeit, dass man sie des Photographierens für würdig hielt, doch unterliess man damals noch jede Deutung dieser Beobachtung. Aber nicht lange danach ging man daran, diese merkwürdigen Formen als durch besondere Faktoren hervorgerufen zu betrachten.

In ihrem Aussehen ausserordentlich verschiedenartig fand wie BUCHNER (1885)⁹⁶, so auch GRUBER (1885)¹¹³ die Bakterien bei einzelnen Kulturen des Choleraerregers. Sie sprachen diese Erscheinungen als pathologische Wuchsformen an. Infolge der schwachen oder fehlenden Färbungsfähigkeit der "Spindel-, Monaden-, Flaschen- und kugeligen Formen" kam BUCHNER ⁹⁶ zu der Annahme eines pathologischen Zustandes der Bakterien.

WEIBEL (1888)¹¹⁴ weist beim Cholera-Erreger auf "Missformen und degenerierte tote Produkte" hin; er glaubt allerdings in einigen Bakterien, "welche in ihrem Aussehen an Sporen erinnern, die Produkte einer fehlgeschlagenen Fruktifikation, gleichsam taube Sporen zu sehen".

Bei einer nicht sporenbildenden Form des Milzbranderreger führt BEHRING 115 (1889) diese Eigenschaft auf Degeneration zurück, sodass bei 37° C sehr schnell "Involutionsformen" auftreten (vergl. S. 68).

Von einem Zerfallen zu kugelförmigen Gebilden bei *Spirillum undula* spricht ZETTINOW 45 (1897) und führt dieses als Absterbe-Erscheinungen an.

Ebenso deutet LAFAR 116 (1897) von der üblichen Gestalt stark abweichende Involutionsformen.

Zerfallende "Schläuche und Fäden" bei *Bacterium coli* und dem Typhusbacillus bespricht WAGNER 47 (1898).

Eine asporogene Form des Milzbrandbasillus beschreibt auch A. FISCHER 2) (1897) als durch Degeneration hervorgerufen.

Die in alten Kulturen von *Bacterium pestis* auftretenden langen Fadenbildungen rechnet GALLI-VALLERIO 117 (1900) auch unter die Rubrik der Involutionsformen. Involutionsformen ("teratologische Formen") glaubt MAASSEN 118 (1904) für diagnostische Zwecke verwenden zu können.

Ob die beim Diphtherie-Erreger auftretenden Gabelbildungen, die ABBOTT und GILDERSLERWE 119 (1904) als Involution oder Degeneration angesehen haben, als solche zu Recht besteht, ist einwandfrei nicht festgestellt.

Die beim Cholera-Erreger auftretenden "sichtbar leeren Kugeln" sieht ALMQUIST (1904)¹²⁰ noch als Degenerations-Erscheinungen an.

Ebenso hat HEIM (1906)¹²¹ auch Beobachtungen von runden Kugelchen beim Cholera-Erreger als Untergangs- oder Degenerations-Formen angesprochen.

Selbst in relativ neuerer Zeit beschreibt GÜNTHER (1906)¹²² derartige Erscheinung recht eingehend als "Involutionsformen" wie folgt: "Wir sehen dann an den Bakterienzellen zunächst sogenannte Absterbe-Erscheinungen, Involutions-Erscheinungen auftreten. Die Zellen blähen sich auf, werden voluminöser, Missbildungen, Schnörkelformen der mannigfachsten Gestaltung bilden sich aus, das Protoplasma durchsetzt sich mit "Vakuolen"; verliert seine normalen chemischen Eigenschaften (z.B. färbt sich lückenhaft und schlecht mit Anilinfarbstoff), die Kontur der Zellen wird undeutlicher, und dann sind die Zellen nicht mehr fähig, sich weiter zu vermehren, selbst wenn sie auf frischen Nährböden übertragen werden: sie sind abgestorben".

Und weiter sagt derselbe Verfasser über eine Aufnahme: "Die übrigen in dem Bilde vorhandenen, blassen oder kaum gefärbten kleinen Körnchen, Kugelchen etc. stellen die degenerierten Residuen der alten Kultur dar".

Ja, selbst in allerneuester Zeit berichtet man, so SABELLA 123 (1925) bei *Bacterium erysipalatos sui*, noch immer wieder von Involutionsformen als Tatsache, ohne aber eine andere Deutung zu haben als die der Degeneration.

Lange Jahrzehnte hindurch bis in die neueste Zeit hinein haben wir gesehen, dass die verschiedensten Bakteriologen wohl immer die Involutionsformen der Bakterien als Absterbe-Erscheinungen hingenommen, aber sie im grossen und ganzen dann auch immer als solche vernachlässigt haben. Treffend sagt ALMQUIST 85 (1925) darüber: "Auffallend ist auch der Gebrauch der Namen Involution und Degeneration. Damit werden wohl alle diejenigen neuen Bakterienformen bezeichnet, die nach Ansicht des Verfassers ohne Nachprüfung und ohne Kritik abgefertigt werden können".

Wenn wir diese oft merkwürdigen Umgestaltungen der Bakterien-Zellen betrachten, so kann uns die wiederholte Aussage, es sei eine "Degenerations-Erscheinung" nicht befriedigen. Sollte diese "Degeneration" zu Recht bestehen, so müssten die Bakterien längst ausgestorben sein, weil ja keine Verjüngung, keine Sexualität vorhanden ist. Es ist daher in hohem Masse verständlich, dass immer wieder nach einer Sexualität gesucht wird, welche diese Verjüngung hervorruft. Aber es sind uns in der Lebewelt eine ganze Reihe von Formen bekannt, welche die Sexualität verloren haben und demnach ohne die durch sie bedingte Verjüngung kräftig gedeihen und wachsen. Ja, es sind darunter Pflanzen wie *Elodea* und Mucorineen, denen es nur an dem geeigneten Partner fehlt, und trotzdem vermehren sie sich ungeschwächt rein vegetativ. Wir haben im Laufe unserer Betrachtungen die Gedankengänge kennen gelernt, welche eine Infektion durch Parasiten wahrscheinlich gemacht haben. Ungezwungen lässt sich ein Teil der "Involutions-Formen" als die Gestalt der Parasiten erkennen. Aber es bleibt noch eine Anzahl von Erscheinungen, die sich nicht auf

diesem Wege erklären lassen.

Verhältnismässig einfach gelingt das bei den sogenannten "Bakterien-Schatten". Es sind nichts weiter als leere, ausgefressene Bakterienleiber. Daneben aber können die Bakterien unter Bildung von "Riesenzellen" und "dergleichen gallenartigen Formen" auf diese "Infektion" reagieren. Solche Erscheinungen sind somit wirkliche "Involutionsformen", aber nicht hervorgerufen durch einen hypothetischen Degenerationsvorgang, sondern durch Reaktion auf parasitäre Infektionserreger.

War die Betrachtung der "Involutions-Theorie" nur scheinbar etwas Neues, und stellte sich bei genauem Hinsehen gerade dieser Vorgang als eine Stütze für die "Parasitismus-Theorie" heraus, so ist das in noch höherem Masse für die Phänomene der "Bakteriophagie" der Fall.

DIE BAKTERIOPHAGEN-THEORIE.

Während die sogenannte "Bakteriolyse" bei den Bakterien in der Annahme, dass sie durch fermentative autolysierende Prozesse hervorgerufen würde, vom Ende des vorigen Jahrhunderts an bekannt war, trat D'HERELLE (1917) ¹⁴⁵ dieser Ansicht entgegen, indem er behauptete, diese lytische Wirkung der Bakterien-Filtrate werde durch kleinste subvisible Lebewesen, durch das sogenannte "*Bacteriophagum intestinale*" hervorgerufen, und gründete nun eine neue Forschungsrichtung, "die Bakteriophagie".

D'HERELLE, der die Faeces von Dysenterie-Kranken untersuchte, gewann aus dünnflüssigen Dejekten von Ruhrkranken nach Filtration durch Bakterien-dichte Filter wachstumshemmende und bakterienauflösende Filtrate. Die Erscheinung der "Bakteriophagie" liess sich dadurch steigern, dass er die zu verwendenden Faeces 24 Stunden vorher bei 37° C bebrütete und dann filtrierte.

Setzte er nun zu 1 ccm dieses Filtrats einen Tropfen einer 24 Stunden alten Bouillonkultur oder eine Spur einer jungen Plattenkultur eines Bakteriums, so trat bei dem durch die Beimpfung getrübbten Filtrat, wenn es zuerst 12 - 18 Stunden bei 22° C gestanden hatte, ein Klarwerden des Kulturöhrchens auf. Dieses führte D'HERELLE auf subvisible Lebewesen zurück, zumal seiner Ansicht nach sich die Erscheinung serienweise weiterführen liess. Ausserdem konnte auch eine Vermehrung des wirksamen Lysins eintreten, selbst in äusserst starken Verdünnungen.

Eine Stütze für seine Bakteriophagen-Lebewesen sah D'HERELLE in der Zerstörbarkeit der Bakteriophagen-Wirkung bei einer Temperatur von über 65° C. Durch Auftropfen eines winzigen Tropfens des bei normaler Temperatur gehaltenen Lysins auf Kulturplatten gelang es ihm in den Kulturen an den betreffenden Stellen das Wachstum der Bakterien auszuschalten. Es traten helle Flecke in den Kulturen auf, die sogen. "tâches vierges".

Obwohl D'HERELLE von der Richtigkeit seiner Annahme, diese Erscheinung auf Lebewesen zurückzuführen, voll und ganz überzeugt war, konnte er sie doch nicht beweisen. Er sprach die Vermutung aus, dass es sich um Endoparasiten der Bakterien handeln könne.

Da also dem Autor selbst die Möglichkeit für einen definitiven Entscheid in dieser Richtung fehlte, haben sich dann die verschiedensten Forscher über dies Gebiet ausgelassen.

Bis in die allerneueste Zeit stehen sich noch immer zwei Richtungen gegenüber: einerseits die Ansicht, dass es sich um Lebewesen, andererseits, dass es sich um Fermente handle.

Trotz den vielseitigen Untersuchungen ist man bis zum heutigen Tage zu keinem in dieser Frage entscheidendem Ergebnis gekommen.

Wie hoch aktuell dieses Problem geworden ist, zeigt die nachstehende aufgeführte Zahl von Autoren. Aber keiner kann mit definitiver Sicherheit in seiner Arbeit den Beweis erbringen, welche von den beiden Anschauungen zu Recht besteht.

Es sei mir gestattet, die Namen der Forscher aus der neuesten Zeit hier niederzulegen. Auf die einzelnen Arbeiten selbst näher einzugehen, wäre infolge der Fülle des Materials an dieser Stelle nicht angebracht, zumal sie ja allesamt kein endgiltiges Resultat in der Frage Lebewesen oder Ferment eröffnet haben und augenblicklich sich noch ganz dieselben Meinungsverschiedenheiten vorfinden, wie zu An-

fang der Forschungsrichtung.

Ausgesprochene Anhänger der Ferment-Theorie sind:

OTTO, MÜNTER und WINKLER (1922)¹²⁴; GILDEMEISTER (1923)¹²⁵; GILDEMEISTER und HERZBERG (1925)¹³⁷; SEIFFERT (1923)¹²⁷; NAKASHIMA (1925)¹⁴⁰; PFALZ (1927)¹⁵².

Vertreter der Annahme, dass die Bakteriophagen Lebewesen seien, sind:

D'HERELLE (1925)¹⁴⁵; PRAUSNITZ (1923)¹²⁶; PRAUSNITZ und FIRLE (1924)^{126a}, FLU (1923)¹²⁸⁻¹²⁹; JANZEN u. WOLFF 1923¹³⁰; MEISSNER (1924)¹³¹⁻¹³³; REICHERT (1924)¹³⁴; GEHRKE (1925)¹⁴¹; GOZONY und SURANYI (1925)¹⁴²; SCHUURMANN (1925)¹⁴³; KUHN (1926)^{106a}.

In ihren Arbeiten verhalten sich in der Frage, ob Lebewesen oder Ferment, folgende Forscher indifferent:

TAKIMA MATSUMOTO (1924)¹³⁵; TORAHIKO IKOMA (1924)¹³⁶; LISCH (1925)¹³⁸; HODER (1925)¹³⁹; HODER und KIYOSHI SUZUKI (1926)¹⁴⁷; HODER und BREINL (1925)¹⁴⁴; SONNENSCHHEIN (1926)¹⁴⁶; MANNINGER (1926)¹⁴⁹; K. KOCH (1926)¹⁴⁸; VAN LOGHEM (1926)¹⁵⁰; DIMITZA (1927)¹⁵¹; ZDANSKY (1927)¹⁵³.

Die Erscheinungen der "Bakteriophagie" sind ein sicherer Beweis dafür, dass es sich bei unseren zu behandelnden "Körnchen" nicht um Sexualorgane der Bakterien handeln kann. Es ist nicht einzusehen, warum die Bakterien als Lebewesen ausgerechnet vor einem Sexualakte absterben sollen. Man beobachtet doch bei der Sexualität eine überquellende Lebensregung und keinen Tod. Wenn man auch für die Sexualität ins Feld führen kann, dass eine Unzahl von Geschlechtszellen abstirbt, ohne ihr Ziel zu erreichen, so ist es doch widersprechend, dass nur eine so verschwindend kleine Zahl oder in manchen Fällen überhaupt gar keine Bakterien-Zelle den Sexualakt lebendig überstehen soll. Das Zusammentreffen der Körnchenbildung mit den Erscheinungen der "Bakteriophagie" ist wohl über allen Zweifel erwiesen.

Die "Bakteriophagie" wird von vielen Seiten auf einen rein fermentativen Vorgang zurückgeführt. Dass an dem Auflösen der Bakterien-Zellen Fermente beteiligt sind, dürfte wohl keinem Zweifel unterliegen. Aber was erzeugt denn die auflösenden Fermente? Will man den rein fermentativen Prozess retten, so muss man die mysteriösen Degenerationsprozesse zu Hilfe nehmen. Aber wozu denn das?

Ist nur die Morphologie des Vorganges ein Zeichen für die Gegenwart eines zwar unendlich kleinen, aber doch in späteren Entwicklungsformen deutlich sichtbaren Lebewesens? Der Prozess der Auflösung ist fermentativ, aber die Fermente entstehen nicht durch sonderbare Degenerationsprozesse, sondern durch parasitäre Lebewesen.

Wir können nicht umhin, in der "Bakteriophagie" einen Beweis für die "Parasitentheorie" zu sehen.

Fassen wir unsere Gedankengänge zusammen, so können wir sagen: die "ansteckenden Körnchen" sind die "Endoparasiten" der Bakterien. Sie vermehren sich im Körper der Bakterien, gehen aus ihnen ins Erbe und stecken von neuem Bakterien an.

Neben diesem vegetativen Entwicklungskreis läuft ein generativer: Es werden im Innern der befallenen Zellen kleine männliche und grössere weibliche "Gameten" des Parasiten erzeugt. Die Geschlechtszellen verschmelzen gegenseitig und darauf mit ebensolchen Gebilden. Es entsteht so ein plasmodienähnliches Gebilde. Nach einer Encystierung desselben und einiger Ruhe wird die Wand der "Cyste" gelöst. Das angeschwollene Gebilde zerfällt in kleine "Infektionskeime".

Damit ist auch der zweite Kreislauf geschlossen.

Diese auf die "Myxomyceten" oder besser gesagt "Mycetozoen" hinweisenden Gedankengänge bedürfen eines genauen morphologischen Beweises. Dessen sind wir uns voll bewusst.

Ob auch die rätselhaften Myxobakterien in den Kreis der hier zu besprechenden Erscheinungen gehören, sei zunächst dahingestellt. Auch ihre Zoogloen könnten aus heterogenen Organismen zusammengesetzt sein und Symbiosen darstellen.

Wir haben im Verlaufe unserer Betrachtungen eine ganze Fülle von widersprechenden oder, sagen wir vielleicht richtiger, in Widerspruch gesetzten Ausdeutungen von Experimenten und Beobachtungen an alternden Bakterien-Kulturen und verwandten Erscheinungen an uns vorüber ziehen sehen.

Was ist nun an den Beobachtungen Tatsache? Was ist hineingesehen und hineinge-deutet? Bevor wir nur im geringsten irgend eine Stellung zu diesen wichtigen Pro-

blemen nehmen können, müssen wir die Tatsachen nachuntersuchen.

PRAKTISCHER TEIL.

Die anfänglich zu den Untersuchungen verwendeten Kulturen stammten von in der Längsaxe in Scheiben geschnittenen drei Minuten abgekochten gelben Möhren, die bei einer Zimmertemperatur von ca. 18° C. in sterilen Petrischalen gehalten wurden. Nach drei Tagen zeigte sich ein Wachstum, sowohl am Rande wie auch auf den Schnittflächen der Möhrenscheiben von weissem, schleimigem, undurchsichtigem Aussehen und anfänglich runder Gestalt der Kulturen, die sich aber im Laufe der Zeit veränderte. Nach acht Tagen trat ein Zerfliessen der Kulturen auf. Es handelte sich nach näherer Bestimmung um den *Bacillus mesentericus vulgaris*. Von einer dieser erwähnten Kulturen mittlerer Grösse wurde in Pepton-Fleischwasser-Bouillon nach sechstägigem Wachstum übertragen und hiervon drei Ausgussverdünnungen in Traubenzucker-Gelatine gemacht, um zu tatsächlichen Reinkulturen zu gelangen. Die Platten wurden bei 28° C gehalten. Am vierten Tage zeigte sich auf der ersten Verdünnungsplatte eine Anzahl einheitlicher Kulturen, während die zweite und dritte Verdünnungsplatte überhaupt kein sichtbares Wachstum aufwies und als steril vernachlässigt wurde. Von einer Kultur der ersten Verdünnungsplatte wurde nun die Menge einer Platinöse im Anfangsstadium des Wachstums in Pepton-Fleischwasser-Bouillon überimpft. Das in sechs Röhrchen, die mit je einer Öse beimpft waren, auftretende Wachstum bei 28° C wurde sechs Wochen lang beobachtet. Bis zur Mitte der vierten Woche zeigte sich in der Hauptsache am Grunde der Bouillon ein sowohl mikro- wie auch makroskopisch normal verlaufendes, zunehmendes Wachstum einer voluminösen, weissen Kultur. Von dem oben erwähnten Zeitpunkt ab gingen die Kulturen mehr oder weniger gleichmässig nach makroskopischer Beobachtung zu schliessen, in ihrem Wachstum zurück, und mikroskopisch beobachtet zeigten sich nach Flammenfixierung und gewöhnlicher Methylenblau- oder Fuchsin-Färbung die altbekannten "Zerfalls- und Involutionsformen" der Bakterien. In der dritten Woche der Wachstumsperiode der Bouillon-Kultur wurden von der also makroskopisch scheinbar noch ganz normal wachsenden Kultur auf 16 sterile Traubenzucker-Agar-Platten mit DRIGALSKI-Spatel Ausstriche gemacht und die Platten bei 28° C gehalten. Von ihnen sollten dann vom nächsten Tage ab Kontrollproben entnommen werden.

Traubenzucker-Agar-Zusammensetzung nach ARTHUR MEYER, Praktikum der botanischen Bakterienkunde:

6 g Pepton, 4 g Liebigs Fleischextrakt, 1 g NaCl, 500 g H₂O, 8 g Agar, 5 g Traubenzucker.

Bis zum Ende der Proben-Entnahme zeigten sämtliche Platten ein kaum sichtbares Wachstum. Es waren nur kleinste, helle, durchsichtige Tröpfchen auf den Platten in der Richtung der Ausstrichzone sichtbar, die zwar mit dem Oberflächen-Mikroskop untersucht, aber infolge technisch nicht stark genug zu verwendender Vergrösserung nicht genügend identifiziert werden konnten. In der Hauptsache wurden diese Stellen bei der Probenentnahme berücksichtigt. Hierbei wurde nach der KUEHNschen Agarfixierungsmethode gearbeitet unter Zuhilfenahme der GIEMSA-Färbung.

Fixierungs- und Färbe-Gang:

10 - 15 Min. K₂Cr₂O₇ + C₂H₂O₂ (100 ccm H₂O + 3 g K₂Cr₂O₇ + 5 ccm C₂H₂O₂)

30 Minuten: 75% C₂H₅OH 50% C₂H₅OH 25% C₂H₅O 15% C₂H₅OH

12 Stunden Antrocknen in feuchter Kammer.

30 Minuten 15% C₂H₅OH

30 Minuten 10% C₂H₅OH

Agar ablösen

60

"

"

in H₂O wässern.

24 Stunden dann feucht in GIEMSA-Lösung (12 Tropfen G.L. auf 25 ccm H₂O + 2 Tropfen 1% K₂CO₃-Lösung) nach 1 Stunde G.L. wechseln, dann ganz kurz durchführen durch: Aceton, Aceton-Xylol (zu gleichen Teilen), Xylol, Canadabalsam.

Es wurden nun von den 16 Platten Präparate gefertigt, und zwar von dem Zeitpunkt der Impfung an bis zur ersten Probeabnahme im Abstand von 8 Stunden, daran anschliessend mit sechstündiger Unterbrechung bis zur zehnten Platte, und von dieser bis zur

letzten Platte in zehnstündigem Abstand.

Sämtliche Präparate wurden nach Fertigstellung eingehend mikroskopisch durchmustert, und in sämtlichen Präparaten Bakterien, meistens in an einander liegenden Zellverbänden gefunden. Während die Differenzierung der Bakterien und ihrer Einschlüsse bei der Beobachtung im durchfallendem Licht eine ziemlich schwierige ist, kommt man bei der Beobachtung der gefärbten Präparate im Dunkelfeld zu viel deutlicheren Bildern, die sich bezüglich ihres Farbenkontrastes noch besonders auszeichnen. Der Unterschied der beiden Beobachtungsmethoden tritt besonders in hergestellten Farbenphotographien eindeutig hervor. Teils zeigten die gefärbten Bakterien ein vollkommen normales Aussehen, waren also durchgehend hellblau gefärbt (im Dunkelfeld: purpurfarben), während zwischen den normalen aber auch in grosser Zahl solche lagen, die in ihrem Innern kleinere resp. grössere, rundliche Gebilde von dunkelvioletter Farbe auswiesen, im Dunkelfeld von gelblicher bis zu tief blauer Farbe. Die gelblichen bis tief blauen Körnchen, die bis zu 8 Stück in einer Bakterienzelle beobachtet wurden, konnten sowohl als Vakuolen, wie auch als Einlagerungen anderen Charakters zu betrachten sein, während die dunkleren, kleinen Körnchen, die auch sehr oft ausserhalb der Bakterien-Zelle von ihr entfernt oder dicht an der Membran lagen, und ebenso auch ausserhalb der Bakterien den Durchmesser der Bakterien weit übertreffende, runde bis ovale Gebilde, von anderen Gesichtspunkten betrachtet werden mussten, zumal ja der Verdacht nahe lag, dass durch Einlagerungen irgend welcher Substanzen im Agar solche Bilder verursacht wurden, und daraus falsche Schlüsse gezogen werden konnten.

Die KUHNsche Agarfixierungs-Methode erwies sich also wohl für die lebenswahre morphologische Betrachtung der toten Bakterien an sich als unbedingt über allen anderen Fixierungsmethoden stehend, aber aus den obigen Gründen nicht als vollkommen zureichend für die Schlüsse, die aus den Beobachtungen gezogen werden sollten.

Im Gegensatz zu den oben erwähnten negativen (makroskopisch nicht sichtbaren) Kulturerfolgen sei folgende Versuchsbeobachtung auch näher betrachtet.

Von einer anderen Kultur der auf den oben erwähnten Mähren wachsenden Bakterien wurde nach fünftägigem Wachstum auf zwei Traubenzucker-Agar-Schräg-Röhrchen übergeimpft und die Kulturen bei 28° C gehalten. Es trat hier nach zwei Tagen ein gut sichtbares Wachstum auf. Zwei Wochen wurden dann die Kulturen bei 28° C gehalten, dann auf Traubenzucker-Agar-Platten übergeimpft. Darauf liess man bis in die 6. Woche bei Zimmertemperatur von 18° C wachsen, wobei sich ein immer mehr zunehmendes Wachstum zeigte.

Trotz der vorher und hier erwähnten vollkommen entgegengesetzten Wachstumsergebnisse möchte ich bemerken, dass es sich auch hier um *Bacillus mesentericus* wie oben handelte. Nur ein Unterschied bestand bei eingehender mikroskopischer Prüfung: bei der Wachstumsprüfung der letzten Wachstumsperiode waren nur sehr wenige Zerfalls- und Involutionsformen zu bemerken. Ja, impfte man von einer dieser 6 Wochen alten Kultur auf Traubenzucker-Gelatine-Platten über, so zeigte sich am 5. Tage ein über die ganze Ausstrichsfläche verlaufendes, gut sichtbares Wachstum. Ausserdem trat auch gutes Wachstum in Stichkulturen von Traubenzucker-Gelatine unter allmählicher Verflüssigung der Gelatine auf. Nach ca. 2 Wochen Wachstum wurde von einer dieser verflüssigten Traubenzucker-Gelatine-Kulturen in Pept.-Fleischw.-Bouillon geimpft, die anfänglich ein gutes Wachstum zeigte, doch nach ca. 8 Tagen begann sich die Bouillon plötzlich zu klären. Die Klärung ging ziemlich schnell vorwärts, sodass nach abermals 8 Tagen über dem jetzt auftretenden Bodensatz die Bouillon vollkommen klar geworden war. Es waren demnach bei zwei ja doch schliesslich unter denselben Versuchsbedingungen durchgeführten Kulturperioden anfänglich ganz entgegengesetzte Resultate herausgekommen. Erst viel später wie bei der ersten Kultur-Folge trat bei der zweiten der Ausfall des Bakterien-Wachstums auf. Es musste also die erste Kultur durch ein stärker oder früher auftretendes Wachstum-herabsetzendes Agens geschädigt sein. Da nun diese Schädigung des Wachstums der zweiten Kultur mit dem Auftreten der im Innern der Bakterien vorhandenen kleinen Körnchen zusammenfiel, lag der Verdacht nahe, dass dieses der wachstumsschädigende Faktor sein könnte, wenn diese Körnchen nicht Ein- oder Auflagerungen des Agars waren, von dem diese Präparate gefertigt wurden.

Da die Beobachtung der in den Präparaten abgetöteten Bakterien aus den vorher

angeführten Gründen zu keinem tatsächlichen Schluss führen konnte, ging ich zur Beobachtung der lebenden Bakterien über. Da nun aber bei den lebenden ungefärbten Bakterien im durchfallenden Lichte die Differenzierung der inner- und ausserhalb der Zellen liegenden kleinen Gebilde vollkommen versagte, musste ich die Lebend-Beobachtung im Dunkelfeld in Angriff nehmen.

Es wurde nun von einer der vorher erwähnten stark verflüssigten, ca 2 1/2 Wochen alten Pepton-Fleischw.-Gel.-Kultur eine Aufschwemmung in physiologischer NaCl-Lösung hergestellt und im Dunkelfeld bei *Bacillus mesentericus* folgende Beobachtung gemacht:

Es traten ausserhalb der teilweise verhältnismässig langsam sich bewegenden, einzelnen, teilweise in Bacillenfäden träge daliegenden Bakterien ganz kleine bewegliche Körnchen auf, die ihre Bewegung höchstwahrscheinlich einer Begeisselung verdanken; ausserdem wurden auch Körnchen genau derselben Grösse innerhalb der Bakterienzellen beobachtet, und zwar von einem bis zu vier (siehe Aufn. 1) Stück in einem lebenden Bakterium. Es wurden die kleinen Gebilde, sowohl ausserhalb an der Membran des Bacillus, wie auch schon erwähnt, in der Bakterien-Zelle selbst festgestellt. Zu bemerken war weiter, dass die Bakterien-Membran, die bei völlig intakter Zelle sonst im Dunkelfeld ein starkes Lichtbrechungsvermögen zeigt, dieses bei Zellen, in denen die Körnchen auftraten, in erheblich geringerem Masse aufwies (siehe Aufn. 2), sodass die Bakterien ein fahles, blasses Aussehen hatten, und wir es hier wohl mit den sogenannten "Bakt.-Schatten" zu tun haben (siehe Aufnahme 2, 8, 10). Denn betrachtet man solche "Schatten" in durchfallendem Lichte, so sieht man bei bestmöglicher Beleuchtungstechnik (wobei Kondensor-Höhe, Blendenöffnung und Strahlengang im Kondensator eine grosse Rolle spielen - schiefe Beleuchtung -) nur noch die Einlagerungen der Zelle, aber nichts mehr von der eigentlichen Membran. Im Dunkelfeld wurde auch ein fast völliges Verschwinden der Bakterien-Membran, wahrscheinlich bedingt durch Zerstörungsprodukte der kleinen (Infektions?-) Gebilde, festgestellt (siehe Aufnahme 2). Ausserdem wurden auch ausserhalb der Bakterien sich lebhaft bewegende grössere, rundliche Gebilde beobachtet, die ein stärkeres Lichtbrechungsvermögen aufwiesen, während andere, wesentlich grössere Körper meist rundlicher Gestalt, nicht so stark lichtbrechend, im langsamer, scheinbar sich überkugelnder Bewegung angetroffen wurden.

Um die Möglichkeit auszuschalten, dass es sich bei den oben gemachten Beobachtungen um in Molekularbewegung befindliche Substanzteilchen der Gelatine oder deren Bestandteile, die durch Adhäsion an der Bacillen-Membran eine Einlagerung im Innern der Bacillen vorkommen konnten, handelte, musste die Versuchsanordnung modifiziert werden.

Von einer stark verflüssigten ca. 2 1/2 Wochen alten Pept.-Fleischw.-Gel.-Kultur des *Bacillus subtilis* wurde in vollkommen kasserlich klar erscheinender mineralischer Nährlösung sogenannte M.-N-Lösung folgende Zusammensetzung übergeimpft:

Eiweissfreie Nährlösung nach USCHINSKY-FRÄNKEL (aus ABEL, Bakteriol. Taschenb.): NaCl 5,0; Na₂HPO₄ 2,0; Asparagin 4,0; Ammoniumlactat 6,0 gelöst in 1000,0 H₂O; neutralisieren mit NaOH, sterilisieren wie Bouillon.

Diese Kultur wurde nur bei 15° C vier Tage lang belassen. Danach wurde in feuchter Kammer im Dunkelfeld folgendes beobachtet:

Es traten wie bei den Beobachtungen vorher ausserhalb der Bakterien in grösserer Zahl ganz kleine runde, wahrscheinlich durch Geisselschlag sich sehr lebhaft bewegende Körnchen auf. Ferner waren grössere, stärker lichtbrechende Körnchen sichtbar, die sich auch manchmal mit einem kleineren zusammen gelagert hatten. Die Bewegung dieser einzelnen grösseren Körnchen ging nicht mit ganz so grosser Lebhaftigkeit vor sich, schien aber auch durch Geisselschlag verursacht zu werden. Beide Körnchenarten bewegten sich mit grosser Gewalt; so wurden z.B. durch den Anprall eines einzelnen Körnchens manchmal zwei zusammenhängende Bacillen weitergeschoben.

Nach 12 Stunden wurde nun die erste Sporenbildung in einzelnen Bacillen beobachtet, die aber wohl infolge der ungünstigen Nährlage (Sauerstoffabschluss) bis zur 24. Stunde verhältnismässig schwach auftrat. Auch wurden von der 12. Stunde ab Teilungsvorgänge bei den Bakterien beobachtet. Nach 12 Stunden der ersten Beobachtung machte man die Wahrnehmung, dass die vorher in sehr grosser Anzahl vorhandenen kleinen Körnchen ausserhalb der Bacillen sich wesentlich verringert hatten, dafür aber

zum grossen Teil in den Zellen selbst auftraten, also scheinbar in diese hineingewandert waren.

Wiederum konnte man feststellen, dass die Membran bei solchen "infizierten" (?) Bacillen erheblich an Lichtbrechungsvermögen abgenommen hatte (s. Aufnahme 2, 8, 10). Zu bemerken ist ferner, dass keine Körnchen in den Zellen auftraten, in denen man Sporenbildung beobachten konnte (vergl. S. 274 und 286). Nach 24 Stunden der ersten Beobachtung machte ich die Feststellung, dass in einzelnen wie auch zusammenhängenden Bacillen eine sehr lebhafte Bewegung der Körnchen in den Zellen auftrat, die bis zu Ende der Beobachtung zwei volle Stunden angehalten hatte und so vonstatten ging, dass z.B. in einer Zelle zwei Körnchen scheinbar spielend sich um einander wirbeln, dann wieder von einander jagen, das eine oder das andere eine kurze Pause von Sekundendauer macht, um dann sofort wieder loszutanzten auf das andere zu oder kräftig gegen die geschwächte Zellwand zu stossen, sodass es den Anschein hatte, als wollten sie diese durchstossen.

Ausser Acht zu lassen wäre auch ferner nicht ein scheinbarer Selbsterhaltungstrieb der Bacillen, denn es wurde wiederholt bei einzelnen Exemplaren beobachtet, dass eine Bacillen-Zelle, die von einem oder mehreren Körnchen befallen ist, denjenigen Teil, in dem die Körnchen lagern, durch eine Querwand abzuschürfen scheint, um so wenigstens nicht das Ganze der Zerstörung und dem Tode preiszugeben (s. Aufn. 2, 3). Jedoch scheinen die "Infektionskeime" ? schon ihre Schuldigkeit getan zu haben, denn nie wurde bei solchen Zellen noch eine nachträgliche Sporenbildung beobachtet, die ja doch bei anderen "intakten" Zellen eintreten konnte. So sah man z.B. eine Zelle, bei der die Membran des kleineren abgeschürften Teiles, in dem schon die Körnchen herumrasten, nur noch ganz schwach lichtbrechend war, während der andere, von Körnchen freie Teil, der an Lichtbrechungsvermögen nichts eingebüsst hatte, zu keiner Sporenbildung gelangte, sondern dann nachträglich auch noch wieder von Körnchen "infiziert" wurde (s. Aufn. 3).

Die Frage, ob es sich wirklich hierbei um Infektionskeime handelte, sollte nun durch dauernde mikroskopische Kontrollen von Kulturen verschiedener Bakterien-Arten entschieden werden.

Bei über 30 Tage lang ausgedehnten dauernden makro- und mikroskopischen Kontrollen an frisch angesetzten Kulturen von *Bacillus mesentericus* und *Bacillus subtilis* in M.-N.-Lösung kam man immer wieder zu denselben Resultaten wie oben.

Ausserhalb und innerhalb der Zelle traten die kleinen, lebhaft beweglichen Gebilde auf, die bisweilen nach stundenlanger lebhafter Bewegung zu vollkommener Ruhelage übergehen, um dann nach Stunden dasselbe Bewegungsspiel von neuem zu beginnen.

Eine Klärung einzelner im Wachstum befindlicher, trüber Kulturen wurde genau so wie in früheren Bouillon-Kulturen auch hier in diesen Kulturen der M.-N.-Lösung beobachtet, und wurde dieser Bodensatz der Kulturröhrchen dann mikroskopisch untersucht, so sah man die von früher her bekannten typischen "Involutionsformen" der Bacillen: entweder nur noch leere, ganz schwach lichtbrechende Membranen (s. Aufn. 10) oder solche, in denen sich kleinere wie grössere, lebhaft bewegliche, wie auch vollkommen "sessile" Gebilde befanden (s. Aufn. 1 - 10). Ausserdem wurden in solchen Kulturen aber immer auch einige Bacillen-Sporen gefunden, bei denen aber Schädigung nie bemerkt wurde.

Beim Ansetzen der Beobachtungskulturen waren gleichzeitig Kontrollröhrchen mit sterilisierter, unbeimpfter M.-N.-Lösung in den Brutschrank gestellt worden. Nun wurden diese Kontrollröhrchen, die makroskopisch ein vollkommen klares Aussehen in ihrer Nährlösung aufwiesen, mikroskopisch kontrolliert.

Hierbei zeigte sich nun im Dunkelfeld, dass sich hierin natürlich keine Bacillen, aber bewegliche kleine Gebilde befanden. Sofort wurden diese Kontrollröhrchen im Autoclaven bis auf zwei Atm. (125° C) erhitzt, dann einen Tag im Brutschrank von 28° stehen gelassen und dann wieder mikroskopisch kontrolliert. Es hatte sich jetzt wohl der grösste Teil der Körnchen zu Konglomerat-Gebilden verschiedener Grösse zusammengeballt, doch waren ausserdem aber auch grössere und ganz kleine typische "Körnchen" in lebhafter Bewegung im Dunkelfeld sichtbar.

Es bestand also nun der wohl begründete Verdacht, dass sich in der äusserlich vollkommen klaren Nährlösung kleinste Teilchen unbelebter Herkunft in Molekularbewegung befanden. Diese konnten vielleicht aus dem Glase der aus gewöhnlichem Glase be-

stehenden Kulturröhrchen herausgelöst sein. Um dieses auszuschalten, wurden dieselben Kontrollversuche unter denselben Bedingungen in Kulturröhrchen ausgeführt, die aus schwer schmelzbarem Jenaer Glase bestanden und die vorher gründlich, um evtl. lösbare Alkalien aus dem Glase zu entfernen, mit HCl ausgekocht waren. Um auch den Verdacht auszuschalten, dass sich die kleinen Teilchen aus dem Glase der Beobachtungskammer herauslösen könnten, wurden von jetzt ab sämtliche Beobachtungen in einer (von der Firma LEITZ, Wetzlar, bezogenen) Quarzkammer vollzogen.

Das Resultat erwies sich als genau das gleiche wie oben erwähnt. Unter diesen Bedingungen war also die Versuchsanordnung nicht brauchbar. Die unbelebten, in Molekularbewegung befindlichen Gebilde mussten sich in der Nährlösung befinden. Nun galt es also, eine "optisch-leere" M.-N.-Lösung herzustellen; und dies ging nur durch Ultrafiltration, d.h. also dadurch, dass vor Verwendung die Nährlösung durch so dichte Filter filtriert wurde, dass kleinste im Dunkelfeld noch sichtbare Teilchen von jenen zurückgehalten wurden, die Nährlösung also als relativ "optisch-leer" anzusprechen war, um so feststellen zu können, dass die nach Animpfung mit Bacillen in der M.-N.-Lösung auftretenden kleinen Körnchen mit den Bacillen in die Lösung gelangt sein müssten.

Ob es sich dann um Abbauprodukte oder um Infektionskeime bei den Bakterien handelte, das sollte dann erst die weitere Untersuchung ergeben.

Um ausserdem den Verdacht möglichst auszuschalten, dass man es solange bei den angesetzten Kulturen mit von vorneherein degenerierten Bacillen-Stämmen zu tun hatte, wurden dieselben beschriebenen Versuche mit Reinkulturstämmen von *Bacillus* ausgeführt, die mit der Herkunft der früher erwähnten in keinem Zusammenhang standen. Ausserdem wurden die Versuche um einen Stamm mehr ausgedehnt, sodass jetzt mit *Bacillus subtilis*, *Bac. mesentericus* und *Bac. mycoides* gearbeitet wurde. Sämtliche früher erwähnten Tatsachen wurden hier bei diesen Versuchen wieder ganz genau so beobachtet, nur kam bei den jetzigen Beobachtungen noch eine merkwürdige Erscheinung hinzu, die den Verdacht auf das Dasein von Lebewesen, also von "Bakteriophagen" wieder in verstärktem Masse in Erscheinung treten liess.

Es wurde versucht, das Wachstum der Bazillen nach der KUHNschen Li-Zusatz-Methode zu hemmen und dadurch die Wachstumsmöglichkeit der eventuellen "Bakteriophagen" zu fördern. Ich setzte also zu der oben erwähnten Nährlösung 1/10% LiCl hinzu. Hierbei zeigte sich eine äusserst feine, kristallinische, suspendierte weisse Ausfällung von Phosphaten. Hierdurch wurde nun die nach Möglichkeit schon ohne "Ultrafiltration" angestrebte relative optische Leere der M.-N.-Lösung gänzlich vernichtet. Infolgedessen musste die Nährlösung so modifiziert werden, dass sie den Zusatz von LiCl ohne Ausfällung vertrug, dass hingegen auch wiederum die Bakterien in derselben Nährlösung ohne LiCl-Zusatz ihr volles normales Wachstum entfalten konnten. Dieses gelang nun sehr leicht dadurch, dass man das Na_2HPO_4 in der normalen Nährlösung fortliess und in die Hemmungs-Nährlösung 1/10% LiCl jetzt ohne irgend welche Ausfällung zusetzen konnte. Sämtliche drei *Bacillus*-Stämme vertrugen den Fortfall des Na_2HPO_4 sehr gut. Es zeigte sich bezüglich ihres Wachstums gegenüber den früheren Kulturen kein Unterschied. Ebenso war aber auch kein Wachstums-Unterschied der Kulturen mit 1/10% LiCl gegenüber denen ohne solchen Zusatz nachzuweisen. Eine Zunahme von "Bakteriophagen", die auf den Li-Zusatz zurückzuführen war, konnte nicht festgestellt werden. Infolgedessen wurde der LiCl-Zusatz auf 3% erhöht; und jetzt zeigte sich bei *Bacillus mycoides* zwar nur eine minimale, bei *Bacillus subtilis* und *Bacillus mesentericus* aber makroskopisch eine sehr stark hemmende Wirkung im Wachstum. Es wurde jetzt die Kultur, die makroskopisch nur ein ganz schwach sichtbares Wachstum zeigte, mikroskopisch im Dunkelfeld kontrolliert; so waren in der Hauptsache nur Bacillen mit den angenommenen "Infektionskeimen" in ihrem Innern nachzuweisen.

So schien durch den Li-Zusatz ja wohl prozentual eine Vermehrung der "Bakteriophagen" erreicht zu sein, doch durfte dieses natürlich nicht als Beweis für das tatsächliche Vorhandensein von eigentlichen Parasiten angesehen werden. Und zumal, da das Wachstum hemmende Agens unter möglichst normalen Bedingungen nur allein ein klares Bild in dieser Frage geben konnte, wurde von weiteren Versuchen mit Kulturen, die durch LiCl-Zusatz in ihrer Lebensweise geschädigt wurden, abgesehen.

Um nun für den weiteren Verlauf der Versuche die Möglichkeit auszuschalten, dass bei den Kulturröhrchen eventl. durch Temperaturschwankungen im Innern des Röhrchens und dementsprechender Verringerung des Luftvolumens oder aber infolge äusserer Luftdruckschwankungen durch den Wattestopfen des Röhrchens Keime irgend welcher Art in die Nährlösung und damit in die zu beobachtende Kultur gelangen konnten, wurden nun nur noch Kultur-Röhrchen mit eingeschliffenem Glasstopfen verwendet, von einem Inhalt von ca. 20 ccm. Gefüllt wurden die Röhrchen, damit zwecks Lebensfähigkeit der Bacillen ein genügender Luftraum zur Verfügung stand, mit ca. 4 ccm Nährlösung. Da nun aber die eingeschliffenen Stopfen auch nicht direkt luftdicht abschliessen, wurden, um die an und für sich schon sehr geringe Einfallspforte noch wesentlich zu verringern, über die Gläschen Glaskappen von etwa $\frac{3}{4}$ der Länge der Kultur-Röhrchen hinüber gestülpt.

Ergänzend möchte ich jetzt bemerken, dass die oben erwähnte Versuchsreihe noch einmal angesetzt wurde und zwar unter Zuhilfenahme einer Ultrafiltrationsmethode, die allerdings infolge eines Konstruktionsfehlers der Apparatur sich für meine Zwecke als nicht immer einwandfrei erwies.

Mitunter gelang es aber doch, die innerhalb von allerdings erst 24 Stunden bei Anwendung vom Minusdruck einer Wasserstrahlpumpe erlangten 10 ccm M.-N.-Lösung einwandfrei optisch leer zu bekommen und dann für die *Bacillus* Kulturen zu verwenden. Selbst bei Verwendung dieser optisch leeren Nährlösung für die Kulturen wurden dieselben Beobachtungen bezüglich der "Bakteriophagen" gemacht, wie sie oben wohl schon zur Genüge erwähnt waren, doch trat noch eine merkwürdige Erscheinung hinzu, die die Annahme von Lebensäusserungen der kleinen Körnchen auch ausserhalb der Bacillen deutlich zu bestätigen schien.

Bei einer in ultrafiltrierter normaler M.-N.-Lösung gezogener Kultur von *Bacillus mycoides* wurde in dem Stadium, als sich gerade lebhaft bewegliche sogenannte "Schwärm-Bacillen" gebildet hatten, folgende interessante Feststellung gemacht:

Ausserhalb der eigenbeweglichen Bacillen sind nur verhältnismässig wenige, kleine bewegliche Körnchen enthalten. Nur einzelne Zellen haben Körnchen in ihrem Innern. Plötzlich heftet sich ein Gebilde wie die in der Mehrzahl vorhandenen kleinsten Körnchen an einen in vollkommen gerichteter Bewegung sich befindlichen *Bacillus*, an dessen zur Bewegungsrichtung liegendes Hinterende an; in demselben Augenblick führt der *Bacillus* mit dem betreffenden Ende eine nach den Seiten schlagende Bewegung aus. Es gelingt ihm, das Gebilde gewissermassen von sich abzuschütteln, der *Bacillus* schießt sofort weiter, das kleine Gebilde in scheinbar vollkommen gerichteter Bewegung hinter ihm her, um sich nach ca. zwei Zelllängen wieder am Hinterende festzusetzen. Der *Bacillus* führt ungerichtete, nach allen Seiten schlagende, krampfartige Bewegungen aus, fährt jetzt mit dem Hinterende als vorderes durch das Gesichtsfeld, die schlagenden Bewegungen werden immer krampfartiger, langsamer und langsamer, bis nach ca. 10 Minuten die Eigenbewegung des *Bacillus* vollkommen aufhört! Noch mehrmals habe ich beobachtet, dass sich diese kleinen Gebilde an die Bacillen gesetzt hatten, doch habe ich solche "Kämpfe" mit einer so ausgesprochenen Deutlichkeit nicht immer beobachten können, zumal die Beobachtungsmöglichkeit durch die Begrenzung des Gesichtsfeldes stark eingeschränkt wurde.

Das oben Geschilderte ist ja zwar ein merkwürdiger Fall und scheint wieder die Annahme für ein "Bakteriophagen-Dasein" zu bekräftigen, kann aber allein nicht als beweisend angesehen werden.

Um nun das Verhalten der Bakterien zu den "Bakteriophagen" eingehender beobachten zu können, musste eine neue Methode für diesen Zweck geschaffen werden. Es sollte vor allen Dingen das Verhalten der Bakterien zu dem aus ihrer Kultur gewonnenen Ultrafiltrat studiert werden.

Um das "bakteriophage Agens", das D'HERELLE als "*Bacteriophageum intestinale*" bezeichnet, näher zu charakterisieren, wurden unter Einhaltung einer (im technischen Teil zu besprechenden) anderen Filtrationsmethode folgende Versuche angesetzt:

Von einer alten, in ultrafiltrierter, bei 2 Atm. (125° C) sterilisierter und auf optische Leere kontrollierter Nährlösung gezogener Kultur, bei der eine Infektion der Bacillen beobachtet ist (d.h. es sind schon in vielen Zellen im Innern Körnchen enthalten, auch befinden sich noch sehr viele kleine Gebilde in lebhafter Bewegung ausserhalb der Bacillen), wird ein Kulturröhrchen, enthaltend ca. 4 ccm

durch 7 1/2% Ultrafilter filtrierter, sterilisierter und auf optische Leere mikroskopisch kontrollierter Nährlösung mit ca. 3 Ösen *Bacillus*-Material beimpft und als Kontrolle gegenüber den weiter anzusetzenden Röhrrchen aufbewahrt.

Von der alten Ausgangskultur wird jetzt durch 7 1/2% Ultrafilter filtriert und das Filtrat mikroskopisch kontrolliert. Bei eingehender mikroskopischer Kontrolle konnte es als optisch leer angesprochen werden. Das Ultrafiltrat war zu einer Zeit gewonnen, zu der sich in der Kultur bei mikroskopischer Beobachtung auch noch vollkommen "intakte" Bacillen in vegetativer Vermehrung befanden, also die Nährlösung dementsprechend nicht als nährstoffarm bezeichnet werden konnte; ausserdem war ja doch zur Kontrolle der Lebensfähigkeit der Bakterien ein Kontrollröhrrchen, wie schon oben erwähnt, zur selben Zeit der Ultrafiltration angesetzt worden, dessen Kulturwachstum Figur 1, Kurve 1 zeigt.

Die unsterilisierten Ultra-Filtrat-Röhrrchen wurden nun mit je 3 Ösen lebenden Bacillen-Materials beimpft, und das Wachstum sowohl makro- wie auch mikroskopisch beobachtet. Figur 1, Kurve 2 zeigt das diesbezügliche Wachstum. Makroskopisch ist von dem Bazillen-Wachstum nichts festzustellen, doch mikroskopisch zeigte sich ein wenig zunehmendes Wachstum, weil ja nämlich mit den Bacillen auch zugleich Sporen hineingeimpft waren, die ja auch nach den Lebendbeobachtungen von den "Bacteriophagen" nicht angegriffen werden konnten, und die nun zur Auskeimung gelangten. Ausserdem aber traten auch wieder die schon so oft erwähnten kleinen Körnchen in verschiedener Grössenanordnung ausserhalb der Bacillen auf. Nach einigen Tagen konnte man mikroskopisch kein zunehmendes Wachstum der Bacillen mehr feststellen, dafür waren aber jetzt in den Zellen, die infolge des geringen Lichtbrechungsvermögens der Membran sich als abgestorben erwiesen, diese typischen kleinen Infektionskeime enthalten, und ausserhalb der Bacillen erschienen sie in vermehrter Anzahl. Also war durch anfänglich lebende Bazillen eine Vermehrung dieser kleinen Körnchen festgestellt.

Doch war ja damit nicht bewiesen, dass diese kleinen Gebilde sich aus sich selber heraus vermehrt hatten, sondern sie konnten schon in den eingeimpften Bacillen vorhanden gewesen sein und nach Durchbrechen der Bacillen-Membranen in Freiheit gelangt, so eine Vermehrung vorgetäuscht haben.

Um diesen Einwand ausschalten zu können, sollte das Verhalten des Ultrafiltrats gegenüber einem Impfmaterial von toten Bacillen festgestellt werden.

Eine alte Bacillen-Kultur, bei der aber noch Wachstum durch vegetative Vermehrung mikroskopisch festgestellt war, wurde durch 10 Minuten langes Erhitzen im Autoclaven bei 1,6 Atm. (120° C) samt ihren Sporen restlos abgetötet. Dann wurde das abgetötete Bacillen-Material acht Tage lang in ihren Kulturröhrrchen, wie auch in Kontrollröhrrchen auf Wachstums-Erscheinungen hin mikroskopisch kontrolliert.

Die toten Bacillen wiesen starke Störungen im Plasma auf (Koagulations-Erscheinung des Plasmas, Vakuolen-Bildung, Plasmolyse-Erscheinung); die kleinen Körnchen ausserhalb der Bacillen bewegten sich allerdings.

Impfte man nun von diesem also vollkommen abgetöteten Bacillen-Material auf Ultra-Filtrat einer alten Kultur enthaltende Röhrrchen, die vorher wieder nach mikroskopischer Kontrolle optisch leer gefunden waren, so zeigte sich nach acht Tagen bei mikroskopischer Kontrolle ein Auftreten von wieder vollkommen beweglichen kleinen Körnchen in grösserer Anzahl. Das Wachstum demonstriert Figur 1, Kurve 3.

Wurde jetzt lebendes Bacillen-Material einer anderen Kultur, die sich in Kontrollversuchen als lebensfähig erwies, in diese Röhrrchen geimpft, so trat makroskopisch wohl kein Wachstum der Bacillen auf, doch mikroskopisch wurde dieses festgestellt, weil ja doch auch wieder Sporen mit hineingeimpft und zur Auskeimung gelangt waren. Die anfänglich vollkommen "intakten" vegetativen *Bacillus*-Zellen zeigten dann nach ca. 3 Tagen wieder die üblichen Körnchen in ihrem Innern, und nach einigen Tagen waren sämtliche *Bacillus*-Zellen von den Körnchen gewissermassen "infiziert". Das Wachstum der Bacillen hörte vollkommen auf, und die Körnchen ausserhalb der Zellen hatten sich wieder vermehrt. Das dementsprechende Wachstum zeigt Fig. 1, Kurve 4.

Wie war dieses Versuchsergebnis zu deuten? Wie ist das Auftreten und die Vermehrung der lebenden "Körnchen" zu erklären?

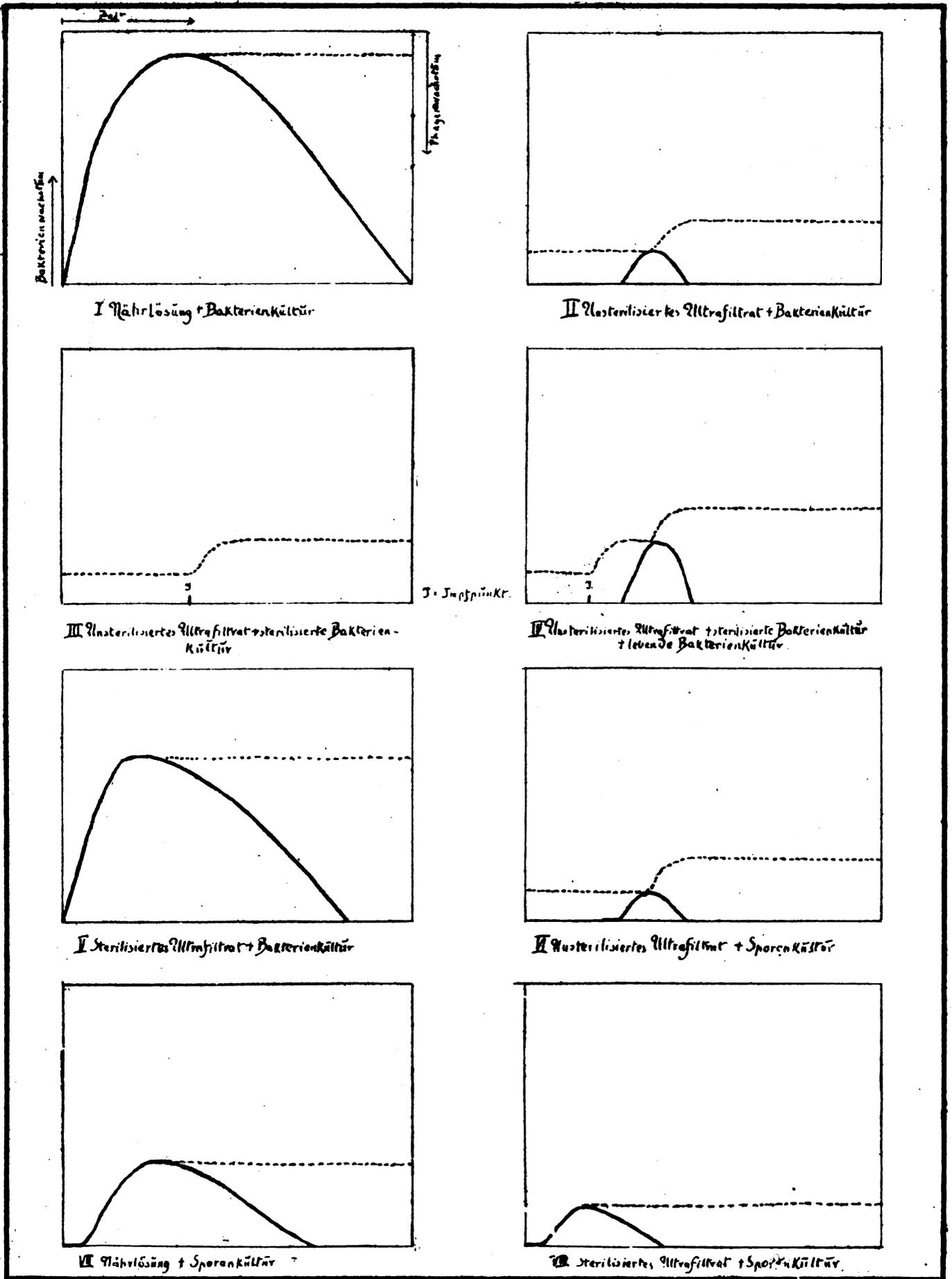


Fig. 1.

Entweder war die optische Leere des verwendeten Ultrafiltrats trotz eingehendster mikroskopischer Kontrolle ein Trugschluss und es waren doch einige wenige, kleinste Körnchen bei der Ultrafiltration durch das Filter geschlüpft und hatten sich dann dadurch, dass die toten Bacillen ihnen gewissermassen als Nährstoff dienten, vermehrt, oder sie waren als "invisible" Körperchen durch das Filter gegangen und waren danach durch das tote Bacillen-Material als "Nährstoff" herangewachsen, also "visibel" geworden, um sich dann zu vermehren. Dass die dann in Mehrzahl befindlichen Bakteriophagen die neu eingepflichten Bacillen, die ja an und für sich in ihrer Kultur-Lösung schon Bakteriophagen enthielten, nicht mehr zur Vermehrung kommen liessen, sondern abtöteten, ist aus den vorher gehenden Untersuchungen schon bekannte Tatsache.

Wie verhielt sich nun ein von einer nicht so alten wie vorher verwendetes *Bacillus*-Kultur ultrafiltriertes und bis zu zwei Atm. (125° C) sterilisiertes Filtrat gegenüber frisch eingepflichten Bazillen?

Es zeigte sich in diesem Falle, dass eine in ihrem Wachstum sowohl makro- wie auch mikroskopisch analog den in M.-N.-Lösung angesetzten Kontroll-Kulturen anfänglich völlig normal wachsende Bac.-Kultur auftrat, jedoch reduzierte sich ihr Wachstum im Laufe kürzerer Zeit erheblich, da sie von einer an und für sich doch relativ alten Kultur hinübergeimpft war und dementsprechend bis zu gewissem Grade schon infiziert sein konnte. Dieses Wachstum der erwähnten Kultur wird durch Fig. 1, Kurve 5 erläutert. Man beachte hierbei die Ausführungen am Schluss der Wachstumsversuche.

Bei derartigen Versuchen bezüglich des "Bakteriophagen-Effekts" muss aber immer das Alter der Kultur, von der das Ultrafiltrat gewonnen wird, und ebenso das Alter der zu verwendenden Impfkultur berücksichtigt werden, weil ja sowohl der Infektionsgrad der Impf-Bacillen-Kultur als auch die Infektionsfähigkeit des verwendeten Ultrafiltrats, das höchstwahrscheinlich durch Alter und dementsprechende "Infektions"-Keimanzahl bedingt ist, von grosser Bedeutung ist. Dieses wurde durch folgende Versuchsbeobachtung bestätigt:

Von einer jungen unter denselben Voraussetzungen wie oben gezogenen Bacillen-Kultur, bei der nach mikroskopischer Kontrolle die Bacillen noch fast alle vollkommen "infektionsfrei" waren und bei der ausserhalb der Zellen allerdings "Körnchen", aber in verhältnismässig geringer Anzahl vorhanden waren, wurde ein Ultra-Filtrat hergestellt und mikroskopisch kontrolliert. In diesem Filtrat zeigten sich allerdings bei eingehender Beobachtung einige wenige, kleinste Körnchen, die also scheinbar doch das Ultrafilter passiert hatten. Impft man jetzt unter denselben Voraussetzungen wie bei dem Versuch von Fig. 1, Kurve 2, nun aber Bacillen-Material, das nach mikroskopischer Beobachtung zu schliessen wohl fast vollkommen "infektionsfreie" Zellen enthält, bei deren Kultur ja zwar wieder wenige kleine Körnchen ausserhalb der Bacillen vorhanden sind, in dieses Ultrafiltrat hinein, so tritt schon nach ca. 10 Stunden ein makroskopisch gut sichtbares Wachstum der Bacillen auf und die Wachstumskurve zeigt eine grosse Übereinstimmung mit der Fig. 1, Kurve 1.

Weiterhin war in Erwägung zu ziehen, wie sich Bacillen-Sporen in ihrem Wachstum gegenüber dem unsterilisierten Ultrafiltrat einer alten Bacillen-Kultur verhielten.

Man impfte also von einer ganz alten Bacillen-Kultur, die bei mikroskopischer Kontrolle neben abgestorbenen Bacillen viele "Infektionskeime", in der Hauptsache aber Bacillen-Sporen enthielt, drei Ösen in ein Ultrafiltrat, das von einer alten Kultur stammte. Die mikroskopische Kontrolle des Ultrafiltrates hatte nur ganz wenige sichtbare "Körnchen" ergeben.

Eine zeitlang war sowohl makro- wie auch mikroskopisch kein Wachstum zu erkennen, bis dann zu gewisser Zeit mikroskopisch ein Auswachsen der Sporen beobachtet werden konnte, das aber bald nach kurzer, vegetativer Periode unterdrückt wurde und bei mikroskopischer Kontrolle ein zunehmendes Körnchen-Wachstum ausserhalb und fast nur noch "infizierte" Bacillen zeigte. Man beachte Fig. 1, Kurve 6.

Zum Vergleich war von derselben Sporen-Kultur in normale M.-N.-Lösung geimpft worden. Es trat hier nach dem Auswachsen eine vegetative Vermehrung der Bacillen auf, die aber sehr bald von einem gewissen Zeitpunkt ab unter den üblichen Begleiterscheinungen (Infektionen?) zurückging. Die "Infektionskeime" waren also auch hier schon beim Überimpfen mit den Sporen in die Nährlösung übertragen. Das Wachstum zeigt Fig. 1, Kurve 7.

Ausserdem wurde auch von der oben erwähnten Sporenkultur auf ein bei zwei Atmosph. 5 Minuten lang sterilisiertes Ultrafiltrat derselben Kultur-Herkunft (wie im vorigen Versuch) übergeimpft, worüber Figur 1, Kurve 8 näheren Aufschluss gibt.

Die Wachstums-Kurven bei den Ultrafiltraten zeigen nicht dieselbe Mächtigkeit wie bei Wachstum in reiner Nährlösung, da ja doch die Ultra-Filtrate infolge des Lebens-Prozesses der in ihnen schon gewachsenen Bacillen an Nährstoff um einen gewissen Prozentsatz abgenommen haben.

Trotz aller der zu Anfang erwähnten und für eine Bakteriophagen-Existenz sprechenden Tatsachen musste man sich an Hand der zuletzt auftretenden Resultate die Frage vorlegen, ob die Bakteriophagen auch ähnlich den Dauerformen der Bacillen - den *Bacillus*-Sporen - selbst Dauerformen bilden können?

Dass sich scheinbar solche Dauerformen bilden können, besagt ja der bei Fig. 1, Kurve 7 angesetzte Versuch.

Nach Überimpfen einer alten Bacillen-Kultur, in der sich nur Sporen befinden, in frische Nährlösung gehen in dieser nach Auskeimen der Sporen nach gewisser Zeit die vegetativen Formen (wie wir in Fig. 1, Kurve 7 sehen) unter den üblichen bakteriophagen Erscheinungen zugrunde.

Demnach musste es also gelingen, diese "Alters-Dauerformen" bei alten Kulturen mikroskopisch festzustellen.

Schon bei früheren Beobachtungen älterer Kulturen hatte ich die Feststellung gemacht, dass die aus den Bacillen heraustretenden (s. Aufn. 9 und 10) grösseren Gebilde einen scheinbar bläschenförmigen Charakter annahmen, also aus den anscheinend "nackten Protoplasten" durch Bildung einer scheinbaren Membran eine runde, kleine Zelle gebildet wurde (s. Aufn. 11). Dieser Vorgang wird wahrscheinlich dadurch bedingt, dass sich vorher je ein kleineres Körnchen an ein grösseres lagert (vergl. S. 281), wobei sich aber beide zusammen noch in Bewegung befinden, durch Verschmelzung (und eventl. "Befruchtung") ein Auswachsen zu dem vorher erwähnten Gebilde stattfindet, sodass man im Dunkelfeld jetzt nicht ein gleichmässig helles Körperchen beobachtet, sondern ein von einem etwas heller leuchtenden Ringe begrenztes kleines Gebilde (siehe Aufn. 11).

Um nun also festzustellen, wie sich bei den Bakteriophagen der morphologische Entwicklungszyclus weiter vollzieht, wurden ca. 3 Monate alte Kulturen von *Bacillus mesentericus* und *Bac. mycooides*, in denen sich sämtliche Entwicklungsstadien zeigten, in der Ultrakammer als Dauerkultur beobachtet. Es handelte sich dabei um Kulturen, bei denen das Nährmedium vollkommen geklärt war, mit dementsprechender Bodensatzbildung. Kontrollierte man u. a. diesen Bodensatz, so zeigte sich in ihm neben abgetöteten Bacillen in der Hauptsache eine grosse Menge von Bacillen-Sporen. In der Nährlösung selbst bewegten sich die typischen kleinen Körnchen. Ausserdem aber waren meistens im Bodensatz viele runde bis ovale Gebilde verschiedenster Grössen-Ordnung von den oben erwähnten kleinsten an anzutreffen. Die grösseren zeigten in ihrem Innern sich noch vollkommen im Dunkelfeld undifferenziert, jedoch konnte man an einer kleinen Randstelle das Fehlen der "Membran-Umhüllung" manchmal recht deutlich sehen (s. Aufn. 12). Beobachtete man diese Gebilde, so konnte man während kurzer Zeit oder stundenlanger Intervalle Bewegungserscheinungen feststellen derart, dass sich der Umfang dieser Gebilde an einzelnen Stellen hervorwölbte, ganz ähnlich der "Pseudopodien"-Bildung bei den Amöben, um sich dann nach kürzerer oder längerer Zeit zurückzuziehen und an anderer Stelle wieder zum Vorschein zu kommen (s. Aufn. 13, 14). Auch wurden Ortsveränderungen dieser Gebilde festgestellt. Amöbenähnlich können sie unabhängig von ihrer Grössenordnung mit einander verschmelzen, und zwar lagern sie sich dabei mit den oben beschriebenen "membranlosen" Stellen aneinander und bilden danach grössere "Plasmodiumformen" (siehe Aufn. 15, 16, 17). Weiter trat dann bei diesen relativ grossen Gebilden von wechselnder, amöbenähnlicher Gestalt eine Differenzierung von wenigen kleinen, stark lichtbrechenden Körnchen, die anfänglich zu zweien aneinander gelagert waren, auf (s. Aufn. 18). Schliesslich scheinen diese Gebilde zur "Cysten-Bildung" zu schreiten (siehe Aufn. 19), wobei sich dann mehr lichtbrechende Körnchen herausdifferenzieren, und die dann durch Teilung in typische Viererstadien - man könnte hier an Reduktionsteilungsfiguren erinnert werden - zerfallen (siehe Aufn. 20). Diese Gebilde müssten wohl als Dauerformen angesprochen werden, da sie die Fähigkeit besitzen, ihre Membran schein-

bar zu resorbieren. Dadurch werden die im Innern lagernden Körnchen durch eventl. spätere Begeißelung wieder frei und sind demnach wohl als die ursprünglichsten Infektionskeime anzusehen (siehe Aufn. 20).

Für die Grösse und Häufigkeit der vorher erwähnten Formen scheint ein Zusatz von Salzen, insbesondere von LiCl von Bedeutung zu sein, da in einer Nährlösung, die neben den früher erwähnten Nährbestandteilen auch 3% LiCl enthält, diese Formen in stärkerer Anzahl und auch grösser beobachtet werden konnten. Weiter scheinen diese erwähnten Formen in der gewöhnlichen M.-N.-Lösung doch in gewissem Masse einen geringen Phosphatzusatz, z. B. 2,0 g Na_2HPO_4 auf 1000 ccm H_2O zu brauchen.

Ich möchte nun noch etwas bemerken: KUEHN hat in seiner Arbeit bezüglich seiner A-Formen darauf aufmerksam gemacht, dass "das Auftreten der A-Formen von gewissen klimatischen Bedingungen abhängig" zu sein scheint, und dass "die Jahreszeiten und das Wetter als Einflüsse zu beachten" wären. Ich möchte dieser Annahme, zwar nur unter Vorbehalt, nicht ganz abgeneigt gegenüber stehen, denn vor ca. einem Jahre hatte ich diese A-Formen schon von Agar-Platten photographiert, ja sogar mit dem Oberflächen-Mikroskop, wie schon zu Anfang meiner Ausführungen erwähnt, lebend beobachtet, doch konnte man damals aus technischen Schwierigkeiten zu keiner eindeutigen Behauptung kommen. Jetzt, also um dieselbe Jahreszeit wie damals, wurden dieselben Formen beobachtet, während dieses in der Zwischenzeit nicht gelang.

Nachdem wir in unseren, absichtlich ohne jegliches Studium der Literatur vorgenommenen Beobachtungen und Versuchen alle Erscheinungen unbeeinflusst und unabhängig gefunden und wiedergesehen haben, sind wir wohl imstande, uns ein Urteil zu erlauben. Diese unsere Arbeitshypothese wollen wir nun entwickeln:

UNGESCHLECHTLICHER KREISLAUF DES ENDOPARASITEN.

Es gibt in der Natur überaus kleine Lebewesen, die man mit dem gewöhnlichen Mikroskop kaum sehen kann. Benutzt man elektive Färbemethoden, wie z.B. die GIEMSA-Färbung, so kann man sie als blau gefärbte Körnchen erkennen. Besonders deutlich werden sie in den mit Dunkelfeld beobachteten Farbenpräparaten. Hervorheben müssen wir, dass man diese nach Fixation mit erprobten Mitteln darstellen muss. Die durch die Flamme gezogenen zerwürbten und verschrumpften Fragmente können uns keinerlei Aufschlüsse geben.

Aber auch mit der Dunkelfeld-Beobachtung lassen sie sich im Leben studieren. Es hat den Anschein, als ob es sich um begeißelte Lebewesen handelt. Das, was in Erscheinung tritt, ist ein Kügelchen stark lichtbrechender Natur. Wie die wahre Gestalt dieser Erscheinungsformen ist, das können wir nicht aussagen, da es unmöglich ist, solche kleinen Dinge optisch einwandfrei "aufzulösen".

Diese Infektionskeime stecken die Bakterien (und wohl auch andere Lebewesen!) an.

Sie dringen in den Körper ein. Bewegliche Bakterien "versuchen" zu entfliehen, aber sie werden meistens doch "infiziert". Wir sehen darin die "Befruchtungsvorgänge" mancher Autoren!

Im Innern vergrössert sich der Endoparasit (siehe Aufn. 1 und 2). Er ähnelt stark dem Malaria-Erreger. Er frisst die Bakterien aus, sodass nur eine kaum sichtbare Membranhülle übrig bleibt (s. Aufn. 2). Ist das geschehen, so teilt sich der Endoparasit in kleine Infektionskeime auf (vergl. S. 281), welche die Wand des Bakteriums durchbrechen und in einer Anzahl bis zu 8 Stück in die Nährlösung entlassen werden können. Damit ist der vegetative Kreislauf geschlossen.

ABWEHR UND KREISLAUF DER BAKTERIEN.

Es ist manchmal deutlich eine Abwehr der Bakterien gegenüber den Parasiten zu sehen. Die Zelle schnürt die infizierte Stelle ab (s. Aufnahme 3). Infizierte Bakterien bilden nie Sporen. Da die Körnchen im Innern der Bakterien Bewegung zeigen, könnten wir eine nachträgliche Infektion auch dieser abgeschnürten Zellteile sehen. Die "Riesenformen" von gewissen Bakterien beruhen auf solchen gallenartigen Reaktionen der Bakterien. Dies sind die echten "Involutionsformen".

Der den Bakterien eigene Kreislauf der Gestalt ist viel einfacher. Wir unterscheiden nur Schwärmformen, Ruheformen und Sporen. Diesen Kreislauf können nur "in-

takte" Bakterien vollenden. Wir möchten in den Sporen eine "Massregel" sehen, die völlige Ausrottung der Bakterien zu verhindern. Andere Bakterien ersetzen das durch ihre ungeheure Vermehrungsfähigkeit.

GESCHLECHTLICHER KREISLAUF DER PARASITEN.

Neben dem ungeschlechtlichen Entwicklungskreislauf gibt es bei den Endoparasiten noch einen geschlechtlichen.

Die männlichen "Gameten" können mit unseren derzeitigen Hilfsmitteln erst dann erkannt werden, wenn sie zum Sexualakt schreiten. Sonst gleichen sie völlig den "Infektionskeimen". Dagegen sind die weiblichen "Gameten" von Anfang an durch ihre geringe Zahl und Grösse bereits innerhalb ihres Wirtes zu erkennen (s. Aufn. 4, 5). Auch sie verlassen nach in die Länge strecken und Querteilung die ausgefressenen Wirtszellen (siehe Aufn. 6 - 10). Man kann bei ihnen bereits deutlich einen nach GIEMSA blau gefärbten Kernanteil erkennen. Wir möchten der Meinung zuneigen, darin einen Kernbestandteil nach Art eines Nucleolus zu sehen.

In der Nährlösung erfolgt die Umwerbung und Verschmelzung der Makro- und Mikro-

gameten. Es scheint aber noch nicht zu einer Verschmelzung der "Kerne" zu kommen, sondern diese leben nebeneinander. Somit können wir von einer $x + x$ -Generation reden. Sollte sich das bewahrheiten, so lägen ähnliche Verhältnisse vor, wie wir sie bei höheren Pilzen antreffen. Diese $x + x$ -Stadien haben die merkwürdige Eigenschaft, gegenseitig mit ihresgleichen zu immer grösseren "Plasmodien" zu verschmelzen (s. Aufn. 11 - 17). Wir kommen bereits zu ziemlich umfangreichen Gebilden (s. Aufn. 18).

Es macht den Eindruck, als ob diese "Plasmodien" nicht in fester Form Nahrung aufnehmen; sie ziehen sich bald zu Kugeln zusammen. Nach Abscheidung einer derberen Hülle kann man nicht mehr deutliche Differenzierungen in den Cysten feststellen.

Die leuchtenden Körnchen scheinen im Anfang zu zweien zusammengelagert zu liegen, um zu verschmelzen. Das ist in der Peripherie der Cysten manchmal zu beobachten. Es könnte sich jetzt um den eigentlichen "Sexualakt" zur Bildung einer 2 x -Generation handeln (s. Aufnahme 19).

Diese Cysten erwecken den Eindruck einer Dauerform. Wir möchten darauf hinweisen, dass in anderen Fällen es zur Bildung von "Knöpfen", also Fruchtkörpern, nach Art der

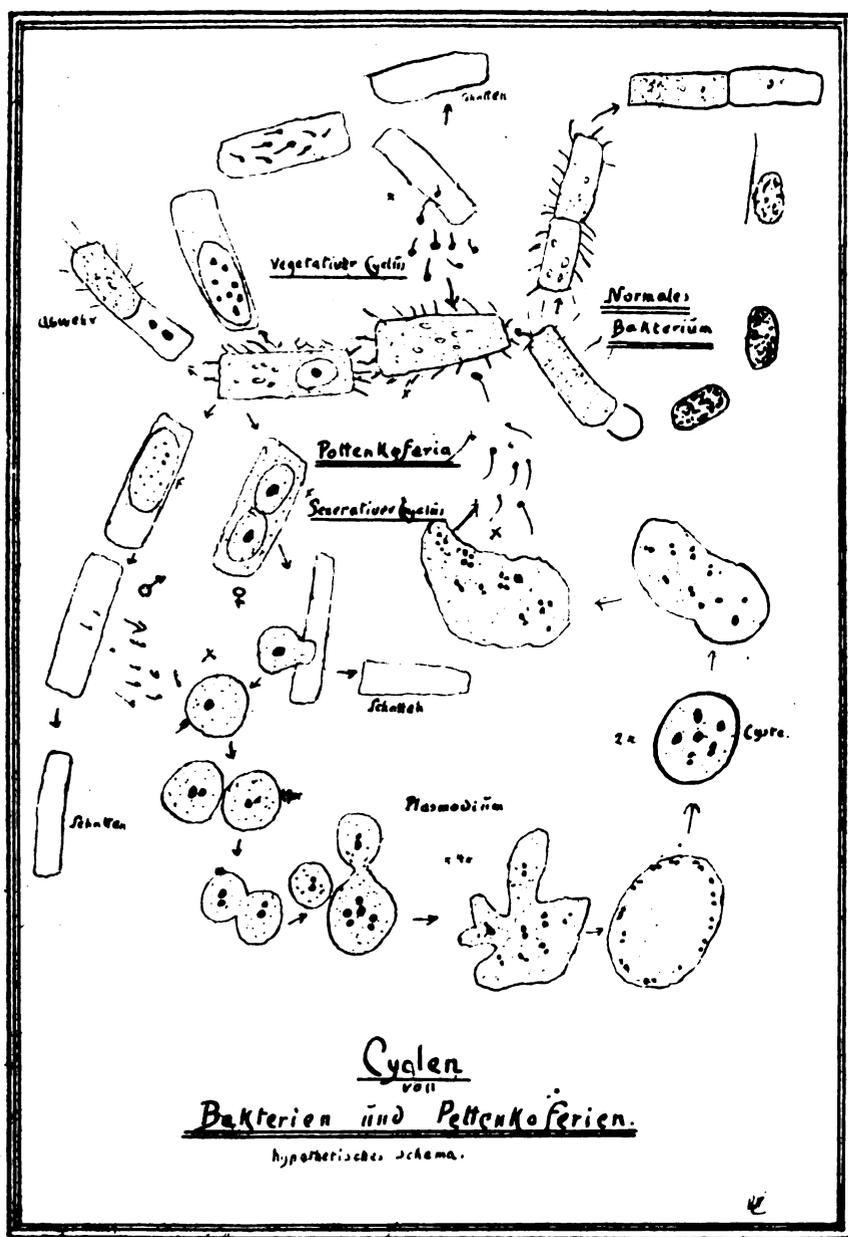


Fig. 2.

Mycetozoen zu kommen scheint.

Wir können die Angabe, dass die Bildung dieser Formen an gewisse Jahreszeiten oder eventl. Versuchsbedingungen geknüpft ist, unter Vorbehalt bestätigen.

Die Cysten lösen ihre Membran auf. Ihr Inhalt schwillt an. In diesem beobachten wir das Teilen grösserer Kügelchen in zwei und vier Teilchen. Es könnte sich somit vielleicht um eine "Reduktionsteilung" handeln (s. Aufn. 20).

Der Cysten-Inhalt zerfällt, und die kleinen Körnchen schwärmen wahrscheinlich durch Geisselbewegung aus. Mit diesen "Infektionskeimen" ist der generative Cyclus geschlossen.

Wir sind uns zwar dessen bewusst, dass die Dinge wohl auf richtigen Beobachtungen beruhen, um aber den Beweis der Parasitennatur zu erbringen, bedarf es noch der Untersuchung zweier Dinge:

1. Kultur der Erreger ausserhalb des Wirtes,
2. Kultur des Wirtes ohne die Erreger.

KULTUR DES ERREGERS AUSSERHALB DES WIRTES.

Das hatten sowohl wir mit unseren Ultrafiltrationsversuchen erreicht (siehe S. 295 u. Kurve 3) wie es auch ALMQUIST⁸⁵ zum Teil mit seinen Verdünnungsversuchen gelungen war.

Gibt man zu einem nicht erhitzten Ultrafiltrat, das fast keine sichtbaren Körnchen enthält, totes Bakterienmaterial, so vermehren sich in der Folgezeit die Körnchen (s. Fig. 1, Kurve III).

Auch die Versuche, die Kurve II, IV und VI der Figur 1 charakterisieren, kann man in diesem Sinne deuten.

Wir haben hier besonders auf die Beobachtung von ALMQUIST hinzuweisen, dass in hohen Verdünnungen die Körnchen sich allein vermehrten. Aber aus dieser Mutante hat ALMQUIST nie sich Bakterien zurückbilden sehen. Es handelt sich eben um Lebewesen "ipsae per se!"

Die Kultur des Erregers ausserhalb des Wirts schien gesichert.

Die Kultur des Wirtes ohne Erreger sollte nun durch die vorherige Bestimmung der Tötungstemperatur der Bakteriophagen erfolgen. Lag die Tötungstemperatur der Bakteriophagen mindestens unterhalb der Tötungstemperatur der hitzebeständigen Dauerformen der Bacillen, der Bacillen-Sporen, so war die Kultur des Wirtes ohne Erreger aus den nicht abgetöteten Bacillen-Sporen als leicht gelungen zu betrachten, zumal ja doch D'HERELLE, der allerdings in der Hauptsache mit Nichtsporenbildnern gearbeitet hat, die Inaktivierung seiner bakteriophagen Agens bei 70° C angibt. Dagegen scheint bei anderen Forschern, die allerdings auch mit Nicht-Sporenbildnern gearbeitet haben, hier eine Differenz bis 102° C vorhanden zu sein.

Es wurde nun eine alte Kultur von *Bacillus subtilis*, die neben sämtlichen Bakteriophagen-Entwicklungsstadien in der Hauptsache *Bacillus*-Sporen enthielt, im Autoclaven bis auf 2 Atmosph. (125° C) erhitzt und 5 Min. bei dieser Temperatur belassen, dann wurden nach Herabsetzen auf Normal-Temperatur Kultur-Röhrchen mit diesem sterilisierten Material beimpft und täglich beobachtet. Ein makroskopisches Wachstum war überhaupt nicht nachzuweisen, doch in mikroskopischen Dauerkulturen zeigte es sich, dass aus einzelnen *Bacillus*-Sporen noch vegetative Zellen auskeimten, also, dass die Sporen nicht restlos abgetötet waren. Nach ca. 6 Tagen traten nun in diesen Zellen Infektionserscheinungen auf. Ja, die Infektionskeime wuchsen sogar in ihren Wirtszellen heran.

Es wurden jetzt dieselben Kulturen, die schon einmal 5 Min. lang bei 125° C sterilisiert waren, nochmals 6 Min. bei 2 Atm. (125° C) erhitzt. Nach Beimpfung von Kulturröhrchen mit diesem Material trat ein Auskeimen der *Bacillus*-Sporen, die zur Genüge vorhanden waren, nicht mehr auf. Die Bacillen-Sporen waren jetzt gegenüber vorher in ihrem Aussehen wesentlich verändert. Sie waren ganz schwach lichtbrechend geworden, also abgetötet. Aber in den abgetöteten vegetativen *Bacillus*-Zellen nahm das Wachstum der Bakteriophagen seinen Fortgang und ebenso trat ausserhalb der Bacillen eine deutliche Vermehrung der Bakteriophagen in ihren sämtlichen Entwicklungsstadien auf. Doch schon nach einigen Tagen trat in dieser Vermehrung

ein Stillstand ein.

Ausserdem erwies sich die Kultivierung der Bakteriophagen bei Ausstrichen auf Schrägröhrchen von Pepton-Fleischwasser-Gelatine und Traubenzucker-Agar als unmöglich. Es trat weder Wachstum noch Verflüssigung des Kultur-Mediums auf.

Ein Bakteriophagenstamm bleibt nur solange vermehrungsfähig, als genügend abgetötetes Bakterien-Material als Kulturmedium vorhanden ist, wenn nicht gar schon Abbauprodukte der Bakterien als Stimulans für die Vermehrung resp. Weiterentwicklung einzelner Stadien der Bakteriophagen angesehen werden können.

Da demnach die Tötungstemperatur der Bakteriophagen von *Bacillus subtilis* über der Tötungstemperatur der *Bacillus*-Sporen liegt, ist es zwar nicht möglich, einen *Bacillus*-Stamm ohne Bakteriophagen zu züchten, aber wohl wenigstens nach Abtötung des infizierten *Bacillus*-Stammes eine Anreicherungs-Kultur von Bakteriophagen zu erhalten.

Nachtragend möchte ich bemerken, dass während des Sterilisierens bei 2 Atm. die Kultur-Röhrchen mit Wattestopfen versehen waren; demnach muss also in den Röhrchen derselbe Druck resp. Temperatur vorhanden gewesen sein wie im Autoclaven. Erst nach der Sterilisation wurden die Wattestopfen in einer Gasflamme durch eingeschliffene Glasstopfen und Glashaube ersetzt.

Wir sehen also aus dem Gesamtbild der Untersuchungen, dass sich Normen für das Wachstum, sowohl einer Bakterien- als auch Bakteriophagen-Spezies, im allgemeinen nicht ohne weiteres aufstellen lassen, sondern dass hierbei unter allen Umständen die Individualität d.h. Alter und Bakteriophagen-Infektionsgrad der Versuchskultur ausschlaggebend ist. Von einer Spezifität einer *Bacillus*-Spezies allein in Bezug auf Wachstumserscheinungen und Virulenz, die höchstwahrscheinlich durch den Bakteriophagen-Infektionsgrad bedingt ist, kann man demnach nicht sprechen.

Es bedarf nun erstens dringend der Verfeinerung der Versuchsmethoden, um die Differenz zwischen dem Individuellen der Versuchskultur und dem Spezifischen der Bakterien-Spezies möglichst klein zu gestalten, und zweitens bedarf es der Isolierung und Kultivierung der von pathogenen Bakterien gezogenen Bakteriophagen und der Berücksichtigung der mit diesen Bakteriophagen-Reinkulturen angestellten Impfversuche und -Resultate.

Erst unter diesen Voraussetzungen wird es möglich sein, die Tatsachen der Bakteriophagen-Forschung auch für die Menschheit nutzbar zu machen, erst dann wird man daran gehen können, Infektionskrankheiten mit Erfolg zu bekämpfen.

TECHNISCHER TEIL.

Sämtliche Lebendbeobachtungen der Bakterien wurden im sogen. „Ultra-Mikroskop“ in einer von der Firma E. LEITZ, Wetzlar, bezogenen sogen. „Kammer für Dunkelfeld-Beobachtung und Ultra-Mikroskopie“, die aus Quarz bestand, vollzogen.

Es ist zweckmässig, als Apertur-Blende in der Oel-Immersion eine für Beobachtung im Dunkelfeld hergestellte Apertur-Trichterblende zu benutzen und nicht die sogen. Apertur-Triebblende, da bei dieser im Laufe des Gebrauches an der Lamellenkante störende Reflexe auftreten, welche die Kontrastwirkung im Dunkelfeld stark beeinträchtigen können.

Sämtliche Glasgefässe, mit denen die zu verwendende Nährlösung in direkte Berührung kam, bestanden aus Jenaer Glas, die vor Gebrauch zwecks Herauslösung evtl. Alkalien, was zu falschen Beobachtungsergebnissen hätte führen können, mit HCl gründlich ausgekocht waren.

Die bei der Ultra-Filtration verwendeten Filter waren nach BECHHOLD mit „Eisessig-Kollodium im Vakuum imprägnierte“ 7 1/2 % Ultrafilter, bezogen von SCHLEICHER & SCHÜLL, Düren im Rheinland.

Der verwendete Ultra-Filtrationsapparat war durch den „Mikrokosmos“ Stuttgart bezogen. Die Zeichnung und Erklärung des eigentlichen Filtrationsapparates stammt aus F. V. v. HAHN, „Aus der Welt des Ultra-Mikrokosmos“, Mikrokosmos, Zeitschr. f. angewandte Mikroskopie, Bd. 19, 1925/26.

Erklärung zu Fig. 3: a und b = Glastrichter mit Flaschen, d und e = Gummiringe, c = Siebplatte aus Metall oder Porzellan, auf die die Membran aufgelegt wird,

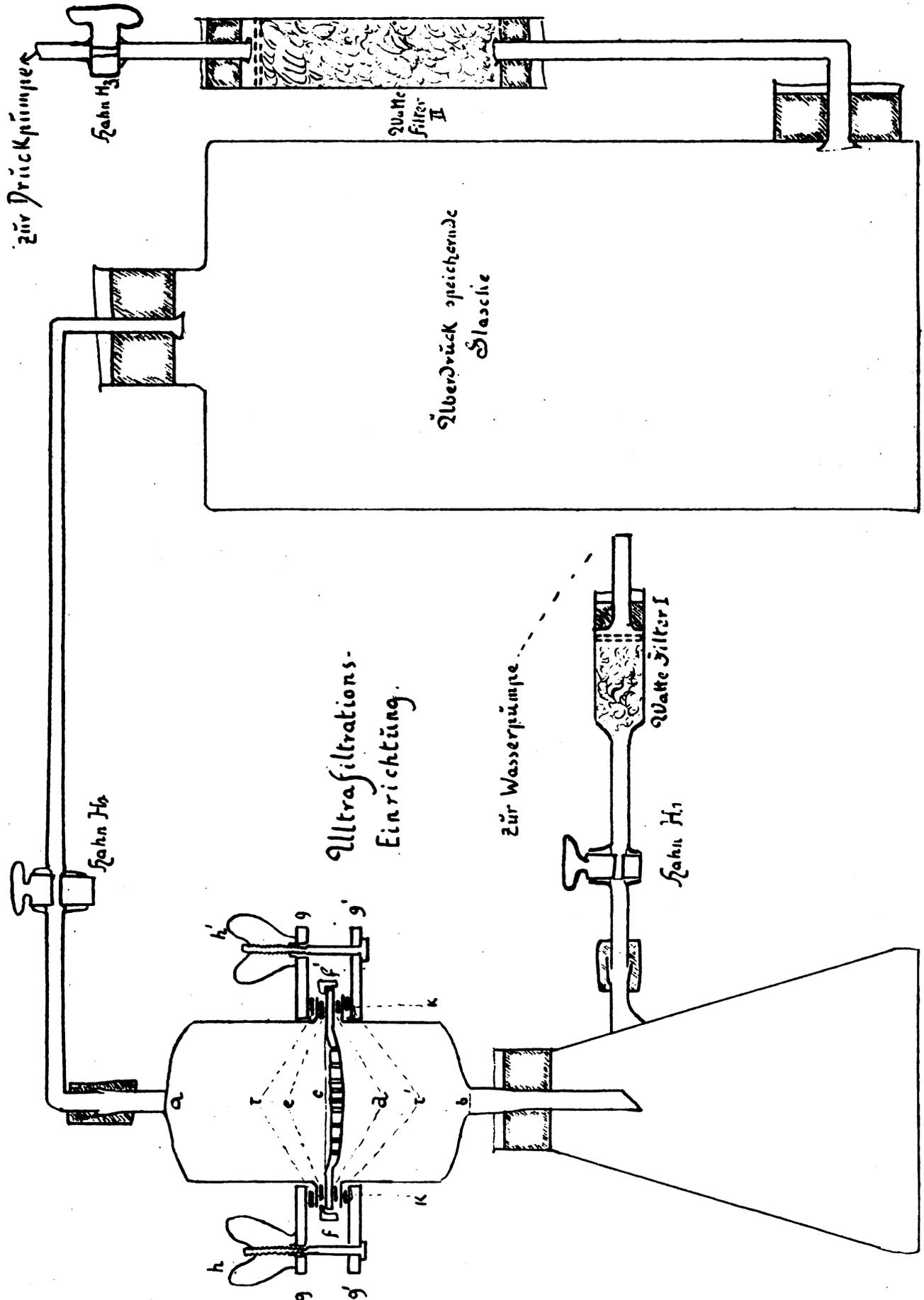


Fig. 3.

f = Sicherungsringe, g = Metallringe, die durch die Flügelschrauben h aufeinander gepresst werden.

Es sei hier gestattet, die Handgriffe bei Gebrauch der nebenstehenden selbst-konstruierten Ultrafiltrations-Einrichtung in kurzen Gesichtspunkten zu erläutern:

A. Vor Filtration:

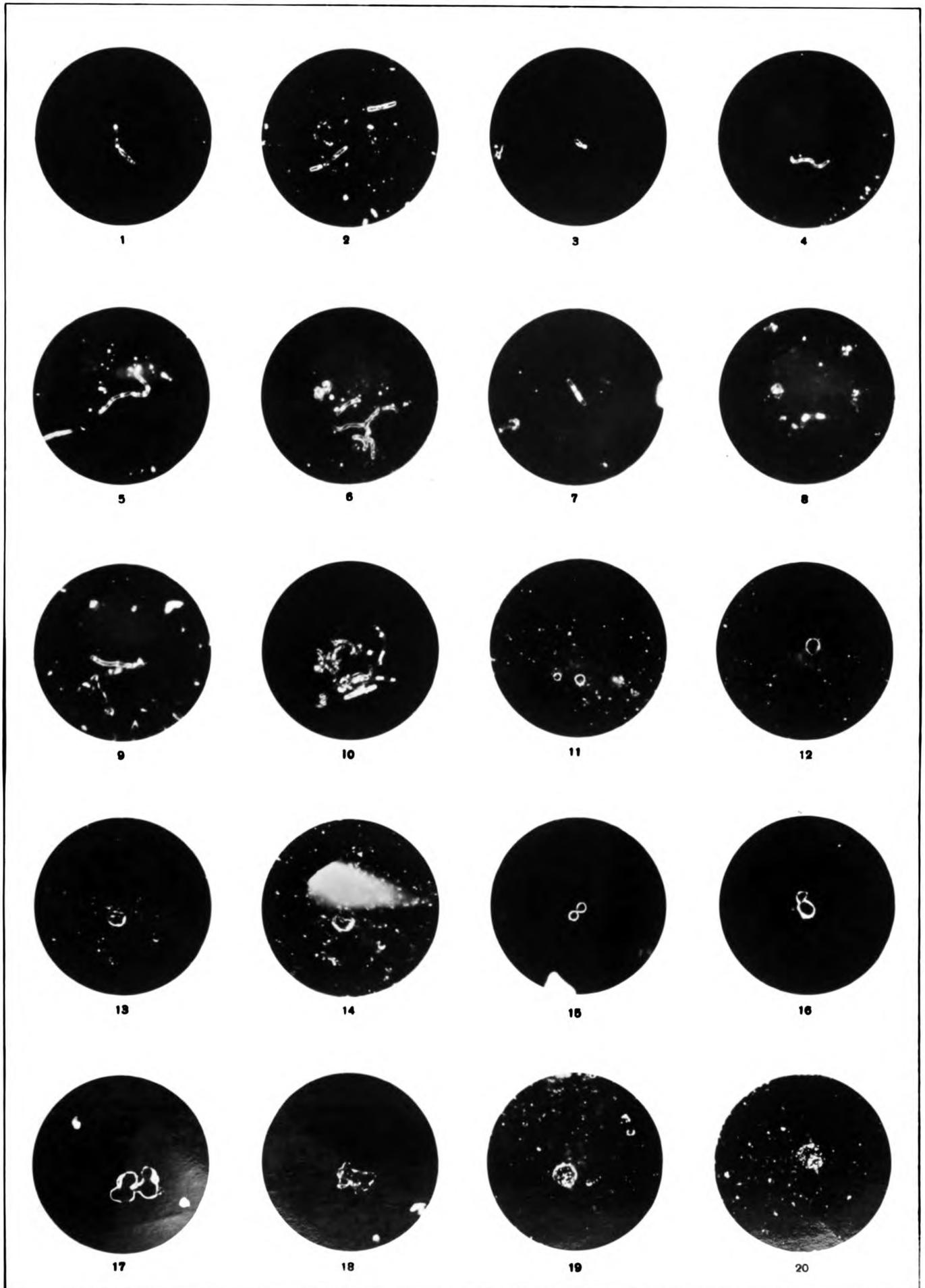
1. Ganze Filtrationsapparatur vollkommen trocknen (ohne Filter) und sämtliche Nähne vor Gebrauch geschlossen halten.
2. Überdruck-speichernde Flasche bei H₃ geschlossen halten, über H₂ durch Saugpumpe staubfrei auf Vakuum pumpen; H₂ schliessen.
3. Filter in Filtrationsapparat einspannen.
4. Staubbreies, sterilisiertes Kultur-Röhrchen in Filtrat-Gefäss setzen und Filtratgefäss über H₁ kurz durch Saugpumpe staubfrei pumpen, H₁ schliessen.
5. Sofort darauf sterilisierte Nährlösung oder Bakterien-Kultur in Filter-Haube unter aseptischen Kautelen pipettieren und durch Gummischlauch mit H₂ verbinden.
6. Durch Wattefilter II nach Öffnen von H₃ Normaldruck in Überdruck-speichernder Flasche herstellen und durch Wattefilter II mit Druckpumpe auf Überdruck-Pumpen, H₃ schliessen.
7. H₂ öffnen, Saugpumpe mit H₁ verbinden und in Gang setzen, H₁ langsam öffnen.

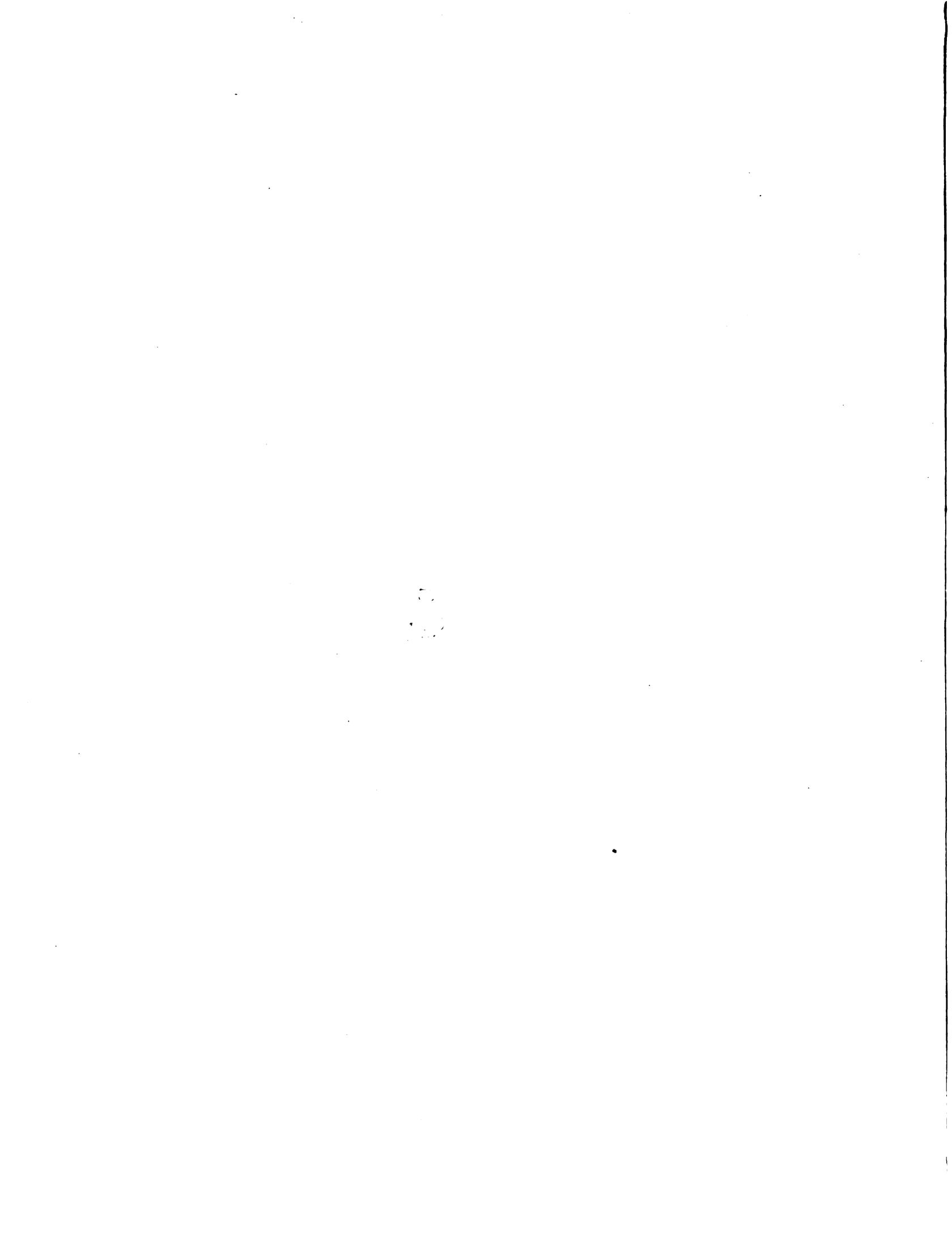
B. Nach beendeter Filtration:

1. H₁ schliessen, Saugpumpe abnehmen, an H₁ Wattefilter I stecken.
 2. H₃ und H₁ langsam öffnen, Normal-Druck herstellen lassen.
 3. Nach einiger Zeit H₂ schliessen, Filtratgefäss öffnen; Kultur-Röhrchen verschliessen und herausnehmen.
- Die mikro-photographischen Aufnahmen sind mit einer selbstgefertigten Mikro-Aufsatz-Camera angefertigt.
- Die Vergrösserung der Aufnahmen 1 - 10 ist ca. 1000-fach, der Aufnahmen 11 - 20 ca. 800-fach.

ERLÄUTERUNG DER MIKROPHOTOGRAPHIEN.

- 1.) Im unteren *Bacillus* 4 kleine (männliche) „Gameten“. Im oberen *Bacillus* 2 grosse (weibliche) „Gameten“; die *Bacillus*-Membran in der Mitte infolge Infektions-Prozesses nicht mehr sichtbar.
- 2.) Die mittelste Zelle der 3 *Bacillen* unten links zeigt deutlich die Abnahme des Lichtbrechungsvermögens der *Bacillus*-Membran im Laufe der Parasiten-Entwicklung.
- 3.) Die *Bacillus*-Zelle zeigt das nach einer Infektion (infolge Selbsterhaltungs-triebes?) abgekapselte Ende des Infektionsherdes; (der weisse grosse Punkt ist durch die lebhafteste Bewegung des Parasiten während der Aufnahme hervorgerufen).
- 4 - 5.) Wachstums-Stadien der grossen (weiblichen) „Gameten“.
- 6.) zeigt ausgesprochene durch und nach der Infektion der Parasiten entstandene *Bacillus*-Involutionen-Formen“; in der Mitte des Bildes im Innern des *Bacillus* tritt das sich-in-die-Länge-strecken des grossen (weiblichen) „Gameten“ auf.
- 7.) 2 grosse (weibliche) „Gameten“ im Innern von *Bacillus* im fortgeschrittenen Streckungsstadium.
- 8.) Teilungsbeginn von zwei grossen (weiblichen) „Gameten“. Man beachte die Samelform der Parasiten und die nur noch ganz schwach sichtbaren *Bacillus*-Membranen.
- 9.) Am rechten Ende der *Bacillen* Austreten der (weiblichen) „Gameten“ nach ihrer Teilung.
- 10.) Übersichtsbild von „intakten“ *Bacillen* (unten), infizierten *Bacillen* mit verschiedenen Parasiten-Entwicklungs-Stadien, leeren ausgefressenen *Bacillen* sogen. Schatten, eines grossen (weiblichen) freilebenden Gameten (der weisse Punkt rechts von der Mitte).
- 11 - 12.) Nach Verschmelzung (von männlichen und weiblichen) „Gameten“ entstandene „Plasmodien“-Stadien.
- 12.) zeigt am unteren Ende des „Plasmodiums“ den evtl. Verschmelzungs-Porus in der Membran.
- 13 - 14.) zeigt ein und dieselbe „Plasmodien“-Form in verschiedenen Bewegungs-





stadien (der weisse Streif ist ein Lichtfehler in der Aufnahme).

15. - 17.) Verschmelzungsstadien von „Plasmodien“-Formen.

18.) sogen. „Amöben“-Form, entstanden aus verschmelzenden „Plasmodien“-Formen; es tritt hier das erste sichtbare Herausdifferenzieren von „Körnchen“ auf.

19.) „Cysten“-Bildung mit stärkerem Auftreten von „Körnchen“.

20.) „Cysten“-Inhalt - Infektions-Keime - (die Membran der „Cyste“ ist verschwunden); in der Mitte und unten rechts „Vierer-Stadien“ von Infektions-Keimen.

LITERATUR-VERZEICHNIS.

- 1.) LAUTERBORN, 1896, nach ENDERLEIN 1925, Bakterien-Cyklogenie. - 2.) FISCHER, 1897, n.E., Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. - 3.) FISCHER, 1895, n.E., Neue Beiträge zur Kritik der Fixierungsmethoden. Anat. Anz. - 4.) ROWLAND, 1899, n.E., 1925, Bakterien-Cyklogenie. - 5.) MACALLUM, 1899, n.T., On the cytology of non-uncleated organisms. Univ. of Toronto Studies. Transact. of Canad. Inst. Vol. 6. - 6.) MASSART, 1901, n.T., Recherches sur les organismes inférieurs V usw. - 7.) ERNST, 1902, n.E., Über den Kern der Bakterien, C.f.B. Bd.8. - 8.) GRIMME, 1902, n.E., Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung usw., C.f.B. I. Abtlg. Orig. Bd. 32. - 9.) GUILLERMOND, 1902, n.T., Recherches cytologiques sur les levures usw., These Paris. - 10.) A. MEYER, 1904, n.E., Orientierende Untersuchung über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins, Bot. Ztg. Bd. 62. - 11.) WAGNER, 1905, n.E. 1925, Bakterien-Cyklogenie. - 12.) DOFLEIN, 1911, n.E., Probleme der Protistenkunde, II. - 13.) HUEPPE, 1886, n.E., Die Formen der Bakterien und ihre Beziehungen zu den Gattungen und Arten. - 14.) KLEBS, 1887, n.E., Die allgemeine Pathologie, I. Teil. - 15.) WEIGERT, 1887, n.T., Neuere Vererbungstheorien, SCHMIDT's Jahrb. d. ges. Med., Nr. 215. - 16.) MITROPHANOW, 1889, n.E. 1925, Bakterien-Cyklogenie. - 17.) WAHRLICH, 1890, n.E., Bakteriologische Studien, Scripta botanica. - 18.) BÜTSCHLI, 1890, n.E., Über den Bau der Bakterien und verwandter Organismen (Vortrag). - 19.) BÜTSCHLI, 1896, n.E., Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. - 20.) ZETTNOW, 1891, n.E., Über den Bau der Bakterien, C.f.B., I. Bd. 10. - 21.) SCHEWIAKOFF, 1893, n.E., Über einen bakterienähnlichen Organismus des Süßwassers. - 22.) BUNGE, 1894, n.E. 1925, Bakterien-Cyklogenie. - 23.) LÖWIT, 1896, n.E., Zur Morphologie der Bakterien, C. f. B., I. Abt. Bd. 19. - 24.) NOETZEL, 1896, n.E., Fortschritte der Med. Nr. 2. - 25.) FEINBERG, 1900, n.E., Über den Bau der Bakterien, C.f.B., I. Bd. 27. - 26.) MARPMANN, 1900, n.E., Über kernlose Bakterien, C.f.B., II, Bd. 6. - 27.) BÜTSCHLI, 1902, n.E., Bemerkungen über Cyanophyceen und Bakteriaceen, Arch. f. Protistenkunde, I. - 28.) SCHAUDINN, 1902, n.E., Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwand. Organismen, Arch. f. Protistenkunde, I. - 29.) OTTOLENGKI, 1904, n.E., Über die feine Struktur des Milzbrandbacillus, C.f.B. I Bd. 35. - 30.) RUZICKA, 1904, n.E., Weitere Untersuchungen über den Bau und die allgemeine biologische Natur der Bakterien, Arch. f. Hyg., Bd. 51. - 31.) RUZICKA, 1907, n.E., Depressionszustände und Regulationsvorgänge bei Bact. anthracis, Arch. f. Protistenkunde, Bd. 10. - 32.) DEUSSEN, n.E., 1921, Die GRAM'sche Bakterienfärbung usw., II, Z. f. Hyg., 93. - 33.) SCHOTTELIUS, 1888, n.E., Beobachtungen kernartiger Körper im Innern von Spaltpilzen, C. f. B., I, Bd. 4. - 34.) LÖFFLER, 1887, n.E., Vorlesungen über die geschichtliche Entwicklung der Lehre von den Bakterien, I. Teil bis zum Jahre 1878. - 35.) BABES, 1887, n.E., 1925, Bakterien Cyklogenie. - 36.) BABES, 1889, n.E., Über isoliert färbbare Anteile b. Bakterien, Z. f. Hyg., Bd. 5. - 37.) ERNST, 1889, n.E., Über Kern- und Sporenbildung in Bakterien, Z. f. Hyg., Bd. 5. - 38.) WAGER, 1891, n.E., On a nuclear structure in the Bacteria, Ann. of Bot., vol. 5. - 39.) SJÖBRING, 1892, n.E., Über die Kerne und Teilungen bei den Bakterien, C. f. B., I., Bd. 11. - 40.) TRAMBUSTI, und GALEOTTI, 1892, n.E., Neuer Beitrag zu Studien d. inneren Struktur der Bakterien, C. f. B., I, Bd. 11. - 41.) BABES, 1895, n.E., Beobachtung über metachromatische Körperchen usw. Z. f. Hyg., Bd. 20. - 42.) BUNGE, 1895, n.E., Über Sporenbildung bei Bakterien, Fortsch. d. Med., Bd. 13. - 43.) ZETTNOW, 1897, n.E., Über den Bau der grossen Spirillen, Z. f. Hyg., 24. Bd. - 44.) A. MEYER, 1897, n.E., Stu-

dien über die Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien usw. Flora 97, Ergänzungsband. - 45.) ELLIS, 1903, n.T., Untersuchungen über Sarcina usw. C.f.B., I. Abteilg., Bd. 33. - 46.) ELLIS, 1906, n.T., The life - history of Bacillus hirtus, Ann. of Bot., vol. 20. - 47.) WAGNER, 1898, n.E., Coli- und Typhusbakterien sind einkernige Zellen, C.f.B., I. Bd. 23. - 48.) MUCH, 1898, n.E., Bakterien Cyklogenie, 1925. - 49.) RUZICKA, 1898, n.T., Zur Frage von der inneren Struktur der Mikroorganismen, C.f.B. I. Abt. Bd. 23. - 50.) CATTERINA, 1898, n.E., Ric. sull'intima struttura delle spore dei batteri, Atti d. Soc. venet. trent., III. - 51.) MARK und WOITHE, 1900, n.E., 1925, Bakterien Cyklogenie. - 52.) VEJDOWSKY, 1900, n.E., Bemerkungen über den Bau und die Entwicklung der Bakterien, C.f.B., II, Bd. 6. - 53.) NAKANISHI, 1901, n.E., Über den Bau der Bakterien, C.f.B., I. Bd. 30. - 54.) FEDOROWITSCH, 1902, n.E., Über die Körnigkeit der Bakterien, C.f.B. II, Bd. 8. - 55.) VEJDOWSKY, 1904, n.E., Über den Kern der Bakterien und seine Teilung, C.f.B., II, Bd. 11. - 56.) PREISS, 1904, n.E., Studien über Morpholog. und Biolog. des Milzbrandbacillus, C.f.B., I., Bd. 35. - 57.) MENCL, 1904, n.E., Einige Bemerkungen über Struktur und Sporenbildung bei symbiotischen Bakterien, C.f.B., II, Bd. 12. - 58.) SWELLENGREBEL, 1907, n.E., Zur Kenntnis der Cytologie von Bac. max. bucc. C.f.B., II, Bd. 16. - 59.) GUILLERMOND, 1907, n.E., Quelques remarques sur la structure des Bacilles endospores. - 60.) GUILLERMOND, 1910, n.E., Quelques remarques sur la copulation des levures, Ann. mycol. 8. - 61.) VAHLE, 1909, n.T., Vergleichende Untersuchungen über die Myxobakteriaceen usw. C.f.B., II, Bd. 25. - 62.) HÖLLING, 1910, n.E., Die Kernverhältnisse von Fusiformis termidis, Arch. f. Protistenkunde, Bd. 19. - 63.) MENCL, 1910, n.E., Über den Kern und seine Teilung bei Sarcina usw. Arch. f. Protistenkunde, Bd. 19. - 64.) A. MEYER, 1911, n.T., Notiz über das Aussehen der Bakterien im Ultramikroskop, Arch. f. Protistenkunde, Bd. 24. - 65.) DOUGLAS und DISTASO, 1912, n.E., Etudes sur le noyau des bactéries, I, C.f. B., I. Abt., Bd. 63. - 66.) HOTTINGER, 1915, n.T., Beitrag zur Theorie der Färbung nach Gram, C.f.B., I, Bd. 76. - 67.) PENAU, 1915, n.T., Cytologie du Bac. verdunensis, C.R. Ac. sc. Paris, t. 161. - 68.) PARAVICINI, 1918, n.T., Zur Frage des Zellkernes der Bakt., C.f.B., II, Bd. 48. - 69.) KRUIS, 1913, n.T., Mikrophotographie der Strukturen lebender Organismen usw., Bull. intern. de l'acad. d. scienc. Bohème. - 70.) KIRCHENSTEINS, 1921, n.E., Sur la structure et le mode de développement des bactéries. C.r. des Séances de la sec. de biol. 85. - 71.) GUTSTEIN, 1925, Über den Kern und den allgemeinen Bau der Bakterien, C.f.B., I, Orig., Bd. 95. - 72.) TISCHELER, 1926, Handbuch der Pflanzenanatomie, Cytologie, Bd. II. - 72a.) BESSUBETZ, 1925, Zur Frage vom Vorhandensein der Kerne bei den Bakterien, C.f.B., I, Bd. 96, (Orig.) - 73.) BILLET, 1890, n.E., Contribution a l'étude de la morphologie et du développement des bacteriacees, Bull. scientifique de la France et de la Belgique. - 74.) ILKEWICZ, 1894, n.E., Über die Kerne der Milzbrandsporen, C.f.B. I. Abt., Bd. 15. - 75.) BREDEMANN, 1909, n.T., Bacillus amylobacter M. et BREDEMANN usw. C.f.B., 2. Abtlg. Bd. 23. - 76.) FÖRSTER, 1892, n.T., Über eine merkwürdige Erscheinung bei Chromatium Okenii. - 77.) FUHRMANN, 1906, n.E., Entwicklungszyklen bei dem Bakt., Verh. d. Ges. Deutsch. Naturfr. u. Ärzte, 78. Vers. II. - 78.) v. PROVAZEK, 1906, n.E., Morpholog. u. entwicklungsgesch. Untersuchungen über Hühnerspirochäten, Arb. aus d. Kais. Gesundheitsamt, Bd. 23. - 79.) MÜHLENS und HARTMANN, 1906, n.E., Über Bac. fusiformis und Spirochaeta dentium, Z. f. Hyg., Bd. 55. - 80.) POTTHOFF, 1922, Zur Frage nach dem Vorkommen von Befruchtungsvorgängen bei Bakterien, Die Naturwissenschaften, Heft 18. - 81.) LÖHNIS and N. R. SMITH, 1916, ref. v. K. MEYER 1919, C.f.B., I. Abtlg., Ref. Bd. 68. - 82.) MEYER, 1919, Ref. ü. F. LÖHNIS and SMITH, 1916, C.f.B., Ref. I. Abtlg., Bd. 68. - 83.) LÖHNIS, 1921, ref. v. E. GILDEMEISTER, 1923, C.f. B., I. Abt. Ref. Bd. 74. - 84.) GILDEMEISTER, 1923, Ref. ü. LÖHNIS, Zur Morphologie u. Biologie der Bakterien, C.f.B., Abt. II, 1922. - 85.) ALMQUIST, 1925, Biologische Forschungen über Bakterien. - 86.) ENDERLEIN, 1925, Bakterien-Cyklogenie. - 87.) HALLIER, 1867, n.E., 1925, Bakterien-Cyklogenie. - 88.) F. COHN, 1870, n.E., Über den Brunnenfaden (Crenothrix polyspora) usw. Beitr. z. Biologie der Pflanzen, Bd. I. - 89.) LANKESTER, 1873, n.E., On a peach-coloured Bacterium usw. Quarterly journal of mikrosk. Science, vol. 13. - 90.) LISTER, 1873, n.E., A further contribution to

- the natural history of Bacteria usw. Quarterly journal of mikrosk. Science, vol. 13. - 91.) WEINRICH, 1880, n.E., 1925, Bakterien-Cyklogenie. - 92.) PRAZMOWSKI, 1880, n.E., Untersuchung über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterien. - 93.) BREFELD, 1881, n.E., Untersuchungen aus dem Gesamtgebiet der Mykologie, 1-14. - 94.) KURTH, 1883, n.E., 1925, Bakterien-Cyklogenie. - 95.) ZOFF, 1883, n.E., Zur Morphologie der Spaltpflanzen. - 96.) BUCHNER, 1885, n.E., Zur Nomenclatur der Spaltpilze, Sitz.Ber.Ges.Morphol.u.Phys., München. - 97.) CASPERINI, 1887, n.E., La biologia e piu specialmente il polimorfismo usw. Soc. Toscani di scienc.natur.9. - 98.) METSCHNIKOFF, 1889, n.E., Contribution a l'étude du pleomorphisme des bactéries. Ann.de l'institut Pasteur. T.3. - 99.) MACCHIATTI, 1899, n.E., Di un carattere certe per la diagnosi della Batteriacee, Nuovo giornale botanico Italiano, 2.Ser.vol.6. -100.) FUHRMANN, 1907, n.E., Entwicklungscyklen bei Bakterien, Beihefte, 2.Bot.Zentr.Bl., Bd.23. - 101.) WASSERZUG, 1888, n.E., Variations de forme chez les bactéries, Ann.de l'institut Pasteur, 2.Bd. - 102.) WINOGRADSKY, 1889, n.E., Sur le pleomorphisme des bactéries, Ann. de l'instit.Pasteur. - 103.) NEISSER, 1906, n.E., 1925, Bakterien-Cyklogenie. - 104.) MASSINI, 1907, n.E., 1925, Bakterien-Cyklogenie. - 105.) KUHN, 1919, Münch. Med.Wochenschau,Nr.46. - 106.) KUHN, 1924, Ber.üb.die 10.Tagung d.Deutsch.Verg. f.Mikrobiologie, C.f.B.I.Abt.Orig.Bd.93. - 106a.) KUHN, 1926, Demonstration der Ergebnisse morphologischer Bakterienstudien und zum d'Hérelleschen Phänomen, Arch. f.Schiffs- und Tropenhygiene,Bd.30,Beiheft 1. - 107.) KUHN, 1923, Ber.üb.die 9. Tagung der Deutsch.Vereinig.f.Mikrobiologie, C.f.B.I.Abtlg.Orig.Bd.89. - 108.) GILDEMEISTER, 1924, Ber.üb.die 10.Tagung der Dtsch.Vereinig.f.Mikrobiologie, C.f.B.I.Abtlg.Orig.Bd.93. - 109.) PRAZMOWSKI, 1912, n.E., Azotobacter-Studien, Anz.d.Akad.d.Wiss.Krakau,Math.-Naturw.Kl.Reihe B. -110.) PRAZMOWSKI, 1913, n.E., Die Zellkerne der Bakterien, Bull.intern.Acad.Cracovie, Cl.sc.mat.et nat.Ser.B. - 111.) VINCENTINI, 1892, n.E., Nuovi studii batteriologici sugli sputi morfologici usw., Memoria, presenta alla R.Accademia medico-Chirurgica di Napoli, Ref. BAUMGARTENs Jahresber.1891. - 112.) F.COHN, 1876, n.E., Untersuchungen über Bakterien,III, In: Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 2.Heft. - 113.) GRUBER,1885, n.E., Über die als Kommbazillen bezeichneten Vibrionen von KOCH und FINKLER-PRIOR, Wittelschöf.Wiener med.Wochenschr. - 114.) WEIBEL, 1888, n.E., Untersuchung über Vibrionen, C.f.B.,I.Bd.4. - 115.) BEHRING, 1889, n. E. loco citato. - 116.) LAFAR, 1897, n.E., Technische Mykologie. - 117.) GALLI-VALLERIO, 1900, n. E., Quelques observations sur la morphologie du Bactérium pestis usw. C.f.B.I,Bd. 28. - 118.) MAASSEN, 1904, n.E., Die teratologischen Wuchsformen (Involutionsformen) der Bakterien. Arb.aus d.Kaiserl.Gesundheitsamt. - 119.) ABBOTT and GILDERS-LEWE, 1904, n.E., On the branching occasionally exhibited by bacillus diptheriae, C.f.B.I,Bd.36. - 120.) ALMQUIST, 1904, n.E., Neue Entwicklungsformen des Cholera-spirills und der Typhusbakterie, C.f.B.I,Bd.37. - 121.) HEIM, 1906, n.E., 1925, Bakterien-Cyklogenie. - 122.) GÜNTHER, 1906, Einführung in das Studium der Bakteriologie. - 123.) SABELLA, 1925, Involutionsformen des Bac.erysipelatus suis, C. f.B.I.Abtlg.,Orig.Bd.94. - 124.) OTTO, MUNTER und WINKLER, Beiträge zum d'Hérelleschen Phänomen, Z.f.Hyg.,19222, Bd.96. - 125.) GILDEMEISTER, 1923, Weitere untersuchungen über das d'Hérellesche Phänomen, C.f.B.I.Abtlg.Orig.Bd.89,(Beiheft Ber.d.Deutsch.Vereing.f.Mikrobiologie. - 126.) PRAUSNITZ, 1923, Untersuchungen über den d'Hérelleschen Bakteriophagen, C.f.B.,I.Abtlg.Orig.Bd.89,(Beiheft Ber. d.Deutsch.Vereinig.f.Mikrobiologie. - 126a.) PRAUSNITZ und E.FIRLE, 1924, Neuere Untersuchungen über das Wesen des Bakteriophagen, C.f.B.I.Abtlg.Orig.Bd.93. - 127.) SEIFFERT, 1923, Ein Beitrag zur Variation der Bakterien und zum d'Hérelleschen Phänomen, C.f.B. I.Abt. Orig.Bd.89, (Beh.d.Deutsch.Vereing.f.Mikrobiologie). - 128.) FLU, 1923, Das Verhalten eines inagglutinablen FLEXNER-Bakterium gegenüber Anti-FLEXNER-Bakteriophagen, C.f.B.,I.Abt.,Orig.Bd.90. - 129.) FLU, 1923,Die Natur des Bakteriophagen und die Bildung von Bakteriophagen in alten Bouillonkulturen pathogener Mikroorganismen, C.f.B.,I.Abt.,Orig.Bd.90. - 130.) JANZEN und L.K.WOLFF, 1923, Über den Typhusbakteriophagen, C.f.B.,I.Abtlg.,Orig.Bd.91. - 131.) MEISSNER, 1924, Über Bakteriophagen gegen Choleravibrionen, C.f.B.I.Abtlg.

Orig.Bd.91. - 132.) MEISSNER, 1924, Versuche über die Flüchtigkeit und Kochbeständigkeit des d'Hérolleschen Bakteriophagen, C.f.B., I.Abtlg., Orig.Bd.92. - 133.) MEISSNER, 1924, Die Bindungsverhältnisse zwischen Bakteriophagen und Bakterien, C.f.B., I.Abtlg., Orig.Bd.93. - 134.) REICHERT, 1924, Untersuchungen über das d'Hérellesche Phänomen, C.f.B., I.Abtlg., Orig.Bd.91. - 135.) TAKIMA MATSUMOTO, 1924, Versuche über die Vermehrung von Bakteriophagen, C.f.B., I.Abtlg., Orig.Bd.91. - 136.) TORAHIKO IKOMA, 1924, Studien über Bakteriophagen-Wirkung, C.f.B., I.Abtlg., Orig.Bd.91. - 137.) GILDEMEISTER u.HERZBERG, 1924, Zur Theorie des Bakteriophagen (d'Hérelle Lusine), C.f.B., I.Abtlg., Orig.Bd.93. - 138.) LISCH, 1924, Über die sogenannten Pyocyaneus-Bakteriophagen, C.f.B., I.Abtlg., Orig.Bd.93. - 139.) HODER, 1924, Vergleichende Untersuchungen von Coli-Dysenterie- und Paratyphus-Bakteriophagen, C.f.B., I.Abtlg., Orig.Bd.93. - 140.) NAKASHINA, 1925, Beitrag zum Vorkommen und Verhalten des Bakteriophagen Lysins Abwässern, C.f.B., I.Abtlg., Orig.Bd.94. - 141.) GERKE, 1925, Untersuchungen über die Frage nach der Flüchtigkeit der Bakteriophagen Lysin., C.f.B. I.Abt. Orig.Bd.94. - 142.) GOZONY und SURANYI, 1925, Reduktionsversuche mit Bakteriophagen, C.f.B.I.Abt.Orig.Bd.95. - 143.) SCHUURMANN, 1925, Der Bakteriophage, ein lebender Organismus, C.f.B., I.Abt. Orig.Bd.95. - 144.) BREINL und HODER, 1925, Bakteriophagenwirkungen in der Paratyphus-Gruppe, C.f.B.I.Abt.Orig.Bd.96. - 145.) d'HERELLE, 1925, Die Natur des Bakteriophagen, C.f.B.I.Abt.Orig.Bd.96. - 146.) SONNENSCHNEIN, 1926, Über Paratyphus-Bakteriophagen und Antiphaginie, C.f.B.I.Abt.Orig.Bd.97. - 147.) HODER und KIYOSHI SUZUKI, 1926, Über die Gewinnung von Bakteriophagen aus Pankreasextrakten, C.f.B.I.Abt.Orig.Bd.98. - 148.) KOCH, 1926, Untersuchungen über Bakteriophagen-Kataphorese, C.f.B.I.Abt.Orig.Bd.99. - 149.) MANNINGER, 1926, Beitrag zur Kenntnis der Bakteriophagie, C.f.B.Bd.99. - 150.) I.van LOGHEM, 1926, Bakteriophage und hämolytisches Endotoxin des Cholera-Vibrio, C.f.B.I.Abt.Orig.Bd.100. - 151.) DIMTZA, 1927, Über Veränderungen von Coli-Stämmen durch Bakteriophagenwirkung in vivo und vitro, C.f.B.I.Abt.Orig.Bd.101. - 152.) PEALZ, 1927, Über bakteriophage Wirkungen bei Meningokokken, C.f.B.I.Abt.Orig.Bd.101. - 153.) ZDANSKY, 1927, Über Bakteriophagie (heutiger Stand), C.f.B. Ref.Nr.85 (Sitz.Ber.d.Wien. Ges.f.Mikrobiologie.).

Abkürzungen: n.E. = nach ENDERLEIN; n.T. = nach TISCHLER; C.f.B. = Centralblatt für Bakteriologie; Z.f.Hyg. = Zeitschrift für Hygiene.

ZUSAMMENFASSUNG.

In der letzten Zeit hat sich in der Frage nach dem Wesen der d'HERELLESchen Bakteriophagie ein Gegensatz zwischen fermentativer und vitaler Deutung herausgebildet, wobei die zweite Deutung als eine Erklärung der Fermentwirkung aufgefasst werden kann. Es ist vornehmlich das Verdienst von PHIL.KUHN, als erster auf mikroskopisch-morphologischem Wege an das Problem herangegangen zu sein, was ihm eine reiche Gegnerschaft eintrug. Die Dinge, welche er dabei gesehen und im Sinne eines parasitischen Lebewesens der *Pettenkoferia* gedeutet hat, wurden früher als Zellkerne der Bakterien, Involutionsformen, Mutationen oder Generationswechsel der Bakterien angesehen.

Das voraussetzungslose Herantraten an diese Probleme hatten wir uns als Fragestellung gestellt, wobei wir bemüht waren, uns vor jeder Einseitigkeit zu bewahren. Als Botaniker diesen Problemen ferner stehend, waren wir dabei in einem gewissen Vorteil.

Zunächst benützten wir die Wege und die Methode von KUHN. Absichtlich gingen wir aber von Sporenbildnern aus. Man kann aus Sporen durch Erhitzen sich leicht ein einheitliches Stadium der Entwicklung herstellen. Zu unserem Erstaunen konnten wir alle Stadien der KUHNschen Reihe wiederfinden.

Da uns beim Arbeiten mit den Farbpräparaten Zweifel an der Natur der Erscheinung als Lebewesen aufstiegen, da wir an Kunstprodukte, Gel-Niederschläge oder Kongregationen infolge der Behandlung dachten, so beschränkten wir den zwar mühseligen, aber doch durch Erfassen der Entstehung sicheren Weg der Dauerbeobachtung

eines Individuums im Dunkelfelde. Weil eine Beobachtung von Wochen nötig ist, so sind Glasgeräte zu verwerfen. Unsere Beobachtungskammern waren aus Bergkristall hergestellt und von der Firma E. LEITZ, Wetzlar, geliefert. Eine einwandfreie Optik ist natürlich Voraussetzung, wie das Festhalten der Bilder durch Photographieren mit einer Art Mikrospiegelreflexcamera.

Man hat keine Verkettung der Bilder auf logischen Schlüssen nötig und vermeidet diese vor seinen Augen entstehen sehend jegliche Präparation und ihre Folgen.

In einer Sporenkultur (*Bacillus subtilis*, *mycoides* und *mesentericus*) treten winzige Körnchen neben den hellen Bakterienschwärmern auf. Das Substrat muss optisch leer sein. Durch die „willkürliche“ Richtung unterschied sich anscheinend die Bewegung der Körnchen von einer Molekularbewegung. Wir konnten das Eindringen derselben in den Leib der Bakterien beobachten. Hiernach war deren Eigenbewegung wie gelähmt. Innerhalb des Bakteriums entwickelte sich das Körnchen weiter. Der Inhalt und Glanz des Bakterienleibes verlor sich. Wenn von ihm nurmehr ein „Schatten“, eine leere Haut, übrig ist, dann bewegen sich die Abkömmlinge des Körnchens immer rascher im Innern. Es entsteht so eine Anzahl derselben Körper wie am Beginn in der Haut zunächst eingeschlossen, bald aber schwärmen sie durch eine Öffnung aus. Der Lauf beginnt zumeist von neuem.

Andere Körnchen schwellen innerhalb der Bakterie an. Auch hier wird der Inhalt der letzteren verbraucht. Die Körner strecken sich in die Länge und bilden durch Einschnüren zwei Körner. Von Sporen unterscheiden sie sich durch Grösse und Form.

Auch diese Körner verlassen die erhalten-bleibende Haut. An ein Korn tritt ein Klein-Körnchen heran. Wir können die Beobachtungen von ENDERLEIN voll bestätigen. Die Klein-Körnchen sind in der Gestalt nicht von den Körnchen des Ausganges unterscheidbar. Es hat den Anschein, als ob sie in grösserer Zahl genau so wie die Körnchen entstünden. Das Ultramikroskop gibt bekanntlich nur das Vorhandensein eines kleinen Körpers an, ohne dass Rückschlüsse auf die Gestalt gezogen werden dürfen.

Das Verschmelzungsprodukt von Gross- und Klein-Körnern vergrössert sich und vereinigt sich mit seinesgleichen mehrfach, bis ein grosses Gebilde da ist. Das hat „amöboide“, langsame Bewegung. Ein Umfliessen von fester Nahrung sahen wir nicht.

Nach einiger Zeit schrumpft es zusammen und umgibt sich mit einer kugelförmigen, derberen Haut. Währenddessen leuchten stark lichtbrechende Körner auf.

Nach einiger Ruhe schwindet die Haut. Ein Bruchsack quillt vor. Die Körnchen teilen sich in Diaden und dann Tetraden. Das Ganze zerfällt. Die in Freiheit gelangten Körnchen beginnen sich zu zerstreuen und verhalten sich wieder, wie die Körnchen am Beginne unserer Betrachtung.

Wie ist die Erscheinung zu deuten? Sind das Lebewesen, sind es Sexualprozesse? Gehören diese zu den Bakterien oder zu einem Lebewesen, das in Bakterien parasitiert?

Wir versuchten, auf diese Fragen eine Antwort durch Versuche zu geben. Die Beobachtung allein kann keine zwingende Antwort ableiten lassen.

Solchen kleinsten „Lebewesen“ ist der Wattebausch kein Hindernis. Wir benützten Kulturröhren aus Hartglas mit dicht geschliffenen Stöpseln. Darüber stülpten wir Glaskappen. Peinlichste Sorgfalt muss sowohl auf Sterilität und Aseptik wie besonders auf das nicht leichte Erreichen optischer Leere durch Ultrafiltration gelegt werden. Für alle Schritte sind Kontrollen und ein grosser Apparat blinder Versuche nötig.

Die Körnchen lassen sich einige Zeit ohne lebende Bakterien ziehen. Das war schon ALMQUIST gelungen. Es ist möglich, auf toten Bakterien den Entwicklungszyklus der Körnchen zu bekommen, aber nie kommen dann Bakterien zum Vorschein. Kontrollen bleiben frei von den Gebilden. Ein Auftreten der Gebilde auf toten Bakterien nach starker Sterilisation erfolgt nicht. Das bezeugt die Dichte des Abschlusses und die Natur des Lebewesens. Diese Lebewesen rufen das d'HERELLEsche Phänomen hervor. Der Vorgang ist fermentativ, aber Parasiten erzeugen die Fermente.

Unsere Arbeit endet somit mit einer völligen Bestätigung der KUHN'schen Ergebnisse seiner *Pattenkoferia*. Diese stehen den Myxomyceten nahe und durchlaufen einen vegetativen und generativen Zyklus. Versuche, die Bakterien ohne Parasiten zu ziehen, gelangen uns nicht, da derselbe sich hitzeresistenter erwies als diese. Die Sporulation tritt nur bei Abwesenheit eines Endophyten ein. Ein Abschnüren desselben durch die Bakterienzelle beobachteten wir auch.

Ganz besonders möchte ich Herrn Professor Dr. C. MEZ und Herrn Privatdozent Dr. H. ZIEGENSPECK für die Anregungen und die mir jederzeit gewährten Unterstützungen bei dieser Arbeit meinen aufrichtigsten Dank aussprechen.

Ebenso danke ich Herrn Professor Dr. ABROMEIT für die Beschaffung des Bibliothek-Materials und Herrn Professor Dr. GANS für seine Ratschläge bei den Ultrafiltrationsarbeiten.

ABSTRACT.

In the question about the nature of the *HERELLE's* bacteriophagy a contrast has developed lately between fermentative and vital interpretation, whereby the second interpretation may be comprehended as an explanation of the fermentive action. It is chiefly the merit of PHIL. KUHN to have approached this problem in a microscopical-morphological way as the first which brought him many adversaries. What he has seen and interpreted as parasitic micro-organism, was referred to formerly as grains of the bacteria, evolution forms, mutations or change of generation.

We have endeavoured to approach this problem without supposition and without partiality. Being Botanists we are more distantly related to this problem which was a certain advantage.

At first we use the way and method of KUHN, but intentionally we started from the spore formers. It is easy to get an uniform state of the development by heating the spores. To our surprise we found again all states of the series of KUHN.

During the work with the colour preparations we felt in doubt about the nature of the appearances as micro-organism, we believed they were artificial products, gel-precipitations or congregations, owing to the treatment. Therefore we went the more troublesome, but for the comprehension of the origin so much surer way of continued observation of one individual in the dark field. As an observation for weeks is necessary, glass implements are not to be used. Our observation chambers were made of quartz furnished by the firm E. LEITZ in Wetzlar. A faultless optics is an evident condition for the fixing of images by photography with a kind of micro-mirror-reflex-camera. - Then one needs no enchainment of the images in logical conclusions and seeing these originating before our eyes all preparations and its consequences are avoided.

The product of the fusion of the small grains and the smallest grains increases and unites with many of their kind until a large structure is attained. This has an "amoeboid" slow movement. We did not notice any circulating of solid food.

In a spore culture (*Bacillus subtilis*, *Mycoides* and *Mesentericus*) very small grains appear besides the clear microbes swarms. The substratum ought to be optically vacant. The movement of the grains differed from a molecule movement apparently by the "arbitrary" direction. We observed their penetrating into the body of the bacteria. After this their own movement seemed paralyzed. The grains developed further inside the bacterium. The contents and the brightness of the body of the bacteria disappear till there is left only a "shadow", an empty membrane. Then the small grains move quicker and quicker in the inside. There arise a number of the same small grains as in the beginning which are at first enclosed in the membrane, but very soon they swarm out of an opening. Mostly they begin this course again. - Other small grains swell inside the bacteria. Here also the contents of the latter are quite used up. The small grains stretch lengthwise and by abjunction form two small grains. They differ from the spores by their size and shape. - These small grains also leave the preserved remaining membrane. A very small grain approaches a small grain. We are able, fully to support the observations of ENDERLEIN. It is not possible to distinguish the smallest grains

by their shape from the original small grains. It seems as if in greater number they arise exactly in the same manner as the small grains. The ultramicroscope, as is known, indicates only the existence of a small corpuscle, but it is not possible to draw any conclusions as to its shape.

After some time this structure shrinks and surrounds itself with a solid globular membrane. Meanwhile strong light refracting small grains are shining.

The membrane disappears after some time of rest. A fracture, like a sack, swells out. The small grains divide into diads and tetrads. The whole structure falls to pieces. The liberated small grains begin to disperse and behave again in the same way as the small grains in the beginning of our observations. How many this appearance be explained? Are they living beings, or are they sexual processes? Do they belong to the bacteria or to micro-organisms which are parasites in the bacteria?

We have attempted to answer this question by trials; it is not possible to derive a convincing answer solely from observations.

The wadding pad is no hindrance to such smallest organism. We used test tubes of hard-glass with corks polished stoppers. These were covered with glass-caps. The greatest care is necessary to attain sterility as well as aseptic and the hot easily obtained optic vacuum ultrafiltration. Control and a great apparatus of blind trials are necessary for all steps.

The small grains may be raised for some time without the living bacteria. ALMQUIST succeeded already in doing so. It is possible to get the whole developmental cycle on dead bacteria but then the bacteria will never make their appearance. The controls remain free of the structures. The appearance of the structures on dead bacteria after strong sterilisation does not occur, they were killed. This proves the tightness of the closing and the nature of the micro-organism. These organisms produce d'HERELLE's phenomena. The occurrence is fermentative, but the ferments are produced by parasites.

Our work finishes therefore with a full confirmation of the results of KUHN's Pectenoferia. These are related to the myxomycetes and go through a vegetative and generative cycle. Trials to raise bacteria without the parasite were not successful as it was more resistant to heat than the former.

The sporulation of the bacteria happens in the presence of an endophyte only. We also noticed an abjunction of the same by a bacteria cell.

We feel obliged to the philosophical faculty for a prize which helped to cover our expenses.

MITTBILUNG DES HERAUSGEBERS.

Das Botanische Archiv nimmt dauernd Manuskripte aus allen Gebieten der Botanik zu baldiger Veröffentlichung entgegen. Es zeichnet sich durch besondere Liberalität in der Gewährung von Abbildungen aus, wenn diese in der vorgeschriebenen Art (Zeichnung genau in der Grösse der Reproduktion mit unverdünnter Tusche auf durchscheinendem Papier, am besten BAYER, München, Theresienstrasse 19, Marke BAVARIA) geliefert werden. - 50 Separat-Abzüge werden kostenfrei gegeben. Die Lieferung weiterer Exemplare findet nur bei Dissertationen statt und geschieht zu billigen Selbstkosten-Preisen. - Die weite Verbreitung unserer Zeitschrift sichert wirkungsvollste Veröffentlichung aller Arbeiten; die Billigkeit der Herstellung und des Verkaufspreises lässt den Autoren die Möglichkeit, bei der Darstellung ihrer Ergebnisse ausführlicher zu werden, als dies anderswo gern gesehen wird.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Botanisches Archiv. Zeitschrift für die gesamte Botanik](#)

Jahr/Year: 1927

Band/Volume: [19](#)

Autor(en)/Author(s): Koch Max

Artikel/Article: [Die KUHNschen Bakteriophagen 275-313](#)