

NATRIUM

EIN NOTWENDIGES NÄHRELEMENT FÜR EINE MARINE MIKROÄROPHILE LEUCHTBAKTERIE

VON

OSWALD RICHTER (BRÜNN)

KORR. MITGLIED DER AKADEMIE

(AUS DEM INSTITUTE FÜR BOTANIK, WARENKUNDE, TECHNISCHE MIKROSKOPIE UND MYKOLOGIE DER
DEUTSCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE IN BRÜNN)

MIT 2 TAFELN

VORGELEGT IN DER SITZUNG AM 30. JUNI 1927

I.

Die Ansicht von der ausgesprochenen Halophilie der diversen Leuchtbakterien (vgl. Beijerinck I, 1889, p. 2), die sich auch insbesondere bei der Art ihrer Beschaffung gezeigt hatte (Molisch, H. IV, 1903, p. 6), schien eine schwere Erschütterung erfahren zu haben, als es Molisch (VII, 1912, p. 104) gelang, »*Bacterium phosphoreum*, das das spontane Leuchten des Fleisches der Schlachttiere hervorruft,« »auf alkalisch gemachten Kartoffelscheiben ohne¹ Kochsalz« zu ziehen, auf denen es »sehr schön wuchs und brillant in grünlichem Lichte leuchtete«.

Molisch (VII, 1912, p. 104 und 105) wurde durch diese Beobachtung »zur Frage gedrängt, ob nicht das Kochsalz unter Umständen durch andere Körper überflüssig gemacht« werden könne. »Zwar folgt dies«, so sagt er in den einleitenden Bemerkungen zu diesen Versuchen (p. 105) »aus der Entwicklung des Pilzes auf ungesalzene Kartoffeln und rohem Fleische nicht ohne weiteres, denn bekanntlich enthalten sowohl Kartoffeln als auch Fleisch relativ viel Chloride,² und vielleicht sind diese die Ursache davon, daß die genannte Bakterie auch ohne Kochsalzzusatz auf den beiden Substraten wächst.«²

Da nun weder Beijerinck (I, 1889, p. 2), der zwar erklärte, »daß das Nährsubstrat anstatt des Kochsalzes isotonische Mengen anderer Mineralsalze enthalten« könne, aber seinen Nährmedien für vorzugsweise von Seetieren abgezüchtete Leuchtbakterien doch etwa $3\frac{1}{2}\%$ Kochsalz zusetzte, noch Dubois (1892, p. 12), der behauptet, »das Kochsalz« spiele »nicht ausschließlich die Rolle eines Nährstoffes, es« bilde vielmehr »mit dem Wasser sozusagen ein künstliches Serum und« könne in dieser Hinsicht »durch entsprechende Mengen anderer Körper, z. B. durch Zucker, schwefelsaures Natrium und schwefelsaure Magnesia vertreten werden« (zitiert nach Molisch VII, 1912, p. 104), »über die Vertretbarkeit des Kochsalzes durch andere Mineralsalze genauere Versuche mitteilen« (siehe Molisch VII, p. 105), sind Mc. Kenney (1902, zitiert nach Gerretsen II, p. 354) und Molisch (1904, 1912, VII, p. 105) die ersten, denen wir eingehendere Mitteilungen über einschlägige Versuche verdanken.

Als Nährsubstrat diente Molisch (VII, 1912, p. 105) für seine Versuche mit *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch eine Gelatine mit folgender Zusammensetzung:

1000 g H₂O
0·25 g MgSO₄
0·25 g K₂HPO₄³
10 g Pepton
20 g Zucker
100 g Gelatine,

die »mit Normalnatronlauge¹ schwach alkalisch gemacht« wurde.

¹ Auf meine Veranlassung fett gedruckt.

² Auf meine Veranlassung gesperrt gedruckt.

³ Das S in K₂H₂SO₄ im Büchlein von Molisch (VII, 1912, p. 105) ist offenbar durch einen Druckfehler eingeschmuggelt worden.

»Zwar gedeiht«, so sagt Molisch (p. 105), »das *Bacterium phosphoreum* besser auf einer Fleischsaftpeptongelatine, allein die Zusammensetzung des Fleischsaftes ist eine so komplizierte und wenig definierbare, daß« Molisch »es vorzog«, »das angegebene Nährsubstrat zu verwenden.«

»Dasselbe enthält von organischen Substanzen Pepton, Zucker und Gelatine und von Mineralsalzen das, was notwendig war. Von Ca wurde abgesehen, da es sich« nach Molisch (II, 1894, p. 554) »für niedere Pilze nicht als notwendig erwies«, »Eisen« (siehe Molisch I, 1892, p. 97) gewiß in Spuren als Verunreinigung vorhanden, das gleiche konnte auch von anderen Elementen wie Na¹, Ca angenommen werden. All diese und andere Verunreinigungen hätten dann störend gewirkt, wenn das Nährsubstrat für sich allein schon Gedeihen des Pilzes hervorgerufen hätte, das war aber nicht der Fall.«

»Die erwähnte Nährgelatine wurde, nachdem sie mit entsprechenden Salzen, deren Einfluß auf Wachstum und Lichtentwicklung der Bakterie geprüft werden sollte, versetzt, wenn notwendig wieder gleichmäßig« — (offenbar mit der p. 105 genannten Normalnatronlauge) — »alkalisch gemacht und für Strichkulturen hergerichtet.«

»In dem Nährsubstrat von der angegebenen Zusammensetzung ohne weiteren Zusatz entwickelt sich das *Bacterium*« (*phosphoreum*) »fast¹ gar nicht und dementsprechend ist auch die Lichtentwicklung eine äußerst schwache.«

Nicht bloß das ClNa, sondern alle versuchten Chloride (ClNa, ClK, MgCl₂, CaCl₂) ermöglichen Vermehrung und Lichtentwicklung, ClK ruft sogar noch stärkeres Leuchten hervor als ClNa.

Abgesehen von den Chloriden können auch andere Salze Wachstum und Leuchten veranlassen, so Kaliumnitrat, Jodkalium und Kaliumsulfat, ja« Molisch hat (VII, p. 107) »sogar den Eindruck gewonnen, daß der Kalisalpeter ein stärkeres Leuchten bedingt als Chloralkalium.

In der Regel geht kräftige Vermehrung mit starker Lichtentwicklung Hand in Hand, das MgSO₄ bildet jedoch darin eine Ausnahme, denn dieses bedingt ein sehr starkes Wachstum, aber nur ein sehr schwaches Leuchten.

Der Reihenfolge nach leuchten am stärksten die Kulturen mit KNO₃ und ClK, sodann kommen die mit ClNa, JK und MgCl₂ und endlich die mit K₂SO₄. Kein oder fast kein Leuchten rufen hervor MgSO₄ und K₂HPO₄, MnSO₄ hemmt jede Entwicklung.«

Molisch verwendete (VII, p. 106) fast alle Zusätze 30/10, nicht isosmotisch, nur JK kam außerdem in 0·5, 1 und 20/10 zur Verwendung, wobei 0·50/10 überhaupt weder Entwicklung noch Leuchten, 10/10 schließlich schwache Entwicklung, aber kein sicheres Leuchten auslöste, 20/10 »mäßige« bis »mäßig starke« Entwicklung und starkes Leuchten bedingte und erst 30/10 bis zu »sehr starker« Entwicklung und »sehr starkem« Leuchten führte, so daß sich Molisch (VII, p. 106) zu der Randbemerkung in der Tabelle veranlaßt sah: »In den JK-Lösungen waren Entwicklung und Leuchten bei 30/10 Zusatz am intensivsten.«

Ich komme bei der Interpretation der Befunde von Molisch auf p. 271 und 279 dieser Arbeit auf diese interessanten Ergebnisse der Molisch'schen Versuchsreihe mit durch NaOH alkalisch gemachter Gelatine nochmals zurück.

Nachdem »der Lichterregger des Schlachtviehfleisches, das *Bacterium phosphoreum*, kein mariner Pilz« ist, »zwar Kochsalz« »liebt«, »aber da er normal nicht auf Seetieren vorkommt, sondern auf dem Fleisch unserer Haustiere« und es »immerhin noch möglich« war, »daß die behauptete Notwendigkeit des ClNa für photogene Meeresbakterien zu Recht besteht«, machte Molisch (VII, p. 107) mit einer »von Seefischen (*Gobius Sozo* usw.) aus dem Hafen von Triest rein« abgezüchteten »Leuchtbakterie, *Bacillus photogenus*«, »eine der eben mitgeteilten gleiche Versuchsreihe«, wobei »sich auch wieder zeigte (p. 108), daß auf dem« [mit NaOH alkalisch gemachten] »Stammsubstrate allein weder Wachstum noch Leuchten erfolgt, daß ein Zusatz von ClNa, wie zu erwarten war, Entwicklung und Lichterregung hervorruft, daß aber auch bei dieser photogenen Meeresbakterie das ClNa durch viele andere Salze vertreten werden kann. Alle verwendeten Chloride: ClNa, ClK, Cl₂Mg und Cl₂Ca, ferner auch Nichtchloride wie JK, K₂SO₄ und MgSO₄ ermöglichen Wachstum und Leuchten, wenn auch nicht immer in demselben Grade wie bei *Bacterium phosphoreum*.«

»Während z. B. bei diesem KNO₃ die stärkste Lichtentwicklung bedingte, war das bei *Bacillus photogenus* nicht der Fall, hier wirkte ClNa am besten, während KNO₃ in seiner Wirkung bei weitem bezüglich der Lichtentwicklung zurückstand.«

Molisch kommt daher (VII, p. 109) zu folgender Schlussfolgerung: »Bei oberflächlicher Betrachtung könnte es scheinen, als ob das ClNa hier die Rolle eines Nährmittels spiele¹ und daß dasselbe hier in seiner Bedeutung als Nährstoff durch andere Chloride, ja sogar durch Salze von ganz anderer Zusammensetzung ersetzt werden könne.« Diese Möglichkeit lehnt aber Molisch (VII, p. 109) auf Grund älterer Erfahrungen, die er an Algen (III, 1896, p. 16) gesammelt hatte, ab: »Nach dem derzeitigen Stande unseres Wissens« hält er es vielmehr »für höchst unwahrscheinlich, daß ein Nährelement der Pflanze durch ein verwandtes vollends ersetzt zu werden vermag.« »Die zur Stammlösung zugesetzten Salze spielen hier nicht die Rolle notwendiger Nährelemente.« Es gehe dies schon »aus der Tatsache hervor, daß in dem Stammsubstrat, obwohl sich darin 0·25 g MgSO₄ pro Liter vorfindet, keine Entwicklung erfolgt, daß aber eine solche sich sofort einstellt, wenn 30/10 dieses Salzes zugesetzt werden.« Da »bei den sehr kleinen quantitativen Ansprüchen auf Mineralsalze und speziell auf das Magnesiumsalz« die Bakterie mit 0·0250/10 ihr »Auslangen« fände, erscheine das Wachstum auf 30/10 MgSO₄ nur dann verständlich, wenn man annimmt, daß die Bakterie soviel Salz nicht zur Ernährung braucht, sondern »daß das Salz als osmotischer Faktor eine Rolle spielt, weil es das Nährsubstrat mit dem Zellinhalt der Bakterie mehr minder isosmotisch macht.«

»Die Salze,« so fährt Molisch (VII, p. 110) in seiner Argumentation fort, »allen voran das Kochsalz, machen das Wasser isosmotisch mit dem Zellinhalt¹ und ermöglichen so das Gedeihen.¹ Dies ist der Grund,¹ warum die Photobakterien des Meeres einen dem Meerwasser entsprechenden Kochsalzzusatz erheischen und warum dieser durch andere Salze von ganz verschiedener Zusammensetzung vertreten werden kann, wenn sie nur solchen Mengen geboten werden, daß hiedurch das Nährsubstrat mit dem Zellinhalt isotonisch wird.« Für diese Auffassung scheinen auch Molisch's neueste

¹ Auf meine Veranlassung fett gedruckt.

Erfahrungen über das Leuchten der leuchtenden Seefischen Japans abgezüchteten Leuchtbakterien (1926, p. 7) sprechen.

Molisch hat endlich noch mit den von Kutscher (1894) zum ersten Male aus Hamburger Leitungswasser, aus der Elbe und dem Kote normaler und erkrankter Personen, also aus relativ ClNa-armen Substraten kultivierten leuchtenden Vibrionen experimentiert, deren Existenznachweis an sich schon sehr interessant war, denn »wenn auch bekannt ist, daß die Elbe bei Hamburg stark chlorhältig ist, so ist doch der **Chlornatriumgehalt**¹ im Vergleich zum Meere ein **sehr niedriger**«,¹ was »darauf hindeutet«, »daß es Leuchtbakterien gibt, die sich mit einem **geringen Kochsalzgehalt begnügen**¹ oder vielleicht ohne dieses ihr Auslangen finden« (siehe Molisch VII, p. 110).

Die von Molisch studierten Bakterien waren: *Vibrio Elvers* und *V. Dunbar*, *V. Elvers* wurde von Molisch in »sterilisierte«, offenbar wieder mit seiner Normal-NaOH »alkalisch gemachte« »Milch ohne Kochsalzzusatz« »geimpft«, worauf »nach etwa fünf Tagen Leuchten« eintrat. »Sowohl *V. Elvers* als *V. Dunbar* wachsen und leuchten auf« Molisch's — wieder mit Normalnatronlauge alkalisch gemachter — »Nährgelatine, aber **ohne jeden Zusatz von Chlornatrium**.¹ Setzt man 3%₀ Kochsalz hinzu, so wachsen sie langsamer und leuchten nicht, ein Beweis, daß es auch **Leuchtbakterien gibt, die zum Wachsen und Leuchten keines Kochsalzzusatzes bedürfen**.« (VII, p. 111).

Seit diesen auch die frühere Literatur kritisch behandelnden grundlegenden Darstellungen von Molisch über das Kochsalzbedürfnis der Leuchtbakterien haben sich meines Wissens Nadson, Issatschenko, Coulon und F. C. Gerretsen mit der Frage nach der Bedeutung eines entsprechenden ClNa-Zusatzes für Gedeihen und Leuchten der Leuchtbakterien beschäftigt und dabei folgende zum Teil einander widersprechende Ergebnisse erzielt. G. A. Nadson kommt auf Grund seiner Untersuchungen mit *Photobacterium tuberosum* zur Ansicht, daß für diese Leuchtbakterie »eine bedeutende Salzmenge (3 bis 3·5%₀) in der Kultur nicht² unbedingt nötig ist.« Es zeige »keine verbindliche Halophilie², da es sich auf gewöhnlichen Substraten³ mit einem 0·5%₀igen Salzgehalt völlig normal« zu entwickeln vermöge und auch leuchte. Allerdings gehe »in diesem Falle« »die Entwicklung« viel langsamer vor sich und »das lebhafte Leuchten« trete »bedeutend später« ein, »als auf Substraten mit größerem Salzgehalt.« »Das Salz« beschleunige »das Entwicklungstempo wohl aller Photobakterien;« es sei »ein stimulierender Faktor im Entwicklungsprozeß und in der Photogenese dieses Bakteriums und wahrscheinlich aller Photobakterien.«

Auch die von B. Issatschenko von Fischen des südlichen Bugs abkultivierte Leuchtbakterie *Bacterium Hippicium* n. sp. geht auf 0·5%₀ NaCl auf und leuchtet nach dem im Bot. Centr. erschienenen Referate »sehr hell auf 0·5 bis 3%₀ ClNa enthaltenden Nährboden. Aber auch da »wurde Leuchten der Fische namentlich bemerkt nach dem Einweichen in Salzwasser« und der Vermutung Ausdruck gegeben, daß die »Leuchtbakterie aus dem Schwarzen Meere« stammt und »im Süßwasser ihre Leuchtkraft verloren« habe.

Geradezu analog zu den oben eingehend besprochenen Versuchen von Molisch sind die Issatschenko's (1911) mit einer 1910 von leuchtkranken Mücken (*Chironomus*) abgezogenen Leuchtbakterie: *Photobacterium Chironomi*, die »auf gewöhnlichem Fleischpepton-Agar« auch »ein Leuchten« bemerken ließ, auch, »wenn kein-NaCl hinzugegeben wurde².« Normalerweise war aber das Kochsalzbedürfnis der Bakterie recht bedeutend, was daraus hervorgeht, daß die Kartoffeln für die Zucht der Bakterie in 4%₀ ClNa gekocht (Bot. Centr., p. 225) und daß zum Fischagar² 3%₀ ClNa zugesetzt werden mußten (C. f. B. p. 335).

Nach A. de Coulon (1916) ist für *Pseudomonas luminescens* »Kochsalz keine Nährsubstanz«², »erhöht aber den osmotischen Druck.« Es könne »durch andere den Gefrierpunkt ebenfalls um 1·75 herabsetzende Elektrolyte ersetzt werden.« Aus der Bemerkung in Referate — das Original steht mir leider nicht zur Verfügung —: »Von den sechs, das Molisch'sche Kulturmittel ausmachenden Substanzen ist für *Pseudomonas* nur das Kalisulfat entbehrlich,« ist jedoch wohl mit großer Wahrscheinlichkeit zu schließen, daß sich Coulon von der Gelatine und dem Agar nicht emanzipiert hat, womit natürlich die gleichen Schwierigkeiten für die Ausschaltung von ClNa-Spuren gegeben waren. Ausdrücklich sind besondere Vorkehrungsmaßnahmen gegen ClNa-Spuren nicht erwähnt. F. C. Gerretsen (II, p. 353) hat den »Ursachen des Leuchtens« der Leuchtbakterien nachgespürt und sich hiebei (p. 355) die folgenden Fragen vorgelegt: »1. Kann das Na durch andere Metalle ersetzt werden? 2. Kann das Cl durch andere Säurereste ersetzt werden? 3. Können sowohl Anion als Kation ersetzt werden?«

Zur Beantwortung dieser Fragen wurden »die verschiedenen Salze in **Fischbouillon**¹ (!!) gelöst und die Lösungen soviel wie möglich mit einer 3%₀igen Kochsalzlösung isotonisch gemacht.« Das *Photobacterium javanense* und das *Ph. phosphorescens* versagten in NaJ. Ebenso vermochten weder CaCl₂ noch LiCl oder MnCl₂ Leuchten, CaCl₂ und MnCl₂ auch kein Wachstum von *Ph. javanense* auszulösen.

Da NaCl, NaBr, NaNO₃, Na₂SO₄, Na₂S₂O₃ starkes, Na-Azetat schwaches Leuchten, alle, auch NaJ aber gutes Wachstum auslösten, glaubte sich Gerretsen zu der Schlußfolgerung berechtigt: »Obwohl nicht alle Säurereste das Cl ersetzen können, erhellt aus der großen Verschiedenheit der benutzten Säuren, daß von einer spezifischen Rolle des Cl bei Vorhandensein von Na beim Leuchten keine Rede ist.«¹

Aus der Tatsache, daß, abgesehen von den oben erwähnten negativen Befunden mit CaCl₂, LiCl₂, MnCl₂, KCl erst nach 36 Stunden ein schwaches, NH₄Cl nach 12 Stunden ein schwaches, nach 36 Stunden ein ziemlich gutes, MgCl₂ nach zwölf Stunden aber ein starkes, nach 36 Stunden ein noch immer gutes Leuchten bedingte, deduzierte Gerretsen unter vollständiger

¹ Auf meine Veranlassung fett gedruckt.

² Von mir gesperrt.

³ Nach den Ausführungen der pp. 268, 269 ist wohl auch in den erwähnten »gewöhnlichen Substraten« NaCl als Verunreinigung anzunehmen.

Vernachlässigung der an Molisch's Resultate anklingenden Befunde mit NH_4Cl und KCl , »daß eigentlich nur das Magnesium das Natrium völlig ersetzen kann,¹ was mit den mir leider in Original nicht zur Verfügung stehenden Befunden Mc. Kenney's im Einklange« stehe, der 1902 (zitiert nach Gerretsen II, p. 354) gefunden haben will, »daß K, NH_4 , Li, Rb, Ca, Ba und Sr das Na nicht¹ ersetzen können, das Mg dagegen wohl.«¹

»Eigentümlich« sei es, »daß NH_4 das Natrium ersetzen« könne,² obwohl das Leuchten später auftritt und weniger stark ist, während K und Li dem Na in der Leuchtwirkung weit nachstünden, obgleich sich die Bakterien in diesen »Flüssigkeiten gut entwickeln. Kalzium- und Manganchlorid« erwiesen sich in dieser Konzentration als giftig.«

»Aus diesem Versuche« gehe »hervor, daß man dem Kation einen spezifischen Einfluß auf die Leuchtfunktion zuerkennen« müsse¹, den sich Gerretsen (p. 355) in der Weise vorstellt, daß es »in Anbetracht des großen Einflusses, den die Salze verschiedener Metalle auf die Umwandlungen der Eiweißstoffe haben, nicht unwahrscheinlich« sei, »daß in denjenigen Fällen, wo wohl Bakterienentwicklung, aber kein Leuchten« auftrate, »die Spaltung derartig beeinflusst werde, daß dabei die Bildung eines spezifischen Leuchtstoffes als Neben- oder Zwischenprodukt unterblieb.«

Dieser Gedankengang bedingte nun Versuche mit 1. KBr , 2. KJ , 3. KNO_3 , 4. K_2SO_4 , 5. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ und 6. MgSO_4 , wovon 1. bis 4. nach 12 Stunden kein, 5. und 6. schwaches Leuchten zeigten. 2. und 4. leuchteten auch nach 36 Stunden nicht, 1. und 5. brachten es auch nach 36 Stunden nur zu sehr schwachem Leuchten, nur 3. und 6. wiesen nach 36 Stunden ein ziemliches Leuchten auf, 2. und 5. erscheinen in Gerretsen's Tabelle auch noch mit dem Vermerk »wenig gewachsen« versehen.

Der Schluß, den Gerretsen aus diesen Befunden zieht, lautet (p. 356): »Wenn sowohl Kation als Anion ersetzt sind,« »kommt kein einziges der untersuchten Salze dem Kochsalz an Leuchtkraft gleich«. »Zugleich« zeige »sich, daß beim Fehlen von Na das Anion auf die Leuchtfunktion fraglos Einfluß« nehme. So entwickle »die Kultur mit MgSO_4 nur mäßiges Licht, mit MgCl_2 dagegen viel besseres«. »Von allen untersuchten Salzen« stehe »das NaNO_3 an erster Stelle, was die Helligkeit des erzeugten Lichtes betrifft.¹« »Derselbe günstige Einfluß des NO_3 « mache sich auch »geltend, wenn das Na durch andere Metalle ersetzt« werde. »Während CaCl_2 völlig unbrauchbar« sei, vermöge »das Nitrat noch schwaches Leuchten hervorzurufen«. »Dasselbe« gelte »für das KNO_3 ; diese Kultur leuchtete erheblich besser als diejenige mit KCl «. » SO_4 « stehe »dem Chlorid an Leuchtkraft nach und J« könne »in keiner einzigen Hinsicht das Cl ersetzen.«

»Bezüglich des Einflusses des osmotischen Druckes« ergab sich, daß »*Photobacterium phosphorescens*« — die früheren Versuche waren alle mit *Ph. javanense* Eykman angestellt worden — »bei einem Kochsalzgehalt von 1—5%« »noch deutlich leuchtete und gut wuchs, woraus« hervorgehe, »daß die Bakterien ziemlich beträchtliche Veränderungen im osmotischen Druck ertragen können, ohne dadurch geschädigt zu werden. Es gelang jedoch nicht, durch wiederholte Überimpfungen Mutanten zu erhalten, die sich einer geringeren Kochsalzkonzentration als von 1% oder einer höheren als von 5% anpaßten«. Auffallend sei es dabei, »daß die Bakterien bei höherer Salzkonzentration (5 bis 6%) in dichten Flocken auf dem Boden des Kölbchens liegen blieben (s. p. 286), während die darüber befindliche Flüssigkeit ihre Klarheit behielt. Bei mikroskopischer Untersuchung zeigte sich, daß die Flockchen aus ziemlich regelmäßigen Bakterienkonglomeraten bestanden, welche einige Ähnlichkeit mit Sarzinen aufwiesen. Die Bildung von Pseudosarzinen unter Einfluß hoher Kochsalzkonzentrationen« werde »bei wiederholtem Überimpfen noch ausgeprägter«, gehe »aber bei älteren Kulturen verloren, namentlich auch dann, wenn diese nicht bei niedriger Temperatur aufbewahrt« seien. (p. 357.)

Wenn wir nun versuchen, die Ergebnisse der Forscher, die sich mit dem Einflusse verschiedener Salze auf das Leuchten, die Entwicklung und das Wachstum von Leuchtbakterien beschäftigt haben, tabellarisch zusammenzustellen, wobei + + + +, + + +, + +, + die graduell abnehmende Leistung der Salze und 0 ihr Versagen angeben soll,³ so stehen einander die folgenden Mitteilungen bewährter Beobachter in vieler Hinsicht einander bestätigend, in mancher (Cl_2Ca , K_2SO_4) widerspruchsvoll gegenüber und wir begreifen, daß Gerretsen, der vor der Aufgabe stand, die Resultate Beijerinck's, Molisch's und die früher (p. 264) zitierten, von Mc. Kenney über die Unersetzbarkeit des Na durch K, NH_4 , Li, Rb, Ca, Ba und Sr und die Ersetzbarkeit dieses Stoffes durch Mg mit den seinen in Einklang zu bringen, sich (p. 356) auf das beliebte Refugium criticorum zurückzog und seine einschlägigen Ausführungen mit dem Satze: »Die abweichenden Resultate der verschiedenen Untersucher können nämlich sehr wohl teilweise dem Umstande zugeschrieben werden, daß dabei mit verschiedenen Bakterien experimentiert wurde«, abschloß.

II.

Durch Fettdruck versuchte ich in den Zitaten der Literaturübersicht jene Ergebnisse früherer Autoren über die Physiologie der Leuchtbakterien und jene Umstände in deren Methodik auffällig zu machen, die im Verein mit den Erinnerungen an meine Erfahrungen mit farblosen und braunen Meeresdiatomeen der Jahre 1909 (I und II) bei mir nun zwangsläufig den Analogieschluß auslösten, daß die Leucht- als wirkliche Meeresbakterien oder wie *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch als

¹ Auf meine Veranlassung fett gedruckt.

² Diese Angabe widerspricht der Gerretsen's, die zwei Zeilen vorher steht. Sie machte daher bei der Zusammenstellung der Eintragungen in der Tabelle einige Schwierigkeiten.

³ Hiezu mußten die Angaben von Molisch »starkes« und »mäßig starkes« Leuchten noch durch + und + zum Ausdruck gebracht werden. Nadson's, Issatschenko's und de Coulon's Resultate sind in die Tabelle nicht aufgenommen, da die Originalarbeiten oder genauere Daten nicht zur Verfügung standen.

Tabelle über den Einfluß der verschiedenen Salze auf Leuchten und Wachstum von Leuchtbakterien.

N a c h													
		M o l i s c h				G e r r e t s e n				B e n e c k e			
b e i		<i>Vibrio Elvers und Dunbar</i>		<i>Bac. phosphoreum</i> ¹		<i>Bac. photogenus</i>		<i>Photob. javanense</i>		<i>Photob. phosphorescens</i> ¹		<i>Vibrio indicus</i>	
S a l z	Konz. ‰	Leucht.	Entw.	Leucht.	Entw.	Leucht.	Entw.	Leucht.	Entw.	Leucht.	Entw.	Leucht.	Entw.
ClNa	θ	Mi + + +	+ +	Kart. + + +	Kart. + + +	θ	θ					θ	θ
		G + +	+ +	G θ - +	G θ - +							θ	θ
	0.1—0.5											θ	θ
	0.5												+
	1										+ +	+ +	+ +
	2										+ +	+ +	+ +
	3	G θ	G +	+ +	+ +	+ +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	4										+ +	+ +	+ +
	5										+ +	+ +	+ +
	6										+ +	+ +	+
7												θ	
8												θ	
9												θ	
10												θ	
ClK	3			+ + +	+ +	+ + +	+ + +						
	is							θ → +	+ +				
Cl ₂ Mg	3			+ +	+ + +	+ + → +	+ + +						
	is							+ +					
Cl ₂ Ca	3			+	+	+ → + +	+ + +						
	is							θ	θ				
ClNH ₄	is							+ → + +					
CLi	is							θ	+ +				
Cl ₂ Mn	is							θ	θ				
BrK	is							θ → + ?					
BrNa	is							+ +	+ +				
JK	0.5			θ	θ → + ?	θ → + ?	θ → +						
	1			θ	+	θ	+ → + +						

Natrium.

(Fortsetzung der Tabelle.)

N a c h													
		M o l i s c h						G e r r e t s e n				B e n e c k e	
b e i		<i>Vibrio Elvers und Dunbar</i>		<i>Bact. phosphoreum</i> ¹		<i>Bac. photogenus</i>		<i>Photob. javanense</i>		<i>Photob. phosphorescens</i> ¹		<i>Vibrio indicus</i>	
S a l z	Konz. ‰	Leucht.	Entw.	Leucht.	Entw.	Leucht.	Entw.	Leucht.	Entw.	Leucht.	Entw.	Leucht.	Entw.
JK	2			+	+	+	+						
	3			+	+	+	+						
	is							θ	+	?			
JNa	is							θ	θ				
NaNO ₃	is							+++++	+	+			
KNO ₃	3			+	+	+	+						
	is							θ → +++					
Ca(NO ₃) ₂	is							++ → + ?	+				
Na ₂ SO ₄	is							+	+	+	+		
K ₂ SO ₄	3			+	+	+	+	++ → + ?	+	+			
	is							θ	θ				
MgSO ₄	3			θ → +	+	+	+	++ → + ?	+	+			
	is							++ → +++					
MnSO ₄	3			θ	θ	+	++++ → + ?						
Na ₂ S ₂ O ₃	is							+	+	+	+		
K ₂ HPO ₄	3			θ → +	θ → + ?	θ	θ						
Na-Azet	is							θ → +	+	+			

Erläuterungen zur Tabelle:

is = mit 30/0 ClNa isosmotisch.

Mi = [mit NaOH] alkalisch gemachte Milch.

G = [] Gelatine.

Kart = [] Kartoffeln.

ad »Pseudo-Sarzin« vgl. p. 264 und p. 286.

ad *Vibrio indicus*: Diese Daten wurden dem zusammenfassenden Werke Benecke's p. 409 entnommen.¹ Zur Systematik dieser Bakterien vgl. Reinelt J.

halophile Festlandbewohner des Natriums ebenso wenig entbehren könnten wie meine Diatomeen.

Daß ich übrigens mit diesem Analogieschlusse nicht allein dastehe, bewiesen mir folgende in Benecke's wertvollem Sammelwerk p. 358 und 410 vorkommenden Stellen:

»Mit Rücksicht auf neuere Befunde¹ an gewissen Kieselalgen der See«, heißt es dort p. 358, »wäre es nicht ausgeschlossen, daß bestimmte typische Meeresbakterien nicht nur Kalium-, sondern auch Natriumsalze als Nährsalze beanspruchen,² darüber müssen weitere Untersuchungen Aufschluß geben« und p. 410: »Ob sie« (die Leuchtbakterien) »vielleicht außer Kaliumsalzen als Meeresbakterien auch stets noch Natriumsalze, wenngleich in geringer Menge, nötig haben«,² wäre noch zu ermitteln (vgl. dazu p. 358.)«

Beim Entschlusse, diese von Benecke gleichfalls als notwendig erkannte Ermittlung zu wagen, war ich mir einerseits sofort klar darüber, daß es bei der »Allgegenwart« des Na so leicht nicht sein würde, den Beweis für ein allfälliges Na-Bedürfnis der Leuchtbakterien zu erbringen. Andererseits stand es aber auch für mich fest, daß, wenn überhaupt, nur bei Meeresbakterien mit auffallenden Charaktereigentümlichkeiten an die Prüfung der Frage nach der Notwendigkeit des Na oder dessen Belanglosigkeit für die Ernährung von Bakterien (vgl. Benecke, p. 287, 346, 355, 357, 358) herangetreten werden könne.

Der ganze Arbeitsvorgang, den ich nun durch mehrere Jahre hier in Brünn verfolgte, war schrittweise Ausschaltung der Fehlerquellen bis — zum Erfolg.

Die erste Etappe galt der Ausschaltung der Gelatine als Fehlerquelle und deren Ersatz durch gewässertes Agar (vgl. p. 269 bis 273). Dasselbe Agar wurde auch zum Studium des Einflusses der verschiedenen ClNa-Konzentrationen auf das Wachstum von *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch verwendet. Damit war aber auch die Grenze der Verwendungsmöglichkeit des Agars erreicht. Denn diese Versuche forderten die Ausschaltung der im Agar selbst und in dem leicht löslichen Glase der Bechergläser, Kochkolben und Eprouvetten und in der schwerer exakt zu besorgenden Reinigung der Eprouvetten gelegenen Fehlerquellen; das feste wurde durch ein flüssiges Medium ersetzt.³ Als N-Quelle fungierte Pepton, das sich leider, wie meine einschlägigen großen Versuchskolonnen mit KNO₃ ohne und mit Asparaginzusatz als N- und Glycerin als einzige, beziehungsweise zweite C-Quelle in Übereinstimmung mit Beijerinck's (IV, 1890, p. 239) von Molisch (VII, p. 114) zitierten Angaben über *Photobacterium phosphorescens* und *Ph. Pflügeri* und denen von Gerretsen (II, p. 357) über *Ph. javanense* zeigten, bisher »durch keine andere Stickstoffverbindung« ersetzbar erwies (vgl. p. 276). Als Kulturkölbchen kamen zunächst, weil vorrätig, solche aus dem schwer löslichen böhmischen Glase in Anwendung, dessen Zusammensetzung nach einem Verzeichnis der Firma Naschold (Brünn) lautet:

SiO ₂	78	0%
Al ₂ O ₃	0.5	0%
Na₂O₃	1.2	0%
K ₂ O ₃	13.5	0%
CaO	6.8	0%
	100	0%

Die zur Stammlösung hinzugefügten Salzzusätze waren isosmotisch zu 2⁰/₀ ClNa.

Der in Taf. II, Fig. 10, I. dargestellte Erfolg läßt zwar die Na-Salze immer mehr als die entscheidenden hervortreten, jedoch im böhmischen Glase sowohl wie vor allem im Pepton selbst weitere Fehlerquellen vermuten. Auch war an eine bei der Verwendung von Merck'schen und Kahlbaum'schen Präparaten allerdings nicht gerade wahrscheinliche Verunreinigung der Salzzusätze mit Spuren von NaCl zu denken.

Durch die Anschaffung einer großen Anzahl von kleineren Versuchs- und einigen großen Erlenmeyer-Vorratskolben aus Jenenser Glas sollte nun die erste, durch die Herabsetzung des

¹ »O. Richter«, I.

² Auf meine Veranlassung gesperrt.

³ Daß nach Entdeckung des »Tiefenleuchtens« der Leuchtbakterie [vgl. O. Richter, VI, 1926] auf Gelatine als festes Substrat zur Beantwortung der Frage nach der Notwendigkeit des Na für Entwicklung und Leuchten zurückgegriffen werden konnte, werden die Ausführungen auf p. 281 und die Taf. II, Fig. 11 zeigen.

Peptongehaltes oder die Ausschaltung des Peptons aus der Nährlösung die zweite noch gebliebene und die Verwendung ganz frisch bezogener Merck'scher und Kahlbaum'scher Präparate die dritte der vermuteten Fehlerquellen ausgeschaltet werden.

Nach Ost (1922) enthält das Jenenser Gerätéglass nur folgende Substanzen:

SiO ₂	65·3%
Br ₂ O ₃	15 %
BaO	12 %
ZnO	4·2%
Al ₂ O ₃	3·5%
	100·0%

also kein Natrium.

Das Jenenser Glas bot sonach tatsächlich die Möglichkeit der Beschaffung auch mehrmals sterilisierbarer Gefäße, die, selbst bei wiederholter Erhitzung auf 100° C, wie sie bei peptonhaltigen Nährlösungen notwendig wird, an die Nährflüssigkeiten einfach kein Na abgeben konnten.

Die größte Sorgenquelle blieb und bleibt vorläufig für derartige Versuche das Pepton. Nach den Angaben Carl v. Noorden's und Hugo Salomon's (1920, p. 649) enthält nämlich Witte-Pepton, das ich in Übereinstimmung mit den Erfahrungen von Molisch für die Leuchtbakterienkultur stets in Anwendung brachte,

an Wasser	6·4%
Albumosen.	·47·9%
Pepton.	·39·8% und
Asche nicht weniger als.	6·5%

die unter anderen auch ClNa enthält, wie mir ein Brief von Herrn Dr. Friedrich Witte aus Rostock bestätigte. »Die angeführte Analyse des Pepton dürfte« nach jenem Schreiben des Herrn Dr. Witte »in bezüg auf die Albumosen und auf den Peptongehalt richtig sein.« Der Aschengehalt des Präparates ist aber heute nach dem gleichen Schreiben nicht, wie angeführt 6·5%, sondern höchstens 2 bis 3%. »Betreffend Chlornatrium« ergab »eine Chlorbestimmung der Asche 5% ClNa, auf das Peptonpräparat umgerechnet entspräche das 0·1% Kochsalz¹ oder 0·0394% rund 0·04% oder 0·4% Na.

Eine von Herrn Ing. Dr. techn. R. Bojanovsky durchgeführte Analyse des von mir bisher benutzten Witte-Peptons gab folgende Werte:

	%, der lufttrockenen Probe	%, der bei 100° C getrockneten Trockensubstanz	%, der Asche
Trockensubstanz	91·66	—	—
Asche	2·13	2·35	—
Cl	0·069 [= 0·07]	0·075 [= 0·08]	2·68
Daraus NaCl	0·11 (3)	0·12 (3)	5·25

stimmt also mit dieser Mitteilung von Dr. Fr. Witte gut überein.²

¹ »Ein Präparat, das noch weniger Kochsalz enthält, läßt sich« nach Fr. Witte praktisch nicht herstellen. Zu Konservierungszwecken wird Kochsalz in Witte's »Fabrik nicht gebraucht«.

Ich sage auch hier Herrn Fabrikanten Dr. Fr. Witte für seine freundliche Auskunft sowie für die Ermächtigung, von diesen Mitteilungen den mir »nötig erscheinenden Gebrauch zu machen«, verbindlichen Dank.

² Herr Dr. R. Bojanovsky fügt zu seiner Analyse noch hinzu:

»Nach den Angaben in König's Handbuch der Nahrungsmittelchemie ist ein derartiges Schwanken des NaCl-Gehaltes bei verschiedenen Peptonmarken nicht befremdend. Ich fand Angaben von 0·08% NaCl (des Peptons, nicht der Asche!) bis zu 15·13% NaCl! Auf der Vers. der Society of American Bacteriologists am 29. Dezember 1914 berichtete R. C. Colwell über die Zusammensetzung verschiedener Peptonmarken, darunter auch über Witte's Pepton (C. f. B. und P., Abt. II., Bd. 45, p. 375)

Papaya-Fleischpepton zeigt nach König (1904, p. 550) sogar einen Aschengehalt von 14·97% mit 4·10% Kali, 3·23% Phosphorsäure und 4·55% Chlor, aus dem Hönig¹ einen ClNa-Gehalt von 7·5% (!) im Papaya-Fleischpepton errechnete, woraus man sofort ersieht, daß es ganz zwecklos wäre, den ClNa-Gehalt der Peptonnährlösung etwa in der Weise ausschalten zu wollen, daß man das Witte-Pepton durch irgendein anderes käufliches Peptonpräparat ersetzen wollte.

Zwei Wege hatten sonach nur Aussicht, die im Witte-Pepton gelegene Gefahr zu bannen oder wenigstens auf ein Minimum herabzumindern:

1. das Pepton völlig auszuschalten und

2. vom Pepton die zulässig geringsten Mengen in Anwendung zu bringen, eine Technik, die Molisch (I/II, 1892/4) bei seinen grundlegenden Versuchen über Pilznährung vorbildlich angewendet hat.

Wie bereits p. 267 angedeutet wurde und p. 276 gezeigt wird, verliefen alle bisherigen Bemühungen, das Pepton durch KNO_3 oder Asparagin im Verein mit KNO_3 als N-Quellen zu ersetzen, negativ. Es war unter diesen Bedingungen weder Wachstum noch Leuchten zu bemerken.

Nur die Herabsetzung des Peptongehaltes unter gleichzeitiger Herabsetzung der Salzzugaben, insbesondere unter den abnormen Bedingungen des Tiefenleuchtens führten bisher zum Ziele. Und damit kann übergegangen werden zur Schilderung der **Versuchsmethoden** und **Versuchsergebnisse**.

III.

1. Versuch mit gewässertem Agar.

Unter Verwertung der von Molisch in seinen Vorschriften für die Kultur von Leuchtbakterien (VII, p. 105) oder höheren Pilzen niedergelegten und mir seinerzeit in Prag mitgeteilten, auf die enorme Bedeutung des Glycerins für das Leuchten der Leuchtbakterien bezüglichen Erfahrungen, allerdings aber auch unter bewußter Abweichung von bestimmten von Molisch angegebenen Rezepten für die Leuchtbakterienkultur, speziell bezüglich des Ca, über dessen Bedeutung für die Ernährung der Leuchtbakterien noch keine exakten Untersuchungen vorliegen, stellte ich mir zunächst die folgende Nährlösung A zusammen:

1000 Teile destilliertes H_2O
 10 g Pepton
 5 g Glycerin
 0·2 g MgSO_4
 0·2 g K_2HPO_4
 0·2 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$
 Spur FeSO_4

die sich im wesentlichen derart bewährte, daß sie für eine ganze Anzahl meiner Untersuchungen als Stammlösung in Anwendung kommen konnte und mit 18 g Agar² oder mit 100 g Gelatine³ und 2% ClNa versetzt, zur Reinkultur von Leuchtbakterien bestens empfohlen werden kann. Die oben in II. erwähnten Bestrebungen der sukzessiven Ausschaltung NaCl-bergender Substanzen führten bei den in Taf. II, Fig. 10 dargestellten Versuchen in der Folge zur Herabsetzung des Peptongehaltes von 10 g auf 5 g pro Mille [Nährlösung B].

Zur Nährlösung A wurden nun für die ersten einschlägigen Experimente pro 1 l Nährlösung 18 g zwei Tage lang fließendem Leitungs- und fünf Stunden stehendem destilliertem Wasser gewässertes Agar hinzugegeben oder richtiger ausgedrückt:

 Leider fehlt hier eine Angabe des Cl-Gehaltes. Für Asche steht der Wert 2·03⁰ also ähnlich (2·35⁰). Außerdem ist auch der N-Gehalt angegeben: Gesamt N 14·92⁰‰.

Ich spreche auch hier meinem seinerzeitigen Assistenten für seine Mühe meinen herzlichen Dank aus.

¹ Herrn Prof. Dr. h. c. M. Hönig bin ich für diese interessante Literaturstelle sehr zu Danke verpflichtet.

Am besten gewässertes.

Nach dem Zusatz der Gelatine wird wieder mit KOH schwach alkalisch gemacht. Agar oder Gelatine werden am besten noch vor dem Peptonzusatz gelöst, worauf filtriert wird. Dann folgen erst die Salzzutaten und die Zugabe des Glycerins.

Nachdem die in Leitungs- und destilliertem Wasser gewässerten 18 g Agar in 1000 cm³ destilliertem H₂O gelöst und im Sterilisateur bis zur vollständigen Klärung filtriert worden waren, wurden in diesem reinen Agar zunächst 10 g Pepton⁻gelöst, worauf das Agar neuerdings zur völligen Klarheit und zur topasgelben Färbung filtriert wurde. Erst jetzt kamen die in der Nährlösung A noch weiter angeführten Substanzen zur Auflösung. Nach diesen Zutaten wurde das Agar nicht mehr filtriert, vielmehr der eventuell auftretende Niederschlag, wahrscheinlich von Kalziumphosphat, durch Aufschütteln des Agars vor dem Einfüllen in die Kölbchen mit den Detailnähragarsorten suspendiert und derart gleichmäßig auf diese aufgeteilt.

Hiebei wurden in die Vorratskölbchen, aus denen das Einfüllen in die Versuchseprouvetten erfolgen sollte, je 80 cm³ des heißen, gut flüssigen »süßen« Stammagars eingefüllt, in denen behufs Herstellung isosmotischer Nährsubstrate die folgenden, in den Klammerausdrücken angegebenen Salzmengen aufgelöst wurden:

- | | |
|--|---|
| 1. [1·6 g] 2 ⁰ / ₁₀ Natriumchlorid | 8. [4·1 g] 5·124 ⁰ / ₁₀ Natriumjodid |
| 2. [2·82 g] 3·52 ⁰ / ₁₀ Natriumbromid | 9. [2·24 g] 2·8 ⁰ / ₁₀ Natriumazetat |
| 3. [2·32 g] 2·9 ⁰ / ₁₀ Natriumnitrat | 10. [3·66 g] 4·58 ⁰ / ₁₀ Natriumoxalat |
| 4. [2·04 g] 2·56 ⁰ / ₁₀ Kaliumchlorid | 11. [5·64] 6·98 ⁰ / ₁₀ Magnesiumchlorid |
| 5. [2·77 g] 3·46 ⁰ / ₁₀ Kaliumnitrat | 12. [3·02 g] 3·78 ⁰ / ₁₀ Kalziumchlorid |
| 6. [3·89 g] 4·86 ⁰ / ₁₀ Natriumsulfat | 13. [4·48 g] 5·6 ⁰ / ₁₀ Kaliumjodid |
| 7. [3·74 g] 5·68 ⁰ / ₁₀ Di-Natriumphosphat (Na ₂ HPO ₁) | 14. [4·43 g] 5·5 ⁰ / ₁₀ Natriumsalzylat |

Die Impfung erfolgte mit von Rindfleisch nach Molisch's (IV, 1903) Rezepten auf 2⁰/₁₀ ClNa-A-Agar und 2⁰/₁₀ ClNa-A-Gelatine (siehe Fußnote 3, p. 269) von mir rein gezüchtetem *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch von einer 2⁰/₁₀ ClNa-A-Agar-Eprouvette am 9. Juli 1922 von 11 bis 13^h und von 15 bis 19^h, und zwar stets in drei Strichen in den Strich / und fünf Stichen in den Stich (⊥)-Kulturen und, nachdem bis zum 30. Juli 1922 in Reihe 7. bis 14. auch bei stundenlangem Aufenthalte im Dunkeln und mit völlig ausgeruhtem Auge nicht eine Spur von Entwicklung oder Leuchten zu bemerken gewesen war und auch je eine / von 2, 3 und 4, je eine ⊥ von 4 und 5 und 2 / von 6 versagt hatten und der Versuch am 30. Juli 1922 in seiner Gänze bereits stark abgelaufen war, am 31. Juli 1922 von 15 bis 18^h und von 19.45 bis 20.30^h zum zweiten Male in der Art, daß von je zwei [1 / und 1 ⊥]-Kulturen von einer noch vorzüglich leuchtenden Stelle der erfolgreichen 3·52⁰/₁₀ NaBr und je zwei [1 / und 1 ⊥]-Kulturen von der leuchtenden Partie, dem jüngsten der fünf Stiche der 2⁰/₁₀ NaCl ⊥, abgeimpft wurde.

Bei der Kontrolle des Leuchteffektes wurde stets so vorgegangen, daß jedesmal die gut etikettierten, durch Draht nach den Salzzusätzen zu Gruppen vereinigten Eprouvetten der Reihenfolge des Sichtbarwerdens im Finstern meist mit denkbar gut ausgeruhtem Auge — nach stundenlangem Schläfe — aus ihren Vereinigungen herausgezogen und nach ihrer Leuchtkraft geordnet wurden. Bei Licht erfolgte dann die Notierung ihrer Etikettenbezeichnung und die Eintragung des Leuchteffektes und des Grades der Bakterienentwicklung nach der in Taf. II, Fig. 10 angeführten Skala. Hierauf wurden die Eprouvetten wieder in ihre durch die Chemikalienbezeichnungen markierten Gruppen getan und in die Drahtschlingen gesteckt. Bei diesem Vorgange zeigte es sich oft, daß am Tage vorher in bestimmter Weise klassifizierte Eprouvetten am zweiten und dritten Tage noch genau gleich klassifiziert erschienen. Gerade diese Tatsache erscheint mir der Erwähnung wert. Gibt sie ja doch eine gute Vorstellung für die Exaktheit des Vorgehens und von der durch die bei jeder Versuchskontrolle erneute Taxierung sich automatisch einstellende Überprüfung der vorgängigen Beobachtungen. In der Regel erschienen natürlich am Tage zuvor zum Beispiel als »matt leuchtend« registrierte Eprouvetten am nächsten Tage in der zweiten oder dritten, eventuell sogar ersten Kategorie der Bezeichnungsskala. Gegen Versuchsschluß erschienen vorher maximal leuchtende Eprouvetten matt.

An gewissen Tagen wurden besonders markante Ergebnisse auch anderen Personen gezeigt und diese gebeten, die Versuchseprouvetten im Dunkeln nach ihrer Leuchtleistung zu ordnen. Dabei stellte sich stets vollständige Übereinstimmung mit meinen eigens vorher notierten Daten heraus, so daß die in der Taf. II, Fig. 8 zur Darstellung gebrachten Versuchsergebnisse nicht nur als subjektiv, sondern auch als objektiv exakt gelten können.

Am 11. Juli 1922 19^h leuchtete je eine ClNa / und ⊥ sehr intensiv oder richtiger alle Striche und Stiche in den betreffenden Kulturen und je eine NaBr / und ⊥ schwach. In allen anderen Eprouvetten war keine Spur von Leuchten wahrzunehmen. Die ClNa /, von der abgeimpft worden war, leuchtete besonders stark. Am 12. Juli 1922 3^h wurde das erste Leuchten in der einen / in 2·9⁰/₁₀ NaNO₃ bemerkt, nachdem schon am 11. Juli abends etwa der gleiche Grad von Entwicklung und Wachstum festgestellt werden konnte wie in den 2⁰/₁₀ ClNa-Eprouvetten.

Um nun nicht durch eine ins einzelne gehende Schilderung des Versuchs zu ermüden, gestatte ich mir, seine Ergebnisse in einigen Punkten zusammenzufassen:

1. In Übereinstimmung mit den Erfahrungen von Molisch und anderen Autoren müssen Leuchten und Entwicklung, respektive Wachstum nicht immer absolut Hand in Hand gehen. Ist zwar Leuchten ohne vorgängige Entwicklung der Bakterien undenkbar, so ist doch Bakterienentwicklung ohne Leuchten möglich.

2. Nach einem anfänglich oft rapiden Aufstieg in der Leuchtleistung zeigte sich fast stets Absinken mit völligem oder fast völligem Erlöschen.

Offenbar werden Stoffwechselprodukte gebildet, die hemmend auf die Bakterienentwicklung und damit indirekt auch hemmend auf das Leuchten wirken.¹

3. In den erloschenen Kulturen kann, wie das bei der ClNa-Abimpfprouvette, beziehungsweise an den NaNO₃ T zu sehen war, das Leuchten mit neuer erhöhter Kraft auftreten. Die Erklärung hierfür liegt offenbar darin, daß eine oder etliche Bakterien die durch die Stoffwechselprodukte erzeugten Hemmungen überwinden, sich ihnen anpassen und nun zur Teilung und Koloniebildung fortschreiten, bis sie den neuen doppelt überraschenden Leuchteffekt auslösen.

4. Bis 13. Juli 1922 blieb Entwicklung (*E*) und Leuchten (*L*) der Leuchtbakterien auf die Eprouvetten mit NaCl-, NaBr- und NaNO₃-Zutat beschränkt. Am 14. Juli begann *E* und *L* auch in je zwei Eprouvetten mit KCl, beziehungsweise KNO₃ — und am 16. Juli in je zwei Eprouvetten mit Na₂SO₄-Zutat, wobei zunächst die Leuchtleistung der 4., 5.-Kulturen geringer blieb als bei denen mit Na-Salzzusatz der 1. bis 3.-Kolonnen, bis sie am 21. Juli eine Helligkeit erreichten, die der bei 1. bis 3. in ihren besten Tagen entwickelten nichts nachgab.

Damit war aber im wesentlichen oder wenigstens annäherungsweise unter meinen geänderten Versuchsbedingungen dasselbe Ergebnis erzielt, das insbesondere Molisch (VII, p. 107) [vgl. p. 262] in seinen mit NaOH alkalisch gemachten Gelatinekulturen beobachtet hatte, daß ClK und Kalisalpeter ein starkes Leuchten von *Bacterium phosphoreum* bedingen. Allerdings blieb im Gegensatz zu den einschlägigen Erfahrungen von Molisch das Leuchten

5. bei allen anderen Salzzutaten aus, während, wie erwähnt, am 16. Juli in den Eprouvetten mit 4·86% (!) Na₂SO₄ trotz seiner von mir im Hinblick auf die Konzentration vor allem postulierten Giftigkeit Leuchten und bald darauf deutlich sichtbare maximale Entwicklung anhub.

6. Das erste bedeutungsvolle Ergebnis nach der zweiten Impfung war das ganz unvermutete Einsetzen des Leuchtens in 5·24% (!) NaJ am 1. August 3.45^h, und zwar in 3 von 4 Eprouvetten, in 2 / und 1 T Dabei erschienen die von NaBr abgeimpften Kulturen gegenüber den von NaCl abgeimpften im Leuchten gefördert. Dieses Aufkommen und Leuchten des *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch in 5·24% NaJ ist zunächst dadurch interessant, daß die Bakterie, zumal bisher *Bacterium phosphoreum* überhaupt nicht auf NaJ gezogen wurde, *Photobacterium javanense* aber in mit 3% ClNa isosmotischem NaJ nicht aufgekommen war (vgl. p. 263), diese hohe Konzentration des NaJ ertrug, dann aber auch dadurch, daß sich das Leuchten auf NaJ erst zeigte, nachdem die Bakterie vor der Überimpfung in den NaBr-, beziehungsweise NaCl-Eprouvetten durch längere Zeit einer durch Wasserdampfabgabe an die Luft allmählich vor sich gehenden Konzentrierung des Nährmediums ausgesetzt, also an höhere Konzentrationen als 2% ClNa und 3·52% NaBr angepaßt worden war. Schließlich ist im Hinblick auf die Bedeutung des Na für die Ernährung der Leuchtbakterien auch der Gegensatz zu deren auffallendem Verhalten bei 5·6% KJ, also einer mit 5·24% NaJ fast identischen Konzentration zu beachten. Denn auf 5·6% KJ war zwar sukzessive immer zunehmende Entwicklung, aber kein Leuchten feststellbar. 5·6% KJ verhinderte offenbar zum Unterschied zu 3% KJ (vgl. Molisch VII, p. 106 und p. 262, 263 und 279 dieser Arbeit) die Leuchtstoffbildung bei *Bacterium phosphoreum*.

7. Das zweite bedeutungsvolle Ergebnis der Neuimpfung des ersten Versuches war nun das mehr minder starke, meist maximale Leuchten, beziehungsweise die entsprechend starke, meist maximale Entwicklung in NaCl, NaBr, NaNO₃, Na₂SO₄, Natriumphosphat, Natriumazetat, aber auch in KCl, KNO₃ und MgCl₂. Relativ schwach war das Leuchten, dagegen stark die Entwicklung in 3·78% CaCl₂ und stark das Leuchten, dagegen kaum nachweisbar die Entwicklung in 4·58% Natriumoxalat.

Hatten in der ersten Phase des ersten Versuches NaBr und NaCl die herrlichsten blaugrün erstrahlenden Leuchteffekte ergeben, so fanden diese zunächst in denen von den NaNO₃-, KCl- und KNO₃-Eprouvetten ausstrahlenden glanzvolle Konkurrenten, die schließlich im Höchstglanze durch die

¹ Ähnliche Erfahrungen prägen sich auch den Angaben von Molisch in der auf Leuchten und Wachstum von *Bacterium phosphoreum*, beziehungsweise *Bacillus photogenus* bei verschiedenen Salzzugaben bezugnehmenden Tabelle VII (p. 106 und 108) und am sinnfälligsten in der Mikrophotographie der zehn Tage alten Kolonie von *Bacterium phosphoreum* in Fig. der Tafel I des prächtigen Büchleins von Molisch (VII)

einzigartig schimmernden blaugrünen Lichter der Na_2SO_4 - und Na_2HPO_4 -Eprouvetten abgelöst wurden.

5·5% Natriumsalzylat erwies sich als typisches Gift.

Von graduellen Unterschieden abgesehen schien also der erste Versuch in seiner zweiten Phase im wesentlichen dasselbe gezeigt zu haben, was schon Beijerinck, Dubois, Molisch und Gerretsen gefunden hatten, daß die diversen Salze, die passende Konzentration vorausgesetzt, das ClNa in seiner osmotischen Wirkung zu ersetzen vermögen.

Und doch führt eine gründlichere Überprüfung des scheinbar so klaren Resultates nach anderer Richtung zu Bedenken gegen diese Auffassung.

Ganz abgesehen nämlich von den Natriumazetatkulturen, die in denen von Gerretsen mit *Photobacterium javanense* eine matte Parallele finden (vgl. p. 266) und denen mit Natriumoxalat, die sozusagen mehr Staunen auslösten, daß überhaupt die Bakterie aufkam, blieben nämlich trotz allem mit Ausnahme eigentlich nur von KCl und KNO_3 , die lichtbetontesten Glanzkulturen die mit Natriumsalzzusätzen und auch bei den KCl- und KNO_3 -Kulturen könnte man ebenso wie bei denen mit Zusätzen von CaCl_2 und MgCl_2 an eine einfache Umsetzung in NaCl, beziehungsweise NaNO_3 denken, wenn Na trotz aller bisher geübter Vorsichtsmaßnahmen im Substrat selbst vorhanden sein sollte.

Die Flammenreaktion des 3·46% KNO_3 - und des bakterienfrei gebliebenen Kontrollagars ergab intensiv gelbe Na-Flammenfärbung.¹

Damit war der weitere Weg der Ausschaltung der Versuchsfehler gewiesen: Ausschaltung des Agars mit seiner langwierigen Filtration durch Trichter aus löslichem Glase, Vermeidung der Eprouvetten mit ihrem leicht löslichen Glase und ihrer schwereren exakten Reinigung und Verwendung niederer Konzentrationen des Peptons sowohl wie der möglicherweise doch trotz purissimum pro analysi in Anwendung gebrachten Salzzusätze.

Da war nun allerdings eine sofort auftauchende Vorfrage zu lösen: Wie weit konnte man denn überhaupt in der ClNa-Konzentration heruntergehen, ohne daß die Bakterienentwicklung und das Leuchten unterblieb? Für diesen

2. Versuch mit *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch

konnte das p. 269 beschriebene Agar nochmals Anwendung kommen, ohne das Resultat von vornherein in Frage zu stellen. Neben dem wieder jede Entwicklung und jedes Leuchten verhindernden »kochsalzfreien« Stammagar kamen neu noch Stammagarlösungen mit den folgenden ClNa-Konzentrationen in Anwendung: 0·1, 0·2, 0·3, 0·4, 0·5, 0·6, 0·7, 0·8, 0·9 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 und 9%, von denen sich [wie Tafel II, Fig. 9 zeigt]

die Konzentrationen 2 bis 3% für Leuchten und Entwicklung als optimal erwiesen, 4% diesem Optimum sehr nahe kam, dann 1 und 5% in der Wirkung folgten, worauf sich 0·9, 0·8, 0·7, 0·6, 0·5% mit absteigendem Wirkungseffekte anschlossen. 0·5% kann sowohl bezüglich des Leuchtens wie bezüglich der Entwicklung als die untere Grenze bezeichnet werden. Unter 0·5% war nur um die Impfmasse eine minimale Verbreiterung zu sehen.

ClNa-Konzentrationen von 6% aufwärts verhinderten jedes Leuchten und jede Entwicklung.

Der Versuch gewinnt um so größeres Interesse, als die Resultate durchaus gleichartig ausfielen, trotzdem immer je 2 T [zu je 5 Stichen] und je 2 / [zu je 3 Strichen] von einer 2·56% KCl T, beziehungsweise 5·68% Na_2HPO_4 T des vorherigen Versuches beimpft worden waren.¹ Der vorgängige Aufenthalt in 2·56% KCl, das sich während des Monats September noch weiter entsprechend

¹ Bei der letzten Kontrolle dieses als ClNa-haltig erkannten Versuches 4. September 1922 leuchteten am allerbesten 2·56% KCl T von NaBr T, 2·9% NaNO_3 T von NaCl T, 5·68% Natriumphosphat von NaBr T, KCl T und NaBr T von NaCl T, 3·46% KNO_3 und 4·86% Na_2SO_4 von NaCl T, die ClNa-Abimpfprouvette und 3·46% KNO_3 und 4·86% Na_2SO_4 von NaBr T. Dann folgten NaBr von NaBr, NaBr-Abimpfprouvette, Na_2HPO_4 von NaCl T, Na_2SO_4 T von NaBr T, Na_2SO_4 T von NaCl T, Na_2SO_4 / von NaBr, Na_2SO_4 / von NaCl T und KCl / von NaCl T. Der Rest leuchtete nicht mehr. Die leuchtenden Eprouvetten wurden noch bis zum 13. September 1923 aufgehoben und dann, weil eingetrocknet, bis auf die drei T von KCl von NaBr, 2·9% NaNO_3 und 5·68% Na_2HPO_4 von NaCl T entfernt.

zu konzentrieren Gelegenheit hatte, hatte der Bakterie also die Vorliebe für das NaCl nicht genommen. Ebenso gestattete der vorgängige Aufenthalt auf dem durch Verdampfung noch konzentrierter gewordenen 5·68% Natriumphosphat die sofortige Adaption an relativ niedrige ClNa-Konzentrationen.

Die trotz aller dieser entgegenwirkenden Faktoren erhaltene Leucht- und Vegetationskurve des *Bacterium phosphorum* (Cohn) Molisch stimmt sehr gut mit der aus den auf p. 265 dargestellten Beobachtungen von Gerretsen an *Photobacterium phosphorescens* ableitbaren Kurve überein und erinnert überdies mit ihrem bei 0·5% ansetzenden aufsteigenden Aste, ihrem Optimum bei 2 bis 3% und ihrem nachherigen Abstieg gegen höhere Salzkonzentrationen an meine Beobachtungen (I und II) mit farblosen und braunen Meeresdiatomeen, so daß meine Vermutung von der ausschlaggebenden ernährungsphysiologischen Bedeutung des ClNa für die Leuchtbakterie *Bacterium phosphoreum* neue Nahrung fand.

Analoge Untersuchungen mit einer von Herrn Prof. Dr. Emil Strecker von grünen Ostseeheringen abgezüchteten Meeresbakterie ergaben auch in 2 bis 4% NaCl das Optimum des Leucht- und Entwicklungserfolges in passenden Nährlösungen ohne und mit Agar, beziehungsweise Gelatinezusatz.

Für die mir nun zu einer großen Zahl weiterer einschlägiger Experimente entgegenkommendster Weise überlassene A. R.¹ dieser typischen Meeresleuchtbakterie sage ich auch hier Herrn Prof. Dr. E. Strecker meinen verbindlichsten Dank.²

IV.

Die sogenannten entscheidenden Versuche über die Notwendigkeit des Natriums für eine marine Leuchtbakterie.

Der **erste Versuch** dieser Versuchsreihe bestand aus 16 Erlenmeyerkölbchen, wovon mit Ausnahme der für die Natriumsalzzuwägung bestimmten 200 cm³ Kölbchen, die ebenso wie die Kochkolben für die gemeinsame Stammlösung aus gewöhnlichem Glas hergestellt waren, alle aus »Bohemia«-Glas (siehe p. 267) bestanden.

Jedes Kölbchen erhielt 50 cm³ der p. 269 geschilderten Nährlösung A, die 10 g Pepton enthielt. Nur in die Kontrollkölbchen kamen je 37 cm³ der Stammlösung, da sich bei der Aufteilung der Lösung ein durch die Schaumbildung beim Einfüllen in den Meßzylinder ausgelöstes Manko von 25 cm³ für die beiden Kontrollkölbchen zusammen ergab. Die restlichen 75 cm³ wurden also zu 37 und 37 cm³ auf diese verteilt. Diese beiden Kölbchen Nr. 1 und 2 erhielten keinen weiteren Zusatz.

In den Kölbchen 3, 5, 7, 9, 11, 13 und 15 waren zunächst 100 cm³ der Nährlösung A eingetragen und darin

- 2·56% KCl, beziehungsweise
- 1·83% NH₄Cl,
- 2% NaCl,
- 3·78% CaCl₂,
- 6·94% MgCl₂,
- 2·9% NaNO₃,
- 4·86% Na₂SO₄

gelöst worden, worauf die exakte Teilung der Flüssigkeitsmengen zwischen den Kölbchen 3 und 4, 5 und 6, und 8 s. f. stattfand, womit jedes Kölbchen 50 cm³ der betreffenden Kulturflüssigkeit enthielt.

Daß bei allen Experimenten reinste neue Wattestöpsel in Anwendung kamen und daß alle Gefäße vor dem Einfüllen mit konzentrierter Schwefelsäure und viel destilliertem Wasser exaktest gereinigt worden waren, braucht wohl kaum eigens hervorgehoben zu werden. Die Impfung erfolgte am 30. Jänner 1924.

Darnach gelangte der Versuch in der vorzüglich eingerichteten Dunkelkammer des Institutes zur Aufstellung. Beobachtungszeit und Beobachtungserfolg ist aus der Taf. II, Fig. 10/I zu ersehen.

Aus Fig. 10/I ergibt sich zunächst, wie wesentlich verschieden die geimpften Leuchtbakterien auf die mit 2% ClNa isosmotisch gebotenen Natriumsalze und auf die anderen mit 2% ClNa gleichfalls isosmotisch gebotenen anderen Salzzutaten reagierten.

In NH₄Cl war überhaupt nur in einem Kölbchen am Tag nach der Impfung eine leuchtende Insel zu sehen, offenbar eine etwas derber geratene Impfmasse, die sich noch so lange lebend und

¹ Siehe O. Richter (III, 1913, p. 314).

Wie ich in meiner Arbeit über das »Tiefenleuchten«, VI, hervorhob, habe ich in der Folge noch zweimal dieselbe Leuchtbakterie von Ostseeheringen selbst abgezüchtet und diese neuen A. R. zu den Versuchen über »Tiefenleuchten« und zu den Natriumversuchen der Abschnitte V und VI verwendet.

leuchtend erhielt, als die beim Impfen aus der 2% ClNa-Eprouvette beim Streichen mit der Impfnadel mitübertragene ClNa-Quantität reichte.

CaCl₂ gestattete diesmal keine Entwicklung mehr, nur KCl und MgCl₂ erlaubten eine im Verhältnis zu der in den Natriumsalzeprouvetten feststellbaren nur mehr geringe Leuchtleistung.

Entwicklung war, durch mehr minder starke Trübung der Flüssigkeit nachweisbar, nur in den auch leuchtenden Eprouvetten zu sehen. CaCl₂ gestattete in dieser Richtung keine makroskopische Kontrolle, da ein dicker Niederschlag, offenbar wieder von Kalziumphosphat, von vornherein eine große Trübung bedingt hatte. Die Gläschen mit NH₄Cl erwiesen sich als wasserklar und von topasgelber Färbung bis zum Versuchsschluß. Ein leichter Kalziumphosphatniederschlag hatte auch in den anderen Na-freien Kölbchen nach der Sterilisation eine leichte Trübung ausgelöst, die durch Absetzen verschwand. Auch hier blieb die oberständige Flüssigkeit klar und topasgelb.

Am anschaulichsten wirkte der Versuch in der Zeit vom 8. bis 12. Februar vor dem neuerlichen am 13. und 15. Februar bemerkbaren, rasch vorübergehenden Aufleuchten der KCl- und MgCl₂-Kölbchen, da zu dieser Zeit ein fast völliges Abklingen der Leuchtkraft der KCl- und MgCl₂-Kulturen eingetreten war. In der ersten Viertelstunde des Aufenthaltes in der Dunkelkammer waren weithin überhaupt nur die brillant leuchtenden Natriumsalzkulturen wahrzunehmen. Erst in der nächsten Viertelstunde tauchten, besonders nach kräftiger Nachhilfe durch Schütteln,¹ die KCl- und MgCl₂-Kulturkölbchen in der Finsternis wieder auf.

Nach dem Schütteln und der Rückstellung der Kölbchen in Reih und Glied war das Übergewicht der Na-Salzzusatz aufweisenden Kölbchen an Leuchtleistung so überzeugend, daß jeder unbefangene Beobachter zum Schlusse gedrängt wurde, dem Na müsse zum mindesten für das Leuchten eine ganz einzigartige Rolle zukommen und das dagegen völlig zurücktretende Leuchten der Bakterien in den KCl- und MgCl₂-Kölbchen dürfte auf noch nicht gänzlich eliminierte oder kaum eliminierbare Verunreinigungen mit Na oder auf dessen Auflösung aus den Kölbchen aus böhmischem Glase² zurückzuführen sein.

Und wieder gilt es hier, in Übereinstimmung mit den auf p. 263, 264 zitierten Befunden von Gerretsen, das NaNO₃ als »Leuchtstoff« besonders hervorzuheben.³

Das Nahliegendste war, bei dieser auffallenden Erscheinung an die in dem 10% Pepton und dem 2·9% NaNO₃ doppelt gebotene N-Quelle denken. Doch haben gleich zu erwähnenden Versuchen (siehe p. 276) isosmotische Mengen von KNO₃ in Vereinigung mit 0·5% Pepton ebensowenig wie KNO₃ in 1·73%/₀₀ als alleinige N-Quelle Leuchten und Entwicklung ausgelöst, so daß die verstärkte N-Darbietung durch NaNO₃ nicht das Entscheidende für den auffallenden Leuchteffekt darstellen kann.⁴

Eine zweite Erklärungsmöglichkeit bot eine denkbare Abspaltung von Sauerstoff, eine Veratmung des im NaNO₃ anorganisch gebundenen O, ein Denitrifikationsprozeß im Sinne Hjalmar Jensen's (vgl. Lafar, III, 185 und 189, 1904/06).

Sofort unternommene Versuche mit in zwei Finger Höhe in Kölbchen erstarrter in Stichkulturen geimpfter 2prozentiger ClNa und 2·9prozentiger NaNO₃-A-Gelatine haben zunächst gezeigt, daß nur in den NaNO₃-Kulturen die Stiche bis zum Boden der Glasgefäße leuchteten, an dem Nagel natürlich am stärksten, daß es also bei ihnen zu einer fakultativen Anärobiose gekommen schien wie bei Dehérain's und Jensen's Experimenten (siehe Lafar, III, 1. c.), während die NaCl-Kulturen entsprechend den grundlegenden Erfahrungen von Beijerinck (II/III/V, 1890/1901) und Molisch (IV/VII, 1903/1912, p. 125/126) im Stiche nicht und nur am Nagel leuchteten.

¹ Das Schütteln wurde bei den Flüssigkeitskulturen selbstredend bei der eingehenden Kontrolle immer angewendet, um für den für ein kräftiges Leuchten bei den stehenden Flüssigkeiten notwendigen Sauerstoff zu sorgen (vgl. Molisch, VII, p. 126). Wäre es ja sonst doch nicht leicht gewesen, klar beurteilen zu können, was bei mangelndem Leuchten die wirksame Ursache sei: infolge ungemein starker Entwicklung und infolge starker Atmung von Millionen von Bakterien entstandener O-Mangel oder ein Ausbleiben der Bevölkerung mit Bakterien.

² Im roten Lichte der Dunkelkammerlampe erstrahlten die eben weißlich leuchtenden Na-Salzkölbchen in blauem Lichte (vgl. hiezu Schleiermacher in Molisch, VII, p. 188, siehe auch p. 276, Fußnote 1).

³ Freilich wird in diesen Versuchen das NaNO₃ neben Pepton geboten. Die Nitrate allein ermöglichen weder Leuchten noch Entwicklung (vgl. p. 267, 276). Darnach wird auch begreiflich, daß Chodat und de Coulon den Nitraten einen Einfluß auf das Leuchtvermögen der Leuchtbakterien einfach absprechen, vgl. p. 277, Fußnote 1.

⁴ Wegen dieses völligen Ausbleibens von Leuchten und Entwicklung der Leuchtbakterien in meinen Peptonlösungen, die 3·46% KNO₃ enthielten, möchte ich auch den von Molisch (VII, p. 107) durch KNO₃ bei *Bact. phosphoreum* erzielten großen und bei *Bacillus photogenus* beobachtbaren schwachen Leuchterfolg (vgl. p. 262) auf die durch seine zur Neutralisierung verwendete NaOH bewirkte Umsetzung in NaNO₃ zurückführen (vgl. auch Abschnitt V).

Der hier gestreifte Fragenkomplex erheischte eine eigene Behandlung besonders unter Verwendung von Schüttelkulturen, denn auch den Gegenstand einer eigenen Arbeit bildete (Richter O., VI, 1926). Hiebei erfolgte die Entdeckung des »Tiefenleuchtens«¹ von Leuchtbakterienkolonien am Grunde hochgefüllter Gelatineschüttelkulturen in Zonen, die man bisher für praktisch O-frei gehalten hatte.

Auf diese exzeptionelle Mikroörophilie meiner Leuchtbakterie ist wohl auch das in der Taf. II, Fig. 10/II unter dem 30. Juni sub 3 und 4 gezeichnete inselartige Leuchten auf dem Boden der KCl-Kölbchen zurückzuführen, das an das von Gerretsen bei *Photobacterium phosphorescens* in 5 bis 6⁰/₁₀ ClNa beobachtete erinnert (siehe p. 264, 265).

In diesem Versuch begann nach vollständigem Erlöschen am 9. Juli ein verstärktes Leuchten der KCl-Kölbchen, das am 11. Juli im Kölbchen 3 ein Maximum erreichte.

Ebenso führe ich neben allen in V geschilderten Phänomenen des »Tiefenleuchtens« die p. 286 beschriebenen Lichtflecke der Kölbchen 17, 18, 20, 47, 48, 49 und 50 des Abschnitt VI beschriebenen Versuches auf die Mikroörophilie meiner Leuchtbakterie zurück. Diese Mikroörophilie einer Leuchtbakterie muß meines Erachtens deshalb besonders betont werden, da Harvey und Morrisson jüngst bei ihren Versuchen der Bestimmung der O-Empfindlichkeitsgrenze von Leuchtbakterien im Gegensatz den Erfahrungen von Molisch von der außerordentlichen Empfindlichkeit von Leuchtbakterien speziell bei seinen Untersuchungen über postmortale Assimilation einen Gehalt von 0·0007⁰/₁₀ O₂ in H₂-Atmosphäre erhielten, der in die Ausdrucksweise der Mikrochemie umgesetzt, nach G. Kostka² zu dem auffallend hohen Wert von 0·00001 g = 0·01 mg = 10 µg O₂ oder als Luft ausgedrückt 33 mm³ als Grenzwert für die O-Empfindlichkeit der Leuchtbakterien führt.

Das Naheliegendste dürfte es sein, anzunehmen, daß in Harvey's und Morrisson's Experimenten der H₂ ebenso wie in den bekannten Versuchen von Molisch (VII, p. 120) Tabakrauch oder in denen von Mac Kenney (zitiert nach Weber) Äther lähmend (narkotisch) auf die Leuchtbakterien einwirkt und dadurch eine geringe Lichtempfindlichkeit vortäuscht.

So eindeutig das letzte in Taf. II, Fig. 10/I dargestellte Ergebnis, ganz abgesehen von den an das Leuchten in NaNO₃-Lösungen A sich knüpfenden Fragen, auch für die Bedeutung des Na für die Ernährung der verwendeten Leuchtbakterien sprach, **bewiesen war diese exzeptionelle Stellung des Na als Ernährungsfaktor so lange nicht**, als Leuchten, zumal starkes, in den KCl- und MgCl₂-Kölbchen noch auftrat.

Die neue Wendung in der Eliminierung der Fehlerquellen galt also der Ausschaltung des Na-hältigen Glases, das beim wiederholten Kochen Na in solchen Mengen an Stammlösung, beziehungsweise Kulturflüssigkeiten abgeben konnte, daß durch die Zutat der mit den Nährsubstraten ungewollt beigefügten ClNa-Mengen und durch Zutat der bedeutenden Salzmengen anderer Art Entwicklung und Leuchten der Leuchtbakterien ausgelöst werden konnte.

Von nun kamen also zum Ansetzen der Nährlösungen ebensowohl wie zur Kultur nur mehr zwei große Liter- und 72 200 cm³-Erlenmeyer-Kölbchen aus Jenenser Glas in Verwendung. Alle Glasgefäße, auch die Meßgläser und Trichter, wurden zunächst mit konzentrierter Schwefelsäure und dann mit viel destilliertem Wasser gereinigt, bis keine saure Reaktion mehr zu konstatieren war. Die Nährlösung A (p. 269) wurde in der Richtung abgeändert, daß:

Nährlösung B auf 1000 Teile destilliertem H₂O nur noch

5 g Pepton, sonst aber A
5 g Glyzerin,
0·2 g MgSO₄,
0·2 g K₂HPO₄,
0·2 g Ca(NO₃)₂ und eine
Spur FeSO₄ enthielt.

Hiebei wurde bei ihrer Herstellung wieder der Weise vorgegangen, daß zuerst das Pepton gelöst und filtriert und erst in der topasgelben klaren Flüssigkeit die übrigen Substanzen im Jenaer Literkolben gelöst wurden, worauf die Aufteilung auf die Jenaer Erlenmeyer-Kölbchen erfolgte, in die bereits die gewogenen mit 1⁰/₁₀, beziehungsweise 2⁰/₁₀ ClNa isosmotischen Salzmengen eingefüllt worden waren. Um die Arbeit möglichst zu vereinfachen, erhielt jedes Kölbchen 100 cm³ Nährlösung. Es war also die der Tabelle als Prozentzahl eingetragene Salzmenge einfach abzuwägen und einzufüllen gewesen, auf die vorsichtig die 100 cm³ Nährlösung B zu gießen waren. Die angegebenen Zahlen wurden sonach der Einfachheit halber auf und nicht in Hundert genommen.

¹ Darnach ist es also eine völlige Verkennung des Zwecks und Sinns meiner in der Molisch-Festschrift erschienenen Arbeit, wenn Dahm (Bonn) im Bot. Zentrabl., Bd. 9, 1927, p. 439, 440 in seinem Referate mir die Absicht unterschiebt, ich hätte den Plan verfolgt, Leuchtbakterien ohne Sauerstoff zu ziehen und zum Leuchten zu bringen, was nicht möglich gewesen sei. Nein, weil ich sie in praktisch O-freiem Raume aufkommen und leuchten sah, versuchte ich mir diese überraschende Erscheinung verständlich zu machen und konstatierte dabei, daß sie in mit alkalischem Pyrogallol O-frei gemachter Atmosphäre nicht aufzukommen vermochten. Ich mußte daher schließen, daß die Tiefenkolonien bisher unbeachteten O verrieten oder sich den O aus dem Nitrate holten. Zur Frage der O-Empfindlichkeit der Leuchtbakterien vgl. auch Gerretsen I. und Lode A.

Für diese interessante Berechnung sage ich Herrn Ing. G. Kostka herzlichen Dank.

Andere Versuchsserien sahen überdies die Eliminierung des Peptons als, wie oben p. 268. 269 gezeigt wurde, in berechtigter Weise beargwohnte Fehlerquelle vor.

Um eine mit *B* möglichst — schätzungsweise — isosmotische Stammlösung zu gewinnen, wurde in Nährlösung *C* auf

1000 Teile destilliertes Wasser

1.73 g ($\frac{0}{100}$!) KNO_3 zugewogen, während übrigen als weitere Zutaten

5 g Glyzerin,

0.2 g MgSO_4 ,

0.2 g K_2HPO_4 ,

0.2 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ und eine

Spur FeSO_4 verblieben.

Auch diese Nährlösung *C* kam bei sich gegenseitig kontrollierenden Versuchen in Verwendung, von denen der eine mit $\frac{1}{10}$, der andere mit mit $\frac{2}{10}$ ClNa isosmotischen Salzmengen versehen wurde.

Der Versuchsplan für die sich gegenseitig kontrollierenden am selben Tag zu impfenden *B*- und *C*-Nährlösungsversuche war also, wie folgt, gedacht:

		Nährlösung <i>B</i> mit $\frac{5}{100}$ Pepton		Nährlösung <i>C</i> mit $\frac{1.73}{100}$ KNO_3	
Kölbchen	I. Zusätze mit $\frac{2}{10}$ ClNa	II. mit $\frac{1}{10}$ ClNa	1. Zusätze mit $\frac{2}{10}$ ClNa	2. mit $\frac{1}{10}$ ClNa isosmotisch	
1 + 2	Stammlösung	Stammlösung	Stammlösung	Stammlösung	Stammlösung
3 + 4	+ $\frac{2.56}{100}$ KCl	+ $\frac{1.28}{100}$ KCl	+ $\frac{2.56}{100}$ KCl	+ $\frac{1.28}{100}$ KCl	
5 + 6	+ $\frac{1.83}{100}$ NH_4Cl	+ $\frac{0.915}{100}$ NH_4Cl	+ $\frac{1.83}{100}$ NH_4Cl	+ $\frac{0.915}{100}$ NH_4Cl	
7 + 8	+ $\frac{2}{100}$ ClNa	+ $\frac{1}{100}$ ClNa	+ $\frac{2}{100}$ ClNa	+ $\frac{1}{100}$ ClNa	
9 + 10	» + $\frac{3.78}{100}$ CaCl_2	» + $\frac{1.89}{100}$ CaCl_2	+ $\frac{3.78}{100}$ CaCl_2	+ $\frac{1.89}{100}$ CaCl_2	
11 + 12	+ $\frac{6.94}{100}$ MgCl_2	+ $\frac{3.47}{100}$ MgCl_2	+ $\frac{6.94}{100}$ MgCl_2	» + $\frac{3.47}{100}$ MgCl_2	
13 + 14	» + $\frac{2.9}{100}$ NaNO_3	+ $\frac{1.45}{100}$ NaNO_3	+ $\frac{2.9}{100}$ NaNO_3	+ $\frac{1.45}{100}$ NaNO_3	
15 + 16	» + $\frac{4.86}{100}$ Na_2SO_4	+ $\frac{2.43}{100}$ Na_2SO_4	+ $\frac{4.86}{100}$ Na_2SO_4	+ $\frac{2.43}{100}$ Na_2SO_4	
17 + 18	+ $\frac{3.52}{100}$ NaBr	+ $\frac{1.76}{100}$ NaBr	» + $\frac{3.52}{100}$ NaBr	+ $\frac{1.76}{100}$ NaBr	
Summe $18 \times 4 = 72$ Kölbchen.					

Alle Versuche, die absolut rein gezogene Leuchtbakterie in Nährlösung *C* mit KNO_3 oder mit KNO_3 und $\frac{0.5}{100}$ Asparagin als *N*-Quellen zu ziehen, schlugen fehl, auch wenn die durch den Asparaginzusatz erzeugte saure Reaktion durch $\frac{0.05}{100}$ K_2HPO_4 behoben oder in eine schwach bis stark alkalische umgewandelt worden war.

Die Leuchtbakterie lehnte eben die ausschließliche KNO_3 - und die KNO_3 -Asparagin- als *N*-Fütterung glatt ab und erwies sich als typische Peptonbakterie im Sinne Beijerinck's (vgl. p. 267).

Allerdings muß betont werden, daß sich für meine Leuchtbakterie auch Hühnereiweiß in einer ClNa -haltigen peptonfreien Nährlösung, wie das auch schon Molisch (VI, 1905) für *Bacterium phosphoreum* an in eine dreiprozentige Kochsalzlösung getauchten Hühnereiern feststellte, nicht das Dotter des harten Eies als Leuchtstoff im Sinne Beijerinck's (vgl. Molisch, VII, p. 115 u. f.) erwies.

Die in Fig. 1, Taf. I wiedergegebenen, im eigenen Lichte der Bakterien aufgenommenen Photographien¹ geben hievon eine sehr anschauliche Vorstellung. Man sieht ganz deutlich, daß nur das Weiße des Eies, nicht das Dotter intensiv geleuchtet hatte.¹

¹ Für seine vorzügliche photographische Leistung sage ich Herrn Ing. Dr. techn. Rudolf Bojanovsky auch an dieser Stelle innigen Dank. Außerdem bin ich Herrn Prof. Dr. Erwin Lohr für die gütige Überlassung des photographischen Apparates zu großem Danke verpflichtet.

Sehr überraschend wirkt auf den Beobachter die Farbenveränderung, die eintritt, wenn man nach genügend langem Betrachten des blaugrünen Lichtes der auf den Eiern gezüchteten Bakterien ganz plötzlich das rote Licht der Dunkelkammerlampe aufdreht. In diesem Augenblick erscheint das Eidotter wie ein großer roter Siegelacktropfen in rein blau opaleszierender Umrahmung (vgl. p. 274, Fußnote 2).

Die Ernährungsphysiologie der von mir kultivierten Leuchtbakterie und die Schwierigkeit, mit Hühnerweiß quantitativ zu arbeiten, verwies sonach den Experimentator ausschließlich auf das Pepton als Stickstoffquelle und es blieb ihm in der Ausschaltung der beirrenden ClNa-Mengen des Peptons selbst nichts anderes übrig, als dieses auf die zulässige Minimalkonzentration zu verdünnen.¹

Für die Assimilation organisch gebundenen N durch unsere Leuchtbakterie ist auch die Tatsache von Interesse, daß eine Dialysierung des Peptons weder der Entwicklung noch dem Leuchten Eintrag tat. Die Nähr- und Leuchtstoffe der Bakterie bleiben also trotz Dialysierung erhalten und könnten danach sicherer chemisch erfaßt werden, ein anderer Weg zur Klärung der N-Ernährung der Leuchtbakterien als der, den Fuhrmann 1913/14 bei von Nordseefischen abgezüchteten Leuchtbakterien eingeschlagen hat.

Aus den Versuchen mit Nährlösung B ergab sich übereinstimmend, daß die Nährlösungen mit Na-Salzzusätzen entweder ausschließlich oder mit einem derartigen Vorsprung in zeitlicher Beziehung und im Hinblick auf Leuchteffekt und Vermehrungsintensität das in sie eingetragene Impfgut zur Entwicklung brachten, daß jeder Zweifel an einer exzeptionellen Rolle des Na im Lebensprozeß der gezüchteten Leuchtbakterie verstummen mußte.

Dabei erwiesen sich NaCl, NaNO₃ und NaBr als besonders günstig; Na₂SO₄ trat gegenüber diesen Verbindungen etwas zurück, was entweder auf eine Erschwerung des Zerfalls dieses Salzes in seine Ionen oder auf eine hemmende Wirkung der SO₄-Ionen (siehe p. 271) zurückzuführen sein dürfte.

Wie gewaltig der Intensitätsunterschied des Bakterienlichtes in den NaNO₃- und NaBr- gegenüber desjenigen der KCl-Nährlösungen gewesen war, veranschaulichen Fig. 6/1 bis 3 der Taf. I.

Diese Bilder sind in der Weise hergestellt, daß unter sämtliche Versuchskölbchen über photographischem Papiere Gelatinefolien mit den Ziffern in Tuscheschrift gelegt wurden. Nach eineinhalbtägigem ruhigem Stehen der vor der Aufnahme durch Schütteln behufs maximaler Leuchtleistung der Bakterien reichlich mit O versehenen Kölbchen wurden die photographischen Papiere entwickelt und zeigten Ziffern nur unter den Aufschriften 3, 4, 13, 14, 17 und 18, sonst nirgends,² trotzdem auch die CaCl₂- und MgCl₂-Kölbchen vom Auge wahrnehmbare Lichtentwicklung aufwiesen. Nur das von den KCl-Kölbchen ausgesandte Bakterienlicht vermochte die in 6a bemerkbare minimale photographische Wirkung auszulösen.

Nach völligem Erlöschen der KCl-Kölbchen erreichten sie am 11. Juli ihr Maximum, das die MgCl₂-Kölbchen schon am 9. Juli 1924 erreicht hatten.

Der große Unterschied zwischen Na-Salz- und nicht Na-Salzkölbchen wird um so anschaulicher, je mehr man bestrebt ist, die im Pepton selbst gelegene Fehlerquelle durch Herabsetzung von dessen Konzentration zu vermindern und durch Abspülen der Impfnadel nach Abimpfen aus Na-haltigem Substrat in Na-freie Nährlösung diese weitere bedeutsame Fehlerquelle auszuschalten.

Für den Wert der Verringerung der Peptonzugabe bei der Lösung der Frage nach der Notwendigkeit des Na spricht Versuch B II der Taf. II, Fig. 10/III (siehe p. 275) vom 26. Juni bis 7. Juli 1924.

Sinnfällig zeigt sich, daß 1·28% KCl, 0·925% NH₄Cl, 1·89% CaCl₂ und 3·47% MgCl₂ entweder selbst nicht Verunreinigungen von Na genug enthalten, um mit den im Pepton vorhandenen das Na-Ernährungsminimum der Leuchtbakterien zu erreichen, oder, was bei der Exaktheit Merck'scher und Kahlbaum'scher Ware das wahrscheinlichere ist, daß die sämtlichen angeführten Na-freien Salze in den Konzentrationen, die als isosmotisch mit 1% ClNa der jeweiligen Kulturflüssigkeit den gleichen osmotischen Druck geben wie 1% ClNa, 1·45% NaNO₃ oder 1·76% NaBr außerstande

¹ Das *Photobacterium capsulatum* erinnert dagegen in seinem N-Bedürfnis an den von Chodat und Coulon von einem Genfer Seefisch isolierten Micrococcus, der mineralischer Bouillon in 1% Pepton oder Glykokoll, Asparagin oder Harnstoff gedieh, auf den aber Nitrate bei ausschließlicher Darbietung ohne Einfluß blieben. Das *Photobacterium capsulatum* verhielt sich dagegen anders als die von Chodat und Coulon kultivierte *Pseudomonas luminescens*, da diese Autoren bei ihr auch Entwicklung und Leuchten sahen, wenn Glykokoll, Alanin, Asparagin, Harnstoff, Ammoniumnitrat, Ammoniumtartrat oder KNO₃ statt Pepton zur Kulturfleischbrühe (!) gaben, da die »Leuchtbakterie ihre N-Reserven mittels Ammoniaksalzen erzeugt« (p. 231).

Es wäre gewiß interessant, alle oben angeführten Versuche mit Coulon's *Pseudomonas luminescens* zu wiederholen, da diese »Leuchtbakterie« nach dem Referate (1916, 18, p. 407) als N-Quelle anorganische Substanzen verwenden kann. Pepton und Albumin sind nicht absolut notwendig. Bei solchen Experimenten müßte natürlich die Fleischbrühe als beirrender Faktor vermieden werden.

² Ein mehrmaliges Schütteln während der Exposition bei Vorkehrungsmaßnahmen gegen Verschieben hätte die Unterschiede in der Papierschwärzung sicher noch krasser gestaltet. Es sei ausdrücklich betont, daß jedes Kölbchen mit einem eigenen Sturz gegen seinen Nachbarn abgedunkelt war.

sind, trotz der in 5⁰/₀₀ Pepton enthaltenen ClNa-Spuren die von 2⁰/₀ ClNa-A-Gelatine abgeimpften Bakterien zum Leuchten und zur Entwicklung zu bringen.

In der Tat bewirkt die Hinzufügung des im Versuch III der Fig. 10 für das *Bact. phosphoreum* ermittelten ClNa-Minimums von 0·5⁰/₀ ClNa = 0·197, rund 0·2⁰/₀ Na (siehe p. 272) zu den KCl-, NH₄Cl-, CaCl₂- und MgCl₂-Nährlösungen der oben angeführten Konzentrationen maximales Leuchten.¹ Dabei reichte die Zugabe von 0·5⁰/₀ ClNa = [0·2 g Na] zur Stammlösung bei einer mit 5⁰/₀₀ Pepton versehenen Nährlösung (s. p. 268) für die überprüfte Meeresleuchtbakterie nicht wie für *Bacterium phosphoreum* in 10⁰/₀₀ Peptonagar aus, um Leuchten und Entwicklung auszulösen. War aber noch KCl, NH₄Cl, CaCl₂ oder MgCl₂ in den zu 1⁰/₀ ClNa isosmotischen Konzentrationen in den Kulturflüssigkeiten zugegen, so gab es ein Leuchten und eine Entwicklung, wie sie nicht herrlicher gedacht werden konnte. Besonders das von Molisch für seine Leuchtbakterien so besonders betonte MgCl₂ (vgl. p. 265) gab unter den Versuchsbedingungen einen einzigartigen Glanz.

Dieser Umstand zeigt zunächst, daß das in der Zeit vom 26. Juni bis 7. Juli 1924 beobachtete Ausbleiben von Leuchten und Entwicklung in den Kölbchen mit 1·28⁰/₀ KCl, 0·925⁰/₀ NH₄Cl, 1·89⁰/₀ CaCl₂ und 3·47⁰/₀ MgCl₂ nicht etwa aus dem Unvermögen der mit 1⁰/₀ ClNa isosmotischen Verbindungen entsprang, den Kulturflüssigkeiten jene osmotischen Qualitäten zu geben, die beiläufig der des Zellsaftes der rein kultivierten Meeresbakterie entspräche und damit Entwicklung und Leuchten auslösen konnte. Denn war zwar nach der Zutat von 0·5⁰/₀ ClNa der osmotische Druck in den Kulturflüssigkeiten mit den geraden Zahlen von 8·08 Atmosphären² auf (1·28+0·64) = 1·92⁰/₀ KCl, (0·925+0·4625) = 1·49⁰/₀ NH₄Cl, (1·89+0·945) = 2·84 CaCl₂ und (3·47+1·735) = 5·21⁰/₀ MgCl₂ [= 12·12 Atmosphären] angewachsen, so zeigt doch das sozusagen identische Verhalten der beiden ClNa-Kölbchen, von denen also das mit der ungeraden Zahl 1⁰/₀, das mit der geraden jetzt 1·5⁰/₀ ClNa barg, ebenso wie die nur wenig abweichende Leuchtkraft der Bakterien in den NaNO₃- und NaBr-Kölbchen mit ihren osmotischen Leistungen gleich 1·45⁰/₀ und (1·45+0·725) = 2·18⁰/₀ NaNO₃, beziehungsweise 1·76⁰/₀ und (1·76+0·88) = 2·64⁰/₀ NaBr, daß nicht sosehr der Zuwachs an dem osmotischen Druck der Kulturflüssigkeiten von 4·04 Atmosphären das Entscheidende für das plötzlich einsetzende Leuchten und die plötzlich beginnende Entwicklung war, sondern die Hinzufügung der geringen Menge von 0·5⁰/₀ NaCl = 0·2⁰/₀ Na zur Kulturflüssigkeit.

Zum gleichen Schluß führt auch die Tatsache, daß bis zum 13. Juli, also durch volle 19 Tage, nach dem Beginn des kombinierten Gesamtversuches trotz des vom 22. Juni bis 7. Juli 1924 in allen Kulturflüssigkeiten — mit Ausnahme der Stammlösung und trotz des ab 9. Juli 1924 wenigstens in den der Kulturflüssigkeiten der Kölbchen mit ungeraden Zahlen mit neuerlicher Ausnahme der Stammlösung — herrschenden gleichen Druckes von 8·08+1·217 = 9·297 Atmosphären, in keinem der mit ungeraden Zahlen bezeichneten Kölbchen die »Na-frei« gehalten worden waren, nach wie vor irgendeine Entwicklung oder ein Leuchten beobachtet werden konnte, während die Na-hältigen Kölbchen 25, 31 und 35 wiederum wie in der Zeit vom 26. Juni bis 7. Juli prächtiges oder zum mindesten sehr gutes Leuchten und eine entsprechende Entwicklung der Leuchtbakterien aufwiesen.

Erst am 20. Tage nach Beginn des Gesamtversuches, am vierten nach der neuen Impfung, leuchtete das mit 3·47⁰/₀ MgCl₂ versehene Kölbchen 29, um einen Tag darauf wieder fast völlig zu verlöschen. Offenbar hatte entweder ich bei der Überimpfung der neuen Bakterien aus der 2⁰/₀ ClNa-A-Gelatine T etwas zuviel ClNa mit übertragen oder es hatten sich in der Zeit vom 9. bis 13. Juli 1924 einige Bakterien an die durch die in 3·47⁰/₀ MgCl₂ enthaltenen NaCl-Spuren verstärkte

¹ Der 7. Juli 1924 abgeflaute dritte der entscheidenden Versuche wurde gewissermaßen der Länge nach geteilt und in alle Kölbchen mit geraden Zahlen, also in die Kölbchen 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34 und 36 je 10 cm³ einer Lösung von 10 g ClNa 200 cm³ destillierten Wassers, also je 0·5⁰/₀ ClNa zugegossen. Hierauf erfolgte die neuerliche zweimalige Sterilisation aller, auch die der Kölbchen mit ungeraden Zahlen. Am 9. Juli 1924 wurde von einer zweiprozentigen ClNa-A-Gelatine T geimpft. Schon am 10. Juli war der Effekt zu sehen (vgl. Taf. II, Fig. 10/IV).

² Da 1⁰/₀ ClNa 1·73⁰/₀ KNO₃ entspricht, 1⁰/₀ KNO₃ aber einem osmotischen Druck von 4·67 Atmosphären gleichkommt (Berechnungen von Rysselberghe, zitiert nach Jost, p. 496, 497), beträgt der durch 1⁰/₀ ClNa bedingte osmotische Druck der Kulturflüssigkeiten 8·08, der durch 0·5 ClNa bedingte 4·04 Atmosphären. 0·5⁰/₀ Glycerin entspricht 1·217 Atmosphäre.

ClNa-Mengen des Peptons angepaßt und es, unterstützt durch die osmotischen Wirkungen des $MgCl_2$, bei dem in der Lösung herrschenden Druck von etwa 9·297 Atmosphären, zu einem leuchtenden Eintagsdasein gebracht, ein Resultat, das uns vielleicht die durch Mc. Kenney (1902) dem Mg in der Wirkung auf Leuchten und Ernährung der Leuchtbakterien zugeordnete Ausnahmestellung als Substituent des Na erklärt.

Nach diesen Ausführungen ergänzt sonach der Ausfall der beschriebenen, besonders der des zuletzt geschilderten Versuches in glücklichster Weise die Ergebnisse von Molisch, Gerretsen, Mc. Kenney u. a. Autoren mit Leuchtbakterien.

Die Salze KCl , NH_4Cl , $CaCl_2$, $MgCl_2$ wirken in der Tat, wie Molisch (VII, p. 109) sagt, als osmotische Faktoren, aber erst dann, wenn die Vorbedingung erfüllt ist, ohne die sie nichts zu leisten vermögen: das Vorhandensein des Ernährungsminimums von 0·2% Na [= 0·5% NaCl] oder etwas darunter.

Dieses Ernährungsminimum an Na fügte eben Molisch beim Alkalischemachen seinen Nährsubstraten mit NaOH unabsichtlich bei, wenn es nicht ohnehin in ihnen vorhanden war, ob es nun Kartoffeln mit ihren »relativ viel Chloriden« (VII, p. 105), Fleisch oder seine auf p. 261 beschriebene Gelatine waren.

Gerretsen brachte in der Fischbouillon von vornherein ausreichend NaCl zu den Versuchsflüssigkeiten und da Molisch fast nur mit 3% Lösungen seiner Salze, Gerretsen gar nur mit mit 3% ClNa isosmotischen Lösungen, also um nur einige der entsprechenden Werte für die uns hier besonders interessierenden Salze zu berechnen, mit 2·76% NH_4Cl , 3·84% KCl , 4·35% $NaNO_3$, 5·28% $NaBr$, 5·67% $CaCl_2$, 7·29% Na_2SO_4 und 10·51% $MgCl_2$, sonach mit höchst konzentrierten Lösungen gearbeitet hat, beziehungsweise haben muß, so ist es nicht weiter zu verwundern, zumal da mit steigender Konzentration der Salze in ihnen selbst eventuell vorhandene Verunreinigungen an Na entsprechend potenziert werden mußten, daß die beiden Autoren ebenso wie Beijerinck nur die relativ leicht vertretbaren osmotischen Wirkungen des ClNa beobachteten, während ihnen die ernährungsphysiologische Wirkung der ClNa-»Spuren« notwendigerweise entgehen mußte (vgl. p. 262 und 272).

Nach dem Gesagten ist es aber auch begreiflich, daß Molisch dort, wo er eine Substanz wie JK in $\frac{1}{2}$ oder 1% Zutat in Anwendung brachte, kein oder nur ein sehr schwaches Leuchten und entsprechend mangelhafte Entwicklung seiner beiden Hauptversuchsobjekte *Bact. phosphoreum* und *Bac. photogenus* sah. In diesen Fällen tat er eben unbewußt das, was bewußt in Versuch BII (s. p. 276) geschehen ist.

Am nächsten scheint Mc. Kenney der Lösung und am weitesten in der Klärung dieser komplizierten Beziehungen des NaCl zur Physiologie der Leuchtbakterien gekommen zu sein, indem er jede »Vertretbarkeit des Na« durch andere verwandte Elemente außer die durch Mg bestreitet, eine Ansicht, der, wie wir p. 264 sahen, Gerretsen im wesentlichen beipflichtete und die er noch dadurch unterstrich, daß er »dem Kation einen spezifischen Einfluß auf die Leuchtfunktion« zuerkannt wissen will, indem er ihm geradezu eine Funktion bei der Bildung des Leuchtstoffes zuschrieb.

Sehen wir von diesen, die Bedeutung der in dieser Arbeit nachgewiesenen Notwendigkeit des Na für Leuchten und Ernährung noch einleuchtender gestaltenden Hypothesen Gerretsen's ab und bleiben wir auf dem Boden der Tatsachen, so scheint mir der von Mc. Kenney gewählte und von Gerretsen übernommene Ausdruck von der Vertretbarkeit der Elemente zu beweisen, daß auch Mc. Kenney am Wesen der Sache vorbeigegangen ist. Ersetzbar ist nur die osmotische Wirkung des ClNa durch isosmotische Salzlösungen, das Natrium in seiner ernährungsphysiologischen Funktion ist aber auch durch das Mg nicht zu ersetzen. Und so könnten diese die Angaben der Literatur kritisch verarbeitenden Ausführungen auch bezüglich des Na vorläufig mit der bisher im wesentlichen¹ noch immer zu Recht bestehenden Erkenntnis von Molisch (VII, p. 109) geschlossen werden: »Alle hierher gehörigen Erfahrungen überschauend, leugne ich zwar nicht die Möglichkeit, daß bei der Ernährung der Pflanze manche Elemente durch nahe verwandte partiell ersetzt werden

¹ Ausnahmen, wie die Beobachtungen Löw's bei Pilzen und Benecke's bei Bakterien bestätigen nur die Regel (siehe Benecke-Jost, Pflanzenphysiologie, Bd. I, 1924, p. 140).

können, ja »es konnte« von Molisch (III, 1896, p. 16) sogar gezeigt werden, »daß bei gewissen Algen und bei höheren Phanerogamen Strontiumverbindungen Kalziumverbindungen eine Zeitlang tatsächlich vertreten können, aber ich halte es nach dem derzeitigen Stand unseres Wissens für höchst unwahrscheinlich, daß ein Nährelement der Pflanze durch ein verwandtes vollends ersetzt zu werden vermag.«

Ob sich das Na auch für die von Kutscher gezogenen Leuchtvibrionen aus Hamburger Elbewasser notwendig erweisen wird, müssen erst künftige Untersuchungen zeigen, doch glaube ich, aus dem Umstande, daß einerseits das Hamburger Wasser und die anderen natürlichen Standorte der Bakterien wenn auch geringe Mengen ClNa enthalten (vgl. p. 263) und Molisch (VII, p. 110) zu ihrer Kultur offenbar mit Normalnatrontauge alkalisch gemachte Milch, Nährgelatine und andere Substrate zur Anwendung brachte, schließen zu dürfen, daß auch diese Bakterien des Brackwassers, wenn sie auch einer stärkeren osmotischen Nachhilfe durch größere ClNa-Dosen oder andere Salzzusätze nach Molisch nicht bedürfen, des Natriums als Nährelement, also der p. 278 berechneten Na-Spuren nicht werden entraten können.

Wie Fig. 7 b zeigt, kann auch das Abspülen der Impfnadel in Na-»freiem« Kulturkölbchen bei dem Impfvorgang mit übertragenem Na von entscheidender Bedeutung für den Versuchserfolg sein. Die erste Kölbchenkolonne zeigt noch außer in dem Na-Salzkölbchen in KCl, CaCl₂ und MgCl₂ relativ gute Entwicklung und gutes Leuchten, bei der zweiten ist der Erfolg auf die Na-Salzkölbchen beschränkt.

Versuche wie diese beweisen, daß also auch jene Menge Na, die an der Impfnadel haften bleibt, das Vorhandensein von mit 1 bis 2% NaCl isosmotischen Mengen von KCl, CaCl₂, MgCl₂ vorausgesetzt, Entwicklung und Leuchten auszulösen vermag.

In dem in Fußnote¹ beschriebenen Versuche war in den MgCl₂-Kölbchen ein etwas stärkeres Leuchten bei entsprechender Entwicklung wahrzunehmen, trotzdem nur 0·5% Pepton zugefügt wurden. Hier dürfte die Erklärung in dem erhöhten osmotischen Druck zu suchen sein, da ja in jedem dieser Kölbchen auch 1·73% \equiv 0·173% KNO₃ gelöst waren, die einem osmotischen Druck von 0·136% ClNa oder 0·472% MgCl₂ entsprachen. Darnach herrschte also, ganz abgesehen von den durch die im Pepton enthaltenen NaCl- und sonstigen Salzmengen und abgesehen von der durch das 5% Glyzerin bedingten Erhöhung des osmotischen Druckes von 1·217 Atmosphären in den Kulturflüssigkeiten, in den MgCl₂-Kölbchen ein Druck von 3·47+0·47 \equiv 3·94 fast 4% MgCl₂, der durch den Glyzerin-gehalt der Lösung von 1·217 Atmosphären auf einen osmotischen Druck von 6·744+1·217 oder rund 7·961 Atmosphären erhöht wurde, womit Drucke erreicht erscheinen, die bei Gegenwart des Na-Ernährungsminimums beachtenswerte Leucht- und Entwicklungserfolge bedingen konnten, zumal im vorliegenden Fall dank der Gegenwart von 0·173% KNO₃ höchst vorteilhafte Umsetzungen nach der das Leuchten neben NaCl so außerordentlich fördernden Bildung von NaNO₃ stattfinden konnten, das wieder in Übereinstimmung mit den Erfahrungen von Gerretsen (siehe p. 264) bei diesem Versuch die glänzendsten Leuchteffekte ausgelöst hatte.

Werden eben die Salze in Konzentrationen geboten, die denen des Meerwassers, also mit rund 2% ClNa isosmotisch sind, dann genügt bereits die in 0·5% Pepton enthaltene Na-Menge, um, wenn auch verspätete und mattere, so doch immerhin entsprechende, jedenfalls beachtenswerte Entwicklung auszulösen (vgl. die zwei Versuche von p. 277 und die MgCl₂-Kölbchen dieses Versuches p. 281, 282).

Bei Herabsetzung der Salzkonzentration auf die Hälfte sind nur mehr die Na-Salze und unter diesen besonders NaNO₃, NaCl und NaBr imstande, das sich nun in seiner Wirkung klarer bemerkbar machende Na-Minimum zu ergänzen und überdies in ihren osmotischen Leistungen zur sichtbaren Geltung zu bringen, weshalb nur in ihnen Leuchten und Entwicklung zu sehen ist (drei Versuche von p. 275 und dieser Versuch von p. 281, 282). Sie bedingen, daß die Salze »das Wasser isosmotisch mit dem Zellinhalt« machen »und so das Gedeihen der Leuchtbakterien ermöglichen« (vgl. p. 262).

¹ Für diesen Versuch wurde die Kölbchenkolonne des C₂-Versuchs der p. 276 mit ihrer 1·73%₁₀₀ KNO₃-Glyzerinstamm-lösung nach dessen völligem Versagen mit Pepton in der in Versuch B II p. 276 gewählten Konzentration versehen und zu jedem Kölbchen 10 cm³ einer 0·5prozentigen filtrierten, klaren Witte-Peptonlösung hinzugefügt, worauf nach zweimaliger Sterilisation und völligem Abkühlen am 9. Juli 1924 geimpft wurde. Der Effekt war bereits am 11. Juli zu sehen (vgl. Taf. II, Fig. 10 V).

Dabei kommt nicht dem Cl des NaCl, sondern dem Na die maßgebende Rolle zu, da das Cl ohne weiteres durch die einwertigen Ionen Br und NO₃ ersetzbar erscheint (alle Versuche). Hierin bestätigen meine Befunde die auf p. 263 zitierten Ergebnisse von Gerretsen, der aus der großen Verschiedenheit der »von ihm für die Leuchtbakterienkultur benutzten Säuren« erschloß, »daß von einer spezifischen Rolle des Cl bei Vorhandensein des Na beim Leuchten keine Rede ist.«

Das Na₂ des Na₂SO₄ scheint nicht in gleicher Weise, ich möchte sagen, locker gebunden zu sein, so daß dem Na₂SO₄ in erster Linie eine ähnliche Rolle zugewiesen erscheint wie den Salzen KCl, NH₄Cl, CaCl₂, MgCl₂ usw. — es scheint zunächst in erster Linie osmotisch und nicht ernährungsphysiologisch wirksam zu sein und erst proportional zur fortschreitenden Ionisierung¹ und zur Zunahme respektive dem schon gegebenen Vorrat an ionisiertem »Ernährungs-Na« Vermehrung und Lichtentwicklung der Bakterie in günstigem Sinne zu beeinflussen.

Diese Bemerkungen dürften nun auch alle scheinbaren Ausnahmen, nicht zuletzt die des eben erwähnten Versuches von p. 280, 281 befriedigend erklären.

Die im Vorstehenden dargelegten Anschauungen erhielten nun noch mit einer von der bisher beschriebenen völlig verschiedenen Methode eine höchst erwünschte Bestätigung.

V.

Die überraschende Feststellung von Entwicklung und Leuchten meiner Leuchtbakterie² in einer Tiefe der hochgefüllten Gelatineprouvette, die bisher als praktisch O-frei gegolten hatte, legte den Gedanken nahe, daß unter den so eigenartigen und, wie es mir schien, so ungewohnten Bedingungen der Tiefenkultur die Leuchtbakterie vielleicht geneigt sein werde, noch klarer auf die Frage nach der Notwendigkeit des Na für Entwicklung und Leuchten zu antworten, als dies bei der Zucht von in Kölbchen gebotenen Kulturflüssigkeiten möglich war, so wie etwa eine laboratoriumsluftkranke Pflanze ein präziseres Reaktionsvermögen auf Lichtreize zeigt als eine in reiner Luft gewachsene gesunde.³ Damit soll aber nicht gesagt sein, daß ich die Bakterien der Tiefenkolonien für krank halte. Ich stellte sie mir in bezug auf ihr Na-Bedürfnis bloß sensibler vor. Denn wenn Gerretsen mit seiner Vermutung wirklich Recht haben sollte, daß das Na sogar für die Ausbildung des Leuchtstoffes von grundlegender Bedeutung sei (p. 279), so schien es mir möglich, daß bei der mit der Tiefenkultur verbundenen ohnehin weitgehenden Herabsetzung der Entwicklungsbedingungen für den Leuchtstoff und die Leuchtbakterien selbst die Ausschaltung einer weiteren Lebensnotwendigkeit um so rascher und einwandfreier festzustellen sein werde.

Orientierende Versuche über die zweckmäßigste Konzentration der Na-Salze bei Gelatineprouvettenversuchen für das Tiefenleuchten erwiesen zunächst 2·0% ClNa und 2·9% NaNO₃ für weit vorteilhafter als 1·5% NaCl, beziehungsweise 1·45% NaNO₃, wenn die Stammlösungen

St. 1. 1000 Teile destilliertes H ₂ O	oder	St. 2. 1000 Teile destilliertes H ₂ O,
10 g Pepton,		10 g Pepton,
20 g Traubenzucker,		20 g Traubenzucker,
0·2 g MgSO ₄ ,		0·25 g MgSO ₄ ,
0·2 g K ₂ HPO ₄ ,		0·2 g K ₂ HPO ₄ ,
0·2 g Ca(NO ₃) ₂ ,		0·2 g CaCl ₂ ,
Spur FeSO ₄ ,		Spur Eisensulfat

in Anwendung kamen.

¹ Bedauerlicherweise hat Treadwell F. P. »Kurzes Lehrbuch der analytischen Chemie, I. Bd., 1923, p. 13, Leipzig-Wien« gerade für die Na-Salze keine Dissoziationswerte angegeben. Wenn aber Analogieschlüsse erlaubt sind, dann dürfte es sich in der Tat so verhalten, wie eben ausgeführt wurde.

Für K₂SO₄ wurden zirka 70%₀, für KCl aber 85%₀, für H₂SO₄ nur zirka 60%₀, für HCl und HBr dagegen zirka 90%₀ als Dissoziationswert angegeben.

Denkbar ist es übrigens auch noch, daß gerade die erschwerte Dissoziation ein länger andauerndes und nachhaltigeres Leuchten Folge haben könnte, weil gewissermaßen das Depot am Na sukzessive abgebaut würde. Dadurch würden insbesondere die durch Taf. II, Fig. 11b und die Photographien 3 und 4 der Taf. I zur Darstellung gebrachten Erscheinungen eine befriedigende Erklärung finden.

² Richter O., VI.

³ Richter O., IV + V.

Andrerseits ergaben vergleichende Versuche mit Zusatz verschiedener Kohlehydrate folgenden Zusammensetzung:

Stammgelatine von der

1000 Teile destilliertes H_2O ,
 10 g Pepton,
 0·2 g K_2HPO_4 ,
 0·2 g $MgSO_4$,
 0·2 g $Ca(NO_3)_2$,
 Spur $FeSO_4$,
 100 g Gelatine,

daß Glyzerin und Traubenzucker als für das Tiefenleuchten besonders vorteilhaft¹ zu gelten haben (siehe Photographie Fig. 5 der Taf. I und die Figurenerklärung p. 292).²

Ohne nun die ganze Schar von mühevollen Versuchen zu behandeln, die auch hier wieder die unbedingte Notwendigkeit der Verwendung von Jenenser Glas ergaben und die Gefahr der Übertragung von Na mit der Impfnadel für das Ergebnis dartaten, gehe ich sofort zur Schilderung des in Fig. 11 a der Taf. II anschaulich zur Darstellung gebrachten Versuches vom 9. April 1927 über.

Die Stammgelatine hatte die folgende Zusammensetzung:

1000 Teile destilliertes Wasser,
 10 g Pepton,
 100 g Gelatine,
 20 g Glyzerin,
 0·2 g $MgSO_4$,
 0·2 g K_2HPO_4 ,
 0·2 g $Ca(NO_3)_2$ und eine
 Spur $FeSO_4$.

Pepton und Gelatine wurden zuerst im destillierten Wasser gelöst und erst nach der Neutralisation mit reiner Kalilauge und nach der Filtration Glyzerin und die angeführten Salze zugewogen.

Die diesmal beachteten und, wie gleich hinzugefügt sein mag, stets zu beachtenden **Vorsichtsmaßnahmen** waren:

1. Die Verwendung frischgekaufter Eprouvetten aus Jenenser Glas (Begründung: einwandfrei festzustellende Nichtverwendung zu Versuchen mit Salzzusätzen; ihr Nicht-in-Berührung-gekommen-sein mit einem Eprouvettenbürstchen mit seiner hundertfachen Benutzung zur Reinigung Na-haltiger und Na-freier Eprouvetten).
 Die Reinigung dieser frisch bezogenen Eprouvetten durch Einlegen in verdünnte Salzsäure.
3. Deren Ausspülung in viel destilliertem Wasser bis zur neutralen Reaktion des abfließenden Wassers.³
4. Die Vermeidung eines Abtrocknens durch Aufstürzen der Eprouvetten auf ein Gestell mit Holzstiften, auf deren oberem Ende vom Trocknen früherer Eprouvetten Na-Mengen haften konnten.
5. Verwendung reinsten Witte-Peptons und reinsten Salze von Kahlbaum, beziehungsweise Merck.
6. Verwendung von mit HCl gereinigten und mit viel destilliertem Wasser gewaschenen Kolben, Kölbchen und Bechergläsern aus Jenenser Glas für die Gesamt-, beziehungsweise Teilgelatinen.
7. Verwendung eigener neu gekaufter, mit HCl und viel destilliertem Wasser gewaschener Fülltrichter für jede der Teilgelatinen, deren Salzzusätze auf verschiedenen besonders gereinigten Glasschalen gewogen wurden.
8. Verschuß der Eprouvetten durch eben hergestellte Stöpsel aus reiner Watte.
9. Zweimalige drei Viertelstunden dauernde Sterilisation der Eprouvetten zur sicheren Vernichtung der in reiner Gelatine fast stets auftauchenden sehr hitzefesten Bakterien.
10. Impfung mit Zwischensterilisation nach erfolgter Direktimpfung in die mit DJ in der Tabelle bezeichneten mit rund 10 bis 12 cm^3 Gelatine gefüllten Schüttelkultureprouvetten.
11. Beachtung der folgenden Vorsichtsmaßnahmen bei jeder Abimpfung mit Zwischensterilisation und bei der sub 10 erwähnten Direktimpfung:
 - a) Vorbereitung einer entsprechend hoch mit konzentrierter HCl-gefüllten Eprouvette aus Jenenser Glas zur Ablösung der an der Platinnadel haften gebliebenen Na-Spuren;
 - b) Vorbereitung ebenso hoch mit destilliertem Wasser gefüllten Eprouvette aus Jenenser Glas zum Abspülen der HCl;
 - c) dann Beachtung folgenden Impfvorgangs:
 - α) Glühen der Platinnadel;
 - β) Eintauchen der noch glühenden Nadel in die konzentrierte HCl, in der alle mitgenommenen Salz-, insbesondere Na-Salzmengen unter Zischen in Lösung gehen;

¹ Vgl. hiezu die ungünstigen Erfahrungen Fuhrmann's mit seiner von Nordseefischen abgezüchteten Bakterie für normales Leuchten.

² Für diese und die prächtigen Aufnahmen der Fig. 2 bis 4 und 7 bis 11 sage ich Herrn W. Albrecht besten Dank.

³ Herrn stud. chem. Gustav Schoblik, der wissenschaftlichen Hilfskraft des Institutes, bin ich für seine diesbezügliche und auch für die in VI geschilderte analoge mühevoll und zeitraubende Arbeitsleistung zu großem Dank verpflichtet.

- γ) Abschweifen der Platinnadel in destilliertem Wasser, das im Bedarfsfalle durch neues ersetzt wird;
- δ) neuerliches Glühen der Platinnadel, die nun keine Spur einer Na-Flammenreaktion zeigt;
- ε) nach dem Abkühlen: Abimpfung aus der *DJ*- in die jeweilige Abimpfprouvette, wobei stets nur eine Eprouvete bedacht wird, da die veröffentlichten Versuche über Tiefenleuchten¹ es bereits bewiesen hatten, daß eine weitere Verdünnung in eine zweite und dritte Eprouvete keine oder fast keine Kolonien mehr auftreten läßt. Die fünf Verdünnungskulturen sind sonach untereinander gleichwertig als erste Abimpfungen von der *DJ*-Eprouvete.

Bei der Beobachtung und Kontrolle wurde in gewohnter Weise mit völlig ausgeruhtem Auge die jeweilige Eprouvettenreihung und Klassifizierung der Leuchtleistung sowie die Gruppierung in nur oberflächlich, bis $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$ und bis zum Grunde der Eprouvete leuchtende Eprouvetten im Dunkeln besorgt und im Lichte der elektrischen Lampe nachher Art des Tiefenleuchtens, Leuchtrangordnung und die Nummer der Eprouvete notiert.

Wie bei den schon publizierten Versuchen¹ wurden vergleichsweise auch diesmal Zählungen sowohl der leuchtenden Kolonien im Dunkeln als der bei elektrischem Lichte sichtbaren Bakterienkolonien durchgeführt und fast stets die gleichen oder minimal voneinander abweichende Zahlenwerte gefunden, so daß es auch zahlenmäßig einwandfrei festgestellt erscheint, daß unter diesen Versuchsbedingungen Leuchten und Entwicklung stets parallel gehen und daß also ein Ausbleiben des Leuchtens und von Leuchtkolonien z. B. in KCl , NH_4Cl , CaCl_2 und MgCl_2 bedingt erscheint durch ein völliges Unterbleiben jedweder Entwicklung von Bakterienkolonien, und daß sonach die Gelatine völlig klar oder nur mit jener gleichmäßig verteilten leichten Trübung behaftet erschien, die sie schon am Versuchsbeginn hatte und die wohl von einer Kalziumphosphatfällung hergerührt haben dürfte.

Versuchsergebnis²:

- I. Vorzügliche Entwicklung und prächtiges Tiefenleuchten in den Eprouvetten mit Zwischensterilisation trat nur in den Versuchskolonnen mit den Zusätzen der Na-Salze: 2% NaCl, 3·52% NaBr, 2·9% NaNO_3 und 4·86% Na_2SO_4 ein.
- II. Massenentwicklung und Oberflächenleuchten, d. h. intensivstes Leuchten nur in der obersten etwa 5 mm breiten Gelatinezone in der *DJ*- (Direktimpf)-Eprouvete, war mit alleiniger Ausnahme der mit Na_2SO_4 versehenen Eprouvetten nur in denen mit den sub I erwähnten Na-Salzzusätzen zu sehen.
- III. Vorzügliche Entwicklung und prächtiges Tiefenleuchten ließ sich, abgesehen von dem in der *DJ* mit 4·86% Na_2SO_4 ganz ausschließlich nur noch in den *DJ* mit einem Zusatz von 2·56% KCl, 3·46% KNO_3 , 1·83% NH_4Cl und 3·78% CaCl_2 nachweisen, wobei sich die Zutaten der beiden Kaliumsalze als besonders fördernd erwiesen. Dabei war dem KNO_3 der Vorrang zuzuerkennen. NH_4Cl erschien gegenüber den anderen Zusätzen als relativ unvorteilhaft.
- IV. In keiner der Eprouvetten mit 6·94% MgCl_2 war auch nur die geringste Spur eines Leuchtens oder einer Entwicklung feststellbar, auch nicht in den Direktimpfungen.
- V In den Stammgelatineeprouvetten war gleichfalls — begreiflicherweise — jede Entwicklung ausgeblieben.

Darnach waren die folgenden Schlußfolgerungen berechtigt:

1. Lediglich dort, wo das Na im Na-Salz sowohl die ernährungsphysiologische als auch die osmotische Leistung besorgt (Punkt I) oder
2. dort, wo das bei der *DJ* mit der Impfmasse übertragene und an der Platinnadel haftende Na bei ausreichender Fürsorge für eine osmotische Wirkung durch die in Punkt III angeführten Salze seine ernährungsphysiologische Wirkung ausüben kann, tritt optimale Entwicklung der Leuchtbakterien und optimales Leuchten auf, wobei die Na-Menge, der dieser ernährungsphysiologische Effekt zukommt, das Nähr-Na, in der Tat minimal, eine »Spur« im wahrsten Sinne des Wortes darstellt.
3. Da in der Stammgelatine die osmotischen Vorbedingungen fehlen, vermag die Zutat des Nähr-Na folgerichtig weder Entwicklung der Leuchtbakterien noch Leuchten zu bedingen.
4. Da aber in 6·94% MgCl_2 die osmotischen Vorbedingungen gegeben waren, das bisher mit der Impfmasse und der Platinnadel übertragene Nähr-Na in der *DJ* aber nicht zu wirken vermochte, 6·94% MgCl_2 nach früher erwähnten Versuchen jedoch die Leuchtbakterienentwicklung und das Leuchten nicht

¹ Richter O., VI.

Hiezu sei bemerkt, daß mir die sechste Eprouvete des NaCl-Teilversuches aus der Hand glitt und zerbrach. Unerklärlich blieb mir auch, warum in der vorletzten ClNa-Eprouvete dieser Teilkolonie die Leuchtbakterien nicht aufkamen. Diese Umstände stören aber durchaus nicht das klare und, wie ich wohl sagen kann, beweisende Resultat.

nur nicht unterdrückt, sondern in eminenter Weise fördert, so bleibt nur noch der Schluß, daß für das Leuchten und die Entwicklung der Bakterien in 6·94% $MgCl_2$ eine größere Zutat von Nähr-Na notwendig ist als für deren Entwicklung und Leuchten in Schüttelkultureprovetten mit den Zusätzen von 2·56% KCl, 3·46% KNO_3 , 1·83% NH_4Cl und 3·78% $CaCl_2$ zur Stammgelatine.

Um nun allen denkbaren Einwänden¹ zu begegnen, wurde mit allen steril gebliebenen Eprovetten dieses Jenenser Glasversuches ein neuer Versuch angestellt, dessen Ergebnis in der gleichen Tabelle zur Darstellung kam.

Dabei wurden die je fünf sterilen Eprovetten des KCl-, KNO_3 -, NH_4Cl - und $CaCl_2$ -Teilversuches nach vorgängiger neuerlicher halbstündiger Sterilisation in zwei Gruppen geteilt, wovon die ersten und zweiten Eprovetten steril eine Platinöse einer sterilisierten 3% NaCl-Lösung zugesetzt erhielten, während die restlichen je drei Eprovetten als Kontrolle hiezu leer ausgingen.

Im $MgCl_2$ - und Stammlösungsteilversuche konnten die je drei ersten Eprovetten nach der halbstündigen Sterilisation die analoge sterile Na-Zutat erhalten.

Und nun wurde in den KCl-, KNO_3 -, NH_4Cl - und $CaCl_2$ -Teilversuchen jeweilig in die 1. und 3., beim $MgCl_2$ - und Stammlösungsteilversuche in die jeweilig 1. und 4. Eprovette direkt geimpft, von denen nun in der p. 282 besprochenen alle Vorsichtsmaßnahmen beachtenden Art und Weise mit Zwischensterilisation abgeimpft wurde.

Wieder leuchteten die *DJ* noch am selben oder am Tage nach der Impfung in der Art im Dunkeln, wie Dichtsaaten zu leuchten pflegen (in 5 mm Oberflächenleuchtzone) und blieben mit alleiniger Ausnahme des NH_4Cl -Teilversuches auf die Dauer des Versuches die stärkst leuchtenden Eprovetten.

Ich habe auch diesmal wieder durch eingetragene Ziffern die Leuchtordnung, wie sie sich bei jeder Versuchskontrolle ergab, in der Tabelle an zuständiger Stelle eingetragen, wobei ich bis inklusive zum 27. April die Dichtsaateprovetten der ersten Impfung vom 9. April 1927, die alle gleich stark und gleich optimal leuchteten, mit einem in die Eprovettenfigur eingetragenen Einser bezeichnet und die Rangordnung durch Eintragung der Nummern in den oberen Teil der Eprovetten Darstellung auf die Abimpfeprovetten beschränkte, ab 28. April aber auf alle Eprovetten ausdehnte, da bereits die Neuimpfungen den alten den Rang abzulaufen begannen.

NH_4Cl erwies sich wieder so wie sonst als osmotischer Faktor ungünstiger als die anderen Salze, da es das Leuchten und die Entwicklung nicht bis zur Vollentfaltung kommen und auch rascher abflauen ließ als irgendeine der anderen Verbindungen. Aber gerade deshalb zeigte es um so anschaulicher, daß weder die an sich im Substrate in Pepton und der Gelatine vorhandenen noch die durch die Platinöse zugesetzte Nähr-Na-Menge ausreichte, um in den Abimpfeprovetten Entwicklung und Leuchten auszulösen.

Die für die richtige osmotische Ausstattung des Substrates notwendigen Mengen von KCl, KNO_3 und $CaCl_2$ scheinen dagegen so günstig auf die Leuchtbakterien zu wirken, daß die durch das wiederholte, wenn auch pedantisch genaue Abimpfen am 9. und 23. April 1927 trotz aller Vorsichtsmaßnahmen aus den *DJ*-Eprovetten übertragenen zu den im Pepton und in der Gelatine vorhandenen Na-Mengen zugefügten Nähr-Na-Quantitäten bereits den für Leuchtbakterien Entwicklung und Leuchten erforderlichen Schwellenwert erreichen lassen und damit in allen Eprovetten mit und ohne Platinösen-Na-Zutat eine ziemlich gleichmäßige, wenn auch relativ schwache Entwicklung und ein relativ sehr mattes, sehr bald (schon am 11. Mai, nach 5 Tagen) erlöschendes Leuchten auslösen, das in seinem raschen Verschwinden fast noch mehr als durch sein völliges Ausbleiben beweist, wie notwendig sich eine Spur Nähr-Na für Entwicklung und Leuchten der Leuchtbakterien erweist, weil eben mit seinem Verbrauch auch das Schicksal der Leuchtbakterien besiegelt erscheint.

Das neuerliche Sterilbleiben des Stammlösungsteilversuches war im Hinblick auf das Fehlen jedweder entsprechenden Quelle ausreichender osmotischer Wirkungen nicht weiter verwunderlich. Das neuerliche Sterilbleiben des $MgCl_2$ -Teilversuches konnte aber, wenn kein Versuchsfehler unterlaufen war,¹

¹ Einwände:

- a) Bei der Impfung des $MgCl_2$ -Teilversuches sind keine Leuchtbakterien übertragen worden;
- b) die Nadel war zu heiß;
- c) beim Waschen der Eprovetten sind gerade in den 12, in die später die $MgCl_2$ -Gelatine eingeführt werden sollte, Säurereste geblieben, die das Aufkommen der Leuchtbakterien verhindern;
- d) Impfnadel oder deren Glasstab sind nach dem Eintauchen in die konzentrierte HCl in destilliertem H_2O nicht genug abgespült worden und haben trotz Glühens und Abflambierens noch HCl-Mengen in die $MgCl_2$ -Eprovetten übertragen, die das Aufkommen der Bakterien unmöglich machen.

bei der bekannten fördernden Wirkung von $MgCl_2$ auf das Leuchten von Leuchtbakterien nur so erklärt werden, daß bei Zutat von 6.94% $MgCl_2$ der Schwellenwert der Nähr-Na-Zugabe höher liegen müsse.

Es wurden daher die Gelatineinhalte der 12 Eprouvetten der $MgCl_2$ - und der Stammlösungskolonne nochmals aufgelöst und, nachdem mit einem einer Eprouvette steril entnommenen Tröpfchen das Vorhandensein einer schwach alkalischen Reaktion einwandfrei festgestellt war, nach 1 stündiger neuerlicher Sterilisation zu den siedend heißen, jeweilig ersten Eprouvetten beider Teilversuche steril zur $MgCl_2$ -Eprouvette rund 1 cm^3 , zur Stammlösungseprouvette rund 2 cm^3 sterilisierten 3% igen $ClNa$ -Lösung hinzugefügt.

Nach dem Abkühlen wurde in diese ersten und in die ohne $ClNa$ -Zutat gebliebenen vierten Eprouvetten von der bisher stets als Abimpfeprouvette benutzten 2.9% $NaNO_3$ -Kultur Nr. 50 am 10. Mai 1927 direkt geimpft, worauf mit allen p. 282 geschilderten Vorsichtsmaßnahmen von diesen *DJ* mit Zwischensterilisation am gleichen Tage in die jeweilig zugehörigen Abimpfeprouvetten weiter abgeimpft wurde.

Schon am 11. Mai $9\frac{1}{4}$ Uhr vormittags war trotz der starken Ermüdung der Augen infolge des starken Sonnenlichtes dieses schönen Maientages wenige Minuten nach dem Betreten der Dunkelkammer in der *DJ* der $MgCl_2$ -Kolonne ein für eine Dichtsaaat ungewohntes, weil bis zum Eprouvettenboden reichendes, sehr bedeutendes Tiefenleuchten zu bemerken, das um viertel bis dreiviertel 7 Uhr abends in der Tiefe erloschen und, dem Dichtsaaatcharakter entsprechend, auf eine 5 mm tiefe Schichte nächst der Gelatineoberfläche beschränkt erschien, wobei es an Glanz wesentlich zugenommen hatte.

Am Freitag, den 12. Mai 1927 war zu der $MgCl_2$ -Dichtsaaateprouvette noch eine $MgCl_2$ -Leuchtkultur hinzugekommen, die *DJ*-Eprouvette Nr. 34 — sonst leuchtete keine —, womit wieder bewiesen war, daß die Vorsichtsmaßnahmen der Überimpfung imstande gewesen waren, die Nähr-Na-Menge bei den Abimpfeprouvetten unter dem relativ hohen Schwellenwert für $MgCl_2$ -Kulturen¹ zu halten.

Am Sonntag den 14. Mai 1927 erfolgte daher die photographische Aufnahme des Versuches, nachdem sich tags zuvor noch die mit rund 2 cm^3 einer 3% igen $ClNa$ -Lösung versehene *DJ*-Eprouvette Nr. 1 der Stammlösungskolonne als in der Art von Dichtsaaateprouvetten leuchtend herausgestellt hatte.²

Um auch die steril gebliebenen $MgCl_2$ -Eprouvetten sichtbar zu machen, wurden für die photographische Aufnahme (Fig. 2 der Taf. I) die nicht leuchtenden $MgCl_2$ -Eprouvetten diesscits und jenseits der $MgCl_2$ -Dichtsaaaten und zwischen die $MgCl_2$ - und Stammlösungsdichtsaaat gehängt. Von links nach rechts hingen: 1. [44] $NaBr$, 2. [51] $NaNO_3$, 3. [48] $NaBr$, 4. [40] $NaCl$, 5. [60] Na_2SO_4 , 6. [10] KCl mit $NaCl$ -Zusatz, 7. [8] KCl allein, 8. [31] $MgCl_2$ mit 1 cm^3 der 3% igen $ClNa$ -Lösung, 9. [32] $MgCl_2$ -Abimpfungseprouvette, kein Leuchten, 10. [34] $MgCl_2$ *DJ*-Dichtsaaat, 11. [35] $MgCl_2$ -Abimpfungseprouvette, leuchtet nicht, 12. [1] Stammlösung *DJ* nach Zutat von 2 cm^3 einer 3% igen $ClNa$ -Lösung, leuchtet.

Die Photographie zeigt wieder das Phänomen des Tiefenleuchtens, den Wert der Na-Salze als osmotischen und Ernährungsfaktor und den rein osmotischen Wert der anderen mit 2% $NaCl$ isosmotischem Salze, deren osmotische Kräfte nur dann für Entwicklung und Leuchten der Leuchtbakterien wirksam werden und zur Geltung kommen können, wenn die unbedingt nötige Nähr-Na-Spur vorhanden ist, und wird derart zur anschaulichen Darstellung dessen, was im Eingange dieses Kapitels erklärt wurde, daß die Bedingungen des Tiefenleuchtens der Leuchtbakterien sehr vorteilhaft auszuwerten sind, um in der Frage der Notwendigkeit des Na und seiner doppelten Funktion als Nähr-Na und als osmotischer Faktor in den Na-Salzen überraschend klare Antwort zu erhalten.³

¹ 1 cm^3 einer 3% igen $ClNa$ -Lösung enthält $0.03\text{ g } ClNa = 11.8\text{ mg } Na$, auf die rund 10 cm^3 Gelatine in der Eprouvette verteilt, enthielt nun der Kubikzentimeter $MgCl_2$ -Gelatine $1.18\text{ mg } Na$, beziehungsweise, da auch in der zweiten *DJ*-Eprouvette Dichtsaaatleuchten zu sehen war, ist der Schwellenwert für Leuchten und Entwicklung der dreifache Wert der bei Direktimpfungen übertragbaren Nähr-Na-Menge, da in diese zwei *DJ* am 9. April, 23. April und 10. Mai direkt geimpft wurde.

² Diese enthielt sonach in 10 cm^3 : 2 cm^3 einer 3% igen $ClNa$ -Lösung [$0.06\text{ g } ClNa = 23.6\text{ mg } Na$] $23.6\text{ mg } Na$. Damit ist aber die für *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch auf anderem Wege (p. 272) bestimmte untere Grenze der Entwicklungs- und Leuchtmöglichkeit erreicht [0.5% $ClNa = 0.2\%$ Na ; $20\text{ mg } Na$; vgl. auch p. 278].

³ Besonders der Ausfall des $MgCl_2$ -Teilversuches zeigt die Unersetzbarkeit des Na durch das Mg in ernährungsphysiologischer Hinsicht und erklärt alle Versuchsüberraschungen vorheriger Experimente durch Verwendung löslichen Na-haltigen Glases oder durch Übertragung von Nähr-Na mit der Platinnadel oder durch die schwere Reinigung des $MgCl_2$ von Na-Spuren. Auch Gerretsen's und Molisch's mit von vornherein Na-haltigem Substrate gemachten Beobachtungen über den Leuchtwert des $MgCl_2$ stimmen mit dem vorstehenden Versuchsergebnisse völlig überein.

VI.

Der abschließende Versuch des Jahres 1927.

Die Erfahrungen des eben behandelten Versuches über Tiefenleuchten und Na-Bedürfnis wurden nun mit denen des Abschnittes IV verquickt.¹

Von der Stammlösung¹

1000	T destilliertes Wasser
5	reinstes Witte-Pepton
20	Glyzerin
0·2	MgSO ₄
0·2	K ₂ HPO ₄
0·2	Ca(NO ₃) ₂
Spur	FeSO ₄

erhielt jedes Kölbchen 100 cm³ zu den mit 20/100 ClNa isosmotischen Salzengen. Alle Kölbchen wurden je dreimal sterilisiert, um die in Peptonlösungen spontan auftkommenden Bakterien sicher zu töten.²

Die Impfung erfolgte am 4. Juni 1927, 4¹/₄ bis 6¹/₄ Uhr nachmittags von der photographierten Na-Br-Eprouvette des in V beschriebenen Gelatineversuches mit den auf p. 282 und 283 beschriebenen Vorsichtsmaßnahmen² zunächst je in die DJ Nr. 1, 6, 11, 16, 21, 26, 31, 36, 41 und 46, von denen jeweilig mit den gleichen Vorsichtsmaßnahmen — Glühen der Nadel, Abwaschen der glühenden Nadel in konzentrierter HCl und in destilliertem Wasser in Jenenser Glaseprouvetten, neuerliches Glühen und Abkühlen — mit Zwischensterilisation in die Abimpfkolben geimpft wurde. Über den Erfolg vgl. Fig. 11 b der Taf. II.

Hervorzuheben ist (1.) die Tatsache, daß diesmal auch in den Flüssigkeitskulturen typische Tiefenkolonien, und zwar direkt auf dem Kölbchenboden zu sehen waren. Trotz der Entfernung vom O der Luft leuchteten sie — den Hefeflecken Hansen's vergleichbar — intensiv³ (s. p. 275). Am 7. Juni war (2.) in den Dichtsaaten, die am 6. und 7. Juni das Maximum der Leuchtleistung aufgewiesen hatten, die Bakterienentwicklung bereits derart stark geworden, daß durch Bakterienatmung bedingtes Verlöschen der Kulturen feststellbar war.⁴

Na₂SO₄ ergab diesmal (3.) gleichzeitig mit den anderen Na-Salzen den Maximalerfolg, ließ jedoch in Übereinstimmung mit früheren Erfahrungen (p. 271, 277) schon am 7. Juni den Leuchteffekt in anschaulicher Weise abflauen. Daß ab 10. Juni eine neue Glanzperiode in diesem Salze auftrat, beweist Fig. 4 der Taf. I.

Die Erklärung dieser Erscheinung mag darin liegen, daß das erste Optimum dem zunächst durch die augenblickliche Dissoziation des relativ schwer dissoziierenden Salzes in der Nährlösung der Leuchtbakterie zur Verfügung stehenden Na danken sei, worauf nach dessen Ausbeutung auch eine durch Schütteln der Kölbchen bewirkte O-Zufuhr nicht behebbare, länger andauernde Depression einsetzt, die erst dann behoben erscheint, wenn die ausgiebige Dissoziation des Na₂SO₄ selbst beginnt oder die Bakterie es fertig bringt, das Na aus dem Salze abzubauen und es sich nun dauernd nutzbar zu machen. Dazu kommt, daß wegen der schwereren Assimilierbarkeit des Na₂SO₄ geringere Bakterienmengen die Nutznießer des gebotenen O sein mögen als in den für die Entwicklung optimalen Nährlösungen der Salze NaNO₃, NaCl und NaBr.

Danach wäre folgerichtig in den Lösungen mit diesen Salzen nach mehr minder langen Leuchtoptimum überaus rasches Veratmen des O und damit parallel gehende rasche Herabminderung des Leuchteffektes zu erwarten gewesen. In der Tat blästen die Kolben der NaNO₃-, NaCl- und NaBr-Kolonne mit Ausnahme des Kölbchens 47, dessen Bakterien [vgl. p. 291] aus einer einzigen Kolonie langsam herangewachsen waren und daher der Zahl nach relativ weit hinter den anderen zurückstanden, kaum 10 Minuten nach dem Aufschütteln bereits merkbar ab (Fig. 3 und 4).

¹ In Verwendung kamen frischgekauft, d. h. noch zu keinem Versuche benutzte 200 cm³-Erlenmeyer-Kölbchen aus Jenenser Glas, die mit reiner HCl und viel destilliertem Wasser gereinigt und bis zur neutralen Reaktion ausgespült wurden. Die Wattestöpsel wurden aus reiner Braun'scher Watte frisch hergestellt. Die für die osmotische Wirkung bestimmten Salze wurden nach Wägung auf eben frischgereinigten Unterlagen sofort die Kolben im kristallisierten Zustande eingeschüttet.

Die Stammlösung wurde reinsten, frischgekauften, in der gewohnten Weise gereinigten 5 l-Erlenmeyer-Kolben aus Jenenser Glase hergestellt, und zwar zunächst 50/100 reines Witte-Pepton in der Hitze in destilliertem Wasser gelöst und durch reines Filtrierpapier und reinste Glasrichter filtriert, worauf in der weinklaren Flüssigkeit die oben genannten Substanzen gelöst wurden.

² Vgl. Punkt 9, p. 282. Wieder war es möglich, die Na-Flamme völlig zum Verschwinden zu bringen.

³ Diese Leuchtbakterien- oder »Lichtflecke« waren am 6. Juni bei den NaBr-Kölbchen Nr. 38, 39 und 40 und am Juni 1927 bei den NaNO₃-Kölbchen Nr. 48, 49 und 50 zu sehen. Bezeichnend damit wohl im Zusammenhange stehend, das prächtige Leuchten auch ohne Schütteln am 6. Juni.

⁴ Von wurde bei der Versuchskontrolle der Leuchteffekt durch Schütteln und damit verbundenem O-Zutritt verstärkt.

Optimales Leuchten war (4) am 6. Juni bei den Direktimpfungen sämtlicher Na-Salze, am 7. Juni das gleiche in der charakteristischen blaugrünen Farbe bei den Kölbchen 38, 39 und 40 der NaBr-, dem Kölbchen 43 der NaCl- und dem Kölbchen 46 der NaNO_3 -Kolonie nachweisbar.¹ In der Folge hielt sich der Glanzeffekt insbesondere in Form eines ganz eigenartigen Blaugrün mit unbeschreiblich schönem Mondscheinglanze bei NaBr und NaNO_3 ,² und zwar zunächst bei Kölbchen 38, 39, 40 und 46, 48, 49, 50 am 7 beziehungsweise 7 8. und 9. Juni, worauf das aus einer einzigen Kolonie langsam zur Entfaltung gekommene Bakteriengut des Kölbchens 47 folgte.

Der so lange in den NaNO_3 -Kölbchen nachweisbare Glanzeffekt war nun wohl wieder auf die N- oder O-Vorräte des Nitrats oder auf eine durch ein Denitrifikationsvermögen der Leuchtbakterie bedingte intramolekulare Atmung³ zurückzuführen und mochte in dem Grade an Wirkung auf den Beobachter gewinnen, als in den anderen Kölbchen der Peptonstickstoff ausgebeutet wurde.

Der Versuch zeigte (5.) einwandfrei, daß jene Menge Na, die in 100 cm^3 einer 5 0 / $_{100}$ Witte-Peptonlösung (= 0.18 mg Na⁴) vorkommt — ganz abgesehen vom selbstverständlichen Versagen der Stammlösung — auch bei sonstiger Isotonie mit 2 0 / $_{100}$ NaCl bei Verwendung von CaCl_2 , NH_4Cl ,⁵ NaNO_3 und MgCl_2 weder Entwicklung noch Leuchten ermöglicht. Nur in KCl stellte sich zunächst in den DJ-Kölbchen und vom 9. Juni 11 Uhr vormittags auch in den Abimpfkulturen 17, 18 und 20 ein in seiner Stärke zunehmendes, mit dem der Na-Salz-Kulturen aber kaum vergleichbares Leuchten und eine entsprechende Bakterienentwicklung ein⁶ (vgl. Fig. 3 und 4).

Danach scheint das KCl im Einklang mit den Erfahrungen des Abschnittes V unter den darbotenen Salzen als die für die Assimilation des Nähr-Na durch die Leuchtbakterie günstigste osmotische Substanz,

die hier, wo in den 100 cm^3 der Stammlösung schon 0.18 mg Nähr-Na⁴ geboten wurden, die Entwicklungsnachhilfe zu leisten vermochte, im Epruvettenversuche, wo aber zunächst nur etwa der 10. Teil dieser Menge vorhanden war, versagen mußte und erst dann seine osmotische Wirkung mit Erfolg entfalten der Lage war, als durch die mit der Impfnadel übertragene Na-Menge der Entwicklungs- und Leuchtschwellenwert erreicht oder überschritten war. Für diese Deutung spricht jedenfalls die nach der erfolgten Selbstphotographie der Leuchtbakterien ihren Kölbchen am 11. bis 13. Juni 1927, am 20. Juni 1927 durchgeführte Neuimpfung der steil gebliebenen, respektive sterilisierten Kölbchen (siehe Fig. 11b der Taf. II).

Zusammenfassung.

Dem schon von Beijerinck, Dubois, Gerretsen, Mc. Kenney, Molisch und anderen Autoren, die sich mit der Zucht von Leuchtbakterien beschäftigt haben, als Zusatz zum Nährsubstrate benutzten NaCl kommt bei der Kultur der Leuchtbakterien und bei der Hervorrufung des Leuchtens eine doppelte Aufgabe zu:

1. eine ernährungsphysiologische und
2. eine osmotische.

Als geringste Menge ClNa einerseits, die beide Funktionen als einziger Salzzusatz relativ höherer Konzentration zu einer rund 5 0 / $_{100}$ reinsten Witte-Pepton enthaltenden Stammlösung gerade noch

¹ Der schon in IV und V erwiesene fördernde Einfluß des NaBr auf Leuchten und Entwicklung konnte diesmal durch eine gewisse Anpassung der Leuchtbakterien an das NaBr seine Erklärung finden, da einer NaBr-Epruvette abgeimpft wurde.

² Vgl. p. 274 u. f.

³ Richter O., VI.

⁴ Witte-Pepton enthält nach Witte 0.1 0 / $_{100}$, nach Bojanovsky 0.12 0 / $_{100}$ ClNa (p. 268), woraus sich für 0.5 0 / $_{100}$ Pepton 0.0005 g [= 0.5 mg] ClNa oder 0.197 rund 0.2 mg Na berechnen läßt.

⁵ In Kölbchen 11, der DJ der NH_4Cl -Reihe war am Impftage abends ebenso wie in den KCl- und NaCl-DJ- Leuchten zu sehen, das aber in Nr. 11 schon am nächsten Tage verlosch.

⁶ Vielleicht enthält das KCl purissimum pro analysi doch noch soviel Na, daß es mit dem Na des Peptons den Schwellenwert des Nähr-Na erreicht.

Hervorgehoben zu werden verdient auch das völlige Klarbleiben der Kulturflüssigkeiten in allen Kolonnen I, II, III, V und VI bis zum Tage der Photographie. Eine neuerliche makro- und mikroskopische Kontrolle der Kölbchen 7 und 22 am 1. Juni 1927 und eine makroskopische aller anderen nicht leuchtenden Kölbchen zeigte Trübung in 1, 6 bis 10, 21 bis 25 und in den durchmikroskopierten Flüssigkeiten Bakterien, die der Bakterie des NaNO_3 , Kölbchen 46 glichen, so daß unter Umständen auf Entwicklung ohne Leuchtfähigkeit geschlossen werden müßte, wodurch Gerretsen's Ansicht von der Bedeutung des Na für die Leuchtstoffbildung noch mehr Wahrscheinlichkeit gewänne.

besorgen kann, erwiesen sich unter den angewandten Versuchsbedingungen für die kultivierten Leucht-
bakterien 0·5% ClNa (= rund 0·2% Na).

Andrerseits konnte für *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch noch vorzügliches von prächtigem
Leuchten begleitetes Wachstum bei 5% ClNa festgestellt werden. 6% ClNa war bereits zuviel. Das
Optimum der ClNa-Zugabe liegt bei den untersuchten Leuchtbakterien bei rund 2 bis 3% ClNa.

Mit 1 bis 2% ClNa isosmotische Salzzusätze wie NaBr, NaNO₃, Na₂SO₄, NH₄Cl, KCl, KNO₃,
CaCl₂, MgCl₂ zu der entsprechenden Stammlösung ermöglichen bei den angewendeten Vorsichtsmaß-
nahmen erst dann Entwicklung und Leuchten der von Ostseeheringen wiederholt abgezüchteten, zu
den typischen Peptonbakterien im Sinne Beijerinck's gehörigen systematisch erst noch näher zu
charakterisierenden Leuchtbakterie, wenn sie selbst Salze des Na sind oder wenn bei deren all-
fälliger anderer Natur gewisse geringe Mengen einer Na-Verbindung der betreffenden osmotisch
abgestimmten Lösung zugesetzt werden.

Um welch geringe Quantitäten an Na-Salzen es sich hiebei handelt, geht daraus hervor, daß jene
Spur Na-Salz, die bei der Impfung von einer Na-Salz-Stammkultur an der Impfnadel haften
bleibt, genügen kann, um bei der entsprechenden osmotischen Abstimmung der Lösung mit einem
Na-freien Salze zu dem im Peptonnährmedium unvermeidlich vorhandenen ClNa-Mengen hinzugefügt,
mehr minder gute Entwicklung und mitunter sogar prächtiges Leuchten auszulösen.

Der ClNa-Gehalt reinsten Witte-Peptons wurde von Witte selbst mit 0·1% angegeben.
Die in 100 cm³ einer 0·5prozentigen Lösung von Witte-Pepton-Nährlösung vorhandene Menge von
0·5 mg ClNa [= 0 197 mg Na] muß knapp unterhalb des Schwellenwertes für die Entwicklung
und das Leuchten der gezüchteten Leuchtbakterie liegen, da die Zutat von bloß 0·5 mg ClNa
[= 0·2 mg Na] genügte, um unter den gegebenen Verhältnissen¹ einwandfreie, vielfach optimale Entfaltung
und Leuchten der Bakterien zu gestatten. Bei vergleichenden Versuchen mit Nährlösungen, die die oben
genannten Salze in isosmotischen Mengen zugesetzt erhalten, zeigte sich, daß ähnlich wie bei den seiner-
zeitigen Versuchen mit Meeresdiatomeen nicht dem Chlor, sondern dem Na des Kochsalzes die
ernährungsphysiologische Bedeutung zukommt.

Die im Witte-Pepton unvermeidlich vorhandene Menge Na, vermehrt um jene Na-Menge, die
dem Substrate zugegeben werden muß, um Entwicklung und Leuchten der Bakterien auszulösen, bildet
sonach das

Nährnatrium.

Bei den mit 2% ClNa isosmotischen Zutaten von NH₄Cl, KCl, KNO₃ und CaCl₂ beträgt diese
Menge¹ 1 mg NaCl [= 0·4 mg Na]; mindestens 0·2 mg Na², bei Zusatz von 6·94% MgCl₂ gibt erst
eine größere Menge Nähr-Na (s. p. 285 und Fig. 11a der Taf. II) den gewünschten Erfolg.

Es sind sonach in der Tat Spuren Nähr-Na, die für das Einsetzen von Wachstum und
Leuchten der Leuchtbakterien in osmotisch gleichartig abgestimmten Nährlösungen von ausschlag-
gebender Bedeutung sein können.

In dieser ernährungsphysiologischen Funktion kann das Na durch kein verwandtes Element,
nicht einmal durch das nächstverwandte K oder das schon von Molisch für das Leuchten als
sehr förderlich erkannte, besonders aber von Mc. Kenney und Gerretsen für das Leuchten der Leucht-
bakterien als entscheidend angegebene Mg ersetzt werden.

Dieser Nachweis der Notwendigkeit des Nähr-Na für eine Meeresleuchtbakterie glückte durch die
fortschreitende Eliminierung von Fehlerquellen, die durch die ursprüngliche Verwendung von
Agar, leicht löslichem Glase, Na-Spuren als Verunreinigung enthaltende Nährsubstanzen gegeben waren,
durch Verringerung der Gefahr dieser Spuren mit Hilfe der Verdünnung nach dem Muster, das Molisch
in seinen ernährungsphysiologischen Untersuchungen mit Algen und Pilzen für alle späteren ein-
schlagigen Versuche mit anderen Organismen richtunggebend niedergelegt hat, weiter mit Hilfe von
Kölbchen und Eprovetten aus Jenenser Glase und durch Überimpfung mit geglühter, zur Ablösung
des anhaftenden Na in konzentrierte HCl getauchter, nachher in destilliertem Wasser gewaschener und
wieder geglühter Platinnadel — zum ersten Male und schuf hiemit eine entsprechende Parallele
zu dem von mir erbrachten Nachweise der Notwendigkeit des Na für braune und farblose Meeres-

¹ S. VI., p. 286.

S. a. p. 272, 278.

diatomeen. Gleichzeitig wird auf diese Weise eine auf Grund dieser älteren Untersuchungen geäußerte Vermutung von Benecke, daß halophile, insbesondere Leuchtbakterien möglicherweise Na zur Ernährung benötigen könnten, experimentell als zutreffend erwiesen.

Bei vergleichenden Versuchen über die ernährungsphysiologische Eignung des NaCl, NaBr, NaNO₃ und Na₂SO₄ erwiesen sich NaNO₃, NaBr und NaCl in der Reihenfolge der Nennung fast durchgehend vorteilhafter für Entwicklung und Leuchten der kultivierten Bakterie als Na₂SO₄¹, was entweder auf eine vorübergehende oder dauernde hemmende Wirkung der SO₄-Ionen auf die Bakterie oder auf die schwerere Dissoziation des Na₂SO₄ zurückzuführen sein mag.

Das oben angegebene Ernährungsminimum von rund 0·2 mg Na, das in der Kulturflüssigkeit unbedingt vorhanden sein muß, um Wachstum und Leuchten der Meeresleuchtbakterien auszulösen, ist überdies Vorbedingung für die Auswirkung der zweiten von den diversen Autoren bisher allein studierten osmotischen Funktion des ClNa.

Diese zweite, die osmotische Wirkung des ClNa auf die kultivierte Leuchtbakterie ist im Gegensatz zu der ernährungsphysiologischen an keines der im ClNa vorkommenden chemischen Elemente gebunden. In dieser Funktion ist, wie die oben genannten Autoren, insbesondere Molisch, auch schon gezeigt haben, ClNa durch NH₄Cl, ClK, Cl₂Mg, Cl₂Ca, KNO₃, NaNO₃, NaBr, Na₂SO₄ und viele andere Salze (s. Fig. 8 der Taf. II) ersetzbar, von denen sich NaNO₃, NaBr und MgCl₂, in bestimmten Fällen auch Na₂SO₄ (Fig. 3 und 4) zur Erzeugung prächtigster Leuchteffekte und vorzüglicher Entwicklung besonders eignen.

Diese Auffindung von der Doppelfunktion des NaCl ist um so bedeutungsvoller, als Gerretsen dem Na eine Funktion bei der Leuchtstoffbildung zusprechen möchte. Vielleicht wird sich der Leuchtstoff als eine Na-Verbindung herausstellen, wie das Chlorophyll nach Willstätter eine Mg-Verbindung ist. Vielleicht wirkt das Na auch bloß als Energieüberträger.

Bedeutungsvoll ist die erwähnte Auffindung aber auch deshalb, weil sie uns allerhand einander widersprechende Angaben früherer Autoren (s. I.) verständlich macht. War doch Gerretsen's Stammlösung für seine vergleichenden Untersuchungen über die Wirkung von An- und Kationen auf Entwicklung und Leuchten von Leuchtbakterien eine Fischbouillon von Meerestischen (!) und war doch die Stammgelatine von Molisch mit NaOH neutralisiert.

Zum Studium der Doppelfunktion des ClNa erwiesen sich Gelatineschüttelkulturen als besonders geeignet. Es hat sich gezeigt, daß unter den Bedingungen des »Tiefenleuchtens«, also des weitgehend verminderten O-Zutrittes in hochgefüllter Gelatineeprouvette, die kultivierte Leuchtbakterie besonders empfindlich auf Mangel an Nähr-Na reagiert.

Neuerliche Studien über das Tiefenleuchten der Ostseeleuchtbakterie haben 2% Glyzerin und 2% Traubenzucker in NaNO₃ oder ClNa-Gelatine als besonders vorteilhaft für das Auftreten und die Dauer dieses Tiefenleuchtens erwiesen. Dagegen unterdrückt meist 2% Laevulose das Tiefenleuchten ebenso wie Entwicklung und Oberflächenleuchten der Bakterie.

Auch sind weitere Stützen der in meiner Arbeit über das Tiefenleuchten von Leuchtbakterien geäußerten Anschauung erbracht worden, daß der große Leuchteffekt der Ostseeleuchtbakterie bei Gegenwart von NaNO₃ auf eine Entbindung von O, auf einen Denitrifikationsvorgang im Sinne Jensen's zurückzuführen sein dürfte, eine Annahme, die um so weniger von der Hand zu weisen ist, als Issatschenko ebenso wie Gustav Klein ja denitrifizierende Leuchtbakterien gefunden haben.

Als typische Peptonbakterie im Sinne Beijerinck's lehnte die Ostseeleuchtbakterie KNO₃, NH₄Cl, Asparagin als einzige N-Quelle oder in ihrer gegenseitigen Vereinigung als N-Lieferanten völlig ab. Hühnereiweiß bedingte in Übereinstimmung mit einschlägigen Erfahrungen von Molisch mit *Bacterium phosphoreum* (Cohn), Molisch deren optimale Entwicklung und brillantes Leuchten, Hühnerei-dotter nicht.

Über die interessanten morphologischen Veränderungen der Leuchtbakterien unter den oft recht hohen Konzentrationen der Nährlösungen — wurde der Ostseebakterie doch das Na₂SO₄ in 4·86%, MgCl₂ in 6·96% und dem *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch ebenfalls alle Salze mit 2% ClNa isosmotisch, also in Konzentrationen z. B. von 5·68% [Na₂HPO₄], 2·8% [Na-Azetat], 4·58%

¹ Bezüglich einer interessanten, allerdings erst nach vorheriger Depression einsetzenden besonderen Förderung vgl. p. 286.

[Na-Oxalat], 5·6% [KJ] oder 5·24% [NaJ] geboten — sowie über die systematische Stellung der Ostseeleuchtbakterie soll in einer eigenen Arbeit berichtet werden. An sich auffallend war jedenfalls die Widerstandsfähigkeit des *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch gegen 5·6% JK, 5·24% NaJ und 4·58% Na-Oxalat.

Schriftenverzeichnis.

- Beijerinck M. W., I. Le *photobacterium luminum*, bactérie lumineuse de la mer du nord. Archiv Néerlandaises T. XXIII, 1889, p. 2 des Sep.-Abdr., zit. nach Molisch, VII, p. 104.
- II. Les bactéries lumineuses, dans leurs rapports avec l'oxygène. Extrait des Archives Néerlandaises, T. XXIII, p. 416 bis 427 (1889), zit. nach Molisch, H. VII, p. 124. Vgl. auch Bot. Zentr., Bd. XCVI, 1904, p. 298.
- III. Kulturversuche mit Zoochlorellen, Lichenogonidien und anderen niederen Algen. Bot. Zeitg., 1890, p. 744.
- IV. Over lichtvoedsel en plastisch voedsel van Lichtbacteriën. Overgedrukt uit de Verslagen Mededeelingen der K. Akad. van Wetenschappen. Afdeling Natuurkunde 2 d. Reeks. Deel., VII., 1890, p. 239 bis 302. — Ders. Sur l'aliment photogène et l'aliment plastique des bactéries lumineuses. Extrait des Archives. Néerlandaises, T. XXIV, p. 369 bis 442. Zit. nach Molisch, H. VII, p. 113.
- V. Photobacteria as a reactive in the investigation of the chlorophyllfunction. Koninklijke Akademie Wetenschappen te Amsterdam. Juni 26. 1901, zitiert nach Molisch VII, p. 125.
- Benecke Wilh., Bau und Leben der Bakterien. Leipzig—Berlin. Verl. B. G. Teubner, 1912.
- Chodat R. et de Coulon, La luminescence de deux bactéries. Arch. scienc. phys. et nat., 1916. Genève, p. 237 bis 239. Ref. C. f. B. u. P., II. Abt., 51. Bd., Jena, 1920, p. 231.
- Colwell R. C., Comparative Analysis of several Peptones. Ber. d. Vers. d. Society of American Bacteriologists. Ref. C. f. B. u. P., II. Abt., Bd. 45, p. 375.
- Coulon A. de, Etude de la luminescence du *Pseudomonas luminescens*. Thèse de Neuchâtel 95 pp. 1916. Ref. Bot. Centr., 39. Jg., 1918, Bd. 138, 2. Halbjahr, p. 407.
- Dehérain, Ann. agron. 1897, Bd. 23, S. 49, u. 1898, Bd. 24, S. 130 zitiert nach Jensen.
- Dubois R., Sur la production de la phosphorescence de la viande par le *photobacterium sarcophilum*. Extr. des Annales de la Société Linnéenne de Lyon. T. XXXIX., 1892, p. 12 (zit. nach Molisch, H. VII, p. 104).
- Dunbar, Die Differentialdiagnose zwischen den Choleravibrionen und anderen denselben nahestehenden Vibrionen. Zeitschr. f. Hygiene usw., Bd. XXI, 1896, p. 295 (zit. nach Molisch, VII, p. 110).
- Fuhrmann F., Über Nahrungsstoffe der Leuchtbakterien. Verh. d. 85. Vers. d. Ges. Deutscher Naturf. Ärzte zu Wien, T. II, 1. Hälfte, Leipzig 1914, p. 638 bis 639. Ref. C. f. B. u. P., II. Abt., 51. Bd., Jena 1920, p. 231.
- Gerretsen F. C., I. Die Einwirkung des ultravioletten Lichtes auf die Leuchtbakterien. C. f. B. u. P., 2. Abt., 44. Bd., 1916, p. 660. II. (Groningen, Holland). Über die Ursachen des Leuchtens der Leuchtbakterien. C. f. B. u. P., II. Abt., Bd. 52, Nr. 16 und 17, p. 353.
- Harvey E. N. und Morisson Th. F., The minimum concentration of oxygen for luminescence by luminous bacteria. Journ. Gen. Physiol. 1923, Bd. 6, 13—19; Ref. Bot. Centr.-Bl. 1924,5, Bd. 4, Neue Folge, p. 10.
- Jensen Hjalmar, Denitrifikation und Stickstoffentbindung in Lafar. Fr. Handbuch d. technischen Mykologie, III. Bd., p. 185 bis 189, Jena, Verl. v. Gust. Fischer.
- Jost L., Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., Verl. von G. Fischer in Jena, 1908 (vgl. auch p. 279).
- Issatschenko B., I. Die leuchtende Bakterie aus dem südl. Bug (Bull. Jard. bot., St. Petersburg, XI, 2, p. 44 bis 49, 1911. Russisch mit deutschem Resumé).
- II. Erforschung des bakteriellen Leuchtens von *Chironomus (Diptera)*, ebenda, p. 31 bis 43, 1911. (I. II. ref. in Bot. Centrbl., 1911, Bd. 117, II. Halbjahr, p. 225, II. auch in C. f. B. u. P., 1912, 33. Bd., p. 335).
- König J., Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genussmittel, Berlin, Jul. Springer, 1904, 4. Aufl., 2. Bd., p. 550.
- Kutscher, I. Ein Beitrag zur Kenntnis der den Choleravibrionen ähnlichen Wasserbakterien. C. f. B. u. P., Bd. XV, 1894, p. 44, zit. nach Molisch, VII, p. 110.
- II. Zur Phosphoreszenz der Elbvibrionen, ebenda, Abt. I, Bd. XVIII, 1895, p. 424 (zit. nach Molisch, VII, p. 110).
- Lafar F., Handbuch der technischen Mykologie, Bd. III, p. 185 und 189. Verlag v. G. Fischer in Jena, 1904 bis 1906.
- I. Abschnitt: Der Kreislauf des Stickstoffs, 6. Kap.
- Lode A., Experimente mit Leuchtbakterien, Ber. d. natur-med. Vereines in Innsbruck, Jahrg. XXXI., 1907/08, p. XXIII und XXIV. Ref. C. f. B. u. P., 2. Abt., 22. Bd., 1909, p. 421.
- Mc. Kenney R., Observations of the conditions of lightproduction in luminous Bacteria. Proceedings of the Biological Society of Washington. Vol. XV., 1902, p. 213 (zit. nach Gerretsen, II, p. 354).
- Molisch H., I. »Über die Notwendigkeit des Eisens für Pilze« in »Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen«. Jena, Verl. von G. Fischer, 1892, p. 97.
- II. Die mineralische Nahrung der Pilze, Sitzb. d. Kais. Akad. d. Wiss. Wien, Bd. CIII, Abt. I, 1894.
- III. Die Ernährung der Algen (Süßwasseralgae, II. Abhandl.), ebenda, Bd. CV, Abt. I, 1896, p. 16 des Sonderabdrucks.
- IV. Über das Leuchten des Fleisches insbesondere toter Schlachttiere, Bot. Zeitg., 1903, p. 1 und 15.
- V. Die Leuchtbakterien im Hafen von Triest. Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss., Bd. CXIII, Abt. I, p. [513] 1, in Wien, 1904.
- VI. Über das Leuchten von Hühnereiern und Kartoffeln, ebenda, Bd. CXIV, Abt. I, Jänner 1905, p. 3.
- VII. Leuchtende Pflanzen. Eine physiologische Studie. 2. Aufl., Jena 1912. Verl. v. G. Fischer.
- VIII. Pflanzenbiologie in Japan auf Grund eigener Beobachtungen. Jena, Verl. v. G. Fischer, 1926, p.

- Nadson G. A., Zur Physiologie der Leuchtbakterien (Bull. du jardin impér. botan. de St. Pétersbourg, Tom. VIII, 1908, p. 144 bis 158). (Russisch mit deutschem Resumé.) C. f. B. u. P., II. Abt., Bd. 24, 1909, p. 219.
- Norden Carl v., und Salomon Hugo, Handbuch der Ernährungslehre, Berlin, Verl. Jul. Springer, 1920, p. 649.
- Ost H., Lehrbuch der chemischen Technologie, Leipzig, 1922, Verl. M. Jänecke, p. 301 [1920, p. 200].
- Reinelt J., Beitrag zur Kenntnis einiger Leuchtbakterien, C. f. B. u. P., Abt. II, Bd. XV, 1906, p. 289.
- Richter O., I. Die Biologie der *Nitzschia putrida*, Benecke, Denkschriften d. Kais. Akad. d. Wiss. Wien, mathem.-naturw. Kl., 1909, Bd. 84, p. [660] 4.
- II. Über die Notwendigkeit des Natriums für braune Meeresdiatomeen, Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien, mathem.-naturw. Kl., Abt. I, Bd. 118, 1909, Sitzung vom 14. Okt. p. [1337]. 1.
- III. Die Reinkultur und die durch sie erzielten Fortschritte vornehmlich auf botanischem Gebiete, Progressus rei botanicae 1913, 4. Bd., p. 314.
- IV. Über den Einfluß verunreinigter Luft auf Heliotropismus und Geotropismus, Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss., mathem.-naturw. Kl., Bd. CXV., Abt. I, 1906, März, p. [265] 1.
- V. Über das Zusammenwirken von Heliotropismus und Geotropismus, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVI., H. 4, 1909, p. 481.
- VI. Bakterienleuchten »ohne Sauerstoff«, Molisch-Festschrift. Planta, Archiv f. wiss. Bot., 2. Bd., 4. und 5. Heft, 1926, p. 569.
- Rysselberghe, zitiert nach Jost, p. 496.
- Salomon, vgl. Norden.
- Schleiermacher A., Über blitzende Blüten, Verh. d. naturw. Vereines in Karlsruhe 1908 (zit. nach Molisch, H. VII, p. 187).
- Weber Fr., Über ein neues Verfahren, Pflanzen zu treiben. Acetylenmethode, Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien, math.-naturw. Kl., Abt. I, 125. Bd., 3. und 4. H., p. [20] 20.

Figurenerklärung.

Tafel I.

- Fig. 1. Nachweis der fördernden Wirkung des Weißen eines Hühnereis auf die als Peptonbakterie im Sinne Beijerinck's erkannte von Ostseeheringen abgezüchtete mikroärophile Leuchtbakterie, die sich sonach ähnlich verhält wie *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch in dessen Versuchen.

Die Aufnahme erfolgte im eigenen Lichte der Bakterie. Man sieht deutlich die scharfe Grenze zwischen Eidotter und Eiveiß. Die eine der beiden Petrischalen zeigte auch ein Leuchten der von Pepton freien Überschichtungsflüssigkeit [vgl. p. 276].

- Fig. 2. Aufnahme einer Auswahl von Eprouvetten aus dem in V. beschriebenen Versuche über die Notwendigkeit des Na für die rein gezüchtete Ostseeleuchtbakterie in Eprouvetten aus Jenenser Glase nach Zutat von »Nähr-Na« als NaCl zu den vorher steril gebliebenen Eprouvetten (vgl. p. 282, 285 und Fig. 11a der Taf. II).

Von links nach rechts: 1. NaBr, 2. NaNO₃, 3. NaBr, 4. NaCl, 5. Na₂SO₄, 6. KCl*, 7. KCl, 8. MgCl₂*, 9. MgCl₂, 10. MgCl₂ Direktimpfung, 11. MgCl₂. 12. Stammlösung.* Davon haben die mit * bezeichneten einen entsprechenden NaCl-Zusatz erhalten.

Entwicklung und Leuchten der Leuchtbakterie traten in KCl und MgCl₂ erst dann und dort ein, wo der Schwellenwert des Nähr-Na-Minimums unter den Bedingungen der osmotischen Abstimmung durch die genannten Salze überschritten worden war.

- Fig. und 4. Aufnahme des in Fig. 11b der Taf. II dargestellten in VI. [p. 286] beschriebenen Versuches über die Notwendigkeit des Na für die Ostseeleuchtbakterie in Erlenmeyer-Kölbchen aus Jenenser Glas vom 10. Mai 1927 — im eigenen Lichte. Kölbchenaufstellung bei der Photographie am 11. Juni und 20. Juni 1927.

Reihe	NaNO ₃	NaCl	NaBr	Na ₂ SO ₄	MgCl ₂	KNO ₃	NH ₄ Cl	CaCl ₂	Stamml.	KCl
V.	50	45	40	35	30	25	15	10	5	20
IV.	49	44	39	34	29	24	14	9	4	19
III.	48	43	38	33	28	23	13	8	3	18
II.	47	42	37	32	27	22	12	7	2	17
I.	46	41	36	31	26	21	11	6	1	16

Es leuchteten intensiv am 11. Juni 1927 nur die mit Na-Salzen versetzten Kölbchenkulturen. Man ist imstande, im Lichte der Leuchtbakterien sogar die Aufschrift »Schott in Jena« zu erkennen und die Blautiftbezeichnungen der Kölbchenflüssigkeiten zu entziffern.

Die maximale Leuchtleistung kommt in Fig. 3 den Na₂SO₄-Kolbenkulturen zu, die, wie aus Fig. 11b der Taf. II ersichtlich ist, eine vorgängige Depression aufzuweisen hatten. In den Kölbchen mit NaCl und NaBr sowie in 3 Kölbchen mit NaNO₃ war bereits die Atmungsleistung der massenhaft entwickelten Bakterien stark, daß die beim Aufschütteln erzielte Maximalleuchtleistung von den sehr empfindlichen photographischen Platten trotz der sehr lichtstarken Linsen nicht mehr festgehalten werden konnten. Diese Kölbchenflüssigkeiten sehen also matter aus als die mit Na₂SO₄ versetzten.

Das NaNO₃-Kölbchen Nr. 47 dagegen gerade auf der Höhe seiner Leuchtleistung und leuchtete in blauem Lichte.

Die KCl-Kölbchenreihe leuchtete in vier Kölbchen am 11. Juni so schwach, daß diese nur mit Mühe am rechten Flügel der Aufstellung erkannt werden können. Von den übrigen Kölbchen sieht man nur Reflexlichter von dem Lichte der Kölbchen mit Na-Salzen.

In der Zeit vom 11. bis 20. Juni nahm die Leuchtleistung der NaNO_3 -Kölbchen Nr. 46 bis 50 derart ab, daß sie nur schwer in Fig. 4 links festgestellt werden können. Dagegen zeigt sich das Neueinsetzen eines Optimums bei den NaCl-, NaBr- und Na_2SO_4 -Kölbchen, wobei besonders der Umstand Interesse erweckt, daß auf der Oberfläche der Kölbchenflüssigkeiten inselartig oder am Glase kranzartig neue Leuchtkoloniezentren entstehen, die man in der Fig. 4 besonders bei Lupenbetrachtung vorzüglich sieht.

Wieder verraten nur Lichtreflexe die mit 0.4 mg ClNa versehenen übrigen Kölbchen, woraus zu schließen ist, daß in diesem Falle mit 0.4 mg ClNa der Schwellenwert an Nähr-Na für die gezüchtete Leuchtbakterie den osmotisch abgestimmten Flüssigkeiten noch nicht erreicht war.

Das KCl-Kölbchen Nr. 18 war mit Absicht als einzig stärker leuchtendes KCl-Kölbchen nach vorn gestellt worden, um die Gesamtversuchsanstellung besser zu markieren als in Fig. 3, wo es noch nicht auf der gleichen Höhe der Entwicklung war.

Der Versuch beweist wie der vorgängige Eprovettensversuch mit Jenenser Glas, daß nur dann Entwicklung und Leuchten der Meeresleuchtbakterie erwarten ist, wenn eine gewisse Menge Nähr-Na in der Kulturflüssigkeit vorhanden ist. Bei den KCl-Kölbchen ist wohl zumal mit Rücksicht auf den vorgängigen Eprovettensversuch an eine geringe Verunreinigung des Salzes durch Na zu denken (vgl. p. 287).

Fig. Photographie einiger das Phänomen des Tiefenleuchtens der gezüchteten Ostseeleuchtbakterie besonders instruktiv zeigender Dünnsaat-Schüttelkulturen mit 2% Traubenzucker neben Pepton als Kohlenstoffquelle.

Von links nach rechts:

2%	Traubenzucker	+ 2.9%	NaNO_3	mit 29 Kolonien
2		+ 2.9	NaNO_3	34
		+ 2.0	NaCl	7
2		+ 2.0	NaCl	7
	Stammlösung	+ 2.9	NaNO_3	10
		+ 2.0	NaCl	30

Danach eignet sich Traubenzucker gut für Versuche über das Tiefenleuchten. Neuerdings erwies sich NaNO_3 für das Tiefenleuchten als sehr geeignet.

Die Eprovettengrenzen wurden durch Mg-Licht gewonnen, nachdem sich die Bakterienkolonien im eigenen Lichte photographiert hatten.

Fig. 6, 1 bis 3 bezieht sich auf den in IV., p. 277 beschriebenen Versuch mit Kölbchen aus Jenenser Glase, bei dem die Reinigung der Platinnadel durch Salzsäure vor der Zwischenimpfung noch nicht durchgeführt wurde.

Eine Kontrolle der Leuchtleistung wurde hier mit photographischem Papiere durchgeführt. Man sieht (6, 1a), daß die photographische Wirkung der KCl-Kölbchenkulturen kaum sichtbar war, während mit den Leuchtbakterien-Kulturflüssigkeiten der NaNO_3 - und NaBr-Kölbchen intensive Schwärzungen zu erzielen waren (Fig. 6, 2 und 3).

Fig. 7a und b sind den in Fig. 6 dargestellten analoge Aufnahmen der photographischen Leistung des den in den Kulturflüssigkeiten enthaltenen Bakterien ausgestrahlten Lichtes, wobei insbesondere Fig. 7b dartut, inwieweit das Abimpfen aus einer KCl-Kultur und das Abspülen der Nadel in einer von NaCl möglichst freien Lösung den Entwicklungs- und Leuchterfolg mit beeinflußt.

Die mit den geraden Ziffern bezeichneten Photographien betreffen die photographische Leistung des Leuchtbakterienlichtes in den jeweilig zu zweit geimpften Kölbchen. Man sieht, wie sie bei den zweiten (Abimpf-)Kölbchen der KCl- und CaCl_2 -Reihe nach dem Abspülen der Platinnadel abnimmt oder ganz verschwindet.

Die Schatten in den keine Nummer zeigenden Papieren sind durch das Werfen des Papiers beim Aufkleben auf die ursprüngliche Tabelle entstanden.

Tafel II.

Fig. 8. Tabellarische Übersicht des auf p. 269/270 beschriebenen Agarversuches mit *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch, E = Entwicklung, L = Leuchten.

Fig. 9. Tabellarische Übersicht des auf p. 272 beschriebenen Versuchs über das Verhalten des *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch zu verschiedenen Kochsalzkonzentrationen.

Fig. 10. Tabellarische Übersicht des p. 273 u. f. beschriebenen Versuchs über die Notwendigkeit des Na für Leuchtbakterie.

Fig. 11a und b. Die tabellarischen Übersichten der V und b VI beschriebenen Versuche mit der gleichen Ostseeleuchtbakterie über die Notwendigkeit des Na.

In den Eprovetten sind durch Punkte die Leuchtbakterienkolonien angedeutet, und zwar in ihrer Verteilung in der Gelatine an der Oberfläche, beziehungsweise bis zum Grunde der Eprovette (Tiefenleuchtphänomen). DJ = Direktimpfungseprovette.

Richter Oswald. Natrium ein notwendiges Nährelement für eine marine mikroärophile Leuchtbakterie

Tafel I.

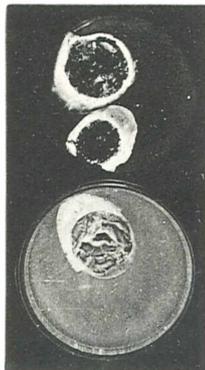


Fig. 1 „Leuchtende Eier“
Fig. 2) Versuche über d. Notw. d. Na. in
Fig. 3) Jenenser Glase.

Fig. 1



Fig. 2

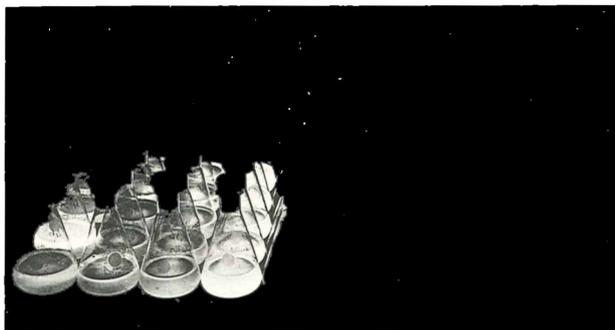


Fig. 3



Fig. 4

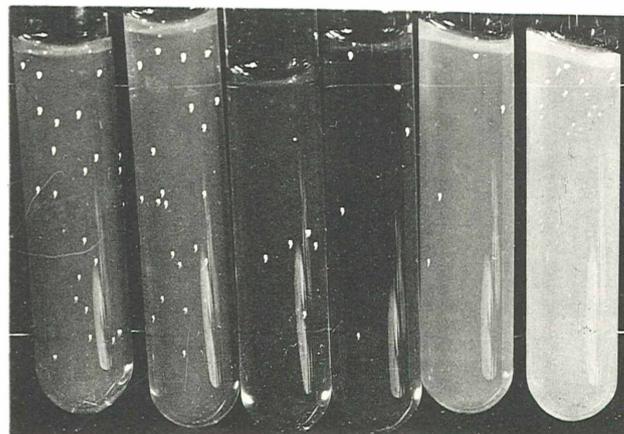


Fig. 5

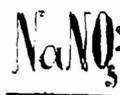


a



b

Fig. 6₂



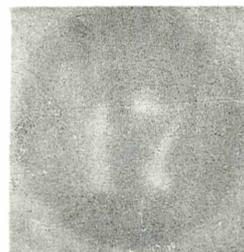
a



b

Fig. 6₂

Fig. 6



a



b

Fig. 6₃

Lichtdruck v. Max Jaffé, Wien.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Denkschriften der Akademie der Wissenschaften.Math.Natw.Kl. Frueher: Denkschr.der Kaiserlichen Akad. der Wissenschaften. Fortgesetzt: Denkschr.oest.Akad.Wiss.Mathem.Naturw.Klasse.](#)

Jahr/Year: 1928

Band/Volume: [101](#)

Autor(en)/Author(s): Richter Oswald

Artikel/Article: [Natrium ein notwendiges Nährelement für eine marine mikroärophile Leuchtbakterie \(mit 2 Tafeln\). 261-292](#)