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

(Aus dem botanischen Institut der technischen Hochschule in Graz, Vorstand: Prof. Fr. Reinitzer).

# Morphologisch-biologische Untersuchungen über ein neues Essigsäure bildendes Bakterium.

Von

**Dr. Franz Fuhrmann.**

---

Mit Tafel I u. 3 Abbildungen im Text.

---

Es ist eine bekannte Tatsache, daß es eine Reihe von niedersten pflanzlichen Gebilden gibt, welche die Fähigkeit besitzen, in alkoholischen Flüssigkeiten den Äthylalkohol zu Essigsäure zu oxydieren und diese dann mehr oder minder rasch in Kohlensäure zu verbrennen. Diesen Vorgang pflegt man Essiggärung zu nennen. Schon lange weiß man, daß sich beispielsweise auf Wein, zu dem die Luft ungehinderten Zutritt hat, eine Haut von zäher oder mehr schleimiger Beschaffenheit bildet, und gleichzeitig eine mehr oder weniger starke Essigsäurebildung zu bemerken ist. Von diesen Tatsachen macht man auch heute noch bei der Herstellung des Weinessigs ausgedehnten Gebrauch. Um rasch einen guten Weinessig zu bekommen, ist es üblich, ein Stück der bereits vorhandenen Essigmutter in die zu säuernden Weinportionen zu geben oder auf die alte Essigmutter neuen Wein aufzugießen. Man schätzte auch besonders wirksame Essighäute und suchte andere fernzuhalten, bei deren Anwesenheit der Weinessig einen unangenehmen Geruch oder Beigeschmack erhält.

Bis heute ist die Essigfabrikation noch nicht soweit gekommen, ausschließlich mit Reinkulturen des Essigpilzes zu arbeiten, weshalb dabei noch manche Zufälligkeiten eine böse Rolle spielen. Die moderne Bakteriologie ist durch ihre Untersuchungen bestrebt, diesen Verhältnissen Rechnung zu tragen und die Ausbeute an neuen Kenntnissen nach Tunlichkeit für die Praxis zu verwerten. Gerade über die Essiggärung und Biologie ihrer Erreger wurde in der neueren und neuesten Zeit ziemlich viel gearbeitet, sodaß schon eine umfangreiche Literatur vorliegt, aus

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



der ich in erster Linie diejenigen Abhandlungen eingehender berücksichtigen werde, die sich mit der Morphologie und allgemeinen Biologie der Essigbakterien befassen.

Über den Chemismus der Weinessiggärung und über die beim Wachstum der Essigbakterien in den Nährsubstraten auftretenden Veränderungen behalte ich mir vor, in der nächsten Zeit eingehende Studien zu veröffentlichen, wobei die Literatur dieses Gebietes gebührende Berücksichtigung finden wird.

Bevor ich auf die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen mit einer neuen Spezies der Essiggärungserreger eingehe, scheint es mir vorteilhaft, den bereits bekannt gewordenen Tatsachen auf dem Gebiete der morphologisch-biologischen Essigbakterienforschungen einen kurzen Abschnitt zu widmen.

---

Die Chemiker wußten schon lange, daß man durch Oxydation des Äthylalkohols unter Anwendung einer den Sauerstoff verdichtenden Substanz, wie des Platinschwarzes, Essigsäure erhält. Diesen rein physikalisch-chemischen Vorgang nahmen sie auch bei der Essiggärung alkoholischer Flüssigkeiten an und sahen in der Essighaut einen hochzusammengesetzten Körper, dessen Wirksamkeit sie mit der des Platinschwarzes identifizierten. Diese rein physikalisch-chemische Theorie der Essiggärung in alkoholischen Flüssigkeiten hatte in der Gelehrtenwelt derart festen Fuß gefaßt, daß man den ersten Entdeckungen von der vegetativen Natur der Essighäute nicht die geringste Bedeutung beilegte und die Ergebnisse des deutschen Algenforschers Kützing (16) garnicht berücksichtigte.

Kützing (l. c.) wies im Jahre 1837 nach, daß die Essighaut aus winzig kleinen, kettenartig angeordneten Punkten besteht, die er den Algen zurechnete und mit dem Namen *Ulvina aceti* belegte.

Auch die Forschungsergebnisse Pasteurs (19, 20) änderten an der alten Theorie nicht viel, obgleich der genannte Forscher den Beweis erbrachte, daß die Essiggärung in alkoholischen Flüssigkeiten nur unter dem Einfluß lebender Essighäute stattfinden kann. Für die Kleinlebewesen, die die Essigmuttern bilden, gebrauchte er mit Thomson den Namen *Mycoderma aceti*.

Über die Zugehörigkeit des *Mycoderma aceti* im System der Lebewesen war sich Pasteur nicht im klaren und sagt nur an einer Stelle, daß er es den Bakterien nicht zurechnen könne, wie es Stack getan hatte. Trotz dieser Erkenntnis von der Entstehung der Essiggärung durch die Lebensprozesse kleinster Lebewesen änderte Pasteur an der chemischen Theorie nicht viel und behielt sie bei.

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



Einen wesentlichen Umschwung in der Anschauung von der Essiggärung brachten erst die Untersuchungen von Knierim und Mayer (15). Die genannten Forscher konnten an der Hand von Experimenten nachweisen, daß die Umbildung des Alkohols in Essigsäure ein rein physiologischer Vorgang ist, was sie am Schlusse ihrer Abhandlung in folgenden Sätzen aussprechen:

„1. Die Anwesenheit von *Mycoderma aceti* ist bei der Essigbildung in alkoholischen Flüssigkeiten unumgänglich notwendig.

2. Die Wirkung des *Mycoderma aceti* ist höchstwahrscheinlich eine physiologische, d. h. die Essigbildung ist enge mit dem Gesamtstoffwechsel der Pflanze verknüpft."

Auch finden wir bei Knierim und Mayer (l. c.) zuerst die Vermutung ausgesprochen, daß der unter dem Namen *Mycoderma aceti* von Pasteur in die Literatur eingeführte Erreger der Essiggärung nicht eine einheitliche Bakterienart ist, sondern aus mehreren Bakterienformen besteht. Die genannten Autoren schreiben hierüber auf Seite 326 ihrer Abhandlung:

„Außerdem dürfen wir die sehr naheliegende Möglichkeit nicht außer acht lassen, daß verschiedene Bakterienformen die Essigbildung aus Alkohol vollziehen können."

Knierim und Mayer (l. c.) bringen auch einige Notizen über die Morphologie und allgemeine Biologie von *Mycoderma aceti* und fassen die Ergebnisse ihrer diesbezüglichen Untersuchungen in folgendem Satze zusammen:

„Die *Mycoderma aceti* ist allem Anscheine nach eine Bakterienart, die sich durch Querteilung vermehrt und einen unbeweglichen und einen beweglichen Zustand zeigt. Mit dem beweglichen Zustand ist eine rapide Säuerung der Flüssigkeit verbunden."

Im Jahre 1879 erbrachte Ch. Hansen (7, 8, 9) den Beweis, daß das *Mycoderma aceti* eine Gruppe von mindestens zwei Bakterienarten umfaßt, die er als *Bacterium aceti* und *Bacterium Pasteurianum* bezeichnete, und denen er im Jahre 1894 noch als dritte Spezies sein *Bacterium Kützingianum* beifügte. Die drei genannten Arten unterscheiden sich morphologisch und biologisch gut von einander und wir verdanken Hansen genaue Aufzeichnungen über diese Verhältnisse.

Das *Bacterium aceti* Hansen wächst auf Biergelatine als vielstrahlige, sternförmige Auflagerung, ohne den Nährboden zu verflüssigen. Die schon nach 24 Stunden gebildete Kahmhaut auf alkoholarmem Bier bei ungefähr 35 $^0$ C ist glatt, mehr schleimig und marmoriert. Die mikroskopische Untersuchung der Häute läßt sofort die kettenförmige Anordnung der Stäbchen in ihren Verbänden erkennen. Die Bakterien messen 1.8—2 $\mu$ durchschnittlich in der Länge und halb soviel in der Breite. Häufig zeigen sie eine biskuittförmige Gestalt. Behandelt man die echten

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



Zooglöen mit Jodlösungen, so werden die Schleimhüllen nicht blau gefärbt, die Zellen aber intensiv gelb. Einwirkungen von Temperaturen um 40 ° C bedingen das Auftreten von teilweise verästelten, bis 500 $\mu$ langen, schlanken Fäden, die in niedere Temperaturen gebracht, wieder zu Kurzstäbchen zerfallen.

*Bacterium Pasteurianum* Hansen bildet auf der Würze- oder Biergelatine scharf konturierte und nicht gebuchtete Auflagerungen, deren Oberfläche reich gefältelt erscheint. Die Stäbchen sind in den Zooglöen auf Bier regelmäßig, kettenartig angeordnet und etwas länger und bedeutend breiter als bei *Bacterium aceti*. Dementsprechend sind die hypertrophischen Wuchsformen des *Bacterium Pasteurianum* auch größer und plumper als bei dem erstgenannten.

Die Oberflächenkolonien des *Bacterium Kützingianum* Hansen sind ganzrandig und ungefältelt. Die Kahmhäute auf Bier sind zarter und haben eine ausgesprochene Neigung, an den Wänden des Kulturgefäßes emporzuklettern. Die sie zusammensetzenden Zellen sind mehr rundlich und eiförmig, ungefähr so lang, wie von *Bact. aceti*. Jodlösungen färben die Schleimhülle der Zellen von den beiden zuletzt genannten Spezies intensiv blau, während die Zellen selbst gelb tingiert sind. Die bei hoher Temperatur auftretenden Riesenwuchsformen ähneln denen des *Bacterium aceti*.

Im Jahre 1886 beschrieb A. Brown (3) eine Spezies von Essigbildnern, deren Zooglöen eine enorme Dicke und feste bis knorpelharte Konsistenz zeigten und die Eigenschaft besaßen, die Zellulosereaktion zu geben. Er benannte sie *Bacterium xylinum*. Nach Bertrand (2) vermag ein mit dem genannten Bakterium identischer Spaltpilz den im vergorenen Fruchtsaft von *Sorbus*arten enthaltenen Sorbit durch Oxydation in Sorbose überzuführen. Auch von Wermischeff (25) wurde aus sauer gewordenem Wein ein dem *Bacterium xylinum* sehr nahestehendes Essigbakterium isoliert. Daneben züchtete der genannte Forscher noch eine zweite Art von Essigbakterien, die dem *Bacterium aceti* Hansen sehr nahe steht.

Seifert (23) isolierte aus stark essigstichig gewordenem Weißwein drei differente Spezies von Essigerregern, an deren Kahmhäuten die Unterschiede ohne weiteres zu erkennen waren. Der genannte Autor schreibt:

> „a) Die erste Type bildete eine zarte, an den Gefäßwandungen emporsteigende Haut,
>
> b) die zweite eine mehr trockene, runzelige Haut, die sich nur wenig über die Flüssigkeitsoberfläche erhob und
>
> c) die dritte eine feste, schleimige Decke von beträchtlicher Dicke."

Die auf den Platten angegangenen Kolonien zeigten nach Seifert keine großen Verschiedenheiten.

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



Die morphologischen Detailuntersuchungen Seiferts ergaben für die erste Type folgende Verhältnisse: Die bei 25 ° gewachsenen Zellen sind dicker als bei *Bacterium aceti* Hansen, meistens vereinzelt oder zu zweien vereinigt, während Kettenverbände nur spärlich auftreten. Beim Züchten auf Bier in einer Temperatur von 34 ° C treten Fadenbildungen bis zu einer Länge von 140 Mikren in den Vordergrund. Eine Temperatur von 39 bis 40° C bedingt Fadenbildung in der Länge von ungefähr 80 $\mu$ und zahlreiche ausgebuchtete Formen. Werden Kulturen mit Langfäden, bei 40 ° C gewachsen, wieder in eine Temperatur um 30 ° gebracht, gehen diese innerhalb von 24 Stunden in die Kettenform über, um sich nach 48 Stunden in Einzelindividuen aufzulösen. Überimpft man dagegen die bei 40 ° C erhaltenen Langfäden auf einen frischen Nährboden und züchtet bei 34 °C weiter, so sind nach drei Tagen noch viele Zellen mit Ausbuchtungen vorhanden, die teilweise Zerfallserscheinungen zeigen. Von *Bacterium Kützingianum* Hansen unterscheidet es sich durch die mangelnde Blaufärbung der verschleimten Zooglöapartien. Seifert stellt es in die Gruppe des *Bacterium aceti* Hansen, ohne es damit zu identifizieren und bringt es in nahe verwandtschaftliche Beziehungen zum *Bacterium aceti* Brown (4, 5) und der von Wermischeff (l. c.) beschriebenen Spezies. Von Schwärmstadien, auf die ich später noch zurückkomme, konnte Seifert bei seinem *Bacterium* nichts beobachten.

Die zweite Type Seiferts ist identisch mit dem *Bacterium Pasteurianum* Hansen. Die Bakterien der dritten Type gaben die gleichen Reaktionen wie das *Bacterium xylinum* Brown.

Es wurde noch eine Reihe von Essigbakterien durch die Untersuchungen von Lafar, Zeidler (36 u. 27) und Peters (21) bekannt, die sich mehr oder minder an das *Bacterium aceti* Hansen anlehnen, und auf die ich deshalb nicht im besonderen eingehe.

Die Arbeiten Hennebergs (10, 11, 12, 13) bereicherten unsere Kenntnisse von den Erregern der Essiggärung in alkoholischen Flüssigkeiten ganz bedeutend. Der genannte Forscher studierte chemisch-biologisch und morphologisch fünf neue Spezies von Essigbakterien, die er *Bacterium oxydans, B. acetigenum, B. acetosum, B. ascendens, und B. industrium* nannte.

*Bacterium oxydans.* Die Kolonien auf 7 % iger Dextrosegelatine sind zunächst rundlich, später mit stark ausgebuchteten Rändern. Auf 5 % iger Gelatine breiten sich die Auflagerungen über die ganze Oberfläche dendritisch aus, wenn für genügende Feuchtigkeit gesorgt wird. Ähnlich ist die Form der Auflagerung längs des Impfstriches auf der schief erstarrten Gelatine. Auf flüssigen Nährsubstraten ist die Kahmhautbildung nicht sehr ausgesprochen, und die Zooglöen erscheinen aus vielen Inseln zusammengesetzt. Auf sterilem Bier ist die Haut zart und zeigt das Bestreben, etwas an den Gefäßwänden emporzuklettern. Auf Mannit oder Dextrose enthaltenden Nährlösungen entsteht nur

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



eine sehr zarte Haut. Die diese Häute auf Bier zusammensetzenden Zellen sind 2,4—2,7 $\mu$ lang und 0,8—1,2 $\mu$ breit und besitzen eine ausgesprochen kettenartige Anordnung. Unter bestimmten Züchtungsverhältnissen treten lange, ungegliederte Fäden auf. In Bier, bei 36° C gehalten, erkennt man nur lange Zellen. Auf etwas mit Alkohol versetzter Würze nach dreitägigem Wachstum bei 30° C oder in sterilem Bier nach zwei Tagen bei 26° C, findet man hypertrophische Formen, Zellfäden mit knopfförmigen, aufgetriebenen Seitenästen.

Durch Zopf (28) wurden für das *Bacterium aceti* Schwärmzustände bekannt. Diese Spezies von *B. aceti* isolierte der genannte Forscher aus deutschem, untergärigen Bier der Brauereien von Berlin und Halle. Das *Bacterium aceti* Hansen zeigt nach Hansen kein Schwärmstadium. Die ersten Angaben über das Auftreten von Schwärmzuständen bei Essigbakterien finden wir übrigens schon im Jahre 1873 bei Knieriem und Mayer (l. c.). Henneberg (l. c.) konnte für *Bacterium oxydans*, *B. acetigenum* und *B industrium* mehr oder weniger lang andauernde und verschieden intensiv auftretende Schwärmstadien nachweisen. Die verschiedene Dauer und Intensität der Schwärmfähigkeit hängt nach Henneberg in erster Linie von der Züchtungstemperatur und der Nährflüssigkeit ab. So dauert z. B. das Schwärmstadium bei *Bacterium oxydans* in einer Bierkultur bei 18° C mehrere Tage, während es bei 26° C nur in den ersten 24—36 Stunden zu beobachten ist. Die schwärmenden Zellen sollen paarweise vereint, die Bewegung derselben eine um die Längs- oder Querachse drehende sein. Wahrscheinlich trägt jede Zelle eine polare Geißel, wie auch das *Bacterium aceti* Zeidler abgebildet wird.

Die Zooglöen des *B. oxydans* färben sich mit Jodlösungen nicht blau. Das Temperaturoptimum für die schnellste Entfaltung aller biologischen Eigenschaften liegt bei Zimmertemperatur (18—21° C). Die Sterilisierungstemperatur in feuchter Hitze ist zwischen 55 und 60° C, während sie bei trockener Hitze 97—100° C beträgt.

*Bacterium acetigenum* Henneberg: Die Kolonien auf Dextrosegelatine sind vorspringend, von mehr schleimiger Beschaffenheit und gleichen im großen und ganzen denen des *Bacterium oxydans* und *B. acetosum*. Auf Bier, Hefewasser und Dextroselösungen bilden sich dünne und sehr zähe Kahmhäute, die beim Schütteln als einheitlicher Lappen zu Boden sinken. Mit Jod und Schwefelsäure behandelt, zeigen sie deutlich die Zellulosereaktion. Die Anordnung der 1,2—1,4 $\mu$ langen und 0,8—1,2 $\mu$ breiten, mehr ovoiden Zellen in den Zooglöen ähnelt der bei *Bacterium Kützingianum* Hansen beschriebenen; es ist also keine ausgesprochene Kettenbildung zu beobachten. Sowohl auf festen als auch auf flüssigen Nährsubstraten treten beim *B. acetigenum* Schwärmstadien auf, die sehr lange dauern und gegen den Mangel an Sauerstoff große Empfindlichkeit zeigen. Das Temperaturoptimum liegt bei 33° C. Hypertrophe Wuchsformen werden

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



durch Wärme, Salze oder vermehrten Alkoholgehalt des Nährsubstrates leicht hervorgerufen.

*Bacterium acetosum* Henneberg: Die Auflagerungen in Strichkulturen besitzen einen sehr fein zerteilten Rand. Beim Züchten desselben auf Peptonlösungen tritt eine starke Trübung der Nährflüssigkeit auf. Die Kahmhaut auf sterilem Bier ist glatt, fest und weiß und zeigt nur im geringen Grade das Bestreben, an den Wänden des Kulturglases emporzusteigen. Ältere Häute besitzen eine eigentümliche Fältelung ihrer Oberfläche. Die Zooglöen bestehen aus Zellketten, die schwer aus dem Verbande gelöst werden können, und deren Glieder nach zweitägigem Wachstum 1 $\mu$ lang und 0,4—0,8 $\mu$ breit sind. Die Kahmhäute färben sich mit Jod nicht blau. Hypertrophische, stark aufgeschwollene und spindelige Zellformen treten bei der Zucht dieses Essigbildners auf Gose in einer Temperatur von 30° C schon nach 2 Tagen auf, während derartige Bildungen in Kulturen auf Lagerbier seltener sind. Bei 36° C entstehen Formen, wie sie Hansen (l. c.) für sein *B. Pasteurianum* abbildet. Das Temperaturoptimum liegt für *B. acetosum* bei Zimmertemperatur.

*Bacterium industrium* Henneberg: Diese Spezies wurde von Lindner aus amerikanischer Hefe isoliert und dann nochmals in heller Bierwürze aufgefunden. Die Kolonien desselben auf festen Nährböden sind schleimig und feucht. Auf Nährflüssigkeiten bildet sich eine schleimige Haut, die beim Schütteln in Flocken zerfällt, welche sich am Boden des Kulturgefäßes ansammeln. Die sie zusammensetzenden Zellen sind in keiner regelmäßigen, kettenartigen Anordnung. Bei der Zucht auf flüssigen Nährsubstraten findet stets eine Trübung derselben statt. Riesenwuchsformen entstehen in alten Kulturen, bei höheren Wärmegraden und stärkeren Konzentrationen der Nährsubstanzen. Es werden meistens lange, dünne, ungegliederte Fäden gebildet, die gewöhnlich keine Seitenäste tragen, oder es treten mehr kugelförmige Gebilde auf, die an Hefezellen erinnern. Schwärmzustände von längerer oder kürzerer Dauer sind stets zu beobachten. Das Temperaturoptimum liegt bei 23° C.

*Bacterium ascendens* Henneberg: Dieses wurde aus trübem Weinessig und Rotwein isoliert. Auf Traubenzucker entstehen rings um die weißen, trockenen Kolonien weiße Höfe, die nach Zusatz von verdünnter Essigsäure verschwinden. Die Haut, die auf flüssigen Nährsubstraten entsteht, ist sehr zart und klettert sehr hoch an den Wänden des Kulturgefäßes empor. Sie sinkt leicht unter. Am Boden des Gefäßes entsteht ein feinflockiger Niederschlag. Mit Jod werden die Kahmhäute nicht blau gefärbt. Die hypertrophischen Formen ähneln denen von *Bacterium industrium* und werden durch dieselben Züchtungsbedingungen hervorgerufen. Die dünnen, ungegliederten und langen Zellfäden haben nur mäßige Auftreibungen, und die knopfförmig angeschwollenen Seitenäste sind länger gestielt, als bei *B. oxydans*. *Bacterium ascendens* entwickelt sich auf Wein bedeutend besser,

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



als die übrigen Arten Hennebergs. Das Temperaturoptimum liegt bei 31° C. Der von *Bacterium ascendens* gebildete Essig zeigt einen Geruch nach Essigäther, den auch die Kulturen des *Thermobacterium aceti* Zeidler aufweisen.

Beijerinck (1) teilt die große Gruppe der Essigbakterien in 4 Unterabteilungen und stellt als neue Sammelspezies das *Bacterium rancens* auf, worunter er Bieressigbakterien versteht, „wozu sowohl die Kulturform wie die zahlreichen wilden Varietäten gehören". Nach einer Fußnote reiht der genannte Verfasser auch das *Bacterium oxydans* und *B. acetosum* Henneberg in die Varietäten des *B. rancens* ein. Einige Spielarten von *B. rancens* bilden in ihren Kahmhäuten Zellulose, andere nicht. Alle der nov. sp. *B. rancens* zugehörigen Formen entwickeln sich in der Pasteurschen Nährflüssigkeit (Ammonphosphat, Chlorkalium und Alkohol in Brunnenwasser) nicht, während die anderen, mit Ausnahme von *B. Pasteurianum* und *B. xylinum*, darauf eine Kahmhaut bilden. Hoyer (14) hatte die unter *B. rancens* von Beijerinck eingeteilten Essigkeime näher untersucht und unterscheidet folgende neuen Varietäten: *B. rancens*, var. *zythi*, var. *celia*, var. *agile* und var. *muciparum*; dazu kommen noch die bereits bekannten Arten, das *Thermobacterium aceti* Zeidler, *Bacterium acetosum* und *oxydans* Henneberg und das *Bacterium aceti* Hansen und Brown. Auf die von Hoyer neu aufgestellten Varietäten des *B. rancens* kann ich nicht näher eingehen, da mir die Originalabhandlung des genannten Autors nicht zur Verfügung steht.

Aus dem bisher Gesagten ist ersichtlich, daß im Laufe der Zeit schon eine große Zahl von Essigbildnern mehr oder minder genau untersucht, in vielen Fällen aber den morphologischen Verhältnissen zu wenig Beachtung geschenkt wurde. Daß für die Praxis die Morphologie einer Bakterienart nur untergeordnetes Interesse besitzt, ist einleuchtend. Für die wissenschaftliche Erkenntnis und Definierung der Spezies ist die morphologische Untersuchung derselben unerläßlich. Diese Überlegungen bewogen mich, in der vorliegenden Abhandlung eine möglichst detaillierte Zusammenstellung einer größeren Anzahl morphologischer Eigentümlichkeiten der von mir reingezüchteten Essigbakterie zu bringen. Da dieselbe in zahlreichen morphologischen und chemisch-biologischen Merkmalen von den bisher beschriebenen und eingangs erwähnten Spezies abweicht, nenne ich sie *Acetobacter plicatum*, wobei das Hauptwort die Stellung im botanischen System als Essig bildendes Bakterium ausdrückt, während sich die nähere Bestimmung *plicatum* auf das morphologische Merkmal der Faltenbildung auf festen Nährsubstraten bezieht.

## *Acetobacter plicatum.*

Da sich die Mehrzahl der bisher bekannt gewordenen Untersuchungen über Essiggärung mit Erregern derselben befaßt,

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



die aus Bier stammen, unternahm ich es, die Weinessiggärung einer genaueren Untersuchung zu unterziehen. Zu dem Ende entnahm ich einem wohlverschlossenen, vollgefüllten Faß mit sterilen Geräten eine Portion Wein und hielt sie, mit einem Wattebausch verschlossen, in einem Erlenmayerkolben bei Zimmertemperatur. Die entnommene Probe, ein leichter, ziemlich saurer, steirischer Weißwein, war vollständig klar und zeigte nicht die Spur eines Essigstiches. Nach ungefähr 14 Tagen bildete sich eine weißliche, ziemlich derbe Kahmhaut, auf deren Beschaffenheit ich in der Folge noch zurückkommen werde, und gleichzeitig machte sich ein intensiver Essiggeruch bemerkbar. Mich interessierte nun die Frage, wie der Wein infiziert wurde, nachdem ich die Probeentnahme mit peinlichster Sorgfalt vornahm, sodaß dabei eine Infektion ausgeschlossen erscheint. Es wird nun angenommen, daß die Essigkeime bereits ständige Bewohner der Traube seien. Da ich die Untersuchungen gerade zur Zeit der Traubenreife im Oktober begann, stellte ich einige zur Beantwortung dieser Frage dienende Versuche an. Ich sammelte eine größere Menge reifer, vollkommen gesunder Weinbeeren mit einer sterilen Pinzette, verteilte sie in mehrere sterile Erlenmayerkolben, übergoß sie mit sterilisierten Wein und hielt sie teils bei Zimmertemperatur, teils bei 30° C. Die entstehenden Kahmhäute enthielten außer Hefe oder Mycodermazellen keine Keime, was die davon angelegten Plattenkulturen auf Weingelatine oder gewöhnlicher Nährgelatine von der üblichen Zusammensetzung ohne weiteres erkennen ließen. Analoge Versuche stellte ich mit kranken Weinbeeren und mit ganzen Trauben an, ohne jemals Essigbakterien erhalten zu haben.

Die gleichen Versuchsreihen legte ich nun mit eben abgepreßten Weintrestern an und dabei konnte ich ohne Mühe eine Bakterienart reinzüchten, mit der unser *Acetobacter plicatum* identisch ist. Wenn man bedenkt, wie unrein bei den Vorbereitungen der Trauben zum Pressen verfahren wird, und daß die Presse selbst ein wahres Eldorado für die verschiedensten Bakterien darstellt, ist es nicht verwunderlich, wenn hier der Herd für die Infektion des Weines mit Essigpilzen liegt. Daß sie sich im luftdicht verschlossenen Faß nicht weiter entwickeln und den Wein säuern, überrascht nicht, da ja bei Ausschluß des Sauerstoffes keine Essigbildung statthaben kann. Immerhin muß unser Essigpilz sehr widerstandsfähig sein, da er augenscheinlich den ganzen Alkoholgärungsprozeß und eine jahrelange Einkerkerung im Wein ohne Schaden überdauert. Die mitgeteilten Versuche sind mir deshalb um so wertvoller, weil sie unter möglichst einheitlichen Bedingungen ausgeführt wurden. Der verwendete Wein stammt von denselben Weinstöcken, mit deren Trauben die Züchtungsversuche gemacht wurden, und war auf der gleichen Presse gepreßt, mit der die Trauben abgepreßt wurden, aus deren Trebern ich den nämlichen Essigpilz isolierte, welcher spontan im Weine anging.

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



## Wachstum des *Acetobacter plicatum* auf festen Nährböden.

Wie schon erwähnt, entstand auf der steril entnommenen und ebenso aufbewahrten Weinprobe eine Kahmhaut, die innerhalb von 3 Wochen eine Dicke von 3—4 mm aufwies. Sie bestand aus 3—6 mm im Durchmesser messenden, weißgrauen Inseln, die durch eine mehr durchsichtige Masse miteinander verbunden waren. Ihre Oberfläche war feuchtglänzend und glatt. Die selbst klare Flüssigkeit durchzogen zusammenhängende Bänder von gallertiger Beschaffenheit und kaum sichtbarer, weißlicher Farbe. Beim Schütteln blieb die Haut vollständig erhalten und senkte sich zu Boden. Sie zeigte nicht die mindeste Neigung, an den Gefäßwänden emporzuklettern.

Die mikroskopische Untersuchung derselben ergab folgende Verhältnisse: Im gefärbten Ausstrichpräparat waren Stäbchenbakterien zu erkennen, die sich in der üblichen Färbezeit mit wässrigen Lösungen von Fuchsin oder Gentianaviolett gut färbten, meistens zu zweit vereinigt waren und die Form schlanker, regelmäßiger, an den Enden leicht abgerundeter Stäbchen zeigten. Die zähe und gallertige Grundsubstanz, von der die Zellen umgeben waren, färbte sich nur sehr wenig in den angewendeten Anilinfarben und gab, mit Jod und Schwefelsäure behandelt, keine Zellulosereaktion. Hier und da sah ich dazwischen Zellformen, die unzweifelhaft dem Genus *Mycoderma* oder *Saccharomyces* angehörten, die ich aber nicht näher untersuchte. Die erwähnten gallertigen, fast durchsichtigen Bänder in der Flüssigkeit ergaben den gleichen mikroskopischen Befund.

Ich zerrieb nun ein Stück von der Kahmhaut in sterilem Wein mit einem sterilen Glasstab, infizierte damit Weingelatine[1]) und goß davon, nach Herstellung der üblichen Verdünnungen, Platten in Petrischalen, die ich bei einer Temperatur von 22° C hielt. Nach zwei Tagen waren die ersten Kolonien unter dem Mikroskop zu sehen. Nach weiteren zwei Tagen waren sie auch makroskopisch sichtbar, und man konnte erkennen, daß ausschließlich eine einzige Art von Mikroorganismen gewachsen war, wofür die Gleichheit sämtlicher Kolonien sprach. Zu der Zeit verbreiteten die Kulturen bereits einen starken Geruch nach Essigsäure.

Der von einer Kolonie angefertigte Ausstrich ergab unter dem Mikroskop eine Zusammensetzung aus gleichförmigen Stäbchen von 1,5—1,7 $\mu$ Länge und 0,5 $\mu$ Breite. Färbt man mit alkalischem Methylenblau nach Löffler, so sind die Stäbchen nicht gleichmäßig gefärbt, sondern an den Enden schwarz-

[1]) Die Weingelatine fertigte ich mir folgendermaßen an: 10 g Gelatine wurden in 100 ccm Wein gelöst, dann mit Ei geklärt und in Proberöhrchen abgefüllt, um dann noch einer 3maligen fraktionierten Sterilisierung unterworfen zu werden. Nach dem Erkalten fielen Kristalle von weinsauren Salzen aus, was aber die Verwendbarkeit des Nährbodens nicht beeinträchtigte.

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



blau, während ihre Mitte in einem helleren blauen Ton tingiert erscheint. Bei sehr starken Vergrößerungen kann man feststellen, daß die dunkel gefärbten Zellpartien eine ausgesprocheu körnige Strucktur besitzen, während die helleren Teile Vakuolen gleichen.

Abklatschpräparate von jungen Kolonien lassen sehr schön die Anordnung der Stäbchen im Kolonieverband erkennen. Diese liegen meistens zu zweit vereint, niemals in kettenartigen Reihen. Die am Rande der Auflagerung befindlichen Zellen sind selten radiär, meistens tangential gestellt.

Die Oberflächenkolonien des *Acetobacter plicatum*, auf Weingelatine bei 22° C gezüchtet, sind nahezu kreisrund oder leichtoval, kuppenförmig erhaben und besitzen fast keine Eigenfarbe, höchstens einen Stich ins Gelbe. Die kuppenförmige Erhöhung fällt gegen die Gelatinefläche steil ab, ist ganzrandig und scharf konturiert. Die Auflagerungen sind feuchtglänzend, schleimig und können mit einem Tautröpfchen verglichen werden. Eine Peptonisierung der Gelatine findet auch nach Wochen nicht statt. Beim Abimpfen erweisen sich die Kolonien als stark fadenziehend; auch sind sie in Flüssigkeiten schwer aufschwemmbar.

Die tiefliegenden Kolonien bieten ein eigenartiges Aussehen. Nach den ersten 12 Stunden des Keimens sind die eingeimpften Bakterien zu kugelförmigen Kolonien ausgewachsen, deren Durchmesser im Mittel 20 $\mu$ beträgt. Nun breiten sich dieselben nach der Fläche aus und gleichen linsenförmigen Scheibchen, deren längerer Durchmesser parallel oder nur wenig geneigt zur Gelatineoberfläche liegt. Die feinere Struktur dieser flächenhaften Gebilde gleicht, bei starken Vergrößerungen betrachtet, der feinen Äderung eines Moireestoffes.

Interessant ist der Entwicklungsgang der oberflächlichen Kolonien aus den tiefliegenden. Bei den meisten Bakterien findet dieser Vorgang in der Weise statt, daß sich aus dem in der Tiefe gelagerten Keime eine kugelförmige Kolonie bildet, von der ein Ausläufer zur Oberfläche strebt und, wenn er sie erreicht hat, zur charakteristischen Auflagerung auswächst. Natürlich hängt die Raschheit des ganzen Vorganges von der Beschaffenheit des gallertigen Nährbodens ab. Je zäher er ist, umso langsamer verläuft im allgemeinen der Prozeß. Zum Studium der Bildung von Oberflächenkolonien aus tiefliegenden verwendete ich eine Weingelatine von 7—8 % Gelatinegehalt, da ein höherer Gehalt an Leim verzögernd auf den ganzen Vorgang wirkt. In einer solchen dünnen Weingelatine wachsen die eingesäten Keime in den ersten 12 Stunden zu kleinsten, kugelförmigen Kolonien aus, die sich nun flächenhaft in der Tiefe ausbreiten und die erwähnten Scheibchen bilden. An der der Gelatineoberfläche zugekehrten Seite dieser Scheibchen entstehen an beliebigen Stellen und in variabler Anzahl neue Scheibchen.

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



Dieser Vorgang wiederholt sich solange, bis die Gelatineoberfläche von einem oder mehreren Scheibchen getroffen wird, wo sich dann die typische knopfförmige Auflagerung bildet. Erreichen mehrere Scheibchen in unmittelbarer Nähe die Oberfläche, so entstehen sehr hübsche, zusammengesetzte Auflagerungen von den verschiedensten Formen, deren Relief, in halbverdunkelter Beleuchtung gesehen, einer Mondlandschaft täuschend ähnlich sieht.

In Textfigur 1 habe ich versucht, den Entwicklungsgang von der eingeimpften Zelle bis zur fertiggebildeten Oberflächenkolo-

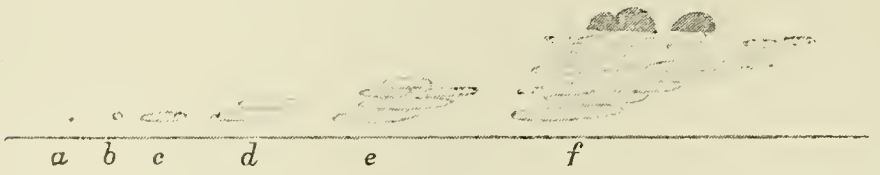



Fig. 1.

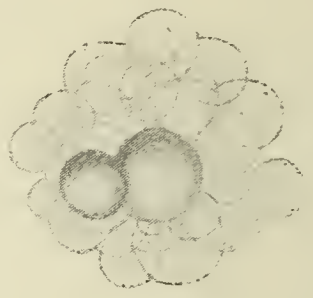


Fig. 2.

nie an der Hand von Querschnitten schematisch wiederzugeben. a bedeutet den Keim, b die entstandene kugelförmige Kolonie, c, d, e und f die weiteren Stadien der Scheibchenbildung bis zur ausgebildeten Oberflächenkolonie, deren Durchschnitt schwarz gehalten ist.

Textfigur 2 zeigt uns, ebenfalls schematisiert, zwei oberflächliche Weingelatinekolonien, die hier schattiert sind, im Zusammenhang mit den durch Kreise angedeuteten, tiefliegenden Kolonien, von oben betrachtet.

Auf neutraler Fleischwassergelatine mit 2 % Pepton-, 1 % Traubenzucker- und 1 % Chlornatriumgehalt, ist das Wachstum etwas langsamer und die tiefliegenden Kolonien zeigen keine Neigung, rasch gegen die Oberfläche zu wachsen. Sie entwickeln sich in der verhältnismäßig schlecht durchlüfteten Gelatine ganz gut, nehmen zuerst eine mehr kugelförmige Gestalt an, um sich später nur in geringem Maße flächenhaft auszubreiten. Sie besitzen eine weißgelbe Eigenfarbe und sind sehr durchsichtig. Die auf der Oberfläche derartiger Gelatineplatten gelagerten Keime entwickeln sich langsamer als die tiefliegenden. Die Kolonien sind mehr flach und niedrig und nur wenig weißgelb gefärbt. Beim Abimpfen gewinnt man den Eindruck, als wären sie wie mit Wurzeln in der Gelatine festgewachsen. Hebt man gewaltsam eine ab, so geht immer ein wenig des darunter gelegenen Leimes mit. Fig. 10 stellt eine junge, drei Tage alte Oberflächenkolonie auf neutraler Fleischwassergelatine bei starker Vergrößerung dar.

Ausstrichpräparate junger, auf Fleischwassergelatine bei 22 ° C gezüchteter Kolonien zeigen 1,40—1,60 $\mu$ lange und 0,4—0,6 $\mu$ breite Stäbchen, die durch alkalisches Methylenblau

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



fast vollständig homogen gefärbt erscheinen. Die Formen sind im allgemeinen kleiner als auf Weingelatine, zeigen aber außer den eben erwähnten färberischen Unterschieden keine Verschiedenheiten (vergl. Fig. 8).

Strichkulturen auf schief erstarrter Weingelatine, bei 22 ° C gehalten, haben ein ganz eigenartiges Aussehen. Längs des Impfstriches gewahrt man nach 24—36 Stunden eine Reihe punktförmiger Auflagerungen, die glänzenden Tautröpfchen gleichen. Diese kleinen Kolonien verschmelzen nach 2—3 Tagen miteinander und bilden ein zusammenhängendes Band von 1,5 bis 2 mm Breite. Die Oberfläche ist feuchtschimmernd und regelmäßig quer gefältelt. Nach 5—6 Tagen mißt die Breite der Auflagerung im Mittel 4 mm und zeigt, von der Rückseite gesehen, eine ungemein feine und zierliche Struktur. Fig. 6 gibt uns, von der Gelatine aus betrachtet, ein Bild von einer solchen Auflagerung bei Lupenvergrößerung. Längs des ursprünglichen Impfstrichs gewahren wir eine helle Leiste, die einer kontinuierlichen Verdickung der Auflagerung entspricht, von der aus in zierlichen Bogen und Falten, die kunstvoll gerafften Vorhängen vergleichbar sind, Ausläufer ausgehen, am Rande wieder umbiegen und sich mit den Nachbarfalten vereinigen. Den Rand der Kultur bilden zwei mäßig breite, verdickte Streifen mit wenigen und nicht tief einschneidenden Falten, gegen die Gelatinefläche mit leicht gebuchteten, scharfen Konturen abgesetzt. Beim Abheben der ganzen Auflagerung in toto bleibt ein Abdruck derselben auf der Gelatine zurück.

Die Kultur auf schief erstarrter Fleischwassergelatine sieht der eben beschriebenen ähnlich, doch die gebildeten Falten sind gröber und die sich rasch in die Tiefe der Gelatine einsenkenden Trübungen machen das Bild undeutlich. In Fig. 11 habe ich eine fünftägige Gelatinestrichkultur im Durchschnitt abgebildet. Wir sehen an der Oberfläche die wellenförmige, mit regelmäßigen Bergen und Tälern wechselnde Auflagerung von mäßiger Dicke, die entsprechend den von oben gesehenen Wellentälern, schleierartige, zur Oberfläche fast senkrecht stehende Ausläufer in die Nährgelatine sendet.

In der Fleischwassergelatine-Stichkultur findet in den ersten Tagen nur in den oberen Teilen des Stichkanals ein Wachstum statt. War die Gelatine neutral und enthielt kein Fleischwasser, sondern nur Pepton, Kochsalz und Traubenzucker, bildet sich in den ersten 4—5 Tagen überhaupt keine Auflagerung; unmittelbar unter der Oberfläche entsteht um den Impfstich eine kreisförmige Trübung, der nach einiger Zeit, immer entfernter von der Oberfläche, eine zweite, dritte usw. in konzentrischer Anordnung folgt. Sie sind sämtlich annähernd kreisrund und nehmen im Durchmesser gegen die Oberfläche und gegen die Tiefe ab. Weiter als beiläufig 1.5 cm in die Tiefe reichen diese Scheibenbildungen nicht. Fig. 4 gibt uns das Bild einer 14 Tage alten, bei Zimmertemperatur gewachsenen Stichkultur in neu-

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



traler Peptongelatine. Nach dieser Zeit haben sich an der Oberfläche schon höckerige Auflagerungen gebildet, während in der Tiefe die ebenerwähnten Scheibenbildungen sehr schön zu sehen sind. In den untersten Partien des Impfstiches finden sich nur punktförmige Kolonien, die kleine, kaum 1 mm lange, nadelförmige Ausläufer radiär entsenden. Verwenden wir an stelle der neutralen Pepton- oder Fleischwassergelatine Weingelatine, entwickeln sich die Ausläufer vom Stichkanal nur ganz allmählich, während die Auflagerung an der Oberfläche in den Vordergrund tritt. Nach den bisher bekannt gewordenen Tatsachen aus der Biologie der Essigbakterien können wir für diese Erscheinungen keine genügende Erklärung finden. Der Sauerstoffbedarf muß ja allerdings ein ganz verschiedener sein, je nachdem unser Bakterium nur wächst, sich vermehrt und so den Nährboden verändert, oder überdies noch aus Alkohol durch Oxydation Essigsäure bildet.

Letztere Arbeit wird aber nicht unmittelbar von der Bakterienzelle geleistet, denn wir wissen jetzt, daß den Vorgang der Oxydation ein Enzym[1]) vermittelt. Es ist nun nicht einzusehen, warum gerade bei der Anwesenheit des vergärbaren Alkohols das Bakterium bestrebt ist, möglichst an der Luft zu wachsen und so dem entstehenden Enzym den zur Verbrennung nötigen Sauerstoff zu beschaffen. Es bietet für die Zelle gewiß Vorteile, wenn beim Wachstum derselben auf alkoholhaltigen Substraten der Sauerstoff ungehinderten Zutritt hat. Unser Bakterium bildet in alkoholischen Nährsubstraten Essigsäure, die den Nährboden durchsetzt und schließlich derartig säuert, daß die Wachstumsbedingungen für die Zelle wahrscheinlich immer ungünstiger werden würden, wenn nicht durch weitere Oxydation der letzteren zu Kohlensäure eine Verbesserung einträte. Ob die Verbrennung der Essigsäure auch durch ein Enzym vor sich geht, wissen wir nicht. Jedenfalls ist es für diese Verbrennungen notwendig, daß unser Bakterium mit der Luft in innige Berührung kommt und an der Oberfläche sich ausbreitet. Beim Fehlen des Alkohols in den Nährsubstraten entfallen diese Umstände, und es genügt zum Leben eine verhältnismäßig geringe Sauerstoff-Zufuhr.

Wie weit diese teleologischen Auseinandersetzungen richtig sind, wird vielleicht die Zukunft lehren. Bevor wir über die Wirkungsweise des Buchnerschen Essigbakterienenzyms nicht vollständig orientiert sind, sowie bezüglich der Oxydierung der

---

[1]) Durch die Untersuchungen von Buchner u. Meisenheim wurde nachgewiesen, daß die Essigbakterien ein oxydierendes Enzym bilden. Auf dem V. internationalen Kongreß für angewandte Chemie in Berlin demonstrierte Buchner ein Daueressigbakterienpräparat, von dem 10 g 0.4 g Essigsäure bildeten. Hergestellt wurde es durch Abtöten von Essigbakterien, die auf alkoholhaltigen Nährsubstraten gewachsen waren, mit Azeton. Eine längere Einwirkung einer Temperatur von 90° macht es unwirksam. Buchner nannte das Enzym der Essiggärung Essigbakterienoxydase.

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



Essigsäure zur Kohlensäure darüber im unklaren sind, ob auch hier ein eigentümlicher Enzymvorgang wirksam ist, und wir über den Grad der schädlichen Einflüsse der gebildeten Essigsäure auf die Zelle nicht vollständig unterrichtet sind, können nur Vermutungen ausgesprochen, aber keine experimentell festgestellte Erklärung gegeben werden.

Auf Biergelatine[1]) ist das Wachstum bei 22 ° C gut. Längs des Impfstriches entsteht in den ersten 24 Stunden eine gelbweiße, sehr feucht und glänzend aussehende Auflagerung von ungefähr 2 mm Breite; die Ränder sind scharf abgesetzt und mäßig gebuchtet. Die Konsistenz der Auflagerung ist mehr schleimig, weshalb das Abimpfen und Verreiben derselben in Flüssigkeiten viel leichter gelingt, als bei Weingelatinekulturen. Die Oberfläche zeigt nur eine geringe Faltenbildung. Wenn die Kulturen älter werden, nimmt die Auflagerung an Dicke zu und ihre Farbe bekommt einen rötlichen Stich. Fig. 2 zeigt eine derartige Kultur, bei 22 ° C gewachsen.

In den von Biergelatinekulturen unseres Bakteriums angefertigten Ausstrichpräparaten sieht man unter dem Mikroskope meistens paarweise vereinigte Stäbchen, die sich mit alkalischem Methylenblau nur partiell färben. Einzeln liegende Zellen messen 1,55—2 $\mu$ in der Länge und 0,5—0,7 $\mu$ in der Breite, haben abgerundete Enden, die tief dunkelblau gefärbt erscheinen, während die mittleren Partien der Bakterienzelle ein oder zwei heller gefärbte Areolen erkennen lassen. Diejenigen Stäbchen, die sich zur Teilung angeschickt haben, sind etwas länger und ihre Enden etwas zugespitzt, während in der Zellmitte eine leichte Einziehung zu beobachten ist. In diesem Stadium sind die färberischen Erscheinungen etwas anders. Die leicht zugespitzten Pole der Zelle sind sehr dunkel gefärbt, während die Zellmitte ein mäßig breites dunkelgefärbtes Band quer durchzieht. Von den Polen und dem Band schattiert sich die dunkle Färbung gegen die hellen Areolen, die immer in der Zweizahl vorhanden sind, sukzessive ab. In dem dunklen Mittelbande findet die vollständige Durchschnürung der Zelle statt. Die Teilungsvorgänge lassen sich sehr gut lebend im hängenden Tropfen untersuchen, wo die einzelnen oder zu zweien zusammenhängenden, vollständig unbeweglichen Stäbchen, einen oder zwei kleine, runde und stark lichtbrechende Pünktchen zeigen. Bei Zellen, die sich zur Teilung vorbereiten, findet man stets zwei solche Körperchen. Diese rücken auseinander, während die Zelle etwas in die Länge auswächst und an den Polen sich zuspitzt. Es bildet sich nun eine Einschnürung, die sich langsam vertieft. Inzwischen ist die Kontur der stärker lichtbrechenden Punkte unscharf geworden. Dann

---

[1]) 10 g Gelatine werden in 100 g untergärigem Märzenbier gelöst, dann mit Ei geklärt, in Proberöhrchen ausgefüllt und in eintägigen Intervallen dreimal in strömenden Wasserdampf fraktioniert sterilisiert. Der Nährboden hatte eine saure Reaktion.

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



erfolgt die totale Durchschnürung. Die entstandenen Tochterzellen bleiben solange aneinander haften, bis sie sich zu einer neuen Teilung anschicken.

Diese partielle Färbung der Stäbchen und die helle, fast ungefärbte Areole tritt in der eben beschriebenen, deutlich sichtbaren Größe und Form nur dann auf, wenn auf alkoholhaltigen Nährsubstraten gezüchtet wurde. Nur sehr wenig gewahrt man davon, wenn man auf alkoholfreien Nährsubstanzen kultiviert. Die bei der Teilung angegebenen Erscheinungen sind hier nur in geringem Maße zu sehen. Überhaupt ist die Gesamtgröße der Stäbchen auf letzterem Nährboden etwas geringer und der ganze Zelleib sieht kompakter und fester gefügt aus. Selbst die Anwendung von Differenzierungsfärbungen gewährt uns keinen besseren Einblick in die Strukturverhältnisse, die bei den auf alkoholischen Substraten gezüchteten Zellen ganz deutlich hervortreten. Ob zwischen dem Auftreten dieser vakuolenartigen Bildungen in der Zelle und der Oxydation des Alkohols zu Essigsäure eine bestimmte Relation besteht, muß ich einstweilen dahingestellt lassen.

Um nun den Einfluß der Reaktion des Nährbodens auf das Wachstum festzustellen, machte ich eine Reihe von Versuchen mit saurer und verschieden alkalischer Bier- und Fleischwassergelatine. Dabei diente mir die Breite der in einer bestimmten Zeit auf der schief erstarrten Gelatine gewachsenen Auflagerung als Maß für das Wachstum. Natürlich ist diese Methode der Bestimmung des Wachstums nicht absolut genau, doch gibt sie immerhin ganz brauchbare Vergleichsresultate. Ich füllte zehn Proberöhrchen mit je 10 ccm Biergelatine. Ein Röhrchen blieb unverändert, ein zweites erhielt soviel konzentrierte Sodalösung zugesetzt, bis die Biergelatine eine neutrale Reaktion zeigte. In die übrigen Röhrchen kamen in gleichen Intervallen steigende Sodamengen, sodaß die ganze Reihe je ein Röhrchen mit neutralem, mit 1 2 3 4 5 6 7 und 8 Tropfen konz. Sodalösung versetzten Inhalt umfaßte. Ebenso stellte ich die verschieden alkalische Fleischwassergelatine her. Beim Sterilisieren fielen in den alkalischen Portionen Salze aus, die den Nährboden stark trübten, was aber die Verwendbarkeit desselben nicht im geringsten beeinträchtigte.

Nun verrieb ich eine Öse voll junger Weingelatinekultur unseres Bakteriums in steriler, 0,75 %iger Chlornatriumlösung, tauchte die ausgeglühte Platinnadel vor jeder Impfung 1 cm tief in diese Aufschwemmung ein und legte damit in einem Zuge unter Drehen der Nadel die Impfstriche auf der schief erstarrten Gelatine an. Dadurch gelang es wenigstens bis zu einem gewissen Grade die einzelnen Röhrchen mit einer annähernd gleich großen Menge von Bakterien zu beschicken.

Nach zwei Tagen waren nur auf der sauren und neutralen Biergelatine und neutralen Fleischwassergelatine Auflagerungen zu sehen. Nach 4 Tagen hatten sich solche auch in der Bier-

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



gelatine mit 1 und 2 Tropfen konz. Sodalösung gebildet. Nach 5 Tagen zeigten auch die stärker alkalischen Biergelatinekulturen Wachstum, und gleichzeitig wurden die Salzniederschläge in der nächsten Umgebung der Auflagerungen gelöst, wodurch diese von einem hellen Hof umgeben erschienen. Dieser breitete sich immer mehr aus und nach Verlauf von 10 Tagen war der ganze Nährboden glasklar. Nach 5tägigem Wachstum hatten die Auflagerungen auf alkalischer Gelatine die zuerst gebildeten an Größe übertroffen. Nach 7 Tagen zeigt das Röhrchen mit einem Alkaligehalt von 5 Tropfen die größte Auflagerung, deren Breite ungefähr dreimal so groß ist als diejenige von den Auflagerungen auf neutraler oder saurer Biergelatine. Eine Kurve bei der als Maß der Wachstumsintensität die Breite der angegangenen Auflagerungen im vergrößertem Maßstab als Ordinaten, die Anzahl der Tropfen Natriumkarbonatlösung als Abszissen aufgetragen sind, wird die Verhältnisse am besten illustrieren.

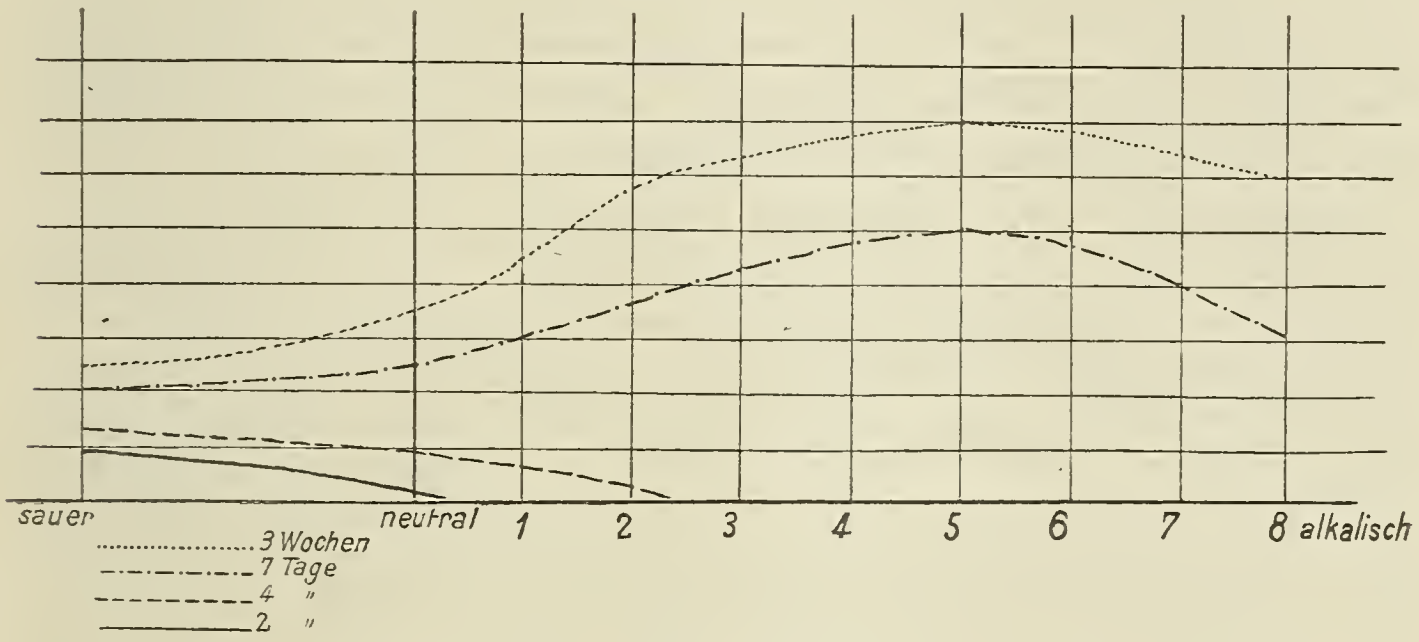



Fig. 3.

Der Abstand zwischen neutral und sauer ist dreimal so groß genommen, als zwischen neutral und 1. u.s.f., weil zur Neutralisierung von 10 ccm saurer Biergelatine 3 Tropfen konzentrierte Sodalösung nötig sind. Die punktierte Linie entspricht einem dreiwöchentlichen Wachstum, die strichpunktierte einem 7tägigen, die gestrichelte einem 5tägigen und endlich die vollausgezogene einem 2tägigen Wachstum bei 22 ° C.

Vergleicht man nun die zu gleicher Zeit unter denselben Bedingungen auf neutraler und alkalischer Fleischwassergelatine angelegte Versuchsreihe nach gleichlangen Wachstumszeiten bei gleich hoher Temperatur, so findet man. daß nur auf dem neutralen Nährboden eine Auflagerung nach 2 Tagen zu sehen ist, wie die auf neutraler Biergelatine. Erst nach drei Wochen gewahrt man auch in dem Röhrchen mit 1 Tropfen Zusatz von Sodalösung einen sehr kleinen Belag.

Früher erwähnte ich, daß nach 5tägigem Wachstum unseres Bakteriums sich die Trübungen der alkalischen Biergelatine in

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



der Umgebung der Auflagerung aufhellen. Die Aufhellung schreitet immer weiter und nach ungefähr 14 Tagen ist auch in den Röhrchen mit dem größten Alkaligehalt keine Trübung mehr zu bemerken. Die Trübungen wurden, wie schon erwähnt, durch Salzniederschläge hervorgerufen, die sich in Säuren lösten. Nun kann unser Bakterium in der alkoholhaltigen Biergelatine Essigsäure bilden, die Trübungen dadurch aufhellen und den Nährboden gleichzeitig neutralisieren und ansäuern, kurz, ihm eine Reaktion verleihen, bei der das Wachstum gut vor sich gehen kann. Der Mangel an Alkohol verhindert dagegen jegliches Wachstum auf stärker alkalischen Nährsubstraten. Der Versuch zeigt auch, daß unser Bakterium in neutraler und alkalischer Fleischwasser- oder Peptongelatine ohne Alkohol keine Säure zu bilden vermag, nachdem keine Aufhellung der Trübungen dieser Nährböden eintritt. Fügt man aber Alkohol zu, so wird Säure gebildet. Übrigens lehrt uns auch die einfache Lakmusgelatinezucht mit und ohne Alkoholzugabe das gleiche. Nur die mit Alkohol versetzten neutralen Lakmusröhrchen zeigen einen Farbenumschlag ins Rot. Die alkoholfreien Kulturen behalten die Farbe des neutralen Lakmus; nach einigen Wochen findet dann eine Reduktion des Farbstoffes in der Tiefe statt.

Die Form und Farbe der Auflagerungen auf Biergelatine wird durch die Alkaleszenz nicht beeinflußt. Die Konsistenz der Kolonien ist dagegen bei verschiedenem Alkaligehalt variabel. Je mehr Alkali in der Gelatine, um so schleimiger sind die Kolonien, und um so leichter kann man sie abimpfen und in Flüssigkeiten aufschwemmen. Die Ausstrichpräparate enthalten die schon beschriebenen typischen Formen. Der vermehrte Alkaligehalt hat auf die Form und auf die färberischen Erscheinungen der Stäbchen augenscheinlich keinen nachweisbaren Einfluß.

Um nun die morphologischen Verhältnisse bei der Zucht in höheren Temperaturen auf festen Nährböden zu untersuchen, verwendete ich Bier-, Fleischwasser- und Peptonwasser-Agar. Agarlösungen in Wein erstarren nur bei niedrigem Säuregehalt wieder. Nachdem ich mit neutralisiertem Wein keine Versuche machte, auf Wein überhaupt nur bei der natürlichen Reaktion züchtete, unterließ ich die Herstellung von Weinagar. Sämtliche Agarnährböden enthielten 2 % Agar-Agar und 1 % wasserfreies Glyzerin. Letzterer Zusatz ist sehr zweckmäßig, da er das Herabgleiten des Agars von der Unterlage bei Platten- und Strichkulturen hintanhält und einer allzuraschen Austrocknung vorbeugt.

Auf schieferstarrtem Fleischwasseragar wächst das *Acetobacter plicatum* gut und bildet sehr dicke und vielfach gefaltete, feuchtglänzende Auflagerungen, die nur eine kaum sichtbare, weißgelbe Eigenfarbe besitzen. Fig. 3 zeigt ein Stück einer derartigen Kultur bei Lupenvergrößerung nach 14tägigem Wachstum bei 25° C. Diese Formation erinnert an die Gehirnoberfläche mit ihren zahlreichen Windungen und Einschnitten.

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



Der beschriebene Belag läßt sich sehr leicht in toto abheben und kann nur sehr schwer in Flüssigkeiten aufgeschwemmt werden. Zieht man die Auflagerung ab, hinterläßt sie auf dem Agar keine Eindrücke. An ihrer Stelle gehen nach einiger Zeit frische Kolonien an und bilden neuerdings einen dicken Belag.

Das schnellste Wachstum findet bei 28—30° C statt. Die Temperatur beeinflußt nur die Wachstumsschnelligkeit, nicht aber die Form der Auflagerung.

Die Form der Stäbchen (vgl. Fig. 13) in derartigen, bei 20—30° C gezüchteten Kulturen ist oval. Die Bakterien messen 0.75—0,90 $\mu$ in der Länge und 0,55—0,70 $\mu$ in der Breite. Sie erinnern im ersten Augenblick an Kokken, die einzeln oder zu zweit in einer Schleimhülle liegen. Kettenbildungen konnte ich nicht beobachten. Jede Zelle oder jedes Zellenpaar ist von einem mit Anilinfarben schwach tingierten Hof umgeben, der durch eine ungefärbte Zone von den Zellen getrennt ist. Diese gallertigen Bildungen geben weder die Zellulosereaktion, noch färben sie sich mit Jodlösungen blau. Die färberischen Erscheinungen mit Löfflers alkalischem Methylenblau sind dieselben, wie ich sie für die Stäbchen aus Fleischwassergelatinekulturen beschrieb, nur sind die genannten Erscheinungen wegen der gedrungenen Form der Zellen noch weniger deutlich sichtbar.

Die Stichkultur in Fleischwasseragar ähnelt in jeder Beziehung der in Fleischwassergelatine, nur vermag unser Bakterium sich in diesem verhältnismäßig festen Nährsubstrat sehr wenig auszubreiten.

Die Strichkultur auf Bieragar bietet gegen die eben beschriebene keine besonderen Verschiedenheiten und kann das von der letzteren Gesagte ohne weiteres für erstere gelten. Die färberischen Erscheinungen der Bakterien sind mit jenen der auf Weingelatine gezüchteten identisch. wenn auch hier die Stäbchen in den Längen- und Breitendimensionen kleiner sind. Züchtet man bei 32—34° C. bekommt man etwas längere und dickere Formen, die 1.40—1.60 $\mu$ in der Länge und 0.7—0.8 $\mu$ in der Dicke messen. An diesen Stäbchen läßt sich die partielle Färbung sehr schön sehen und ich kann dafür das von den auf Weingelatine gewachsenen Bakterien Gesagte nur ausnahmslos wiederholen.

Es erübrigt noch, auf die Wachstumsverhältnisse bei der Zucht unseres Bakteriums auf der gekochten Eischeibe und der Kartoffel in Kürze hinzuweisen.

Auf der Scheibe von gekochtem Hühnerei, deren Eiweißrand infiziert wurde, scheint unser Bakterium nicht zu wachsen. Die nach verschiedenen Zeiten abgenommenen Proben enthielten nur eine spärliche Anzahl von Keimen, die augenscheinlich von der Aussaat herrührten. Eine Vermehrung derselben in erheblicherem Maße konnte ich nicht feststellen. Auf dem genannten Nährsubstrat erhielten sich die Stäbchen aber sehr

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



lange Zeit entwicklungsfähig, da damit angelegte Kulturen ein gutes Wachstum zeigten. An der Eischeibe selbst waren keine sichtbaren Veränderungen zu beobachten.

Das Wachstum auf der sauer reagierenden Kartoffelscheibe ist sehr schwach. Auch hier gewahrt man dabei keine sichtbaren Veränderungen des Nährsubstrats. Das Ausstrichpräparat zeigt jedoch eine deutliche Vermehrung der Bakterien. Von den für andere Nährböden beschriebenen färberischen Erscheinungen war nichts zu sehen, denn die Stäbchen erschienen vollkommen homogen gefärbt.

## Wachstum des *Acetobacter plicatum* auf flüssigen Nährsubstraten.

Zu den Züchtungsversuchen auf flüssigen Nährsubstraten verwendete ich in erster Linie sterilisierten Wein, dann alkoholhaltiges und alkoholfreies Bier, allein oder mit Zusätzen von verschiedenen Zuckerarten. Die Alkoholmenge, welche die Wein- oder Bierportionen nach der Sterilisierung enthielten, unterliegt kleinen Schwankungen, die durch die Dauer des Erhitzens in strömenden Dampf bedingt sind. Das von mir verwendete Bier hatte nach zweimaliger, je 20 Minuten dauernder, fraktionierter Sterilisation im Mittel einen Alkoholgehalt von 2.5 Gewichtsprozenten. Der zu den Versuchen verwendete Wein enthielt nach dreimaliger Sterilisierung im Durchschnitt 3.5 Gewichtsprozente Alkohol. Einige Versuchsreihen mit Pepton-, Zucker- und Asparaginlösungen wurden angelegt, dienten aber lediglich als Vorversuche für spätere chemisch-biologische Untersuchungen, weshalb ich hier darüber weiter nichts berichte.

Sowohl auf Wein als auch auf Bier bildet das *Acetobacter plicatum* eine dicke und sehr zähe, feste Kahmhaut, deren Dicke auf Wein 8—10 mm erreichen kann.

Verimpft man eine ganz geringe Menge[1]) einer jungen Gelatine- oder Agarkultur in sterilen Wein, so sieht man in den ersten 36 Stunden kein Wachstum, bei welcher Temperatur man die Kultur auch halten mag. Für das schnellste Wachstum habe ich durch zahlreiche, ziemlich fein abgestimmte Versuche eine Temperatur von 28—29° C bestimmt. Hielt man die beimpfte Probe bei dieser Temperatur, gewahrte man am dritten Tage, in der Flüssigkeit schwebend, kleine schleierartige Trübungen, die, herausgefischt, sich als gallertige Massen entpuppten. Erst am 4. Tage haben einzelne Ausläufer derselben die Flüssigkeitsoberfläche erreicht und erscheinen nun als kleine, linsenförmige und grauweiß gefärbte Inseln. Am fünften Tag ist die ganze Oberfläche von einer großen Anzahl derartiger Inseln bedeckt, die durch eine durchsichtige, gallertige Masse verbunden sind. Jetzt macht sich auch ein deutlicher Essiggeruch bemerkbar, wenn unter 24° C gezüchtet wurde. Kultiviert man beim Temperaturoptimum, tritt er erst viel später auf. In der Folge nimmt die

[1]) Je mehr Keime man einimpft, desto rascher spielen sich die Entwicklungsvorgänge der Kahmhaut ab.

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



Dicke der Kahmhaut zu, die grauweißen Inseln werden größer, rücken näher aneinander und die durchsichtigen Brücken verschwinden mehr und mehr. An einer alten Haut erkennt man ihre Spuren nur an einer feinen Äderung der Oberfläche. Schüttelt man das Kulturgefäß, sinkt die Haut unter die Oberfläche und an ihrer Stelle bildet sich eine neue.

Etwas anders verläuft der ganze Prozeß der Kahmhautbildung, wenn man ein kleines Stückchen einer Zooglöa verimpft. Dieses bleibt nahe der Oberfläche, und schon am nächsten Tag gewahrt man eine Anzahl von größeren und kleineren Ausläufern, die in kürzester Zeit eine zusammenhängende Decke über die ganze Flüssigkeitsoberfläche bilden. Unter allen Umständen bleibt die Flüssigkeit stets vollständig klar.

Das Ausstrichpräparat zeigt die schon beschriebenen Stäbchen mit ihren bekannten färberischen Erscheinungen.

In sterilem Bier konnte ich bei der Hautbildung die gleichen Vorgänge beobachten. Figur 1 stellt eine junge Bierkultur dar, an der man die Zusammensetzung der Zooglöa aus kleinen Inseln deutlich sehen kann. Im allgemeinen erreichen die Häute auf Bier keine so große Dicke als auf Wein und ihre Konsistenz ist schleimiger. Die Ausstrichpräparate ergaben keine wesentlich verschiedenen Verhältnisse.

Verwendet man zur Zucht ein durch Destillation alkoholfrei gemachtes Bier, das durch Zusatz von destilliertem Wasser auf das ursprüngliche Volumen gebracht wurde, findet die Kahmhautbildung nur sehr langsam statt. Erst nach 8 Tagen gewahrte ich eine dünne, vollkommen homogen und weißgelb aussehende Zooglöa, die glatt und derb war. Des Vergleiches wegen fertigte ich sowohl von der Kahmhaut auf Wein (Fig. 5) als auch von der auf alkoholfreiem Bier (Fig. 9) dünne Paraffinschnitte an, nachdem ich sie zuvor in verdünnter Formaldehydlösung (4%ig) härtete und in allmählich steigenden Alkohol entwässerte. Die Unterschiede zwischen beiden sind augenfällig. Mit Karbolfuchsin gefärbt, zeigen beide Schnitte ein rot tingiertes Netzwerk feinster Fäden, deren Dicke nur Bruchteile eines Mikrons mißt. Bei der auf Wein gewachsenen Kahmhaut verlaufen die Fäden gewunden, sich vielfach überkreuzend und größere und kleinere Spalten und Lücken bildend. Darin eingebettet liegen unregelmäßig verteilt oder zu Nestern gruppiert die Bakterien (vgl. Figur 4). Viel regelmäßiger ist die Struktur der auf alkoholfreiem Bier entstehenden Kahmhäute. In Figur 9, die das Bild eines Durchschnittes von einer solchen Zooglöa bei Lupenvergrößerung gibt, sind deutlich mehrere ungleich breite, parallel verlaufende Schichten sichtbar, die von den Bakterien erfüllt und in der Zeichnung durch dunkle Schattierung hervorgehoben sind. Die Zellen selbst liegen nicht wirr durcheinander, sondern sind in der überwiegenden Mehrheit so orientiert, daß ihr längerer Durchmesser entweder senkrecht oder steil geneigt gegen die parallel zur Oberfläche verlaufenden

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



Schichten gerichtet ist. Die in der Zeichnung hell gehaltenen Zwischenschichten werden von einem feinen Netzwerk, wie ich es früher beschrieb, gebildet. Die Anzahl der Schichten ist von dem Alter der Kultur abhängig. Färbt man ohne Vorbehandlung getrocknete Kahmhautstücke mit Karbolfuchsin oder Gentianaviolett, so liegen die Bakterien in einer rötlich oder schwach violett gefärbten Masse. Nach der Behandlung mit Formol und Alkohol wird aber von den genannten Farben nur mehr ein Netzwerk tingiert, während die davon umschlossenen Räume ungefärbt bleiben. Nach einer Behandlung der Schnitte mit Jod und Schwefelsäure sind die Netze dunkelbraun gefärbt. Es macht hiernach den Eindruck, daß diese Netze Reste der Zellinhalte sind, eingeschlossen in den verquollenen Zellwandmassen.

Um die Kahmhautbildung nach Zusatz von Traubenzucker, Rohrzucker und Mannit zu untersuchen, legte ich in Erlenmayerkolben eine Versuchsreihe an, deren Resultate aus der folgenden Tabelle ersichtlich sind:

| Nr. der Probe | Nährflüssigkeit | Zusatz | Wachstumserscheinungen nach 4 Tagen bei einer Temperatur von 28° C. |
|---|---|---|---|
| I | 25 ccm alkoholfreies Bier | 0,5 g Mannit | Nur sehr mäßiges Wachstum und dünne Kahmhaut. In der klaren Flüssigkeit sind wolkenartige Trübungen zu erkennen, die sich beim Herausnehmen als gallertig erweisen. |
| II | | 0,5 g Rohrzucker | Gutes Wachstum mit Kahmhautbildung, die allerdings schwächer ist, als bei Nr. VI. Die Flüssigkeit erscheint klar. |
| III | | 0,5 g Traubenzucker | Gutes Wachstum unter Bildung einer Kahmhaut. deren Dicke ungefähr jener bei II entspricht. Flüssigkeit klar. |
| IV | | — | Mäßiges Wachstum ohne Kahmhautbildung. In der Flüssigkeit gallertige Massen nur in geringer Menge. erstere selbst vollständig klar. |
| I | 25 ccm alkoholhaltiges Bier | 0,5 g Mannit | Gutes Wachstum unter Bildung einer dicken Kahmhaut auf der klaren Flüssigkeit. |
| II | | 0,5 g Rohrzucker | Sehr gutes Wachstum mit starker Kahmhautbildung. Auch hier ist die Flüssigkeit vollständig klar. |
| III | | 0,5 g Traubenzucker | Sehr gutes Wachstum mit etwas geringerer Zooglöenbildung wie bei VI. Flüssigkeit klar. |
| IV | | — | Sehr reichliches Wachstum unter Bildung einer mächtigen Kahmhaut auf klarer Flüssigkeit. |

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



Jede der Proben wurde durch eine möglichst gleichgroße Menge einer Aufschwemmung von junger Weingelatinekultur des *Acetobacter plicatum* in 0,75 %iger Natriumchloridlösung infiziert und beim Temperaturoptimum von 28° C. gehalten. Eine identische Versuchsreihe wurde gleichzeitig bei Zimmertemperatur belassen.

Bei den in Zimmertemperatur gehaltenen Proben sind ungefähr 3 Tage später die gleichen Erscheinungen zu sehen, weshalb ich darauf nicht besonders eingehe.

Nach einer Beobachtungsdauer von 10 Tagen, nach welcher Zeit die Probe IV eine deutliche, die Probe I eine kaum merkbare Kahmhaut aufweist, haben sich die Verhältnisse nur durch eine Dickenzunahme der Zooglöen absolut geändert, relativ aber nicht.

Wir finden die derbsten und dicksten Häute auf den Proben V. VI und VIII, die also mit alkoholhaltigem Bier allein oder mit Zusatz von Mannit und Rohrzucker angelegt wurden, während die Probe VII mit dem Traubenzuckerzusatz eine bedeutend kleinere und zartere Kahmhaut aufweist. Auf alkoholfreiem Bier begünstigt Rohrzucker und Traubenzucker die Kahmhautbildung, wie aus den Proben II und III ersichtlich ist.

Die mit den Häuten sämtlicher Proben angestellte Zellulosereaktion ergab negative Befunde.

In den von obigen Zooglöen angefertigten Ausstrichpräparaten waren im allgemeinen nur die durch die Anwesenheit oder das Fehlen von Alkohol bedingten Unterschiede zu erkennen, die ich bereits früher eingehend behandelte.

## Versuche zum Nachweis eventueller Schwärmzustände.

Schon der Umstand, daß bei der Zucht des *Acetobacter plicatum* auf flüssigen Nährsubstraten zu keiner Zeit des Wachstums eine Trübung derselben zu erkennen ist, legt die Annahme nahe, daß unser Bakterium keine Schwärmzellen bildet, wie solche durch die Untersuchungen von Zopf (l. c.), Henneberg (l. c.) und anderen Forschern bei einzelnen Essigbakterien bekannt wurden. Um mich von dem Fehlen eines Schwärmzustandes in Wein und Bier bei der Zucht in verschiedenen Temperaturen zu überzeugen, beobachtete ich eine Reihe hängender Tropfenkulturen in der feuchten Kammer auf dem heizbaren Objekttisch, dessen Tischplatte durch Zuleiten von warmem Wasser auf verschiedene Temperaturen dauernd erwärmt werden konnte. Die bei Zimmertemperatur (17° C) durch 2 Tage untersuchten, mit Wein oder Bier und frischem Bakterienmaterial angelegten hängenden Tropfen zeigten eine langsam verlaufende Teilung der eingeimpften Stäbchen, ohne daß ich bewegliche Formen sehen konnte. Erhöhte ich die Temperatur auf 22° C. erfolgten die Teilungen rascher, doch fehlten auch diesmal Schwärmzellen.

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



Da es bekannt ist, daß die Schwärmfähigkeit durch den Mangel an Sauerstoff herabgesetzt und aufgehoben werden kann. lüftete ich in kurzen Zwischenräumen das Deckgläschen und sorgte so für genügenden Luftwechsel, ohne dadurch andere Resultate zu erzielen.

Ich machte noch eine Reihe von Zuchtversuchen bei 25, 30 und 35 ° C, ohne auch nur eine bewegliche Zelle gesehen zu haben. Um ganz sicher zu sein, hielt ich bei einer andern Versuchsreihe die Tröpfchenkulturen im Finstern, da es ja ganz gut möglich wäre, daß die Schwärmfähigkeit unseres Bakteriums durch Licht beeinträchtigt würde. Aber auch im Dunkeln traten keine Schwärmzustände auf.

Die zu verschiedenen Zeiten von Strichkulturen des Bakteriums in Flüssigkeiten aufgeschwemmten Portionen enthielten keine beweglichen Keime. einerlei, welche Flüssigkeit dabei verwendet wurde (Wein, Bier, Wasser und physiologische Kochsalz-Lösung.)

Ich untersuchte auch die mit Mannit, Traubenzucker und Rohrzucker angelegten Bierkulturen auf das Vorhandensein von Schwärmzellen, jedoch mit negativem Erfolge.

Demnach darf mit Recht angenommen werden, daß das *Acetobacter plicatum* kein Schwärmstadium besitzt.

## Formveränderungen bei der Zucht in höheren Temperaturen.

Wie uns die grundlegenden Arbeiten Hansens (l. c.) zeigten. hat die Züchtungstemperatur auf die Form der Essigbakterien einen großen Einfluß. Auch die Versuchsergebnisse andrer Forscher lehren uns diese Tatsache. Bei den bisher näher untersuchten Erregern der Essiggärung zeigten die verschiedenen Spezies derselben auch differente Formveränderungen bei den verschiedenen Temperaturen zwischen 30 und 41 ° C. sodaß diese Merkmale sehr wohl für die Unterscheidung der einzelnen Arten herangezogen werden können. Die Untersuchungen Hennebergs (l. c.) lehrten uns auch. daß nicht nur eine erhöhte Temperatur zur Bildung hypertropher, mitunter auch als Involutionsformen bezeichneter Wuchsformen Anlaß gibt. sondern auch größere Zusätze gewisser Salze, wie Chlornatrium. Kaliumnitrat und andrer ähnliche oder gleiche Veränderungen in der Form der Bakterien hervorbringen. Lafar (l. c.) zeigte, daß diese Formveränderungen in alten Kulturen. bei normaler Temperatur gezüchtet, ohne irgend welche Zutaten von selbst entstehen. Ebenso soll ein vermehrter Alkoholgehalt des Nährsubstrates wirken.

Das *Acetobacter plicatum* zeigt nur eine geringe Neigung hypertrophische Wuchsformen bei höheren Temperaturen zu bilden. Auch der vermehrte Alkoholgehalt in Wein- und Bierkulturen vermag nur geringfügige Änderungen in der Form

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



unseres Bakteriums hervorzurufen. Riesenwuchsformen vermißte ich auch in Monate alten Kulturen auf flüssigen oder festen, alkoholfreien oder alkoholhaltigen Substraten.

Der ganze Kreis der Formveränderungen auf Bieragar ist ein kleiner. Ich züchtete das *Acetobacter plicatum* auf diesem Nährboden 24 Stunden bei einer Temperatur von 28—30 ° C, hob den nach dieser Zeit sichtbaren Belag ab und beschickte damit ein neues Röhrchen mit Bieragar, welches dann einer Temperatur von 40,2 ° C ausgesetzt wurde. Nun wurden stündlich Proben entnommen und davon Ausstrichpräparate und hängende Tropfen angefertigt. Nach der ersten Stunde zeigt die überwiegende Mehrzahl der meistens zu zweit verbundenen Stäbchen ihr normales Aussehen, während eine sehr geringe Anzahl derselben eine Vergrößerung der Längendimension aufweist; eine merkliche Vergrößerung in der Breite ist nicht zu sehen. Die verlängerten Stäbchen messen im Maximum das 3—4 fache der normalen Länge und sind meist leicht gekrümmt. Die Enden erscheinen etwas verschmälert, sodaß ihre Gestalt einer langen, schmalen Spindel ähnelt. Das Färbevermögen ist nicht wesentlich verändert, hier und da zeigt ein Stäbchen schwächer tingierte Pole.

Nach einer weiteren Stunde hat sich das Bild nicht sonderlich verändert. Nach 4—5 stündigem Aufenthalt in der höhern Temperatur gewahrt man in dem einen und andern Gesichtsfeld einen längeren Faden von gleichmäßig zylindrischer Gestalt, mit stumpfen Enden. Die Länge dieser Fäden, an denen man noch eine Gliederung an dem Auftreten dunkler gefärbter Punkte in gleichen Abständen wahrnehmen kann, mißt bis zu 50 $\mu$. Ich betone aber, daß derartig lange Fäden ein sehr seltener Befund sind. Die Mehrzahl der langen Formen mißt höchstens das 4 bis 5 fache der normalen Länge. Die Dicke der Fäden ist nicht bedeutend und erreicht nicht das doppelte der normalen Zelldicke. Ausbauchungen und Hervortreibungen fehlen stets, ebenso auch Verzweigungen. Diese nach 5stündigem Aufenthalt bei 40.2 ° C erhaltenen Formen sind in allen Präparaten zu sehen, ob die hohe Temperatur nur diese kurze Zeit über einwirkte oder durch 48 Stunden. Eine weitere Veränderung trat nicht ein. Fig. 7 zeigt die gewöhnlich auftretenden hypertrophischen Zellformen in einem Präparate aus einer Kultur, die 24 Stunden bei 30 ° C gezüchtet wurde und dann 8 Stunden einer Temperatur von 40,2 ° C ausgesetzt war.

Nach einem Aufenthalt von 24 Stunden bei 40,2 ° C. kam die Bieragarkultur in den Thermostaten mit 30 ° C. Nach 4 Stunden war von den durch Hansen (l. c.) bekanntgewordenen Auftreibungen und dem Zerfall in Kurzstäbchen noch nichts zu bemerken. Selbst nach 24 Stunden traten die Erscheinungen nicht in deutlicher Form zutage. Die Ausstrichpräparate von Proben, die nach verschieden langer Einwirkungsdauer der niederen Temperatur entnommen waren, ließen eigenartige färberische Erschei-

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



nungen erkennen. Wurde mit alkalischem Methylenblau gefärbt, erschienen die verlängerten Stäbchen und Fäden ungleich dunkel tingiert, fast schwarz die nicht verlängerten Formen. Zahlreiche Langstäbchen sind diffus lichtblau gefärbt, andere wieder haben eine mehr körnige Struktur. Die dunkel gefärbten Stäbchen oder Fäden zeigen eine oder mehrere scharf begrenzte, kleine, helle, vakuolenartige Bildungen, die z. B. in einem Faden in gleichen Abständen angeordnet sind, in der einzelnen Zelle aber nur in der Mitte derselben in der Einzahl liegen oder zu zweit in gleichmäßigen Abständen von den Polen. Die Größe derselben ist variabel, immer sind sie kreisrund und liegen in sonst dunkelgefärbten Zellen oder Fäden.

Wenn wir diese Erscheinungen mit dem früher beschriebenen färberischen Verhalten unserer auf alkoholhaltigen Nährsubstraten gezüchteten Bakterien vergleichen, so finden wir eine Analogie, die sehr dafür spricht, daß die in die Länge gewachsenen Zellen, welche noch deutliche Färbungen annehmen, sich in der niederen Temperatur wieder in kürzere Stäbchen von der normalen Form umbilden, nachdem sie die eben beschriebenen vakuolenartigen Gebilde erzeugt haben.

Daneben finden wir aber zahlreiche Zellen, die sich nur mehr schattenhaft färben und sich durch dieses Verhalten als nicht mehr entwicklungs- und lebensfähig erweisen, denn wir wissen, daß absterbendes Protoplasma sich nur mehr diffus und schwach färbt. Auch diese Zellen enthalten meistens eine ungefärbte, helle Stelle, aber nicht im Zentrum, sondern in der Nähe eines Poles; bei zusammenhängenden Zellpaaren befindet sich diese farblose, immer etwas ovale Lücke in der Nähe der einander zugekehrten Pole. Im allgemeinen sind diese Gebilde umso kleiner, je besser die Zelle noch gefärbt ist.

Ich habe derartige Bildungen in großer Anzahl gesehen und sie jedesmal von den vakuolenähnlichen Gebilden ohne weiteres unterscheiden können, denn diejenigen Zellen, welche letztere enthalten, sind besonders an den Polen intensiv gefärbt und gegen die vakuolisierte Stelle mehr ausgeblaßt, während die Stäbchen mit ersteren gerade in der nächsten Umgebung des lichten Fleckes eine dunklere Färbung aufweisen. Das untere Zellenpaar in Fig. 12 zeigt uns die einseitig polare Lage der leicht ovalen, hellen Flecke. Der Zellkörper selbst ist nur schwach gefärbt, etwas dunkler in der Umgebung der ungefärbten Partien. Ab und zu sah ich Bilder, wie eines in der oberen Zeichnung der Fig. 12 wiedergegeben ist. Nahe den zusammenhängenden Polen des fast ungefärbten Zellenpaares liegen zwei ungefärbte, ovale Gebilde, mit ihrem längeren Durchmesser parallel zur Zellachse orientiert und von einem schmalen, stark gefärbten Ring umgeben. Diese beiden Körper ragen etwas über die Zellgrenze hervor und bauchen anscheinend die Zelle an diesen Stellen aus. Wir haben ein Bild vor uns, welches sofort an Sporen erinnert. Ob das *Acetobacter plicatum* in der Tat echte Sporen bildet und

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



unter welchen Bedingungen dies geschieht, vermag ich zur Zeit nicht zusagen. Ich fand noch nicht Zeit, mich mit dieser Frage näher zu beschäftigen, doch einige entsprechende Versuche, die noch im Gange sind, sprechen sehr für eine Sporenbildung. Sobald ich die diesbezüglichen Untersuchungen beendigt habe, werde ich sofort darüber eine kurze Mitteilung veröffentlichen und begnüge mich vorderhand, die Tatsache festzustellen, daß sporenähnliche Gebilde unter mir noch wenig bekannten Umständen auftreten. Ich beobachtete sie in Bier- und Fleischwasseragarkulturen, die bei niederer Temperatur gezüchtet wurden, dann auf mindestens 24 Stunden in eine Temperatur von 40,2 $^0$ C gebracht wurden und nachher wieder in eine niedere Temperatur kamen. Falls sich die beschriebenen Gebilde als echte Sporen herausstellen, wäre dies die erste diesbezügliche Beobachtung bei Essigbakterien.

Die Versuche zur Feststellung einer eventuell auftretenden Formveränderung der Zellen bei höheren Temperaturen machte ich auch mit Fleischwasseragar, bekam aber keine abweichenden Resultate.

Die Züchtungsversuche auf sterilem Wein und Bier bei höheren Temperaturen zeigten, daß auch dabei nur in geringer Zahl längere Fäden entstanden, wenn auch etwas mehr als auf festen Nährsubstraten.

Ich modifizierte diese Versuche nun in der Weise, daß ich eine frische infizierte Wein- oder Bieragarkultur durch 24—36 Stunden bei 25 oder 30 $^0$ C züchtete und dann auf 24 Stunden in den Thermostaten mit 40 $^0$ C brachte. Auch in diesen Fällen bekam ich keine stärker hypertrophischen Formen als sonst. Die hohe Temperatur bewirkte jedesmal einen sofortigen Wachstumsstillstand.

## Züchtungsversuche bei verschiedenem Alkoholgehalt der Nährflüssigkeit.

Es soll noch eine Reihe von Versuchen aufgeführt werden, die den Zweck hatten, festzustellen, welcher Alkoholgehalt vom *Acetobacter plicatum* ohne Schädigung des Wachstums vertragen werden kann. Zu dem Ende wurden 10 Proberöhrchen mit je 10 ccm sterilem Bier und Wein gefüllt und der Alkoholgehalt durch Zugabe von absolutem Alkohol vermehrt. Eine Tabelle der mit Bier angestellten Versuche wird die Befunde am übersichtlichsten darstellen.

(Siehe S. 28 und 29).

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



**Tabelle der Bierkulturen mit**

| No. der Kultur | Alkoholgehalt in Gew.-Proz. | Wachstum bei 30° C nach | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 24 Stunden | 48 Stunden | 72 Stunden |
| I. | 2.5 | Wachstum in der Tiefe. | Kahmhaut bereits gebildet. | Kahmhaut mächtig entwickelt |
| II. | 3.5 | Wachstum in der Tiefe gleich gut wie in I. | Die ersten Anfänge einer Kahmhaut zeigen sich. | Die Oberfläche ist von einer dünnen Kahmhaut bedeckt. |
| III. | 4.5 | Sehr spärliches Wachstum in der Tiefe. | Beginn der Kahmhautbildung. | sehr dünne Kahmhaut. |
| IV. | 5.5 | — | — | geringe Spur einer Kahmhaut |
| V. | 6.5 | — | — | — |
| VI. | 7.5 | — | — | — |
| VII. | 8.5 | — | — | — |
| VIII. | 9.5 | — | — | — |
| IX. u. X. | 10.5 u. 11.5 | — | — | — |

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



**verschiedenem Alkoholgehalt.**

| | Wachstum bei 25° C nach | | | |
|---|---|---|---|---|
| 5 Tagen | 24 Stunden | 48 Stunden | 72 Stunden | 5 Tagen |
| sehr dicke Kahmhaut | Spärliches Wachstum in der Tiefe | Die ersten Anfänge einer Kahmhaut sind sichtbar. | dünne Kahmhaut | mächtige Kahmhaut |
| dicke Kahmhaut | Besseres Wachstum in der Tiefe als bei I. | dünne Kahmhaut auf der Oberfläche. | dicke Kahmhaut. | mächtige Kahmhaut wie bei I. |
| dicke Kahmhaut. | Wachstum in der Tiefe etwas weniger als bei II. | dünne Kahmhaut auf der Oberfläche. | dicke Kahmhaut. | mächtige Kahmhaut wie bei I. |
| sehr dünne Kahmhaut. | Wachstum in der Tiefe eben bemerkbar. | Wachstum in der Tiefe. | Geringe Spuren einer Kahmhaut. | dünne Kahmhaut von schleimiger Beschaffenheit |
| — | Wachstum in der Tiefe fast wie bei IV. | Wachstum in der Tiefe ungefähr w. b. IV nach 24 Stdn. | Spur einer Kahmhaut. | größere Inseln an der Oberfläche. |
| — | Wachstum in der Tiefe. | Wachstum in der Tiefe, ungefähr d. 4. Tl. wie in V. | Spur einer Kahmhaut. | 1 kleine Insel an der Oberfläche. |
| — | — | — | Spur Wachstum in der Tiefe. | Wolken in der Flüssigkeit. |
| — | — | — | — | Spur Wachstum in der Tiefe. |
| — | — | — | — | Auch nach Wochen kein Wachstum. |

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



Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß unser Bakterium in Bier mit einem Alkoholgehalt von 9,5 Gewichtsprozenten eben noch zu wachsen vermag. Hier werden aber keine Kahmhäute mehr gebildet und es entsteht in der Nährflüssigkeit nur ein kleines Wölkchen einer gallertigen Substanz, die die gewachsenen Keime enthält. Auffallend ist die Tatsache, daß bei mäßigem Alkoholgehalt in höherer Temperatur ein besseres oder rascheres Wachstum statthat als bei 25 °. Gerade das umgekehrte gilt bei Kulturen mit hohem Alkoholgehalt, wo wieder bei niedriger Temperatur ein besseres Wachstum stattfindet. Steigt der Alkoholgehalt über 5,5 Prozent, findet überhaupt nur Wachstum bei 25 ° C statt. Erniedrigt man die Temperatur noch mehr, so bekommt man Resultate, die denen bei Zucht um 30 Grad gleichen. Bei einer Temperatur unter 8 ° C vermehrt sich unser Bakterium nicht mehr.

Ich legte eine analoge Versuchsreihe mit Wein an, deren Resultate kurz folgende sind: Die Proben enthielten 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 und 12 Gewichtsprozente Alkohol. Nach 4 Tagen war in den Röhrchen von 4 bis 8 % eine Kahmhaut sichtbar, in den Proben bis 10 % gutes Wachstum in der Tiefe. In letzteren Kulturen bildete sich nach Verlauf von weiteren 5 Tagen ebenfalls eine Kahmhaut. Das Röhrchen mit 11 % zeigte nur spärliches Tiefenwachstum, während die Probe mit 12 % steril blieb. So liegen die Verhältnisse, wenn bei 25 ° C gezüchtet wurde. War die Temperatur 30 ° oder unter 20 °, findet ein Wachstum mit Kahmhautbildung nur in den Proben mit weniger als 8 % Alkoholgehalt statt.

## Zusammenfassung.

*Acetobacter plicatum* ist ein Bakterium im Sinne Migulas. Es bildet auf festen Nährböden zusammenhängende, schwer abziehbare, reichgefältelte und nur schwach weißgelb gefärbte Auflagerungen.

Auf Weingelatine gezüchtet, entstehen die oberflächlichen Kolonien aus den tiefliegenden dadurch, daß sich aus den eingesäten Keimen sehr kleine kugelförmige Kolonien bilden, die sich dann in der Fläche ausbreiten. Derartige Scheibchenkolonien lagern sich solange übereinander, bis die Oberfläche erreicht ist, worauf dann die typische, knopfförmige, scharf konturierte Auflagerung entsteht.

Wird auf verschieden alkalischer Bier- und Fleischwassergelatine kultiviert, so vermag *Acetobacter plicatum* nur in der alkoholhaltigen Biergelatine bei höherem Alkaligehalt zu wachsen, während auf der alkoholfreien Nährgelatine nur bei sehr mäßigem Alkaligehalt ein Wachstum statthat. Im ersteren Falle wird Säure gebildet, da die in der alkalischen Biergelatine ausgefallenen Salze gelöst werden.

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



Auf alkoholfreier, neutraler Pepton- und Fleischwassergelatine wird keine Säure gebildet, da mit Lakmus gefärbte Proben derselben keine Farbenveränderung zeigen, wenn man darauf das *Acetobacter plicatum* züchtet.

An der Oberfläche von Bier und Wein erzeugt es derbe, dicke, von vielen Inseln zusammengesetzte Kahmhäute, die sich weder in Jodlösungen blau färben, noch die Zellulosereaktion geben. Die sie zusammensetzenden Stäbchen bilden keine Ketten und sind meist zu zweit vereint.

Die auf alkoholhaltigem und alkoholfreiem Bier gewachsenen Kahmhäute unterscheiden sich von einander, denn in letzteren liegen die Keime in parallel zur Oberfläche verlaufenden, regelmäßigen Schichten, die durch eine gallertige Masse mit Resten von Zellinhalten von einander getrennt werden. Die Bakterien sind mit ihrer Längsachse entweder senkrecht oder steil geneigt gegen die Oberfläche orientiert.

Die geraden, an den Enden leicht abgerundeten Stäbchen zeigen eine ausgesprochene bipolare Färbung und besitzen, wenn auf alkoholhaltigen Substraten gezüchtet, größere und kleinere, zentral gelegene, vakuolenartige Bildungen. Je nach dem verwendeten Nährboden schwankt die Länge der Bakterien zwischen 1 und 2,5 $\mu$, ihre Breite zwischen 0,5 u. 0,9 $\mu$.

Die Zellen sind stets unbeweglich und besitzen kein Schwärmstadium.

Höhere Temperaturen und vermehrter Alkoholgehalt vermögen nur in sehr geringem Maße die Bildung hypertrophischer Wuchsformen hervorzurufen.

Unter gewissen Bedingungen, die noch nicht erkannt sind, bildet das *Acetobacter plicatum* an Sporen erinnernde Gebilde, deren Sporennatur sehr wahrscheinlich, aber noch nicht vollkommen festgestellt ist.

*Acetobacter plicatum* gedeiht in Wein bei einem Alkoholgehalt von 11 Gew.-Prozenten, in Bier bei einem Gehalt von 9.5 %, wenn die Temperatur 25 Grade nicht oder nur unbedeutend überschreitet.

Im allgemeinen verlangt unser Bakterium zum besten Wachstum auf viel Alkohol enthaltendem Wein oder Bier eine niedere Temperatur (um 25 $^0$ C), während es auf alkoholarmen Substraten bei höherer Temperatur am besten gedeiht.

## Literaturverzeichnis.

1. Beijerinck, M. W., Über die Arten der Essigbakterien. (Zentralbl. f. Bakt. u. Paras. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 207 u. f.)
2. Bertrand, G., Préparation biochimique du sorbose. (Compt. rend. T. CXXII. 1896. p. 900.)
3. Brown, A. I., On an acetic ferment, which forms cellulose. (Journ. of the Chem. Soc. Vol. 49. 1886.)
4. —, The chemical action of pure cultivations of Bacterium aceti. (Journ. of the Chem. Soc. Vol. 49. 1886.)

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



5. Brown, A. I., Further notes on the chemical action of Bacterium aceti. (Journ. of the Chem. Soc. 1887.)
6. Duclaux, E., Traité de microbiologie. Paris 1901. T. IV.
7. Hansen, E. Chr., Mycoderma aceti (Kütz.) et Myc. Pasteurianum, nov. sp. (Comt. rend. des travaux du labor. de Carlsberg. Bd. I. 1879.)
8. —, Botanische Untersuchungen über die Essigsäurebakterien. (Ber. der deutsch. botan. Gesellsch. 1883.)
9. —, Recherches sur les bactéries acétifiantes. (Compt. rend. etc. Carlsberg. T. III. 1894.)
10. Henneberg, W., Zur Unterscheidung der Essigbakterien. (Zwei neue Arten: Bacterium industrium und B. ascendens.) (Zeitschr. „Die dtsch. Essigindustrie". Jahrg. II. 1898.)
11. —, Bacterium industrium und B. ascendens und Ergänzungen zu den bisherigen Untersuchungen über Essigbakterien. (Ztschr. „Die dtsch. Essigindustrie". 1898.)
12. —, Weitere Untersuchungen über Essigbakterien. (Zentralbl. f. Bakt. u. Paras. Abt. II. Bd. IV. 1898.)
13. —, Beiträge zur Kenntnis der Essigbakterien. (Zentralbl. f. Bakt. und Paras. Abt. II. Bd. III. 1897.)
14. Hoyer, Dirk Pieter, Bijdrage tot de kennis van de azijnbacterien, (Proefschrift ter Verkrijging van den Graad van Doctor in de Scheikunde van de Rijks-Universiteit te Leiden. Delft (Waltmajr) 1898. Ref. (Zentralbl. f. Bak. u. Paras. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 867 u. f.)
15. Knierim und Mayer, Über die Ursache der Essiggärung. (Landwirtschaftliche Versuchsstationen. Bd. XVI. 1873. p. 305 u. f.)
16. Kützing, Fr., Mikroskopische Untersuchungen über die Hefe u. Essigmutter, nebst mehreren anderen dazu gehörigen vegetabilischen Gebilden. (Journ. f. prakt. Chemie. Bd. II. 1837.)
17. Lafar, F., Über einen Sproßpilz, der kräftig Essigsäure bildet. (Zentralblatt f. Bakt. u. Paras. Bd. XIII. 1893.)
18. —, Physiologische Studien über Essiggärung u. Schnellessigfabrikation. (Zentralbl. f. Bakt. u. Paras. Abt. II. Bd. I. 1895.)
19. Pasteur, L., Mémoire sur la fermentation acétique. (Annal. scientif. de l'École norm. sup. T. I. 1864.)
20. —, Études sur le vinaigre. Paris 1868.
21. Peters, W., Die Organismen des Sauerteiges und ihre Bedeutung für die Brotgärung. (Botan. Zeitung. 1889.)
22. Rothenbach, Wochenschr. f. Brauerei. 1898.
23. Seifert, W., Beiträge zur Physiologie u. Morphologie der Essigsäurebakterien. (Zentralbl. f. Bakt. u. Paras. Abt. II. Bd. III. 1897.)
24. Steinmetz, O., Neuerungen auf dem Gebiete der Essigindustrie. (Chemik. Ztg. 1892. p. 1723.)
25. Wermischeff, Recherches sur les microbes acétifiants. (Annal. de l'Institut. Pasteur. 1893. p. 213.)
26. Zeidler, A, Beiträge zur Kenntnis einiger in Würze und Bier vorkommender Bakterien. (Wochenschr. f. Brauerei. 1890.)
27. —, Über eine Essigsäure bildende Thermobakterie. (Zentralbl. f. Bakt. u. Paras. II. Abt. Bd. II) u. (Wochenschr. f. Brauerei. 1890.)
28. Zopf, W., Die Spaltpilze. III. Ausgabe. Breslau 1885.

## Tafelerklärung.

Fig. 1 stellt eine junge Kultur des *Acetobacter plicatum* auf sterilem Bier mit ungefähr 2,5 % (Gewichts) Alkoholgehalt bei 25 °C gezüchtet, dar. Die gebildete Kahmhaut besteht aus Inselchen von weißgrauer Farbe, die durch eine durchsichtige, gallertige Masse verbunden sind.

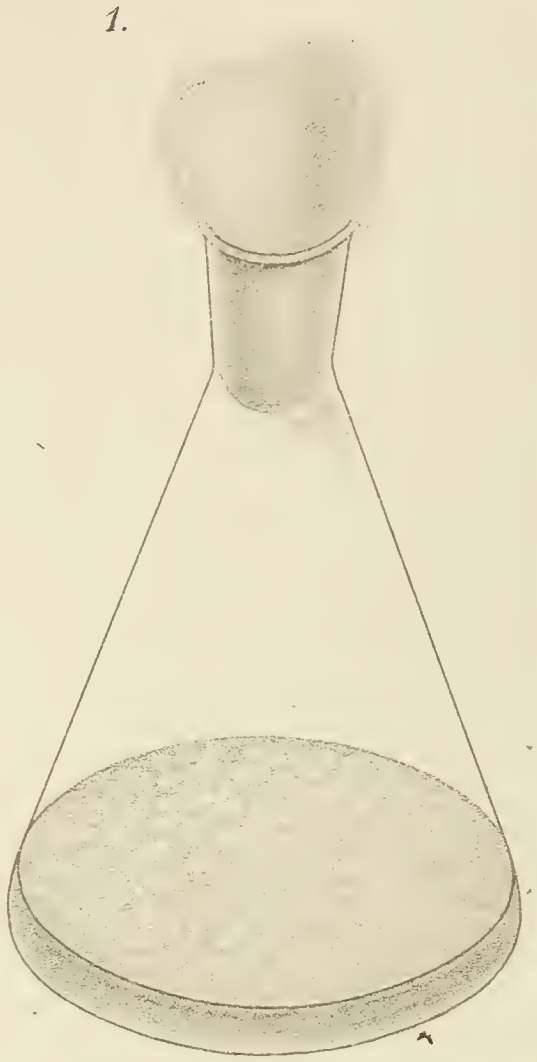
Fig. 2 gibt uns ein Bild einer 12 Tage alten, bei 22 °C gehaltenen Strichkultur auf saurer Biergelatine. Der Belag hat eine rötlichgelbe Farbe, eine feuchtglänzende Oberfläche und ist mehr schleimig.

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

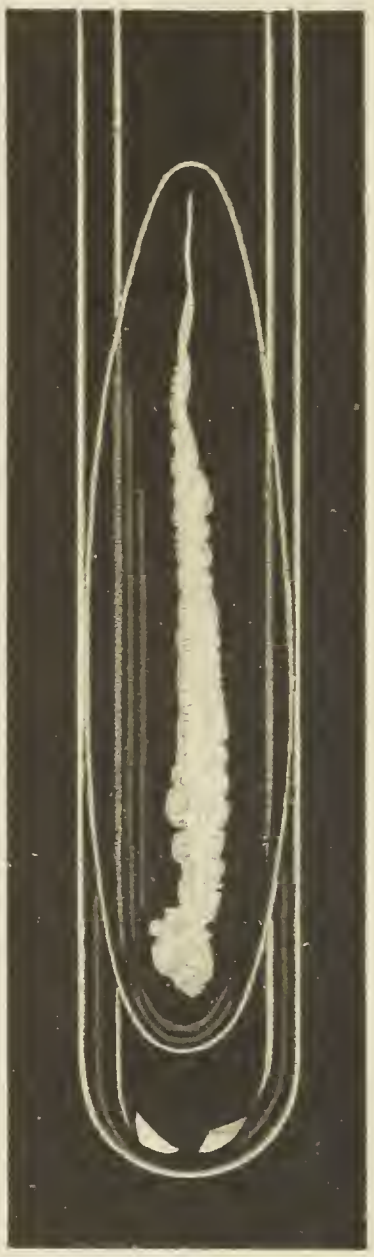
© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at



1.

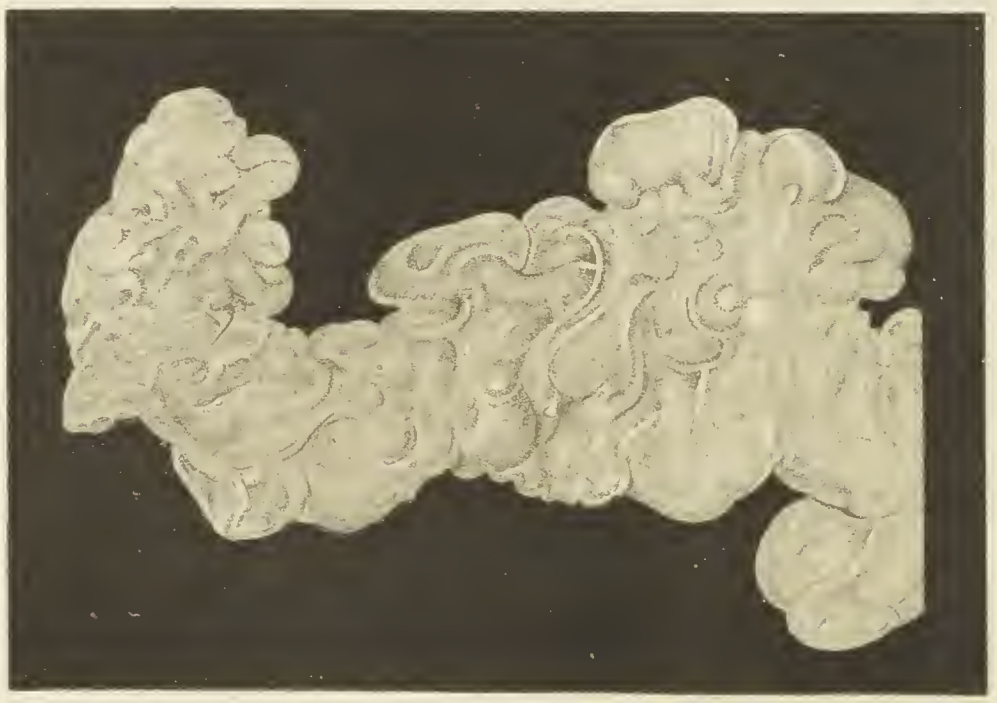


2.



4.

3.



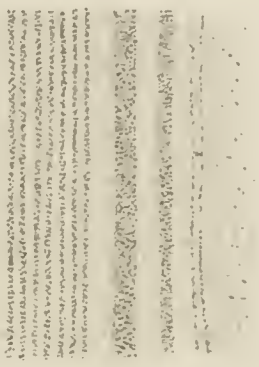
5.

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



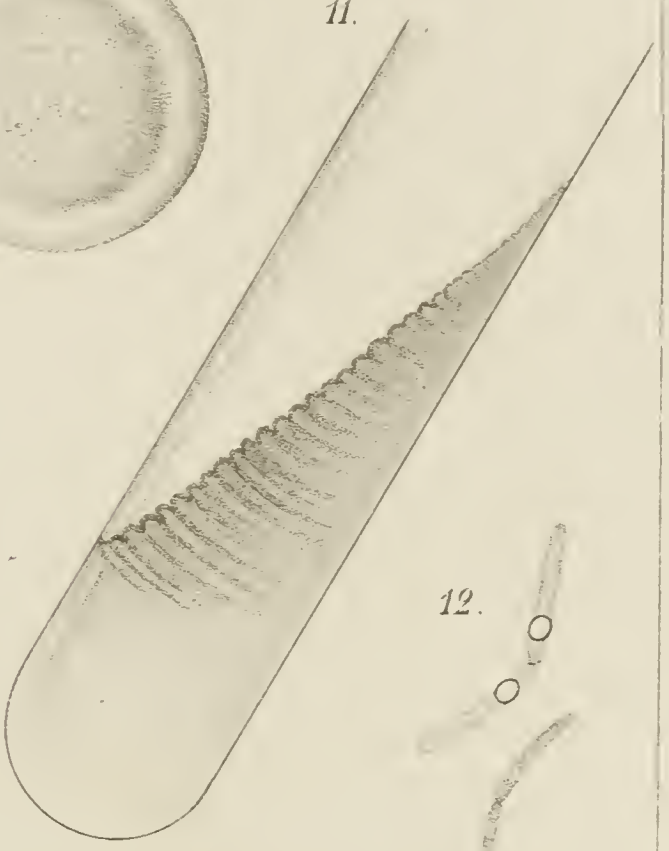
6

9.



10.

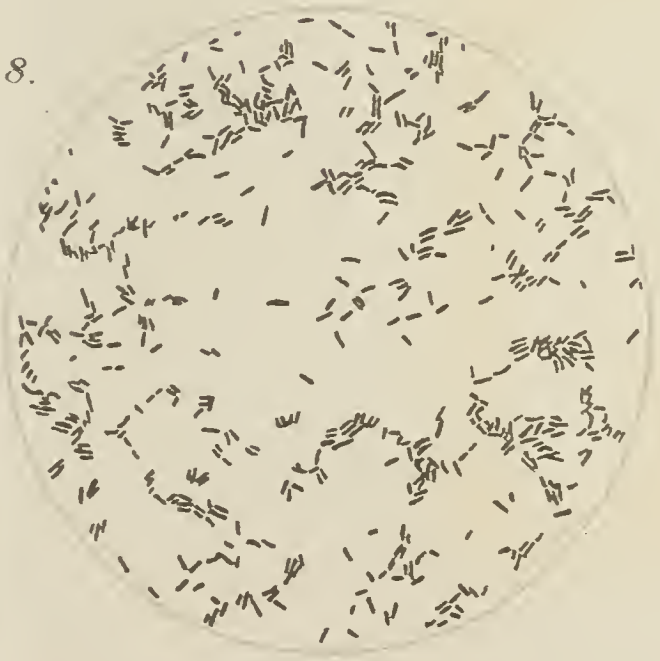
11.



12.

7.

8.



13.

eme in Leipzig.

Lith. Anst. v. J. Arndt. Jena.

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

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



Fig. 3 stellt ein Stück einer 14tägigen Fleischwasseragarkultur, bei 25 ° C gezüchtet, in vergrößertem Maßstab gezeichnet dar.

Fig. 4 gibt uns das Bild einer 14 Tage alten Strichkultur in neutraler Peptongelatine mit Kochsalz und Traubenzuckerzusatz.

Fig. 5. Querschnitt durch die auf Wein gebildete Kahmhaut des *Acetobacter plicatum* bei ca. 900facher Vergrößerung gesehen. Die Zeichnung stellt natürlich nur ein sehr kleines Stück der dicken Kahmhaut dar und entspricht den mittleren Partien derselben.

Fig. 6. Bild des Belages einer 10 Tage alten Weingelatine-Strichkultur, von der Gelatine aus gesehen, bei Lupenvergrößerung.

Fig. 7. Photogramm eines gefärbten Bieragarkultur-Ausstriches bei ca. 850facher Vergrößerung. Die Kultur des *Acetobacter plicatum* wurde durch 24 Stunden bei 30 ° C gezüchtet und dann 8 Stunden einer Temperatur von 40,2 ° C ausgesetzt.

Fig. 8. Photogramm eines Ausstriches einer bei 22 ° C durch 24 Stunden gezüchteten Fleischwassergelatinekultur.

Fig. 9. Bild eines Querschnittes von der nach 12 Tagen beim Temperaturoptimum gebildeten Kahmhaut auf sterilem, alkoholfreiem Bier, bei ganz schwacher Vergrößerung (ca. 50fach). Der Schnitt war mit Karbolfuchsin gefärbt. Die dunkelpunktierten Schichten entsprechen den bakterienhaltigen Partien, während die weißen Zwischenschichten die verquollenen Zellwandmassen mit den eingeschlossenen Resten von Zellinhalten wiedergeben.

Fig. 10. Junge Oberflächenkolonie des *Acetobacter plicatum* auf Fleischwassergelatine bei sehr starker Vergrößerung.

Fig. 11. Bild einer 10tägigen Strichkultur auf Fleischwassergelatine.

Fig. 12 zeigt uns die sporenähnlichen Gebilde, die nach der Zucht auf festen Nährböden in höheren Temperaturen, beim Zurückbringen in niedere Temperaturen entstehen. Vergrößerung ca. 1200.

Fig. 13. Photogramm eines Ausstriches von einer 48stündigen Fleischwasseragarkultur, beim Temperaturoptimum gezüchtet.

# ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Botanisches Centralblatt

Jahr/Year: 1906

Band/Volume: BH_19_1

Autor(en)/Author(s): Fuhrmann Franz

Artikel/Article: Morphologisch-biologische Untersuchungen über ein neues Essigsäure bildendes Bakterium. 1-33