

# Vererbungsphysiologische Untersuchungen an Arten von *Penicillium* und *Aspergillus*.

Von

Alexandrine Haenicke.

Mit Tafel II und 11 Abbildungen.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden im Botanischen Institut der Universität Bonn ausgeführt und im Juli 1915 abgeschlossen.

Meinem sehr verehrten Lehrer, Herrn Professor Fitting, danke ich auch an dieser Stelle aufs wärmste für seine Anregung und das Interesse, mit dem er trotz seiner Abwesenheit von Bonn während der Kriegszeit meine Arbeit unterstützte und förderte, so daß es mir trotz der Ungunst der Zeit ermöglicht war, meine vor dem Kriege angefangenen Versuche zum Abschluß zu bringen.

## Einleitung.

Die Zahl der Arbeiten, die sich damit beschäftigen, auf experimentellem Wege erbliche Abänderungen bei einer Gruppe niederer Pflanzen, nämlich den Bakterien, zu erzeugen, ist in dem letzten Jahrzehnt, besonders aber seit etwa fünf Jahren ganz ungeheuer angewachsen, ohne daß man freilich bisher in der Deutung der gefundenen Erscheinungen zu Übereinstimmung gelangt wäre. Man ist sich nicht einig, wie weit man sie dem Begriff der erblichen Anpassung, dem der Vererbung erworbener Eigenschaften, dem der Modifikation, der Mutation oder sonst einem in der Vererbungswissenschaft aufgetauchten zuordnen soll. Das wird begreiflich, wenn man, stets nur unter Berücksichtigung der experimentell einwandfreien Untersuchungen, sieht, wie mannigfaltig und verschiedenartig die erzeugten Veränderungen auftreten und sich bei Weiterkultur verhalten. Jeden-

falls erscheint in dieser Hinsicht das Bild sehr viel bunter, als es, abgesehen von den sog. Kombinationen, bei den höheren Pflanzen bisher der Fall ist, mit denen sich ja aus den verschiedensten Gründen so viel schwieriger arbeiten läßt. Das ist wohl das interessanteste Ergebnis dieser experimentellen Studien, die infolgedessen für die Vererbungsprobleme von allergrößter Bedeutung zu werden versprechen und viel mehr Beachtung verdienen dürften.

Als sehr wichtig erscheint mir namentlich der Nachweis, daß, übrigens ähnlich wie z. B. bei *Paramaecium* (Jennings 1910 und 1913 und Jollos 1913 und 1914), durch extreme Einflüsse Veränderungen experimentell hervorgerufen werden können, die, unter normale Bedingungen zurückversetzt, mehrere oder viele Generationen lang sich erhalten lassen. Von gleicher Wichtigkeit ist die Beobachtung, daß die erblichen und viele der nicht erblichen Abänderungen durch ein und dieselben, prinzipiell nicht verschiedenen Bedingungen veranlaßt zu werden scheinen und in ganz ähnlicher Weise auftreten.

Auf dem Gebiete der Fadenpilze, von denen sich viele ebenso leicht, ja noch leichter und sicherer als die Bakterien rein kultivieren lassen, ist dagegen die Zahl der Arbeiten über experimentell erzeugte erbliche Änderungen noch verschwindend klein. So ist zur Zeit noch keine klare Einsicht in die Frage möglich, ob diese Organismen bei experimentellen Eingriffen sich ebenso mannigfaltig wie die Bakterien verhalten, mit denen sie im Stoffwechsel so weitgehende Ähnlichkeit besitzen, oder mehr Übereinstimmung mit den Blütenpflanzen zeigen.

Hier sind in erster Linie E. Chr. Hansen's (1898, 1906, 1907) bekannte, vorbildlich exakte Studien über asporogene Heferassen zu nennen. Bei allen von ihm untersuchten sporenbildenden Heferassen vermochte er, ausgehend von isolierten Zellen, die Einzellkulturen entstammten, die in Bierwürze entstandenen Abkömmlinge einer jeden einzelnen von ihnen, indem er die Kulturen hohen Temperaturen aussetzte, die nahe dem Maximum für die Sporenbildung lagen und gerade noch Sprossung zuließen, zu erblicher Asporogenie zu bringen, die sich bei 18jähriger Züchtung in Bierwürze, auch unter normalen Temperaturverhältnissen nicht wieder verlor. Auch nicht sofort sporenos ge-

wordene Zellen ließen sich übrigens durch Weiterzucht in hohen Temperaturen doch schließlich in die asporogene Form überführen.

E. Schieman (1912), die ohne Bedenken den Mutationsbegriff im Sinne de Vries', Johannsens und anderer auch auf Pilze für anwendbar hält, stellte sich die Aufgabe, das Mutationsprozent bei *Aspergillus niger* durch extreme Außenbedingungen, Gift- und Temperatureinflüsse, zu erhöhen. Da 178 ungeretzte Kulturen bei *Asp. nig.* nur eine Mutante, dagegen 397 gereizte acht ergaben, schloß sie aus diesem Anwachsen von  $\frac{1}{2}$  auf 2%, daß eine außerordentliche Steigerung der Mutabilität von *Asperg. niger* durch starken Reiz stattgefunden habe. Es ist aber doch wohl bedenklich, aus einer ungleichen, ziemlich beschränkten Zahl von Kulturen, die im zweiten Falle mehr als doppelt so groß war wie im ersten, ohne weiteres den erwähnten Schluß zu ziehen. Wären noch 229 ungeretzte Kulturen in Betracht gezogen, so hätten ja unter ihnen ebenso gut mehrere mutierte auftreten können. Der Sprung wäre dann weniger deutlich, vielleicht gar nicht vorhanden gewesen. Auch muß man wohl, nach meinen Erfahrungen, damit rechnen, daß Selbsttäuschungen bei solchen Versuchen durch zufällige Infektionen mit fremden Sporen möglich sind, die sich eben beim Arbeiten ohne Impfkasten, wie es hier der Fall gewesen ist, selbst bei größter Vorsicht (vgl. Schieman S. 3) nie ganz ausschließen lassen. Im ganzen treten die erhaltenen Mutationen in den gereizten Kulturen zu selten auf, als daß man mit einiger Sicherheit von einer Giftwirkung reden könnte.

H. Waterman (1912 und 1913) will ebenfalls auf experimentellem Wege, und zwar bei *Penicillium* und *Aspergillus*, erbliche Veränderungen (»Mutationen«) erzielt haben. Sein Hauptziel war, nachzuweisen, daß jede der Mutationen sich durch einen eigenen Wert einer bestimmten Stoffwechselkonstante von der Stammmasse unterscheide. Er vergaß jedoch, zum Vergleich, die Stoffwechselkonstanten anderer hellbrauner *Aspergillus*rasen zu bestimmen, so daß sein Verfahren einen eindeutigen Schluß nicht zuläßt. Ferner kam es ihm auf Feststellung der Mutation bewirkenden »Ursachen« an, die er in vier Gruppen von Faktoren, nämlich Metallsalzen, Narkotika, Galaktose und ver-

wandten Polysacchariden, sowie in organischen Säuren fand. Nach Zusatz eines dieser Stoffe in sehr hoher Konzentration erschienen in den normalen Decken von *Penicillium* und *Aspergillus niger*, »wenn die Entwicklung nur nach geraumer Zeit nach der Impfung« einsetzte, z. T. auch erst nach mindestens einjähriger Kultur darauf, fleckenweise »Mutationen«, die sich durch langsamere Entwicklung und geringere Farbenintensität der Decken infolge von Sporenarmut verschiedenen Grades auszeichneten. Mit der Frage dagegen, die mir als die wichtigste erscheint, wie weit sich seine »Mutationen« bei fortgesetzter Überimpfung unter normalen Verhältnissen konstant erhielten, beschäftigt sich der Verfasser leider nur ganz kurz und so gedrängt, daß es nicht möglich ist, ein klares Bild davon zu erhalten.

Die von S. L. Schouten (1913 a und b, 1914) beschriebenen Mutationen fallen nicht in das Gebiet der durch greifbare Außeninflüsse bewirkten Veränderungen. Bei ihnen handelt es sich, wie bei Barbers (1907) abnorm großen Zellen von *Saccharomyces anomalus* um Fortzucht morphologisch aberranter Individuen aus abweichend gestalteten Sporen, die bei *Dematium pullulans* konidienlose Mycelien von 3 $\frac{1}{2}$ jähriger Konstanz, bei *Phycomyces nitens* var. *nana sterilis* durch Mycelübertragung über ein Jahr lang konstant bleibende Mycelien mit sporenlösen Köpfchen lieferten, wobei die Frage nach der Ursache des Auftretens solcher bizarr gestalteter Sporen offen gelassen ist.

Ebenso wenig kommen die Angaben von H. Burgeff (1912) hier in Betracht, der seine kropfige piloboloides-Form von *Phycomyces nitens* bei der Auslese unter im Wuchs abweichenden Keimmycelien auffand. Wie weit seine neuesten Forschungen (1914) zum Vergleich mit den hier geschilderten Erscheinungen von Wichtigkeit sein könnten, läßt sich noch nicht sagen, da die betreffende Arbeit vorläufig nicht vollständig vorliegt. —

So bleibt noch so gut wie alles in der Frage, ob und wodurch sich bei Fadenpilzen erbliche Abänderungen erzeugen lassen, weiteren methodischen Untersuchungen vorbehalten, die nach den verschiedensten Fragestellungen durchgeführt werden können und zweifellos dazu beitragen werden, unsere Einsicht in die vererbungsphysiologischen Probleme ganz wesentlich zu vertiefen.

Vorversuche, die ich, angeregt durch die oben erwähnten Angaben Hansens, angestellt habe, hatten das Ergebnis, daß alle in Einzellkulturen eines *Penicillium* entstandenen Sporen, die ich in einer Nährlösung mit Kupfersulfatzusatz keimen ließ, so weit sie sich entwickelten, eine Abänderung lieferten, die sich durch mehrere Impfgenerationen in gewöhnlicher, giftfreier Nährlösung konstant erhielt. In anderen Nährlösungen mit Metallsalzgehalt freilich traten nicht erbliche, inkonstante Modifikationen auf. Das lockte, der Frage nach der Wirkung äußerer Einflüsse auf die Vererbbarkeit von Veränderungen systematisch nachzugehen. Die dabei erzielten Ergebnisse nötigten dazu, die interessante Frage nach dem Zusammenhange zwischen konstanten und nicht vererbungs-fähigen Veränderungen zu beleuchten, um so mehr, als hier die Ansichten von Botanikern und Bakteriologen noch sehr weit auseinandergehen, auf Grund des verschiedenen Materials, das einstweilen noch keine einheitliche Beurteilung zuläßt.

## Abschnitt I.

### Methodik.

Bei der Auswahl des Versuchsmaterials hatte mich der Gedanke geleitet, daß einfach zu kultivierende Fadenpilze besonders geeignet seien, schon zur Erleichterung der Nachprüfung meiner Ergebnisse. Ich verwendete also einige in Reinkultur bezogene Aspergillen, vor allem *A. niger*; außerdem zwei von mir selbst im botanischen Institute der Universität Bonn isolierte *Penicillien*, so aus Weißbrot zunächst die obenerwähnte Form, die wegen der grünen Farbe der Sporen als *P. glaucum* f. H. bezeichnet sei, da ich sie nicht näher zu bestimmen wagte. Ein weiteres, aus Käse isoliertes *Penicillium* f. F. steht *P. Roqueforti* Westling sehr nahe. Alle diese Pilze gedeihen üppig auf festen und flüssigen Nährböden, so daß eine größere Anzahl von Impfgenerationen in verhältnismäßig kurzer Zeit zu erhalten ist. Ungünstig ist dagegen, daß sich bei der mangelnden oder nur selten, unter ganz besonderen Verhältnissen auftretenden sexuellen Fortpflanzung nicht entscheiden läßt, ob die von mir erzeugten Veränderungen auch durch

sexuelle Sporen (Ascosporen) sich rein erhalten lassen. Diese Frage zu entscheiden, wäre besonders wünschenswert, da nur wenige Angaben über die Erhaltung von Veränderungen nach einer Kopulation existieren (Ehrlich 1909 und 1912, Gonder 1912 hinsichtlich Trypanosomen negativ entschieden, Jennings 1910 und 1913 für *Paramecium* positiv, Jollos 1913 a und b, 1914 für *Paramecium* sowohl positiv als negativ) und Unterlassung solcher Prüfung die Anerkennung der Veränderungen als »erblichen« vielleicht erschweren könnte. Ich selbst habe von der Wahl solcher Pilze mit sexueller Fortpflanzung abgesehen, weil meine Stämme zu langsam und auf meiner Normallösung so gut wie gar nicht wuchsen, sowie aus anderen Gründen.

### 1. Gewinnung von Reinkulturen.

Ich will hier vor allem bemerken, daß ich grundsätzlich möglichst alle Manipulationen im Impfkasten vorgenommen habe, so weit es sich nicht später um einfaches Überimpfen konstanter Stämme handelte, das am Arbeitstisch, unmittelbar an der Gasflamme, mit jeder erdenklichen Vorsicht vorgenommen wurde, so daß ich Infektionen nie dabei beobachten konnte. Auch die Petrischalen mit den Kulturen wurden im Impfkasten unter tubulierten Glasglocken, die mit Wattepfropfen verschlossen waren und auf mattgeschliffenen Glasplatten standen, aufbewahrt. Ohne diese Vorsichtsmaßregel ist es in einem nicht eigens für bakteriologische Zwecke eingerichteten Laboratorium nach meinen Erfahrungen unmöglich, Petrischalen infektionsfrei zu halten. Die zu oberst stehenden Schalen wurden außerdem stets noch mit einem Gewicht beschwert, und es wurde dafür gesorgt, daß durch gleichmäßige Verteilung der ausgesäten Sporen auf der Oberfläche des Nährbodens möglichst rasch eine zusammenhängende, lückenlose Decke des betreffenden Pilzes entstand, wodurch gleichfalls einer Infektion entgegengearbeitet wird. Trotzdem ist bei der Beurteilung älterer solcher Platten stets Vorsicht geboten.

Die Notwendigkeit, von einer einzelnen Zelle auszugehen, ist bekanntlich grundlegende Bedingung für alles Arbeiten mit niederen Organismen auf dem Gebiete der Erblichkeitsforschung. Ich isolierte die ersten Ausgangszellen nach der Burrischen Methode, die Penicillien, nachdem sie zuvor durch eine Anzahl von Platten „gereinigt“ waren. Von Zeit zu Zeit wurden von den ursprünglichen Einzellkulturen neue angelegt. Ebenso wurde jede experimentell erzeugte Abänderung mehrfach im Laufe der Impfgenerationen als Einzellkultur gezogen. Später, als es sich darum handelte, zu gleicher Zeit eine große Zahl von ihnen zu erhalten, wandte ich die wesentlich einfachere Methode O. Hagem's (1910 a) an. Es wurde eine Platinöse Konidien in ca. 50 ccm dest. sterilisiertem Wasser durch starkes Schütteln verteilt, einige ccm davon wurden in weitere 20 ccm dest. steril. Wasser übertragen und je 1 bis 2 ccm von diesen auf der Oberfläche einer mit Pflaumensaftgelatine oder Biomalzagar beschickten Petri-

Schale nach dem Erstarren ausgegossen. Durch Kippen der geschlossenen Schale verteilt sich das sporenhaltige Wasser gleichmäßig auf dem Agar. Darauf läßt man keimen, 12 bis 24 Stunden, je nachdem, ob man es mit Aspergillen oder mit Penicillien zu tun hat. Man erhält dann die einzelnen gekeimten Konidien in genügend weitem Abstände voneinander, so daß man sie bequem ausstechen kann, ohne Gefahr zu laufen, mehrere zugleich zu fassen. Dazu nimmt man die Schale aus dem Impfkasten — ich verschließe sie vorsichtshalber immer mit einem Kautschukband —, stellt unter dem Mikroskop schnell fest, wo isolierte Zellen gekeimt sind, und hebt, wieder im Impfkasten, die betreffende Stelle, die man sich mit dem Ölstift markieren kann, mit dem sterilen Messer ab und überträgt in die gewünschte Nährlösung. Bei Anwendung einer genügend dünnen Agarschicht und entsprechend niedrigen Schalen brauchen diese außerhalb des Impfkastens gar nicht geöffnet zu werden. Bei der Größe der in Betracht kommenden Sporen ist diese Methode die einfachste. Allerdings ist es unvermeidlich, daß hierbei eine geringe Menge Agar mit übertragen wird. Das hat sich aber in vielen Fällen nicht als störend erwiesen. Wo dies jedoch ins Gewicht fiel, z. B. wenn Gift direkt auf isolierte Sporen einwirken sollte, mitübertragener Agar den Einfluß des Giftes auf die keimende Spore aber verzögern könnte, ferner wenn möglichst gleichartige Entwicklungsbedingungen für Einzell- und Vielzellkulturen gleichzeitig geschaffen werden sollten, habe ich die Methode noch etwas modifiziert. Anstatt in dest. Wasser wurde die möglichst geringe Sporenmenge in Nährlösung geschüttelt, dann in der gleichen Weise, wie oben beschrieben, die Zahl der Sporen so verringert, daß, wenn die zuletzt erhaltenen 50 ccm sporenhaltiger Nährlösung schließlich zu je 5 ccm in *P e t r i*-Schalen ausgegossen wurden, höchstens in jeder 10 bis 20 Sporen keimten. Man braucht nun kaum mikroskopisch zu kontrollieren; denn ist wirklich einmal eine der mit der Platinnadel herausgefischten gekeimten Sporen mit einer anderen im Zusammenhang geblieben, so löst sie sich bei der Übertragung in die Kölbchen entweder gleich oder sehr bald davon, und man hat eben nicht eine Einzell-, sondern eine Zweizellkultur, die man dann einfach beseitigt. Öfter dagegen kommt es vor, daß die aufgefangenen Sporen beim Herausnehmen der Nadel in die Schale zurückgleiten, so daß man eine sporöse, steril bleibende Fehlkultur erhält. Die Sicherheit des sterilen Arbeitens und die Einfachheit und Schnelligkeit, mit der man nach dieser Methode Einzelkulturen in großer Zahl erhalten kann, wiegen diesen unbedeutenden Übelstand leicht auf. Will man absolut sicher gehen, so kann man durch Überführung der gekeimten Spore zunächst in eine sterile feuchte Kammer mikroskopisch genau feststellen, ob es sich in der Tat um eine einzelne Konidie handelt. Sehr oft ist diese Prüfung unerlässlich und daher meist vorgenommen worden.

## 2. Behandlung der Kulturgefäße und der ausgeschalteten Kulturen.

Alle Kulturgefäße wurden vor der Benutzung von mir selbst mit Sodawasser ausgekocht und gebürstet, schließlich mit kochendem Wasser gespült. Die ausgeschalteten Kulturen wurden fünf Minuten lang bei 120° autoklaviert.

Nach dieser Zeit sind Mycel und Sporen unfehlbar abgetötet. Die mit kaltem Wasser gereinigten Kölbchen wurden dann in der obigen Weise weiter behandelt.

### 3. Nährböden.

Von Nährlösungen verwandte ich für *Penicillium* die von Westling (1912) in seiner Monographie der grünen Spezies der Gattung *Penicillium* angegebene Weidemannsche, die in 1000 ccm dest. Wasser je 1 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  und  $\text{MgSO}_4$ , 2,5 g  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  und 30 g Rohr- oder Traubenzucker gelöst enthält, für *Aspergillus* die Pulstsche (Schiemann 1912: in 1 Liter dest. Wasser 1,035 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 0,13 g  $\text{KNO}_3$ ; 0,16 g  $\text{MgSO}_4$ ; 5 g Pepton (Witte); 40 g Rohrzucker), beide ohne Zusatz von Eisen oder Säure. Als feste Nährböden benutzte ich: Malzagar (2 % Agar + 7 % Biomalz) und Pflaumensaftgelatine (15 % Gelatine zu 1000 ccm mit Wasser verdünnten klaren Saft von 1 Pfund Backpflaumen), die in der üblichen Weise geklärt wurden.

### 4. Wirksame Faktoren und Dauer der Einwirkung.

Als wirksame Faktoren zog ich bei meinen Versuchen hauptsächlich chemische Stoffe in Betracht. Das Gift wurde, wo es nicht ausdrücklich anders bemerkt ist, stets nur in einer Impfgeneration angewendet. Zur Prüfung auf Konstanz wurden ihre Sporen vor allem auf giftfreie Nährlösung abgeimpft und darauf oder auch wohl auf Agarnährböden durch immer erneute Abimpfungen von einer Impfgeneration zur anderen fort und fort weiter kultiviert. Wo also von Konstanz die Rede ist, handelt es sich immer um Beharren einer Veränderung bei Fortfall des wirksamen Faktors unter natürlichen Bedingungen.

### 5. Verteilung des Nährbodens und Herstellung der Nährlösungen mit Giftzusatz.

Es wurden stets je zwei Liter der Nährlösungen hergestellt, und diese Stammlösungen dann außerhalb des Impfkastens auf die einzelnen Kölbchen verteilt. Die im Autoklaven 20 Minuten bei  $120^\circ \text{C}$  sterilisierten Stammlösungen wurden dabei in Mengen von je 20 ccm in Erlenmeyer-Kölbchen von 100 ccm Inhalt gegossen und nochmals fünf Minuten lang sterilisiert. Die betreffenden (sterilisierten) Giftlösungen wurden im Impfkasten zu den erkalteten Lösungen zugefügt. Trotzdem waren bei höheren Konzentrationen oft Fällungen nicht zu vermeiden, konnten aber außer acht gelassen werden, weil höhere Konzentrationen in meinen Versuchen kaum als verändernder Faktor in Betracht kamen und weil sich diese Niederschläge häufig mit dem Älterwerden der Kulturen wieder auflösten. Um was es sich bei diesen Fällungen handelte, habe ich nicht weiter untersucht. Für die Nährlösungen mit Giftzusatz wählte ich die Giftkonzentrationen 1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 40 000, 1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 2 000 000, 1 : 40 Mill. und 1 : 800 Mill. g in der angegebenen Flüssigkeitsmenge (meist 20 ccm).



Die Giftlösungen wurden in doppelter Konzentration hergestellt und davon die berechneten Mengen der betreffenden Nährlösung zugesetzt (z. B. 5 ccm von 1 : 1000 verdünnt mit 15 ccm Nährlösung gibt die Konzentration 1 : 4000). Da das immerhin gegenüber den Kontrollkulturen zu etwas verschiedenen Nährlösungskonzentrationen führte, die, wie ich später sah, von Bedeutung waren, habe ich den Fehler dadurch verringert, daß ich mir eine 1 proz., eine  $\frac{1}{10}$  proz. und eine  $\frac{1}{100}$  proz. Giftlösung herstellte, die ich aus einer Bürette zufließen ließ, wodurch die Nährlösung höchstens um 1 bis 2 ccm verdünnt wurde. Es braucht wohl kaum besonders hervorgehoben zu werden, daß die Konzentrationen, die geringer sind als 1 : 2 Mill. (1 : 40 Mill. und 1 : 800 Mill.) nur in sehr weiten Grenzen Anspruch auf Genauigkeit machen können, weshalb ich sie als Giftspuren bezeichnen will.

Meine Absicht war es anfänglich, die gleichen Konzentrationen einmal, wie eben beschrieben, während der ganzen Lebensdauer einer Impfgeneration, daneben aber zugleich nur während der ersten Keimungsstadien einwirken zu lassen, in der Hoffnung, die Frage nach einer „sensiblen“ Periode dabei vielleicht entscheiden zu können. Dazu ließ ich die Sporen in Giftnährlösungen der angegebenen Konzentrationen keimen und übertrug die jungen Keimmycelien (12 bis 24 stündigen Alters je nach der Species) in giftfreie Nährlösung. Da es aber möglich und, wenigstens bei den höheren Konzentrationen, trotz vorherigen sorgfältigen Abspülens vor der Übertragung, sehr wahrscheinlich war, daß die meist unvermeidlichen, zudem erst durch Kochen mit verdünnten Säuren sich lösenden Niederschläge den Mycelien fest anhaften blieben, so ließ sich nicht annehmen, daß wirklich keine Spur von Gift in die Nährlösung geriete, die völlig einwandfrei giftfrei hätte sein müssen. Anders verhält es sich dagegen mit den niederen Giftkonzentrationen, wo ein sichtbarer Niederschlag fehlte. Trotzdem ergaben aber Versuchsreihen, die sowohl mit *Aspergillus niger* als mit *Penicillium glaucum* f. H. angesetzt wurden, wobei die in Giftlösungen gekeimten Sporen vor Übertragung in gewöhnliche Nährlösung durch anhaltendes Waschen mit sterilem dest. Wasser nach Möglichkeit von dem anhaftenden Gift befreit worden waren, gerade auch bei den allerschwächsten Giftkonzentrationen (geprüft wurde in dieser Weise mit  $\text{PbNO}_3$  und  $\text{CuSO}_4$ , später noch mit  $\text{MnCl}_2$  und Salizylsäure) Abänderungen. Praktisch kann man hier wohl behaupten, daß die Nährlösung nach der Übertragung giftfrei sei. Da es aber vom chemischen Standpunkt aus immerhin anfechtbar ist, ob man, rein theoretisch, annehmen dürfe, daß auch hier wirklich keine Spur von Gift in die Nährlösung geriete, so ziehe ich vor, bei dieser zweiten Art von Versuchsreihen auch für die schwächsten Giftkonzentrationen nur sprungweise Konzentrationsänderung anzugeben und die Endkonzentration, die auf die späteren Entwicklungsstadien einwirkt, bedeutend kleiner als 1 : 2000, 1 : 4000 usw. zu nennen.

Übertrag ich junge Keimmycelien von *Aspergillus niger* oder *Penicillium glaucum* f. H., die sich in giftfreier Nährlösung entwickelt hatten, vor der Ausbildung der Konidienträger in Giftnährlösungen (Bleinitrat, Manganchlorid oder Salizylsäure) der genannten Konzentrationen, so erhielt ich gleichfalls Abänderungen. Es läßt sich aus diesem Verhalten folgern, wenn es auch, besonders

hinsichtlich der höheren Konzentrationen, noch eingehenderer Prüfung bedarf, daß eine besonders „sensible Periode“ weder in den ersten Keimungsstadien, noch in den älteren, vorläufig rein vegetativen Mycelien zu suchen ist. Eine einzige Beobachtung bei *Aspergillus niger* ausgenommen, wo bereits fruktifizierende Mycelien durch erneuten Gifteinfluß zur Abänderung gebracht werden konnten, ließ nichts darauf schließen, daß ältere Entwicklungsstadien, von den sonst wirksamen Bedingungen getroffen, noch abänderungsfähig sind. Systematische Versuche mit *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum* f. H., mit Bleinitrat und Salizylsäure ausgeführt, gaben wenigstens keine Abänderungen. Außerdem läßt die eine Ausnahme auch noch die Deutung zu, daß der erneute Eisenchloridzusatz bisher ungekeimte Sporen zum Auskeimen veranlaßt habe. Im einzelnen bin ich dieser besonderen Fragestellung nach der sensiblen Periode nicht weiter nachgegangen. Die angeführten Versuche stellen in dieser Richtung nichts als eine allgemeine Orientierung dar.

## 6. Kontrollkulturen.

Jeder Kulturreihe wurden zwei Kontrollkulturen zugefügt, die auf die gleiche Weise, aber giftfrei hergestellt wurden.

## 7. Temperatur.

Die Penicillien wurden im Dunkelschrank bei Zimmertemperatur kultiviert, die im Winter ziemlich konstant ca. 20° C betrug, im Sommer dagegen ebenso wie die Luftfeuchtigkeit stark schwankte. Da die Thermostaten des Institutes den Versuchen mit den Aspergillen (meist bei 33 bis 35° C) dienten, konnte ich diese Schwankungen nicht ausschließen.

## Abschnitt II.

### Versuche mit *Penicillium*formen.

#### A. Versuche mit *Penicillium glaucum* f. H.

##### 1. Morphologie.

Mein *Penicillium glaucum* f. H. besitzt auf der benutzten Nährlösung scharfbegrenzte blaugrüne Rasen (Tafel II, Abb. 14) mit mehr oder weniger deutlichem weißem Rande reich verzweigter, filziger Mycelfäden. Die Oberfläche ist eben, sammetartig. Ähnlich wie andere grüne Penicillien (Westling 1912) bildet es sowohl primäre Konidien aus, d. h. solche, die von normalerweise vorhandenen primären Konidienträgern, als auch sekundäre Konidien, die von einem sog. sekundären Mycel abgeschnürt werden. Dieses entsteht durch Auswachsen der Sterigmen erster, zweiter usw. Ordnung oder der Konidien des primären Mycels zu vegetativen Hyphenschläuchen, die bald ihrerseits wieder Konidienträger von normalem Bau entwickeln, an denen hellere, rasch vergrauernde Konidien zur Ausbildung gelangen. Außer-

dem tritt, seltener und stets erst nach dem Erscheinen der primären, resp. sekundären Konidien, glänzend weißes sog. „Lufmycel“ auf, indem die Mycelfäden des primären oder sekundären Mycels aus der Nährlösung in die Luft hinein zu einem lockeren, langhaarigen Pelz heranwachsen, der zuweilen die Kondiendecke völlig überzieht und die Deckenfarbe unerkennbar macht, aber stets durchaus steril bleibt. Die Unterseite des Rasens ist farblos. Der Geruch ist typischer Schimmelgeruch.

Auf Gelatine, die innerhalb von sechs Tagen vollständig verflüssigt wird, ist die Deckenfarbe graublaugrün, wie die Farbe der sekundären Konidien auf Nährlösung (Tafel II, Abb. 27, 1<sup>1</sup>). Die Rasenoberfläche ist, da außerordentlich reichlich Konidien abgeschnürt werden, nicht mehr glatt, sondern stark körnelig. Unterseits sind die Decken gelblich gefärbt. Der Geruch ist der gleiche wie auf Nährlösung.

Ebenso ist das Aussehen auf Agar, doch weicht das anfängliche Graublaugrün sehr bald einem Graugelb.

Die Nährlösung wird stark gesäuert, ebenso die verflüssigte Gelatine. Perithezien- und Korembienbildung wurde nicht beobachtet. Zonenwachstum (Hexenringe) kann man jederzeit auf Gelatine oder Agar erhalten, wenn man Stiechkulturen anlegt.

Die Konidienträger sind septiert, mehrfach verästelt und an den Spitzen pinselförmig verzweigt. Daneben kommen Träger vor, denen die Verästelung fehlt, die also einfache Pinsel darstellen (Abb. 1). Die glatten oder feinwarzigen Träger sind 3,7 bis 5,6  $\mu$  dick, die Mycelfäden 1,7 bis 3,4 bis 4,8  $\mu$  dick. Die Metulen, das sind nach Westling (1912) die Konidienträgeräste, an denen die Sterigmen sitzen, sind 8,5 bis 13,6  $\mu$  lang, 2,6 bis 3,4  $\mu$  dick, die Sterigmen 0,6 bis 11,9 bis 12,6  $\mu$  lang, 1,7 bis 3,4 bis 5,1  $\mu$  breit. Die kugligen oder ellipsoidischen Konidien messen 2,4 bis 3,4  $\mu \times$  3,4 bis 4,5  $\mu$ . Mißbildungen vegetativer Hyphen sind häufig. Auf Nährlösung ist die Wasserausscheidung oft so stark, daß sie die Konidienfärbung undeutlich macht oder selbst ganz verdeckt.

Bei Temperaturen oberhalb 30° C werden keine Konidien mehr gebildet. Das Optimum liegt bei etwa 25° C. Unterhalb 10° C dauert es sehr lange, bis die Sporen keimen, und es kommt nur noch zu kümmerlicher Mycelentwicklung. Bei 5 bis 7° C wurden überhaupt keine Konidien mehr beobachtet. Ich habe die Form seit Dezember 1913 in Kultur. Trotz unzähliger Weiterimpfungen ist sie stets konstant geblieben. Auch die Kultur auf festen Nährböden (Gela-



Abb. 1. *Penicillium glaucum*.  
f. H. normal.

<sup>1</sup>) Die Zahl vor dem Komma bzw. der eckigen Klammer bedeutet das zugehörige Bild der Tafel, die Zahl dahinter die Abteilung (von links nach rechts gerechnet 1 bis 4).

tine, Agar) hat ihre Eigenschaften nicht verändert. Bei Rückimpfung auf Nährlösung entstehen wieder Decken von dem typischen Aussehen.

## 2. Veränderung der Stammmasse unter dem Einfluß von Giften.

Angewendet wurden die Gifte stets in den angegebenen acht verschiedenen, außerdem, wie gleichfalls erwähnt, in acht weiteren, nicht genau bestimmten Konzentrationen. In jedem Versuch wurden zunächst einmal ungezählt viele Sporen (eine Platinöse) gleichzeitig dem Gifteinflusse ausgesetzt. Es entstanden dabei vielfach Pilzdecken, die sich durch die Sporenfärbung in der verschiedensten Weise mehr oder weniger von der Stammmasse unterschieden.

Es muß hier eingeschaltet werden, daß es fast unmöglich ist, Nüanzierungen des *Penicillium*-Grüns zu beschreiben, da bekanntlich Grünblau und seine verschiedenen Intensitäten von den wenigsten Menschen gleich empfunden oder gar als verschieden beurteilt werden. Viele sind vor allem in bezug auf dieses Gebiet des Spektrums farbenblind. Ein geübtes Auge dagegen wird leicht die verschiedenen Abstufungen wahrnehmen und noch winzige Unterschiede erkennen. Um die Färbungen der Kulturen festhalten und dauernd miteinander vergleichen zu können, habe ich die Farbe einer jeden einzelnen von ihnen und ihrer Abkömmlinge in gleichen Alterszuständen (5-, 10-, 14- und 21-tägig) in den Morgenstunden an einem Nordfenster mit Wasserfarben kopiert. Das Ergebnis hat, wie sich zeigen wird, die mühselige Arbeit durchaus gelohnt. Neben der kurzen Charakterisierung durch Worte habe ich für meine wichtigsten Formen die Färbungen in den vier angegebenen Altersstufen in einer beigefügten Farbentafel wiedergegeben. Die Farbangaben im Texte beziehen sich, wo nichts anderes gesagt ist, jedesmal auf die letzte in den Versuchen erwähnte Generation, und zwar auf das Stadium, wo reichlich Konidien abgeschnürt sind. Im allgemeinen ist das nach 5 bis 10 Tagen der Fall, selten früher oder später. Um bezüglich der Tabelle jeden Zweifel auszuschließen, füge ich jedem Hinweis auf das Farbtäfelchen die betreffende Abteilung bei, auf die sich die Farban-gabe bezieht.

Ich will zuerst meine Versuche mit Bleinitrat anführen. Sie zeigen schon hinreichend, wie eigenartig der Giftzusatz mein *Penicillium* f. H. beeinflußt.

a) Versuche mit Bleinitrat  $PbNO_3$ .

Giftkonzentrationen:

a) bei dauernd gleicher Höhe: 1 : 2000<sup>1)</sup>, 1 : 4000, 1 : 40000, 1 : 100000, 1 : 200000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.

1 : 2000: Primäre Konidien nicht verändert, sekundäre nicht ausgebildet. Die durch Selbstaussaat der primären Konidien in demselben Kölbchen entstandenen dünnen Mycelien besaßen moosgrüne Konidien, die bei Aussaat auf giftfreie Nährlösung Mycelien und Konidiendecken vom Aussehen der Stammmasse lieferten, also zurückschlugen.

1 : 4000  
1 : 40 Mill. } Konidien seegrün<sup>2)</sup>, nicht weiter kultiviert.  
1 : 800 Mill. H 10 h.

- 1. Generation<sup>3)</sup>: hellgraublaugrün.
- 2.—3. „ : hellseegrün.
- 4. „ : graugrün.
- 5.—6. „ : olivgraugrün.
- 7.—17. „ : hellgraublaugrün.
- 18. „ : dunkelforstgrün.
- 19.—20. „ : hellgraublaugrün (Tafel II, Abb. 1 [2]).
- 21.—23. „ : dunkelforstgrün.

Auf Agar und Gelatine<sup>4)</sup> von fast gleichem hellgraublaugrünem Aussehen. Sekundäres Mycel fehlt. Farbe der alten Kulturen gelblichgrau.

Die Reihe wurde noch einmal angesetzt. Nun waren die Decken allein auf den Lösungen mit 1 : 2000 und 1 : 40 Mill.  $PbNO_3$  abgeändert.

1 : 2000: hellseegrün.

1 : 40 Mill.: H 16 g.

<sup>1)</sup> Die Konzentrationen, auf denen die Decken abgeändert waren, sind gesperrt oder fett gedruckt, und zwar fett diejenigen, wo die Abänderungen darauf geprüft wurden, ob bei Sporenaussaat auf giftfreie Nährlösung Rückschlag zur Stammmasse eintrat. Platz- und Zeitmangel machte es leider unmöglich, alle Abänderungen in dieser Richtung zu prüfen. Die auf Konstanz weiter geprüften Abänderungen habe ich mit Buchstaben und Ziffern bezeichnet.

<sup>2)</sup> In allen folgenden Protokollen beziehen sich die Farbenangaben der nicht weiter geprüften abgeänderten Kulturen auf 10 Tage alte.

<sup>3)</sup> Die erste Generation ist hier, wie bei allen folgenden Kulturen, die gifthaltige Kultur, die zweite, die durch Abimpfung von der gifthaltigen auf giftfreie Nährlösung entstandene Generation.

<sup>4)</sup> Auf Gelatine wurde immer nur eine beschränkte Zahl von Kulturgenerationen verfolgt; die gelegentlichen Zahlenangaben bedeuten daher nur Abbrechen der Reihe, aber nicht Rückschlag.

1.—3. Generation: hellseegrün.

4. „ : steril.

5. „ : hellseegrün.

Da keine Konidien im Laufe von acht Tagen sichtbar wurden, sie auch nach vier Wochen noch fehlten, trotz üppig entwickelten Mycel, wurden 0,1 % Eisensulfat zugefügt, worauf sich das Mycel innerhalb von zwei Tagen dicht mit Konidien der angegebenen Farbe überzog.

5. Generation: (auf Gelatine<sup>1</sup>) übergeimpft, da auf Nährlösung ohne Eisenzusatz nicht fruktifizierend) hellblaugrünlich.

(Auf Gelatine bisher noch neun weitere Generationen der gleichen Färbung verfolgt.)

Von der 5. Gelatine-Generation wurde wieder auf giftfreie Nährlösung zurückgeimpft;

11.—21. Generation: hellseegrün (Tafel II, Abb. 2 [2]).

Neigung zu Mißbildungen der Konidienträger sowohl auf flüssigem wie auf festem Nährboden.

β) beispungweiser Abstufung: kleiner als 1:2000, 1:4000, 1:40000, 1:100000, 1:200000, 1:2 Mill., 1:40 Mill., 1:800 Mill.

Alle außer < 1:4000 ergaben graublaugrün abgeänderte Decken, die nur wenig von der Färbung der Kultur H 16 h abwichen. Deshalb nicht weiter verfolgt.

< 1:800 Mill.: moosgrüne dünne Konidiendecke, durch Selbstaussaat der allein vorhandenen primären Konidien in demselben Kölbchen entstanden. Sofort zurückschlagend.

Wie der Augenschein lehrt, läßt sich meine Penicilliumform durch Zusatz von Bleisalz zur Nährlösung sehr leicht so verändern, daß die Farbe der Konidien mit der der Stammmasse nicht mehr übereinstimmt. Auffällig und merkwürdig ist dabei aber mehreres. Erstens die Launenhaftigkeit, mit der das eine Mal bei einer bestimmten Konzentration die Abänderung auftritt, und zwar über die ganze Pilzdecke hinweg, das andere Mal bei der gleichen Konzentration ausbleibt. Diese Eigentümlichkeit findet aber möglicherweise, freilich nur zum Teil, ihre Erklärung durch die Ergebnisse von Versuchen, über die später noch berichtet werden wird, wonach oft die primären Konidien noch nicht durch das Gift abgeändert erscheinen, sondern erst die sekundären, eine Tatsache, die ja übrigens ein Analogon in dem Verhalten der ersten Kultur 1:2000 hat, worüber ich oben berichtet habe. Hier waren die primären Konidien ebenfalls nicht verändert, wohl aber die Konidien an

<sup>1</sup>) Die Farbenangaben für Gelatine, resp. Agar beziehen sich auf sechs Tage alte Kulturen, da sich die Deckenentwicklung darauf rascher vollzieht.

Mycelien, die durch Selbstaussaat jener entstanden waren, mit anderen Worten, die Konidien einer zweiten Generation auf Giftnährlösung. Möglich also, daß die Abänderungen bei Bleinitratzusatz erst dann erkennbar werden, wenn an den Mycelien sekundäre Konidien entstehen, eine Frage, auf die bei Bleinitrat nicht geachtet wurde. Auffallend ist ferner, bei was für geringem Giftzusatz zu den Nährlösungen noch Abänderungen auftreten. Bei der kaum noch nachweisbaren Menge von 1 : 800 Mill. Bleinitrat (in 20 ccm Nährlösung) war jedesmal die Farbe der Sporen von der der Stammmasse wesentlich verschieden (vgl. Tafel II, Abb. 1 u. 14). Man wird hier lebhaft an bekannte oligodynamische Wirkungen von Schwermetallsalzen erinnert, ohne hier wie dort über den Mechanismus dieser Wirkungen ins Reine kommen zu können.

Zugleich zeigen die Protokolle, daß dem Gift als solchem durchaus nicht eine bestimmte Abänderung zugeordnet ist, wie man bereits aus den Farbdigrammen von  $H_{16}g$  und  $H_{16}h$  ersehen kann.

Von ganz besonderem Interesse ist aber die Tatsache, daß sich die Abänderungen, auf giftfreie Nährlösung übertragen, ganz verschieden verhalten. Während die auf 1 : 2000 und  $< 1 : 800$  Mill. entstandenen moosgrünen Konidien dann sofort Mycelien und Konidien wie bei der Stammmasse lieferten, schlug sowohl die Abänderung, die auf 1 : 800 Mill., als auch diejenige, die auf 1 : 40 Mill. sich entwickelt hatte, nicht zur Stammmasse zurück, sondern blieb durch alle verfolgten Generationen bisher, auch auf Agar oder Gelatine davon verschieden. Bei der Form  $H_{16}g$  war die Deckenfarbe seither durch 21 Generationen konstant hellseegrün. Bei der anderen,  $H_{16}h$ , schwankte die Farbe der Decke in den aufeinanderfolgenden Impfgenerationen trotz Verwendung der gleichen Nährlösung in der gleichen Konzentration (aus einem größeren Kolben auf die Kulturkölbchen verteilt!) zwischen verschiedenen Tönen hin und her, wenn auch eine Farbe (hellgraublaugrün) an Häufigkeit überwog. Es handelt sich also zum mindesten bei einer Anzahl der experimentell erzeugten Abänderungen um Formen, auf die der Begriff der »Modifikation« nicht ohne weiteres ohne Zwang anwendbar ist, wenn auch die sämt-

lichen Konidien der Myceldecke durch den Giftzusatz einheitlich verändert erscheinen.

Auffallend ähnlich und doch auch wieder in manchem besonders wirkten auf mein *Penicillium* Zusätze anderer Gifte, nur daß vielfach ganz andersartige Farbänderungen dadurch veranlaßt wurden.

### b) Versuche mit Salizylsäure $C_6H_4(OH)COOH$ .

Konzentrationen:

α) bei dauernd gleicher Höhe: (1 : 2000, 1 : 4000), 1 : 40 000, 1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.

Entwicklungshemmung durch die höchsten Konzentrationen bis 1 : 4000; 1 : 2000 nur untergetauchtes Mycel, 1 : 4000 sterile Rasen.

Alle anderen Kulturen stumpfblaugraugrün, mit rötlichem Ton vergrauend.  
1 : 2 Mill.: H 15 f.

1. Generation: stumpfblaugraugrün.

2. „ : blaugraugrün.

3.—5. „ : grüngrau.

6.—8? „ : weißlichgrün.

9.—16. „ : mattgrauseegrün (Tafel II, Abb. 3 [2]).

Bis zur 6. Generation sehr langsames Wachstum, nur alle vier Wochen eine Abimpfung ermöglichend, seitdem aus unbekanntem Ursachen sehr viel schnellwüchsiger.

β) bei sprungweiser Abstufung: kleiner als 1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 40 000, 1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.

< 1 : 40 000: H 15 c<sub>1</sub>.

1. Generation: stumpfgraublaugrün.

2.—10. „ : mattgraublaugrün.

11.—19. „ : weißlichgrün. (Tafel II, Abb. 15 [2]).

Auf Gelatine gelbliches Mycel, hellgraugrüne Konidien (Tafel, Abb. 28 [1]), schon nach zehn Tagen bräunlich vergraut. Sekundäres Mycel mit ebensolchen hellgraugrünen Konidien. Bleibt konstant von der Stammmasse verschieden, 9 Impfgenerationen verfolgt.

< 1 : 200 000: H 15 e<sub>1</sub>.

1.—3. Generation: graublaugrün.

4. „ : bläulicholivgrün, später silbergrau.

5. „ : mattgraubläulich, Unterseite dunkelgrün.

6.—11. „ : hellgraublaugrün.

12.—20. „ : bläulicholivgrün (Tafel II, Abb. 16 [2]).

Auf Gelatine mattgraubläulichgrün (Tafel II, Abb. 29 [1]). Konstant in acht weiteren Generationen. Reihe dann abgebrochen.

< 1 : 40 Mill.: H 15 g<sub>1</sub>.

1.—3. Generation: blaugraugrün, etwas intensiver als H 15 e<sub>1</sub>.

4.—6. „ : hellseegrün, Unterseite dunkelgrün.



7.—12. Generation: blaugraugrün.

13.—21. „ : hellgrüngrau (Tafel II, Abb. 17 [2]). Sekundäre Konidien in vereinzelt Trupps.

Auf Gelatine zehn Generationen verfolgt. Anfänglich mattolivgrün. Nach sechs Tagen macht die Konidiendecke einen vollkommen uneinheitlichen Eindruck. Das gelbliche Mycel ist mit Konidien aller erdenklichen Intensitäten von Gelblich- und Bläulichgrün bedeckt. Das uneinheitliche Aussehen beruht nicht etwa auf Infektion, sondern auf der Neigung zu Mißbildungen der Konidienträger und Hyphen und der verschiedenen Länge der Konidienketten, außerdem auf der ungleichen Entwicklungsgeschwindigkeit der einzelnen Mycelien. Nach 14 Tagen ist die Decke bräunlich vergraut. (Tafel II, Abb. 30 [1]).

Die Farbdigramme der Tafel zeigen am besten, daß alle durch Salizylsäure hervorgerufenen Abänderungen untereinander sehr ähnliche Tönungen aufweisen.

### c) Manganchlorid $MnCl_2 + 4 H_2O$ .

Konzentrationen:

a) bei dauernd gleicher Höhe: 1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 40 000, 1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.

Primäre Konidien nur schwach entwickelt, nach sechs Tagen ganz von sekundärem Mycel überwuchert, scheinbar nicht abgeändert (vgl. aber das Protokoll der späteren speziellen Versuche auf S. 261 ff.), dagegen die sekundären, von denen allein hier abgeimpft wurde. Alle bis auf 1 : 40 000 sind mattweißlichblaugrün gefärbt.

1 : 40 000: mattgraugrünlichblau, bei Abimpfung sofort zur Stammmasse zurückschlagend<sup>1)</sup>.

1 : 100 000: H 19 d.

1. Generation: mattweißlichblaugrün (sek. Kon.).

2.—6. „ : graublaugrün (prim. und sek. Konidien).

7.—9. „ : graugrün (nur prim. Konidien entwickelt).

10.—17. „ : graublaugrün (prim. und sek. Konidien; letztere nicht immer vorhanden). (Tafel II, Abb. 4 [2].)

1 : 2 Mill.: H 19 f.

1. Generation: mattweißlichblaugrün (sek. Kon.).

2.—14. „ : leuchtend blaugrün, kein sekundäres Mycel, sehr schwache Tröpfchenabscheidung. Farbe der Decken ähnlich der der Stammmasse, nur fast blau, weniger grün. (Tafel II, Abb. 5 [2].)

1 : 800 Mill.: H 19 h.

1. Generation: mattweißlichblaugrün (sek. Kon.).

2.—9. „ : leuchtend blaugrün, fast blau, etwas andere Tönung wie vorstehende Kultur (nur prim. Kon.).

<sup>1)</sup> Die zur Stammmasse zurückschlagenden Kulturen wurden stets noch 3 bis 5 Impfgenerationen weiter verfolgt, um sicher zu gehen, daß keine Täuschung vorlag.

10.—15. Generation: graugrün (prim. und sek. Kon.). (Tafel II, Abb. 18 [2].)

Auf Gelatine graugelbgrün, im Alter zweifarbig vergraugend, was auf der verschiedenen Länge der Konidienketten beruht. Sekundäres Mycel fehlt. In acht Generationen verfolgt, ohne zur Stammmasse zurückzuschlagen. (Tafel II, Abb. 31.)

β) bei sprungweiser Abstufung: geringer als 1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 40 000, 1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill. Nur primäre Konidien, aber außergewöhnlich reichlich entwickelt.

< 1 : 2000: H 19 a<sub>1</sub>.

1.—3. Generation: gelbgrün.

4.—9. „ : mattgraublaugrün. (Tafel II, Abb. 6 [2].)

Zahl der Impfgenerationen so gering, da ursprünglich Weiterimpfung nicht beabsichtigt, weshalb zwischen der 1. und 2. Generation acht Monate Ruhezeit lagen.

< 1 : 4000: } gelbgrün, bei Abimpfung zur Stammmasse zurückschlagend.  
< 1 : 40 000: }

Besonders bemerkenswert ist, daß hier bei der ersten Manganchloridreihe *a* die primären Konidien der nach Giftzusatz entstandenen Generation ganz anders gefärbt sind als die sekundären, nämlich viel mehr so, wie die Konidien der Stammmasse, so daß ich lange Zeit meinte, diese primären Konidien seien überhaupt nicht verändert, besonders, da die primären Konidien der folgenden Generationen deutlich von der Farbe der Stammmasse abwichen. Sehr wahrscheinlich gilt Ähnliches gleichfalls für manche andere Giftzusätze, wenn ich dies, wie anfänglich bei den Mangankulturen, auch vielleicht verkannt habe.

#### d) Versuche mit Uranylнитrat $UO_2(NO_3)_2$ .

Konzentrationen:

a) bei dauernd gleicher Höhe: (1 : 2000), 1 : 4000, 1 : 40 000, 1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.

1 : 2000 verhindert die Keimung. Die primären Konidien werden bald nach ihrem Erscheinen von sekundärem Mycel überwuchert. Die Rasen haben dicke, wulstige Ränder, die ihnen ein ganz fremdartiges Aussehen verleihen.

Die Abänderungen erschienen hier erst mit den sekundären Konidien, von denen allein dann abgeimpft wurde. Spätere besondere Versuche, diese Verhältnisse genauer zu prüfen, vgl. S. 264 ff.

1 : 4000: H 14 b.

1. Generation: seegrüngrau.

2. „ : blaugrün, wie die Stammmasse, nebeneinander gehalten durchaus nicht zu unterscheiden).

3.—16. Generation: hellseegrüngrau. Wolliges Aussehen der Konidien-decke. (Tafel II, Abb. 7 [2].)

1 : 2 Mill.: H 14 f.

1. Generation: spangrün, nicht vergrauend.
2. „ : blaugrün, von der Stammmasse nicht zu unterscheiden.
- 3.—5. Generation: spangrün, nicht vergrauend. (Tafel II, Abb. 8 [2].)
6. Generation: Rückschlag zur Stammmasse. Blaugrüne Farbe der Decke auch in sechs weiteren Impfgenerationen, daher mit der 12. abgebrochen.

1 : 800 Mill. seegrün. Rückschlag in der 2. Generation, auch die folgenden identisch mit der Stammmasse.

β) bei sprungweiser Abstufung: kleiner als 1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 40 000, 1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.

< 1 : 2000: H 14 a<sub>1</sub>.

1. Generation: spangrün, ohne einen Stich ins Graue, selbst noch im völlig ausgetrockneten Zustande nach 18 Monaten.

2.—4. Generation: spangrün, nach zwei Monaten langsam vergrauend.

5.—12. „ : graublaugrün.

13. Generation: (nach drei Monaten Ruhezeit abgeimpft) dicke, sterile Myceldecke. Auch auf Agar und Gelatine kam es nur zur Entwicklung kümmerlichen, gelblichen Mycel. Auf Gelatine erholte sich die Kultur nach dreimaligem Übertragen von Mycel so weit, daß zunächst sehr spärliche Pinsel mit Konidien von unbestimbarer Farbe, dann durch Abimpfung von diesen eine völlig einheitliche, geschlossene Konidiendecke entwickelt wurde von blaugraugrüner, fast blauer Färbung. Aber schon in der folgenden Impfgeneration waren die Decken ganz anders gefärbt, nämlich anfangs zweifarbig lebhaft grün bis matt himmelblau, dann graugrün, graugelbgrün, aber einheitlich, um schließlich wieder doppelfarbig zu vergrauen.

Auf Nährlösung hatte sie sich nach vier Übertragungen von Mycel, das sich stets reichlich bildet, so weit erholt, daß die

18. Generation: spärliche Konidien unbestimbarer Farbe trug, während sich die nächste Generation vollständig mit Konidien bedeckte.

19. Generation: graublaugrün.

20.—25. „ : graublaugrün, fast blau. (Tafel II, Abb. 9 [2].)

26.—29. „ : graugrün.

< 1 : 100 000: H 14 d<sub>1</sub>.

1. Generation: hellseegrün, mit einem Stich ins Himmelblau.

2.—4. „ : grauseegrün.

5. „ : fast steril, Farbe nicht feststellbar.

6.—9. Generation: hellseegrün, fast himmelblau.

10. „ : ganz mattblau.

11.—13. „ : gelblichgrünblau.

14.—18. „ : wasserblau, sehr hell. (Tafel II, Abb. 19 [2].)

Auf Gelatine der vorhergehenden Kultur sehr ähnlich, zweifarbig in jedem Alter. Die Erscheinung erklärt sich hier genau so wie bei H 15 g<sub>1</sub>. Sie tritt in Gelatinekulturen, ebenso auf Agar und Nährlösung häufig auf, hat aber, wie ich betonen möchte, mit Infektion nichts zu tun. Nicht ganz gleichmäßige

Dicke der Nährbodenschicht läßt diese Eigentümlichkeit besonders deutlich hervortreten. (Tafel II, Abb. 32.)

< 1 : 2 Mill.: H 14 f<sub>1</sub>.

1. Generation: spangrün, nicht vergrauend.
2. „ : blaugrün, von der Stammrasse nicht zu unterscheiden.
- 3.—6. „ : spangrün.
- 7.—21. „ : seegrün.

< 1 : 800 Mill.: H 14 h<sub>1</sub>.

- 1.—2. Generation: hellblaugraugrün.
3. „ : olivgraugrün.
- 4.—14. „ : hellblaugraugrün. (Tafel II, Abb. 10 [2].)

Das Uranyl nitrat zeigt wiederum insofern Besonderheiten seiner Wirkung, als bei allen Konzentrationen, wo Abänderungen auftreten, sicher noch nicht die primären, sondern immer erst die sekundären Konidien abgeändert waren. Aus den Farbdiagrammen sieht man am besten, daß die Sporenfarbe der Uranformen recht verschieden sein kann, obgleich sie nicht mehr die ursprünglichen, sondern die späterhin umgeänderten Färbungen angeben. Sehr merkwürdig ist das Verhalten der sonst nicht zurückschlagenden Formen H<sub>14</sub>b und H<sub>14</sub>f<sub>1</sub>, wo die zweite Impfgeneration (also die erste auf der Nährlösung ohne Giftzusatz!) Sporen von der Farbe der Stammrasse bildete, die von diesen abgeimpften dritten und die weiteren Generationen aber wieder wie zuerst oder anders verändert waren. Ich vermag diese Eigentümlichkeit einstweilen nicht zu erklären. Vielleicht gelingt das bei weiterer eingehender Untersuchung.

#### e) Versuche mit Eisenchlorid Fe<sub>2</sub>Cl<sub>3</sub>.

Konzentrationen:

a) bei dauernd gleicher Höhe: (1 : 2000), 1 : 4000, 1 : 40 000, 1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.

1 : 2000 nur schwaches, steriles Mycel, 1 : 4000 in der Entwicklung gegenüber den anderen Kulturen gehemmt.

Primäre und sekundäre Konidien ganz hell blaugrün, nach wenigen Tagen schon gelblichgrau. Die Nährlösung reagiert neutral, bis zur Konzentration 1 : 40 000.

1 : 4000: H 11 b.

1.—2. Generation: hellbläulichgrün.

3. „ : Rückschlag zur Stammrasse, ohne daß in den folgenden Impfgenerationen die ursprüngliche oder eine andere Abänderung aufgetreten wäre.

Auf Gelatine und im Agarröhrchen blieb sie länger konstant (7 resp. 8 Generationen verfolgt), gleichfalls ganz matt hellblaugrün. Bildet ein orangegelbes Pigment. Bei Rückimpfung von Agar oder Gelatine auf Nährlösung zwei Generationen konstant, in der 3. Rückschlag zur Stammrasse wie oben. Als Agarröhrchenkultur liegt die 15. Generation vor, durch Hin- und Herimpfen von Agar auf Nährlösung und umgekehrt konstant erhalten.

β) bei sprunghafter Abstufung: schwächer als 1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 40 000, 1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.

Reaktion der Nährlösung in allen Kulturen neutral. Primäre Konidien fast hellblau, die selten auftretenden sekundären ebenso.

< 1 : 100 000: H 11 d<sub>1</sub>.

1.—4. Generation: fast hellblau, im Alter hellgelbgrau.

5. „ : blaugrün wie die Stammrasse, ebenso die folgenden Generationen.

Durch Abimpfen von der 2. Generation konstant erhalten in der 3.—18. Generation: fast hellblau.

19. „ : blaugrün wie die Stammrasse. Beim Zurückgehen auf die 16. Generation die Abänderung wieder konstant erhalten von der

17.—22. Generation: ganz matt graubläulichgrün.

23. „ : dicke, wollige, sehr lange sterile Myceldecke, dann plötzlich nach 14 Tagen fruktifizierend, hellblaugraugrünlich, in zwei Tagen vergrauend.

Ebenso die folgenden

24.—28. Generationen: lange steril, nach 14 Tagen plötzlich fruktifizierend, sehr schnell vergrauend. (Tafel II, Abb. 20 [2].)

Auf Gelatine ist die Farbe etwas kräftiger und vergraut nicht so schnell. (Tafel II, Abb. 33.) Nach fünf Generationen trat darauf Rückschlag zur Stammrasse ein.

Weitere Versuche mit der ersten (unter dem Gifteinfluß entstandenen) Generation der Abänderung: Abimpfung auf Nährlösung nach 90 Tagen ergab Konstanz in fünf Generationen, dann Rückschlag. Abimpfung nach sechs Monaten zeitigte nur noch dünnes, steriles Mycel.

Bei dreimaliger Wiederholung dieser Reihe stets bei den Konzentrationen < 1 : 4000 bis < 1 : 100 000 fast hellblaue Primärkonidien mit gelbgrauer Endfärbung, am deutlichsten bei < 1 : 100 000, ohne eine Möglichkeit, diese länger als 3 bis 5 Generationen konstant zu erhalten. Rückschlag wird sofort bewirkt durch Überimpfen auf Brot, Zwieback, Kartoffel oder Mohrrübe.

Äußerlich sieht H<sub>11</sub> d<sub>1</sub> im Farbenton *Penicillium luteum* Zukal (Amsterdamer Rasse) zum Verwechseln ähnlich, besonders auf Agar, wo beide das orangegelbe Pigment bilden. Dagegen unterscheidet sie scharf das morphologische und physiologische Verhalten. *Penicillium luteum* Zukal besitzt einen wesentlich anderen Aufbau des Trägers, schlankere Sterigmen und einheitlich ellipsoidische Konidien. (Abb. bei L a f a r, Mykologie, II.) Bei *Penicillium* H 11 d<sub>1</sub> kommen alle Formen und Größen von Konidien vor. *Penicillium luteum* Zukal

wächst so gut wie gar nicht auf Pflaumensaftgelatine, zur Ausbildung von Konidien kommt es nie darauf. *Penicillium* H 11 d<sub>1</sub> wächst zwar mit verlangsamer Geschwindigkeit darauf, schnürt aber reichliche Mengen von Konidien ab.

Im Unterschied zu den vorher besprochenen Giften sind bei Eisenchloridzusatz schon die primären Konidien und zwar ebenso wie die sekundären durch das Gift abgeändert.

Die Eisenvarianten besitzen nur beschränkte Konstanz. Nach wenigen Generationen (3 bis 5) schlagen sie ohne äußerlich erkennbaren Anlaß zur Stammmasse zurück, ohne daß es dabei von Einfluß ist, ob man von jungen oder alten Kulturen abimpft. Allerdings hat das Nährsubstrat darauf einen sehr merklichen Einfluß gezeigt, da die Überimpfung auf Brot, Zwieback, Kartoffel oder Mohrrübe sofortigen Rückschlag zur Folge hatte. Andererseits ließ er sich aber in Nährlösung auch durch Zurückgreifen auf frühere, noch nicht zum Rückschlagen neigende Impfgenerationen beträchtlich hinausschieben.

Die weiteren mitgeteilten Versuche, in denen das Mycel bis zu 6 Monaten dem Gift ausgesetzt wurde, deuten ferner darauf hin, daß die Konstanz durch längere Giftwirkung nicht erhöht wird.

#### f) Versuche mit Jodkalium KJ.

Konzentrationen:

a) bei dauernd gleicher Höhe: 1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 40000, 1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill. Entwicklungshemmung bei allen Konzentrationen. Noch nach sechs Tagen nur steriles Mycel. Primäre Konidien undeutlich ausgebildet, Farbe nicht anzugeben, rasch von gelblichem sekundärem Mycel überwuchert. Alle bis auf 1 : 2000 mit hellseegrünen sekundären Konidien, 1 : 4000 grauseegrün. 1 : 2000 nicht abgeändert.

1 : 100 000: H 18 d.

1.—9. Generation: hellseegrün.

10.—15. „ : grauseegrün. (Tafel II, Abb. 11 [2].)

β) bei sprungweiser Abstufung: geringer als 1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 40 000, 1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.

< 1 : 100 000	} hellseegrün.
< 1 : 40 Mill.	
< 1 : 800 Mill.	

Auch bei der Wiederholung dieser beiden Jodkaliumreihen traten nur seegrüne Abänderungen auf, so daß man hier zum

erstermal von einer spezifischen Wirkung eines Giftes reden könnte, wenn nicht die seegrüne Färbung auch noch durch andere Gifte, wie Bleinitrat ( $H_{16}g$ ) oder Uranyl nitrat ( $H_{14}d_1$ ) hervorgerufen würde. In der Tat ist das die einzige durch Jodkaliumzusatz erreichte Farbänderung.

g) Versuche mit Chloralhydrat  $CCl_3COH$ .

Konzentrationen:

α) beidauernd gleicher Höhe: 1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 40000,  
1 : 100000, 1 : 200000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.

1 : 40 000	} seegrün.
1 : 100 000	
1 : 40 Mill.	

Nicht auf Konstanz geprüft, da diese Deckenfarbe vielfach vertreten.

β) bei sprunghweiser Abstufung: < 1 : 2000, 1 : 4000,  
1 : 40 000, 1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.

< 1 : 40 000: H 12 c<sub>1</sub>.

1.—2. Generation: spangrün, nicht vergraend.

3. „ : graugelbgrün, im Alter olivgrün, mit gelblichem Luftmycel.

4.—5. Generation: spangrün.

6. „ : graugelbgrün.

7. „ : spangrün.

8. „ : graugelbgrün.

9. „ : spangrün.

10.—18. „ : hellgraublaugrün.

19.—24. „ : graublaugrün. (Tafel II, Abb. 21 [2].)

Auf Gelatine von ähnlicher graublaugrüner Tönung, nur kräftiger und erst nach sehr langer Zeit vergraend. Durch acht Generationen kultiviert, konstant (abgeimpft von der 6. Generation auf Nährlösung). (Tafel II, Abb. 34[1].)

< 1 : 2 Mill.: H 12 f<sub>1</sub>.

1. Generation: graugrünblau, nicht vergraend.

2.—4. „ : olivgraugrün.

5.—7. „ : blaugrün wie die Stammrasse, daher die Reihe hier abgebrochen.

< 1 : 40 Mill.: H 12 g<sub>1</sub>.

1.—6. Generation: seegrün.

7. „ : rötlichgraugrün.

8. „ : hellgraugrün.

9.—12. „ : seegrün.

13.—20. „ : bläulichgraugrün. (Tafel II, Abb. 22 [2].)

Auf Gelatine ist sie grüngrau (Tafel II, Abb. 35 [1]), konstant in zwölf Generationen<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>) Vgl. Anm. 4, S. 237.

< 1 : 800 Mill.: H 12 h<sub>1</sub>.

1. Generation: olivgrün-seegrün.

2.—4. „ : seegrün.

5.—9. „ : bläulichseegrün.

10.—15. „ : graugrünblau. (Tafel II, Abb. 12 [2].)

Wie bei Eisenchlorid wurde hier eine Form erzeugt (H<sub>12</sub>f<sub>1</sub>), die sich nur eine beschränkte Anzahl von Generationen (4) hielt, um dann zur Stammrasse zurückzuschlagen, während sich die übrigen Abänderungen bisher in vielen Generationen konstant erwiesen haben. Das Schwanken in der Sporenfarbe bei H<sub>12</sub>g<sub>1</sub> war mit großer Wahrscheinlichkeit auf schroffen Temperaturwechsel im Hochsommer 1914 zurückzuführen.

#### h) Versuche mit Sublimat HgCl<sub>2</sub>.

Konzentrationen:

α) bei dauernd gleicher Höhe: (1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 40 000),  
1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.

Bei den ersten drei Konzentrationen kommt es zu keinem Wachstum.

1 : 800 Mill.: H 13 h.

1.—3. Generation: spangrün, nicht vergrauend.

4.—6. „ : olivgraugrün.

7.—9. „ : blaugrün wie die Stammrasse, Rückschlag.

β) bei sprungweiser Abstufung: geringer als 1 : 2000,  
1 : 4000, 1 : 40 000, 1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.

< 1 : 4000: H 13 b<sub>1</sub>.

1.—4. Generation: hellgraugrün.

5.—8. „ : blaugrün wie die Stammrasse, Rückschlag.

< 1 : 2 Mill.: H 13 f<sub>1</sub>.

1.—2. Generation: spangrün.

3. „ : gelblichgraugrün.

4. „ : spangrün.

5. „ : gelblichgraugrün, gelbliches Mycel.

6.—9. „ : seegrün.

10.—12. „ : graugelbgrün.

13.—18. „ : mattgraugrün, anfänglich fast gelbgrün-wiesengrün, mit gelblichem Mycel. (Tafel II, Abb. 23 [2 u. 1].)

Auf Gelatine doppelfarbig: graugrünblau und sehr hell grüngrau, dann einheitlich hellblaugrün. (Tafel II, Abb. 36 [1, 2].) In zehn Generationen verfolgt.

Im Agarröhrchen 1.—8. Generation gelblichgraugrün.

9. Generation: blaugrün, fast blau, mit rostrottem Mycelrande.

10.—12. Generation: fast blau, ohne den rostfarbenen Mycelrand.

13.—16. „ : gelblichgraugrün.



Der Agar der 6.—14. Generation entstammte demselben Kolben, so daß die Agarzusammensetzung nicht für den beobachteten Umschlag verantwortlich gemacht werden kann. Aber auch irgendwelcher Zusammenhang mit der Temperatur war nicht zu erkennen, da die Umänderung zu einer Zeit auftrat und verschwand, als die Zimmertemperatur im Winter nur um wenige Grade schwankte.

Also auch durch Sublimat lassen sich Abänderungen erzielen, die nur eine beschränkte Anzahl (4 bis 6) Generationen konstant bleiben, dann aber zur Stammmasse zurückschlagen. Daneben freilich zeigte eine Form ( $H_{13}f_1$ ) eine recht bemerkenswert lange Konstanz.

Dieselbe Form, auf Agar gezogen, beweist, daß das Umschlagen auf bisher unbekannte Faktoren zurückzuführen ist, ohne daß ein Anhalt gegeben wäre, worin diese zu suchen seien.

#### i) Versuche mit Kaliumbichromat $K_2Cr_2O_7$ .

Bei den Vorversuchen, und zwar bei dauerndem Zusatz von 1 : 500 Mill.  $K_2Cr_2O_7$  wurde eine sandfarbene Abänderung erhalten, die aber beim Abimpfen auf giffreie Nährlösung trotz vielfachen Abimpfens stets sofort zur Stammmasse zurückschlug. Auch durch Beimpfen der abfiltrierten und frisch sterilisierten gebrauchten Nährlösung dieser Kulturen mit den sandfarbenen Sporen wurde kein besserer Erfolg erzielt. Ebenso mißlang der Versuch, durch Zusatz frischer Nährlösung sekundäre Konidien zu erhalten. Zwar überwucherten die primären Konidien rasch mit sekundärem Mycel, aber dieses blieb dann dauernd steril. Trotz wiederholten Ansetzens desselben Versuches kam nie wieder eine solche sandfarbene Abänderung zustande, auch trat sie nie bei Zusatz eines der anderen Gifte auf.

##### Konzentrationen:

α) bei dauernd gleicher Höhe: 1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 40 000, 1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.

Beförderung der Ausbildung sekundären Mycels, ehe noch die Färbung der primären Konidien deutlich erkennbar wird. Sekundäre Konidien nach 18 Tagen ganz von tertiärem Luftmycel überwuchert.

1 : 800 Mill.: spangrün.

β) bei sprungweiser Abstufung: geringer als 1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 40 000, 1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 1 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.  
< 1 : 100 000: H 10 d<sub>1</sub>.

1. Generation: spangrün, nicht vergräud.

2. „ : graugrün.

3. „ : bräunlichgrün, sehr dünnes Mycel.

4.—20. „ : spangrün, im Alter vergräud. (Tafel II, Abb. 24 [2].)

Auf Gelatine dauernd zweifarbig (zehn Generationen hindurch verfolgt), obwohl nur primäre Konidien vorhanden sind, die aber nicht gleichmäßig stark

sich entwickelt haben. Diese Unterschiede gleichen sich später nicht aus. (Tafel II, Abb. 37 [1—4].)

Bei Wiederholung beider Reihen nur 1 : 800 Mill. spangrün abgeändert.

Hier (bei 1 : 500 Mill.) ist das Auftreten einer fast farblosen, jedenfalls nicht grünen Form bemerkenswert, das auf die Möglichkeit des gänzlichen Verschwindens der Konidienfärbung bei *Penicillium glaucum* hinweist. Übrigens beruhte das sandfarbene Aussehen durchaus nicht etwa auf Konidienmangel, vielmehr waren wie gewöhnlich lange Sporenketten abgeschnürt. Leider war die einmal erzielte Form nicht konstant zu erhalten.

### k) Versuche mit Goldchlorid $AuCl_3$ .

Konzentrationen:

α) beidauernd gleicher Höhe: (1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 40000, 1 : 100000, 1 : 200000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.

1 : 2000 hindert die Entwicklung. Alle Kulturen bis auf 1 : 40 Mill. zeigen kleine, leuchtend blaugüne Konidienrasen, die nicht zu einer zusammenhängenden Decke verschmelzen und erst nach zwei Monaten vergrauen.

1 : 40 Mill.: seegrün.

1 : 800 Mill.: H 20 h.

1. Generation: leuchtend blaugrün.

2. „ : hellseegrün.

3.—4. „ : blaugrün, aber wie die Stammmasse.

5.—8. hellseegrün.

9.—15. „ : blaugrün, fast blau. (Tafel II, Abb. 25 [2].)

Auf Gelatine hellseegrün, allmählich in Silbergrau übergehend. (Tafel II, Abb. 38 [2, 4].) In acht Generationen als konstant verfolgt.

β) bei sprungweiser Abstufung: schwächer als 1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 40000, 1 : 100000, 1 : 200000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill. Keine Abänderungen.

Sehr merkwürdig verhielt sich die Goldchloridabänderung  $H_{20}h$ , indem, ähnlich wie bei einigen Uranylнитratformen, die 3. und 4. Generation scheinbar zur Stammmasse zurückgeschlagen, die späteren, davon abgeimpften Generationen aber wieder wie die ersten abgeändert waren.

### l) Versuche mit Kupfersulfat $CuSO_4$ .

Konzentrationen:

α) bei dauernd gleicher Höhe: 1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 40000, 1 : 100000, 1 : 200000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.

Keine Abänderungen.

β) bei sprunghafter Abstufung: schwächer als 1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 40 000, 1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 2 Mill., 1 : 40 Mill., 1 : 800 Mill.

< 1 : 40 000: H 6 a<sub>1</sub>.

1.—38. Generation: grünlichblau. (Tafel II, Abb. 26 [2].)

Auf Agar und Gelatine etwas mehr gelblicher Ton, aber gleichfalls dauernd konstant (seit zwei Jahren bei ca. 14tägiger Abimpfung). Bei der dreimaligen Wiederholung dieser beiden Kupfersulfatreihen wurde nur einmal eine Abänderung aufgefunden, und zwar gleichfalls bei der Konzentration < 1 : 40 000: H 6 a<sub>2</sub>. Sie war H 6 a<sub>1</sub> im Farbenton sehr ähnlich, unterschied sich aber von dieser durch das schneller eintretende Vergrauen (Tafel II, Abb. 13 [4]), was auch auf Gelatine und Agar beobachtet werden konnte. Beide Kupfersulfatformen, H 6 a<sub>1</sub> sowohl wie H 6 a<sub>2</sub>, sind durch ihre Abneigung gegen eisenhaltige Nährsubstrate besonders gekennzeichnet. Zusatz von Eisensulfat oder -chlorid, selbst in winzigen Mengen, verhindert die Ausbildung von Konidien, während alle anderen angeführten Abänderungen, ebenso wie die Stammrasse, bei Eisenzusatz äußerst üppig fruktifizieren. Allerdings wirkt er häufig gleichzeitig verändernd, weshalb er außer zu besonderen Versuchszwecken nicht zur Anwendung gelangte. —

Für alle Gifte gilt, was schon bei Bleisalz hervorgehoben wurde, daß sie mehr oder weniger launenhaft wirken, indem bei ein und derselben Konzentration bald Abänderung eintritt, bald nicht (z. B. Bleinitrat 1 : 40 Mill., Kaliumbichromat < 1 : 100 000 oder Kupfersulfat < 1 : 40 000). Nicht alle Giftreihen sind zwar ganz wiederholt worden. Stichproben indessen, die mit einigen Konzentrationen gemacht worden sind, führten zu keinen Abänderungen und seien daher nicht weiter erwähnt. Von besonderen Versuchen in dieser Richtung wird weiterhin die Rede sein.

Ähnliche Farbänderungen der Sporen können durch ganz verschiedene Gifte und umgekehrt sehr verschiedene Farbänderungen durch ein und dasselbe Gift hervorgerufen werden. Das zeigt noch deutlicher als die Protokolle die Tabelle 1 (vgl. S. 28 und 29).

Ausdrücklich sei auch darauf hingewiesen, daß Umschlag und Rückschlag genau in der gleichen Weise in Erscheinung treten wie die Abänderungen überhaupt. Immer sind, auch bei Vielzellaussaaten, alle Mycelien einer Kultur um- oder zurückgeschlagen, das eine Mal in der Generation x, das andere Mal in der Generation y; das gilt bei *Penicillium* f. H. ausnahmslos für

Tabelle I.

Farbenton	Giftkultur	Konzentration	Ort des Auftretens	Mycel-farbe	Mycel-unterseite	
I.	matt-weißlich-grün	MnCl <sub>2</sub>	I : 2000	sek. Kon.	weiß	weiß
			I : 4000	"	"	"
			I : 100 000	"	"	"
			I : 200 000	"	"	"
			I : 2 Mill.	"	"	"
			I : 40 Mill.	"	"	"
	seegrün	PbNO <sub>3</sub>	I : 800 Mill.	"	"	"
			I : 2000	prim. Kon.	"	"
			I : 4000	"	"	"
			I : 40 Mill.	prim. u. sek. Kon.	"	"
			I : 4000	sek. Kon.	gelblich	gelblich
			I : 40 000	"	"	"
	seegrüngrau	KJ	I : 100 000	"	"	"
			I : 200 000	"	"	"
			I : 2 Mill.	"	"	"
I : 40 Mill.			"	"	"	
I : 800 Mill.			"	"	"	
I : 100 000			"	"	"	
hellblaugrün	UO <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	I : 40 Mill.	"	"	"	
		I : 800 Mill.	"	"	"	
		I : 100 000	"	"	"	
		I : 40 Mill.	"	"	"	
		I : 800 Mill.	sek. Kon.	weiß	weiß	
		I : 800 Mill.	"	"	"	
hellgraugrün	CCl <sub>3</sub> COH	I : 40 000	prim. u. sek. Kon.	"	"	
		I : 100 000	"	"	"	
		I : 40 Mill.	"	"	"	
		I : 40 Mill.	prim. Kon.	"	"	
		I : 4000	sek. Kon.	"	"	
		I : 4000	prim. u. sek. Kon.	gelblich	"	
hellgraugrün	UO <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	I : 40 000	"	"	"	
		I : 100 000	"	"	"	
		I : 200 000	"	"	"	
		I : 2 Mill.	"	"	"	
		I : 40 Mill.	"	"	"	
		I : 800 Mill.	"	"	"	
hellgraugrün	Fe <sub>2</sub> Cl <sub>3</sub>	I : 4000	"	"	"	
		I : 2000	"	"	"	
		I : 4000	"	"	"	
		I : 40 000	"	"	"	
		I : 100 000	"	"	"	
		I : 200 000	"	"	"	
hellgraugrün	HgCl <sub>2</sub>	I : 200 000	"	"	"	
		I : 2 Mill.	"	"	"	
		I : 40 Mill.	"	"	"	
		I : 800 Mill.	"	"	"	
		I : 4000	"	"	"	
		I : 4000	"	"	"	
hellgraugrün	PbNO <sub>3</sub>	I : 800 Mill.	prim. u. sek. Kon.	"	"	
		I : 800 Mill.	sek. Kon.	"	"	
hellgraugrün	UO <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	I : 800 Mill.	"	"	"	
		I : 800 Mill.	"	"	"	
mattgraugrünlichblau	MnCl <sub>2</sub>	I : 40 000	sek. Kon.	"	"	
		I : 40 000	"	"	"	
graublaugrün	PbNO <sub>3</sub>	I : 2000	prim. u. sek. Kon.	"	"	
		I : 40 000	"	"	"	
		I : 100 000	"	"	"	
		I : 200 000	"	"	"	

Tabelle 1 (Fortsetzung.)

Farbenton	Giftkultur	Konzentration	Ort des Auftretens	Mycel-farbe	Mycel-unterseite	
graublau-grün	PbNO <sub>3</sub>	> 1 : 2 Mill.	prim. u. sek. Kon.	weiß	weiß	
		> 1 : 40 Mill.	"	"	"	
	CCl <sub>3</sub> COH	> 1 : 2 Mill.	"	"	"	"
		> 1 : 200 000	prim. Kon.	"	"	"
stumpfgrau blaugrün	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OH)COOH	> 1 : 40 Mill.	"	dunkelgrün	"	
		> 1 : 40 000	"	weiß	"	
		> 1 : 100 000	"	"	"	
	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OH)COOH	> 1 : 2 Mill.	"	"	"	"
		> 1 : 800 Mill.	"	"	"	"
		> 1 : 2000	prim. Kon.	"	"	"
gelbgrün	MnCl <sub>2</sub>	> 1 : 4000	"	"	"	
		> 1 : 40 000	"	"	"	
		> 1 : 40 000	"	"	"	
moosgrün	PbNO <sub>3</sub>	> 1 : 2000	prim. Kon. der 2. Generation auf Giftlösung	"	"	
		< 1 : 800 Mill.		"	"	
spangrün, nicht ver- grauend	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	> 1 : 800 Mill.	prim. u. sek. Kon.	"	"	
		> 1 : 100 000	"	"	"	
	CCl <sub>3</sub> COH	> 1 : 40 000	"	gelblich	gelblich	
		> 1 : 800 Mill.	prim. Kon.	weiß	weiß	
	leuchtend blaugrün	HgCl <sub>2</sub>	< 1 : 2 Mill.	"	"	"
> 1 : 2 Mill.			sek. Kon.	"	"	
> 1 : 2000			"	"	"	
> 1 : 2 Mill.			"	"	"	
leuchtend blaugrün	UO <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	> 1 : 4000	prim. Kon.	"	"	
		> 1 : 40 000	"	"	"	
		> 1 : 100 000	"	"	"	
		> 1 : 200 000	"	"	"	
		> 1 : 2 Mill.	"	"	"	
		> 1 : 2 Mill.	"	"	"	
		> 1 : 800 Mill.	"	"	"	
leuchtend blaugrün	AuCl <sub>3</sub>	> 1 : 100 000	"	"	"	
		> 1 : 200 000	"	"	"	
		> 1 : 2 Mill.	"	"	"	
		> 1 : 2 Mill.	"	"	"	
		> 1 : 800 Mill.	"	"	"	

alle Fälle, die bisher beschrieben wurden. Auch das spricht sehr dafür, daß irgendeine, bisher für uns noch nicht faßbare äußere Bedingung Umschlag oder Rückschlag bewirkt oder zum mindesten mit daran beteiligt ist.

Besondere Beachtung verdient außerdem die Erscheinung, daß, mit einer Ausnahme bei H<sub>14a1</sub>, auf Gelatinenährboden Umänderungen der durch den Gifteinfluß entstandenen Farbentöne nicht wahrgenommen wurden, wenn ich auch die Konstanzprüfung darauf nicht so weit ausgedehnt habe, wie auf Nährlösung. Für eine geringere Neigung, auf Gelatine umzuschlagen, spricht auch die mehrfach gemachte Erfahrung, daß die Farbentönung auf Gelatine unabhängig davon ist, ob von der ersten abgeänderten oder einer späteren umgeänderten Nährlösungsgeneration abgeimpft wird. Umschlag und Rückschlag vollziehen sich

also auf Nährlösung wohl leichter, sind aber auch auf festen Nährböden nicht ausgeschlossen. Das gleiche scheint für Bakterien zu gelten, wo die reichste Ausbeute an veränderten Formen auf flüssigen Nährböden zu gewinnen ist (Bernhardt 1915).

Das wichtigste Ergebnis aller meiner bisher mitgeteilten Versuche scheint mir zu sein, daß die Abänderungen, die durch die verschiedenen Gifteinflüsse bei meinem *Penicillium glaucum* f. H. sich erzielen lassen, mehr oder weniger konstant sind.

Unschwer lassen sie sich hinsichtlich der Konstanz in drei Gruppen bringen,

1. Solche, die sofort zurückschlagen, wenn man die abgeänderten Sporen auf giftfreie Nährlösung aussät. Als Beispiele seien genannt einige der Bleinitrat- (z. B. 1:2000) und der Manganchloridabänderungen (z. B. < 1:40000).

2. Solche, die sich auf normaler Nährlösung eine Anzahl von Generationen hielten, um danach zur Stammmasse zurückzuschlagen. Dieser Rückschlag erfolgte bei ein und derselben Form bald in einer früheren, bald in einer späteren Generation, ohne äußerlich erkennbaren, besonderen Anlaß. Dahingehören einige Eisenchlorid-1:4000, < 1:100000) und Sublimatformen (1:800 Mill., < 1:4000).

3. Solche, die, so viele Generationen hindurch sie auch auf Nährlösung ohne Giftzusatz, auf Gelatine oder Agar weiter kultiviert wurden — und das war bei  $H_{6a_1}$  (Kupfersulfat < 1:40000) bis zu 38 Generationen der Fall — überhaupt niemals zur

T a -

Giftzusatz	Konzentration							
	1:2000	<1:2000	1:4000	<1:4000	1:40000	<1:40000	1:100000	<1:100000
PbNO <sub>3</sub> . . . . .	+ *	+ ?	+ ?		+ ?	+ ?		+ ?
C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OH)COOH		+ ?		+ ?	+ ?	+ 19	+ ?	+ ?
MnCl <sub>2</sub> . . . . .	+ ?	+ 9	+ ?	+ *	+ *	+ *	+ 17	
UO <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . . .		+ 29	+ 16					+ 18
Fe <sub>2</sub> Cl <sub>3</sub> . . . . .		+ ?	+ 2*	+ ?	+ ?	+ ?		+ 28
KJ . . . . .			+ ?		+ ?		+ 15	+ ?
CCl <sub>3</sub> COH . . . .					+ ?	+ 24	+ ?	
HgCl <sub>2</sub> . . . . .				+ 4*				
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> . . . .								+ 20
AuCl <sub>3</sub> . . . . .			+ ?		+ ?		+ ?	
CuSO <sub>4</sub> . . . . .						+ 38		

1) Die Zeichen bedeuten: +: Abänderung; Zahl: Anzahl der bisher verfolgten konstanten nicht zurückgeschlagenen Kulturgenerationen; \*: Rückschlag, die Zahl vor einem Stern gib

Stammrasse zurückkehrten. Diese Formen kann man wiederum in zwei Untergruppen einteilen, nämlich in

a) solche, deren Sporenfarbe durch alle Generationen hindurch, von individuellen Schwankungen im einzelnen abgesehen, völlig konstant blieb, z. B. Kupfersulfatformen  $H_{6a_1}$  und  $H_{6a_2}$ .

b) solche, die meist ohne erkennbare äußere Ursache in den aufeinanderfolgenden Generationen bezüglich ihrer Sporenfarbe in weiteren oder engeren Grenzen hin- und herschwankten, z. B. die Salizylsäureform  $H_{15c_1}$ , die Uranylнитratform  $H_{14a_1}$  oder die Chloralhydratform  $H_{12c_1}$  und eine Reihe anderer. Besonders merkwürdig sind unter diesen umschlagenden Formen einige Abänderungen, z. B. die Uranylнитratformen 1:2 Mill. ( $H_{14f}$ ) und < 1:2 Mill. ( $H_{14f_1}$ ) oder die Goldchloridform 1:800 Mill. ( $H_{20h}$ ) dadurch, daß die Sporenfärbung vorübergehend durch 1 bis 2 Generationen vollständig zu der Stammrasse zurückkehrte, jedenfalls so weit, daß eine Unterscheidung von dieser nicht möglich war.

Häufigkeit und Konstanz der erzeugten Abänderungen seien hier übersichtlich zusammengestellt<sup>1</sup> (Tabelle 2).

Die gleichzeitig mit jeder Kulturreihe angesetzten giftfreien Kontrollkulturen (je zwei) wichen von dem Aussehen der Stammrasse nicht ab. —

Das Vorkommen der zweiten Hauptgruppe legt den Gedanken sehr nahe, daß vielleicht auch die Formen der dritten

Tabelle 2.

Gifte

	< 1:200000	1:2 Mill.	< 1:2 Mill.	1:40 Mill.	< 1:40 Mill.	1:800 Mill.	< 1:800 Mill.
?	+ ?		+ ?	+ 21		+ 23	+ *
?	+ 20	+ 10	+ ?	+ ?	+ 21	+ ?	+ ?
?		+ 14		+ ?		+ 15	
?		+ 5*	+ 21			+ *	+ 14
?	+ ?	+ ?	+ ?	+ ?	+ ?	+ ?	+ ?
?		+ ?		+ ?	+ ?	+ ?	+ ?
			+ 4*	+ ?	+ 20		+ 15
			+ 18			+ 6*	
						+ ?	
?		+ ?		+ ?		+ 15	

daß die betreffende Form bis zu der angegebenen Generation konstant war; ?: nicht Konstanz geprüft.

nur einen beschränkten, wenn auch größeren Grad von Konstanz besitzen. Ich habe deshalb eine Form dieser dritten Gruppe, die Kupfersulfatform  $H_6a_1$ , eingehend auf ihre Konstanz geprüft. Ich habe schon erwähnt, daß diese Form auf giffreier Nährlösung bisher 38 Generationen, ferner auf Agar- und Gelatine-nährboden seit zwei Jahren bei etwa 14tägiger Abimpfung dauernd völlig konstant geblieben ist.

### 3. Versuche, die Konstanz zu erschüttern.

$H_6a_1$  wurde zunächst auf Mohrrübe, Kartoffel, Schwarzbrot und Zwieback kultiviert und von diesen Substraten auf giffreie Nährlösung zurückgeimpft. Rückschlag brachte auch mehrfaches Hinüberschicken über diese Nährböden nicht zustande. Ebenso wenig wurde er auf andersartigen Nährlösungen, wie Knopflösung + 2%, resp. 4% Rohrzucker, auf Aspergillus-nährlösung, auf Fruchtsäften oder bei Zusatz von Farbstoffen, wie Methylenblau, Lichtgrün, Rosanilin oder Gentianaviolett beobachtet. Das Wachstum ist auf allen diesen Nährböden üppig. Das Mycel ist, außer auf Zwieback, auf allen festen Substraten schwefelgelb. Erst nach reichlicher Konidienabschnürung verschwindet die Gelbfärbung, die vom Licht unabhängig ist.

Die bemerkenswerte Tatsache, daß diese Form scheinbar gar keine Neigung zum Umschlagen besaß, wie sonst alle Formen dieser Gruppe, veranlaßte mich, zu untersuchen, ob sie nicht doch noch auf irgendeine Weise zu erschüttern und zu Umschlag oder Rückschlag zu bringen sei. Ich ließ deshalb 12 verschiedene Gifte in aufeinanderfolgenden Kulturgenerationen nacheinander und stets in der gleichen Konzentration  $< 1 : 2000$  einwirken: Kupfersulfat, Kaliumbichromat, Rhodankalium, Jodkalium, Goldchlorid, Kupferchlorid, Kobaltnitrat, Manganchlorür, Eisenchlorid, Chloralhydrat, Eisensulfat und Uranyl nitrat. Sobald sich eine Konidiendecke gebildet hatte, impfte ich auf das nächste der angegebenen Gifte ab. Gleichzeitig wurde auf Normallösung ohne Giftzusatz übergeimpft, um einen etwa erfolgten Umschlag in eine anders gefärbte Abänderung feststellen zu können. Es kam aber weder zu diesem noch zum



Rückschlag. Nach der Einwirkung des 12. Giftes sah die betreffende Kulturgeneration noch genau so aus wie eine entsprechenden Alters vor Einwirkung des ersten. Wie erwähnt, bildete sich bei Zusatz von Eisenchlorid und -sulfat nur steriles Mycel, so daß in diesen Fällen nur Mycelübertragung stattfinden konnte. Dauernder Zusatz der verschiedenen Gifte in der Konzentration 1:2000 hatte ebensowenig Erfolg, dagegen waren die Mycelien schon nach der 3. Giftgeneration so winzig und sporenarm, daß es mehrere Generationen dauerte, bis das Wachstum auf Nährlösung wieder normal wurde.

Danach ist es mir also auf keinerlei Weise gelungen, die Konstanz dieser Form zu erschüttern. Anders verhielt sich eine der in der Sporenfarbe schwankenden Formen dieser Gruppe, die Goldchloridabänderung  $H_{20}h$ . Die sechste, seegrüne Generation wurde als Ausgangskultur benutzt und nacheinander mit 10 verschiedenen Giften ungleicher Konzentration behandelt. Es fand sich:

1. Generation:  $AuCl_3$  1 : 800 Mill. seegrün.
2. „ :  $K_2Cr_2O_7$  1 : 4000 seegrün.
3. „ :  $Fe_2Cl_3$  1 : 2000 steril.
4. „ :  $Fe_2Cl_3$  1 : 40 000 (Mycel übertragen) hellgraublaugrün.
5. „ :  $MnCl_2$  1 : 2000 seegrün.
6. „ :  $CuSO_4$  1 : 2000 blaugrün, wie die Stammmasse, Rückschlag.
7. Generation: KJ 1 : 100 000 blaugrün wie die Stammmasse.
8. „ :  $CCl_3COH$  1 : 4000 blaugrün wie die Stammmasse.
9. „ :  $PbNO_3$  1 : 4000 seegrün.
10. „ : KCNS 1 : 200 000 seegrün.

In ähnlicher Weise wurde auch noch die Eisenchloridform  $H_{11}d_1$  der Gruppe 2 geprüft, wobei sich folgendes ergab:

1. Generation: (abgeimpft von der 18., mattgraubläulichgrünen Generation von  $H_{11}d_1$ ):  $AuCl_3$  1 : 40 Mill. spangrün.
2. Generation:  $PbNO_3$  1 : 40 000 graugelbgrün.
3. „ : KCNS 1 : 100 000 graugelbgrün.
4. „ :  $FeSO_4$  1 : 4000 mattgraubläulichgrün.
5. „ :  $C_6H_4(OH)COOH$  1 : 100 000 mattgraubläulichgrün.
- \*6. „ :  $K_2Cr_2O_7$  1 : 40 000 mattgraubläulichgrün.
7. „ :  $CuSO_4$  1 : 40 000 spangrün.
- \*8. „ : KJ 1 : 100 000 spangrün.

Beim Abimpfen auf giftfreie Nährlösung blieb die jeweils erhaltene Deckenfarbe bestehen, nur bei den mit einem Stern versehenen Generationen wurde Rückschlag zur Stammrasse beobachtet.

Aus dem Verhalten der beiden Formen  $H_{20}h$  und  $H_{11}d_1$  gegenüber wechselnden Gifteinflüssen ist also ersichtlich, daß die Gifte auf Abänderungen mit schwankender Deckenfarbe weiter verändernd einwirken, auch Rückschlag hervorrufen können.

#### 4. Morphologische Eigenschaften der Abänderungen.

Das makroskopisch oft so stark voneinander abweichende Aussehen der einzelnen Formen legte den Gedanken nahe, daß vielleicht auch mikroskopisch erkennbare Unterschiede im Bau und in der Gestalt der Konidienträger dafür in Betracht kämen. Es bestehen aber zwischen der Stammrasse und den Abänderungen, auch den divergentesten Typen, wie etwa  $H_6a_1$  und  $H_{11}d_1$ , keine sehr deutlichen Verschiedenheiten morphologischer Art. Mißbildungen, z. B. kolbige Anschwellungen der Sterigmen, wie sie für die Salizylsäureform  $H_{15}g_1$ , die Uranylнитratform  $H_{14}a_1$  oder die Bleinitratform  $H_{16}h$  charakteristisch sind, kommen auch bei der normalen Stammrasse häufig vor. Ebenso sind Kugelzellen bei allen Formen keine Seltenheit. Im übrigen sind die Ausmaße der Mycelfäden, der Träger, Metulen, Sterigmen und Konidien allenthalben im Mittel die gleichen, so oft auch im Laufe der beiden Jahre Messungen vorgenommen wurden. Nur überwiegen zuweilen in einzelnen Kulturgenerationen die Träger ohne Metulen, wie z. B. häufig bei der Bleinitratform  $H_{16}h$ . Bei den Kupfersulfatformen  $H_6a_1$  und  $H_6a_2$  fällt aber auch dieses Merkmal fort, so daß beide mikroskopisch von der Stammrasse in keiner Weise zu unterscheiden sind, wie die Mehrzahl aller beschriebenen Abänderungen. Auch die gelegentliche Körnelung der Trägermembran ist nur von sekundärer Bedeutung, da sie durchaus nicht in allen Impfgenerationen auftritt und ebensogut in Kulturen der Stammrasse zu beobachten ist. Manche der Abänderungen unterscheiden sich allerdings von der Stammrasse durch die geringe Menge der gebildeten Sporen, doch wechselt auch diese Eigentümlichkeit oft erheblich

Bloß bei der Eisenchloridform  $H_{11}d_1$  werden auf Nährlösung stets nur kurze Konidienketten abgeschnürt.

Verschiedenheiten in der Schnelligkeit der Kernvermehrung in den keimenden Sporen, wie bei *Aspergillus niger* und seinen an späterer Stelle besprochenen Abänderungen, konnten bei den erzeugten *Penicillium*-formen nicht festgestellt werden. Das war nicht einmal möglich bei ganz verschiedenen *Penicillien*, wie *Penicillium variabile* Wehmer oder *Penicillium luteum* Zukal und meiner Form H. Nur bei der Eisenchloridform  $H_{11}d_1$  ließ sich eine morphologische Besonderheit insofern feststellen, als die mehr länglichen Konidien weniger gut keimten als die runden und nur kümmerliche, kernarme Keimschläuche bildeten, die sich ohne Vorbehandlung mit Eisenhämatoxylin sehr stark färbten, also schon vor der Fixierung abgestorben waren; denn dieselbe Erscheinung findet man bei geplatzten Keimschläuchen und nicht keimfähigen Sporen.

#### 5. Art des Auftretens der Abänderungen.

Die bisherigen Versuche hatten bei allen *Penicillium*-formen, abgesehen von der Launenhaftigkeit, mit der die Stammform auf die verschiedenen Giftzusätze mit Veränderung der Sporenfarbe reagierte, gezeigt, daß die ganze Sporendecke einheitlich die Farbänderung aufwies. Es umfaßte also die Abänderung die gesamte Kondiendecke, nicht nur vereinzelte Pinsel. Daran würde übrigens eine Farbänderung auch gar nicht aufgefallen sein, weil sie viel zu dicht stehen und der einzelne überhaupt nicht pigmentiert erscheint.

Merkwürdig ist der Ort, an dem bei den einzelnen Formen die Abänderungen zuerst auftreten. Neben solchen, bei denen bereits die primären Konidien abgeändert sind, gibt es auch andere, bei denen erst die sekundären auffällig in der Farbe von der Stammmasse abweichen, die primären aber noch ganz unverändert oder anders verändert sind (vgl. auch Tabelle 1!). Darin zeigt sich eine auffallende Analogie mit den coli-formen Bakterien. Erst die Sekundärkolonien, die »Knöpfe«, sind dort imstande, Laktose zu vergären, sind also sichtbar abgeändert, nicht aber die dem Einfluß des Zuckers doch viel stärker ausgesetzten Primärkolonien.

Bei meinen bisherigen Versuchen handelt es sich, wie ich nochmals betonen will, um Massenaussaat von Sporen der Stammmasse auf gifthaltige Nährlösungen. Es ließ sich nun denken, daß dabei nur eine gewisse Anzahl der gekeimten Sporen durch das Gift beeinflußt worden sei, die daraus entstehenden Mycelien aber die zwar gleichfalls ausgekeimten, aber aus irgendeinem Grunde im Wachstum zurückgebliebenen, nicht veränderten Mycelien überwuchert hätten, wodurch eine einheitliche Wirkung auf alle Sporen vorgetäuscht würde. Auch sinkt immer eine erhebliche Anzahl der gekeimten Sporen zu Boden und bleibt in der Entwicklung gehemmt, da sich inzwischen die Myceldecke darüber geschlossen hat und dadurch ein Aufsteigen der untergesunkenen Sporen unmöglich wird.

Von großer Wichtigkeit war es also, das Verhalten von Einzelsporen der Stammmasse auf der Giftlösung zu prüfen. Einzellkulturen mußten auch, falls dabei gleichfalls primäre unbeeinträchtigte und sekundäre abgeänderte Konidien entstanden, die interessante Frage zu entscheiden ermöglichen, was für Sporen diese verschiedenen Konidien hervorbringen, wenn sie in Massen, sowie einzeln einerseits auf gifthaltige, andererseits auf giftfreie Nährlösung ausgesät wurden.

Solche Einzellkulturen habe ich mit 4 verschiedenen Giften von Wirkung versprechender Konzentration in größerer Zahl angesetzt und zwar sowohl mit solchen, die schon die primären, als auch mit solchen, die in der Regel erst die sekundären Konidien abändern.

#### a) Kaliumbichromat 1 : 4000.

Von 15, entsprechend H 10 d<sub>1</sub>, mit K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 1 : 100 000 angesetzten Einzellkulturen war keine abgeändert. Deshalb wurden 15 weitere Einzellkulturen mit K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 1 : 4000 angesetzt. Diesmal waren zehn spangrün, sowohl die primären als die sekundären Konidien. Die fünf anderen Kulturen waren nicht verändert. Die durch Selbstaussaat auf der vergifteten Nährlösung entstandenen Mycelien der ersten zehn Kulturen besaßen gleichfalls primäre und sekundäre Konidien der gleichen spangrünen Färbung. Auch Vielzell- und Einzellkulturen verhielten sich, von diesen angelegt, auf vergifteter und nicht vergifteter Nährlösung genau so. Die Deckenfarbe blieb in fünf Generationen konstant; dann wurde die Kulturreihe abgebrochen, da identisch mit der schon sonst kultivierten H 10 d<sub>1</sub>.

b) Manganchlorid 1 : 500.

Versuchsreihe I.

25 auf der Giftlösung angesetzte Einzelkulturen lieferten nur Primärkonidien. Die primären Konidien von 24 Kulturen sind in der Farbe denen der Stammmasse ähnlich, ohne mit ihr übereinzustimmen, mehr gelbgrün als blaugrün. Bei einer waren die primären Konidien typisch weißlichgrün, wie die Sekundärkonidien der früher beschriebenen Mn-Formen. Die Kultur wurde auf normaler Nährlösung konstant bleibend fünf Generationen hindurch verfolgt, dann abgebrochen.

A. Durch Selbstausaat der primären Konidien entstanden auf jeder der Einzelkulturen neue Mycelien, anfänglich größere, dann kleinere, die ebenfalls fruktifizierten und in etwa 14 Tagen mit dem Mycel der ursprünglichen Einzelkultur zu einer zusammenhängenden Decke verschmolzen. Unter diesen 25 Kulturen waren 18, die unter Mycelien mit Konidien von der gleichen Farbe wie die primären Konidien ein oder mehrere mit weißlichgrünen primären Konidien aufwiesen. Diese weißlichgrünen Konidien gaben bei der Abimpfung auf normale Nährlösung, sowohl als Massen-, wie als Einzelkultur, konstant weißlichgrüne Formen mit nur primären Konidien (6 bis 8 Generationen verfolgt). —

B. Abimpfung der abgeänderten primären Sporen als Massenausaat auf giftfreie Nährlösung ergab Mycelien, die außer gleich diesen gelbgrünblau gefärbten Primärkonidien nun auch sekundäre von weißlichgrüner Farbe abschnürten.

a) Verhalten der gelbgrünblauen Primärkonidien auf normaler Nährlösung:

Die Primärkonidien dieser Kulturen gaben auf normaler Nährlösung als Massen-, wie als Einzelkultur Decken mit wiederum primären Konidien von der Farbe der ersten Primärkonidien, sekundäre Konidien von weißlichgrüner Farbe (drei Generationen verfolgt).

Die 4. Generation, abgeimpft von gelbgrünblauen Primärkonidien der 3. Impfgeneration (Massenkultur), war umgeschlagen in Weißlichgrün; primäre und sekundäre Konidien waren nun gleichartig gefärbt. Die Kultur blieb dann konstant; sechs Impfgenerationen verfolgt. Von der 4. dieser sechs Generationen wurden von Sekundärkonidien fünf Einzelkulturen hergestellt. Davon besaßen:

α) Zwei Einzelkulturen primäre Konidien von der Farbe der ersten Primärkonidien, sekundäre weißlichgrüne.

β) Drei Einzelkulturen nur weißlichgrüne primäre wie sekundäre Konidien.

Fünf Einzelkulturen, von den sekundären Konidien der einen α-Kultur angelegt, lieferten:

aa) Vier Kulturen mit nur primären weißlichgrünen Konidien und

ββ) Eine Kultur mit primären gelbgrünblauen und sekundären weißlichgrünen Konidien.

Von den sekundären Konidien dieser  $\beta\beta$ -Kultur wurden zwei Massenkulturen angelegt, die beide nur weißlichgrüne primäre Konidien besaßen; zwei Generationen als konstant verfolgt, dann abgebrochen.

**b) Verhalten der weißlichgrünen Sekundärkonidien auf normaler Nährlösung:**

**1. Massenaussaat auf Nährlösung ohne Gift:**

**Kultur 1:** primäre und sekundäre Konidien gleichartig weißlichgrün. Generation 3 und 5 nur primäre solche, keine sekundären Konidien. In allen fünf Generationen reichlich Luftmycel.

**Kultur 2:** primäre Konidien weißlichgrün, im Alter fast weiß. Keine Sekundärkonidien. Abimpfungen von den weißlichgrünen oder weißen Konidien geben Decken von der gleichen Farbe und dem gleichen Aussehen im Alter. Sekundäre Konidien nicht vorhanden. Konstanz in sieben Generationen verfolgt.

**Kultur 3a:** primäre und sekundäre Konidien von weißlichgrüner Farbe, im Alter gleichfalls fast weiß. Konstant in fünf Generationen, 6. Generation fast steril, einige hellgrüne Flecken, undeutliche Färbung (abgebrochen).

**Kultur 3b:** Parallelkultur zu 3a: primäre und sekundäre Konidien weißlichgrün in vier Generationen. 5. Generation: Umschlag in hellgraugrün-gelb. 6. Generation: Umschlag in ganz matt seegrün, primäre wie sekundäre Konidien, flaumiges Mycel. Konstant, in zwei weiteren Generationen verfolgt.

**Kultur 4:** sechs Generationen konstant weißlichgrün in primären und sekundären Konidien, wo solche auftreten. Die einzelnen Generationen und Kulturen variieren immer etwas in der Farbe, die selten ganz übereinstimmt. Bald mehr gelblich-, bald mehr bläulichweißgrüne Decken. 7. Generation: primäre gelblichgrünblaue und sekundäre weißlichgrüne Konidien. Ebenso die 8. Generation, obwohl nur von sekundären Konidien abgeimpft wurde. Die folgende Generation wieder nur weißlichgrüne primäre und sekundäre Konidien.

**2. Einzellkulturen auf Nährlösung ohne Gift:**

Zehn Kulturen: sämtlich identisch, weißlichgrüne primäre Konidien, sekundäre nur in einem Fall ausgebildet. In drei Generationen konstant (mit den eben erwähnten geringen Abweichungen). Nicht weiter verfolgt.

**c) Verhalten der primären, gelbgrünblau abgeänderten Konidien auf erneut angewandter Mangannährlösung 1:500:**

**1. Massenaussaat:**

Drei Kulturen: alle nur weißlichgrüne Primärkonidien, konstant in drei Generationen; dann abgebrochen.

**2. Einzelaussaat:**

Fünf Kulturen: lange steril bleibend, dann sämtlich weißlichgrüne Primärkonidien; drei Generationen verfolgt.

d) Verhalten der sekundären weißlichgrünen Konidien auf erneut angewandter Mangan-nährlösung 1:500.

1. Massenaussaat:

Drei Kulturen: eine steril geblieben (in vier Wochen); eine sehr spärliche Konidien von nicht feststellbarer Farbe, schnell von Luftmycel gänzlich überwuchert; eine weißlichgrüne Primärkonidien, drei Generationen als konstant verfolgt.

2. Einzellkulturen:

Drei Kulturen: nur steril bleibende, kümmerliche Mycelien.

Drei Kulturen: reichlich primäre Konidien von weißlichgrüner Farbe, zwei Generationen verfolgt.

Versuchsreihe II<sup>1</sup>.

1. Eine Vielzellkultur und eine Einzellkultur ohne Gift: typisch normal wie Stammrasse.

2. Eine manganhaltige Massenkultur: Rasen mit primären weißlichgrünen Konidien, bald zu einer einheitlichen Decke verschmolzen. Sekundäre Konidien von gleicher Farbe.

3. 14 Einzellkulturen auf manganhaltiger Nährlösung: nur sieben Kulturen abgeändert, die anderen identisch mit der Stammrasse.

a) die Kulturen 3, 8 (12) und 13: primäre Konidien abgeändert wie die primären der 24 Kulturen der Versuchsreihe 1.

Konstanzprüfung auf giftfreier Nährlösung (Massenaussaat!):

Kultur 3: primäre und sekundäre gelbgrünblaue Konidien, konstant, fünf Generationen verfolgt.

Kultur 8: primäre und sekundäre Konidien gelbgrünblau, reichliches Luftmycel. Konstant, sechs Generationen verfolgt.

Kultur 13: primäre und sekundäre Konidien gelbgrünblau. Drei Generationen konstant; 4. Generation fast himmelblau, ähnlich dem Weißlichgrün der Sekundärkonidien der Versuchsreihe 1, im Alter hell-silbergrau: Umschlag! Noch zwei weitere Generationen verfolgt, ebenso himmelblaue bis silbergraue primäre und sekundäre Konidien.

Kultur 12: nicht verfolgt.

b) die Kulturen 2, 7 und 11: primäre Konidien unverändert, Unterschied gegenüber der Stammrasse nicht zu bemerken. Erst die durch Selbstaussaat auf derselben Giftlösung entstandene 2. Generation zeigt verzelte Kolonien mit primären, weißlichgrünen Konidien.

Konstanzprüfung auf giftfreier Nährlösung (Massenaussaat!):

Kultur 2: 1. bis 3. Generation nur primäre weißlichgrüne Konidien, im Alter stellenweise fast weiß. Starkes Luftmycel. 4. Generation hellgrüngraue primäre und sekundäre Konidien: Umschlag! 5. Generation silbergraue primäre, keine sekundären Konidien: Umschlag! 6. Generation: ebenso (abgebrochen).

<sup>1</sup>) Die Manganchloridlösung 1:500 entstammte dem gleichen Kolben wie die der Versuchsreihe I.

**Kultur 7:** nur primäre weißlichgrüne Konidien. 2., 3. und 4. Generation primäre und sekundäre Konidien gelbgrünblau. 5. Generation graugelbgrün umgeändert. 6. Generation primäre bläulicholivgrün, umgeändert; sekundäre silbergrau, ebenfalls umgeändert. 7.—8. Generation: nur primäre bläulicholivgrüne Konidien.

**Kultur 11:** sechs helle, weißlichgrüne Rasen mit primären Konidien. 2. bis 5. Generation primäre weißlichgrüne Konidien, im Alter fast weiß.

Von den mit der Stammmasse identischen Kulturen wurde eine, Kultur 6, auf Konstanz geprüft. Sie blieb in vier Generationen unverändert normal und wurde deshalb nicht länger kultiviert.

### c) Uranylнитrat 1 : 2000.

15 Kulturen.

1. Eine Vielzell- und eine Einzellkultur ohne Uranylнитrat: typisch normal wie die Stammmasse, nur Primärkonidien, unabgeändert.

2. Eine Uranylнитrat enthaltende Vielzellkultur: Primärkonidien unabgeändert, sehr rasch von sekundärem Mycel überwuchert, an dem hellbläuliche bis hellsee grüne sekundäre Konidien entstehen (Farbe wesentlich anders als bei den weißlichgrünen Sekundärkonidien der Mangankulturen).

Durch Abimpfen von diesen hellsee grünen Sekundärkonidien wurde eine konstant hellsee grüne Form erhalten, die nur primäre Konidien besaß. Drei Generationen verfolgt.

3. 12 Einzellkulturen auf Uranylнитratnährlösung:

Primäre Konidien: a) bei 11 unter den 12 nicht abgeändert. Konstanz bei Massenaussaat auf giftfreier Nährlösung bei vier von diesen elf Kulturen geprüft: in drei Generationen durchaus identisch mit der Stammmasse, ohne Sekundärkonidien zu bilden.

Bei erneuter Aussaat der nicht abgeänderten Primärkonidien auf Uranylнитratlösung 1 : 2000 wurden nur sterile Decken erhalten von eigenartig flockiger Oberflächenbeschaffenheit (fünf Kulturen).

b) bei einer Kultur (Kultur 8\*) eigenartig dunkelgrünblau abgeändert. In fünf Generationen konstant geblieben, stets nur primäre Konidien. Abgebrochen mit der 5. Generation.

Die elf erstgenannten a) Kulturen überwucherten rasch mit sekundärem Mycel, an dem hellbläulichgrüne bis hellsee grüne Sekundärkonidien entstanden. Die Tönung ist bei den einzelnen Kulturen und Generationen etwas verschieden. Abimpfung von den Sekundärkonidien.

**A. Konstanzprüfung bei Massenaussaat.**

a) auf Normallösung ohne Gift:

primäre und sekundäre Konidien von der Farbe der sekundären auf Gift.

Die ersten Impfgenerationen entwickelten nur spärliche Konidien, später kräftigte sich die Form. Konstanz bis zur 6. Generation verfolgt. Im Alter geht die Farbe in ein grünliches Silbergrau von entsprechend wechselnder



Schattierung über. In einer Kultur: 2. Generation rein seegrün. 3. Generation hellbläulichgrün. 4. bis 5. Generation hellseegrün.

b) auf Uranyl-nitratnährlösung 1 : 2000:

Kultur 9: Zunächst trotz uppig entwickelter Myceldecke sehr spärliche Konidienentwicklung. Nach etwa vier Wochen: nur primäre Konidien von dem eigenartigen Dunkelgrünblau der Kultur 8\*. Auf Nährlösung ohne Gift sechs Generationen konstant; dann die Reihe abgebrochen.

B. Konstanzprüfung bei Einzellkultur:

a) auf Normallösung ohne Gift:

Fünf Kulturen: primäre Konidien von der Farbe der sekundären. Keine sekundären Konidien. Als konstant in drei Generationen verfolgt (abgebrochen).

b) auf Uranyl-nitratnährlösung:

Fünf Kulturen: nur primäre Konidien von dunkelgrünblauer Farbe wie Kultur 8\*. Nur zwei Generationen auf Normallösung verfolgt, aber konstant in diesen.

#### d) Salizylsäure 1 : 40 000.

14 Kulturen:

1. eine Vielzell- und eine Einzellkultur ohne Salizylsäure: typisch normal wie die Stammmasse in primären und sekundären Konidien.

2. eine Vielzellkultur auf Salizylsäurenährlösung: die Gesamtheit der entstehenden Kolonien, die dauernd getrennt bleiben, ist abgeändert. Nur primäre Konidien vorhanden, von dunkelgraugrüner Farbe. Konstant, drei Generationen verfolgt.

3. Zehn salizylsäurehaltige Einzellkulturen: Nur primäre, ebenfalls dunkelgraugrün abgeänderte Konidien. Durch Selbstaussaat entstehen auf der vergifteten Nährlösung in den ersten Tagen zwar kleiner bleibende, aber doch fruktifizierende Mycelien mit gleichfalls nur primären Konidien von dunkelgraugrüner Farbe. Später sich aussäende Sporen bilden nur winzige, sehr lange steril bleibende Mycelien. Eine Ausnahme war Kultur 7, wo diese Mycelien sehr wohl fruktifizieren, aber gelbgrüne Konidien besitzen.

Kultur 7: durch Selbstaussaat entstandene Mycelien: primäre Konidien gelbgrün abgeändert, sekundäre weißlichgrüngrau abgeändert.

A. Konstanzprüfung auf giftfreier Nährlösung:

Die abgeänderten Primärkonidien liefern als Vielzell- und Einzellkulturen (5) auf giftfreier Nährlösung Decken mit primären graugrünen Konidien und ebenso gefärbten sekundären Konidien. Luftmycel entwickelt diese Kulturen reichlich. Konstanz in fünf Generationen verfolgt.

Primäre gelbgrüne Konidien von Kultur 7: nur primäre Konidien gelbgrüner Farbe, sowohl bei Massenaussaat wie bei Einzellkultur (drei Kulturen). Vier Generationen als konstant verfolgt. Sekundäre weißlichgrüngraue Konidien derselben Kultur: bei Massen- und Einzellkultur (drei Kulturen) nur primäre weißlichgrüngraue Konidien, konstant in vier Generationen, dann die Reihe abgebrochen.

**B. Konstanzprüfung auf salizylsäurehaltiger Nährlösung: Massenaussaat (auf Salizylsäure 1 : 40 000):**

**Kultur a.** 1. Generation: lange steril, dann hellgrünblaue primäre Konidien (Abänderung). 2. Generation: auf giftfreier Nährlösung: primäre hellgrünblaue Konidien. 3. Generation: primäre gelbgrün umgeänderte Konidien, sekundäre hellblaugrün umgeändert. Hier die Reihe abgebrochen.

Von der 1. Generation der Kultur a wurde erneut auf Salizylsäure abgeimpft:

2. Generation: grüngrau abgeänderte primäre Konidien. Farbe wesentlich verschieden von dem Dunkelgraugrün der ersten Salizylsäurekulturen. 3.—4. Generation auf giftfreier Nährlösung: graugrüne primäre Konidien.

**Kultur b.** 1. Generation: noch länger steril bleibend. Nach fünf Wochen Decke hellgrünblauer primärer Konidien wie Kultur a.

2. Generation auf Nährlösung ohne Gift: hellgraugrüne primäre und sekundäre Konidien: Umschlag. Luftmycel. Konstant in der folgenden Generation.

2. Generation auf Salizylsäure 1 : 40 000: primäre und sekundäre Konidien grünblau, auch in der folgenden Generation auf Nährlösung ohne Gift so bleibend: Umschlag.

**Kultur c.** 1. Generation: nach wenigen Tagen zusammenhängende Decke matt grünblaugrauer primärer Konidien, ebenfalls verschieden von der Farbe der ersten Salizylsäurekulturen. Sekundäre Konidien ebenso gefärbt.

2. Generation auf Nährlösung ohne Gift: hellgrüngraue primäre Konidien (anders als alle anderen). Folgende Generation: gelbgrüne primäre, hellblaugrüne sekundäre Konidien, umgeändert wie die 3. Generation der Kultur a.

2. Generation auf Salizylsäurenährlösung 1 : 40 000: grüngraue primäre Konidien, heller als die entsprechende Kultur a.

Alle diese Kulturen sind wegen Abschlusses der Arbeit nicht weiter verfolgt worden.

Aus allen diesen Versuchen ersieht man, daß durch den Giftzusatz bei Vielzellaussaat tatsächlich alle Sporen verändert werden können, oder bei Einzellkultur wenigstens die Mehrzahl der ausgesäten Sporen (Manganreihe II, 7 unter 14, Chrom 10 unter 15). Ein Vergleich der Manganreihen I und II zeigt ebenfalls auch hier eine beträchtliche Launenhaftigkeit. Jedenfalls wirkt aber das Gift bei Anwesenheit vieler Sporen einheitlich abändernd, wenn es überhaupt von Einfluß ist. Das beweist besonders die Salizylsäure-Vielzellkultur, wo die abgeänderten Keim-

mycelien dauernd getrennt blieben, also täuschende Überwucherungen ausgeschlossen waren. Darin stimmen aber Einzell- und Vielzellkulturen überein, daß für beide die unberechenbare Launenhaftigkeit der Giftwirkung gilt, die heute einen Versuch leicht glücken und morgen völlig versagen läßt. Das spricht deutlich dafür, daß außer dem Gift noch irgendein anderer, bisher unerkannter Faktor, der die ganze Kultur betrifft, für die Abänderung maßgebend ist. Vielleicht kommen hier Stoffwechselprodukte oder lösliche Bestandteile aus der Glasgefäßwandung in Betracht.

Eine eingehende Durchsicht der Protokolle zeigt weiter, wie verwirrend mannigfaltig die Erfolge sind und wie schwer es infolgedessen ist, die Verschiedenheiten im Verhalten meines *Penicillium f. H.* Giften gegenüber in ein übersichtliches Schema zu bringen. Abgesehen von der so auffälligen Launenhaftigkeit in der Farbe der Konidiendecken und in dem Auftreten oder Fehlen sekundärer Konidien, ist es durchaus nicht gleichgültig, ob man die Primär- oder die Sekundärkonidien der Giftkulturen zur Aussaat benutzt, ob man diese verschiedenen Sporen auf normale oder von neuem auf gifthaltige Nährlösung aussät: z. B. bei den Salizylsäurekulturen lieferten die abgeänderten Primärkonidien auf giftfreier Nährlösung konstante Decken gleicher Farbe, auf Salizylsäurenährlösung dagegen konstante Decken anderer Farbe, also eine Umänderung. Das gleiche gilt für die Sekundärkonidien der Einzell-Uranylнитratkulturen. Ja, ein Unterschied in der Farbe der Decken macht sich selbst dann oft geltend, wenn sich die Sporen durch Selbstaussaat auf einer bereits besiedelten gifthaltigen Nährlösung aussäen und wenn sie daneben auf eine frische gifthaltige Nährlösung abgeimpft werden (z. B. Mangan- und Salizylsäurekultur).

Was nun das erste Auftreten der Abänderungen betrifft, so machen sich trotz allem doch folgende Unterschiede im Verhalten gegenüber den verschiedenen Giften ziemlich klar geltend, allerdings auch mit Ausnahmen, wie schon bei meinen früheren Massenaussaaten. Ein und dasselbe Gift kann übrigens dabei ganz verschieden wirken.

1. Es werden auf der gifthaltigen Nährlösung in der Regel nur primäre Konidien gebildet, bei deren Aussaat auf nor-

male Nährlösung dann neben ihnen gleichgefärbten primären auch ebenso oder anders gefärbte sekundäre Konidien erscheinen.

a) die primären sind nicht abgeändert, ebensowenig die sekundären (Beispiele: eine große Zahl der früheren Vielzellkulturen).

b) die primären Konidien sind auf der gifthaltigen und danach auf der giftfreien Nährlösung in gleicher Weise abgeändert (Urankultur 8\*), die sekundären ebenso (Salizylsäurekulturen, Manganeihe II: Kultur 3, 8, 13), oder anders wie die primären (Mangankulturen der Reihe I). Aber auch die Möglichkeit findet sich hier verwirklicht, daß die sekundären Konidien in der Art der primären, umgekehrt die primären wie sonst die sekundären abgeändert sind (Mangankultur der Reihe I).

2. Schon auf den gifthaltigen Nährlösungen werden primäre und sekundäre Konidien gebildet. Hier sind drei Fälle zu unterscheiden. Sowohl auf der Giftlösung, wie davon auf normale Nährlösung abgeimpft, sind:

a) die primären noch nicht abgeändert, sondern erst die sekundären (Urankulturen, und von den früheren z. B. eine Anzahl der Mangankulturen).

b) die primären abgeändert, aber anders als die sekundären (Salizylsäurekultur 7).

c) die primären und sekundären gleichartig abgeändert (Chromkulturen, und von den früheren eine Anzahl Chloralhydrat- oder Bleinitratformen).

Da bei Mycelien, die unter 1 fallen, ausnahmsweise (vgl. die Mn-Vielzellkultur 2, Reihe II) wohl auch einmal sekundäres Mycel gebildet wird, andererseits auch bei den Kulturen der Stammmasse häufig die Bildung von sekundären Konidien unterbleibt, so entspricht im wesentlichen 2a einem Teil des unter 1 Genannten, 2b und 2c aber 1b, so daß man das Hauptergebnis einfach folgendermaßen formulieren kann.

Bei Aussaat der Sporen von *Penicillium* f. H. auf gifthaltige Nährlösung gibt es zwei Hauptfälle:

A. Die Primärkonidien sind noch nicht abgeändert (sie liefern bei Aussaat auf normale Nährlösung die Stammmasse mit typischen primären und sekundären Konidien), sondern erst die sekundären Konidien, wenn sie auf der Giftlösung überhaupt ent-

stehen (sie liefern bei Aussaat auf normale Nährlösung mehr oder weniger konstante Rassen mit Primär- und Sekundärkonidien nur von der Farbe ihresgleichen).

B. Schon die primären Konidien sind abgeändert. In gleicher oder anderer Weise abgeändert sind die sekundären Konidien, mögen sie schon an den Mycelien auf der gifthaltigen oder erst nachher an Mycelien auf Normallösung entstehen. (Die primären Konidien liefern bei Aussaat auf normale Nährlösung Mycelien mit primären Konidien ihresgleichen und wieder sekundären wie vorher, die sekundären auf normaler Nährlösung Mycelien mit primären und sekundären Konidien, beide ihnen gleich gefärbt!)

Jede Art von Konidien hat also die ausgesprochene Neigung, auf normaler Nährlösung Mycelien mit Konidien ihresgleichen zu bilden. Von ganz besonderer Bedeutung scheinen mir die zu B gerechneten Fälle zu sein, weil sie ein gewisses Licht auf die Bedingungen werfen dürften, von denen die Entstehung der Abänderungen abhängig ist. Das Gift allein, so wichtig es auch ist, scheint danach zum mindesten nicht für alle Abänderungen die einzige Bedingung zu sein. Vielmehr sieht es so aus, als ob außerdem auch noch irgendwelche Stoffwechselprodukte des Pilzes als wirksame Faktoren an der Entstehung der Abänderungen irgendwie beteiligt seien, mögen diese Produkte nun intra- oder extrazellulär abgeschieden werden. Wie anders soll man es verstehen, daß z. B. durch Manganzusatz Mycelien entstehen mit abgeänderten Primärkonidien, die, danach auf Normallösung abgeimpft, neben gleichartigen, später anders veränderte sekundäre Konidien erzeugen? Hier ist augenscheinlich die Vorbedingung für die Entstehung der abgeänderten Sekundärkonidien nicht mehr die Anwesenheit des Giftes in der Außenlösung, aber wohl auch nicht sein Vorhandensein in den Sporen und Hyphenzellen (sonst müßten die aus den Primärkonidien auf normaler Nährlösung entstandenen Mycelien doch sofort Primärkonidien von der Farbe der später erscheinenden sekundären liefern), sondern der Zustand der durch das Gift veränderten Mycelien zur Zeit der Bildung der Sekundärkonidien. Auch die Tatsache, daß bei Selbstaussaat auf der gifthaltigen Nährlösung oft etwas anderes entsteht, als

bei Abimpfung auf frische gifthaltige Lösung (z. B. Salizylsäurekulturen), daß manchmal schon die Primärkonidien so verändert sind wie die später erscheinenden sekundären (z. B. bei der einen Mangankultur der Reihe I), wie auch manches andere (Umschläge, Auftreten außergewöhnlicher, sonst bei ein und derselben Giftkonzentration nicht beobachteter Farbentöne, z. B. Salizylsäurekultur 7 oder Urankultur 8\*, Launenhaftigkeit der Versuche) könnte vielleicht so, zum Teil wenigstens, eine Erklärung finden. Scheint auch, um noch einmal auf die eben erwähnten Mangankulturen zurückzukommen, die Anwesenheit des Giftes nicht mehr erforderlich zu sein, um die abgeänderten Sekundärkonidien entstehen zu lassen, so wirkt sie doch auf die Bildung von Sporen in der Farbe dieser Sekundärkonidien offenbar begünstigend ein; denn sät man z. B. die durch das Gift abgeänderten Primärkonidien nicht auf normale, sondern wieder auf manganhaltige Nährlösung aus, so erhält man Mycelien, die bereits als Primärkonidien solche von der Farbe der sekundären erzeugen. Kommt es doch als Ausnahme auch vor, daß bereits bei der ersten Aussaat der Sporen der Stammmasse die Mycelien als Primärkonidien sofort solche von der Farbe der sekundären bilden.

Viele der unter B und die unter A genannten Fälle könnte man freilich versucht sein, zunächst ganz anders, nämlich so zu deuten, daß das Gift geraume Zeit auf die Mycelien wirken muß, um überhaupt eine oder eine ausgesprochen abändernde Wirkung auszuüben, stände dieser Deutung nicht mein sehr wichtiger Nachweis entgegen, daß selbst kurzdauernde Einwirkung der Gifte auf die jugendlichen Mycelien, lange vor der Bildung der Primärkonidien, vollkommen zu genügen, scheint, den gleichen Erfolg wie dauernde hervorzurufen (vgl. S. 9).

#### B. Versuche mit *Penicillium glaucum* f. F (*Penicillium Roqueforti* Westling?).

Dieses *Penicillium*, das sich von *Penicillium glaucum* f. H. durch spinnwebartiges Mycelwachstum, große, stets kugelige Sporen, sowie durch das matte, fast hellblau erscheinende Grün der Konidiendecken deutlich unterscheidet, auch im Trägeraufbau Verschiedenheiten zeigt (primäre und sekundäre Metulae, primäre, sekundäre, tertiäre bis quaternäre Sterigmen), war durch keines der parallel wie bei *Penicillium* f. H. angewandten Gifte dazu zu bringen, von seinem normalen Aussehen konstant abzuweichen.

Nur bei Kaliumbichromatzusatz 1 : 4000 war einmal die Konidiendecke rostrot abgeändert, ohne daß es bei vielfacher Massen- und Einzelkultur gelang, eine rostrote Deszendenz zu erzielen; diese war immer wieder normal gefärbt.

Bei Bleinitratzusatz in allen Konzentrationen wurde die Deckenfarbe weißlichgrünlichgelb, jedoch nur infolge der Ausbildung reichlichen sekundären Mycels, das nur sehr spärliche Konidien entstehen ließ, während sonst sekundäres Mycel kaum je entwickelt ist. Diese Neigung zu starker Mycelüberwucherung blieb bis zu fünf Generationen bestehen, dann sahen die Kulturen wieder durchaus normal aus. Bei Übertragung auf Gelatine verschwand sie sofort, trat auch bei Rückimpfung auf Nährlösung nicht wieder auf. Unter dem Mikroskop sah man, wie Sterigmen, selbst Konidien noch im Trägerverbande zu neuen Trägern ausgewachsen waren, die aber fast gar keine Konidien abgeschnürt hatten.

Es handelt sich also bei diesem *Penicillium* um eine äußerst konstante Form, die durch Gifteinfluß, soweit die erwähnten Konzentrationen in Betracht kommen — höhere hindern meist das Wachstum —, in Nährlösung nicht zu konstant abgeänderten Formen zu bringen ist.

### C. Versuche mit *Penicillium luteum* Zukal (?).

Dieses fragliche *Penicillium luteum*, das ich liebenswürdigerweise von Herrn Prof. E. Pringsheim in Halle erhielt, wurde in zahlreichen Kulturen in der gleichen Weise einer Prüfung auf Konstanz unterzogen. Die Versuche sind, da es mir an Zeit und Platz mangelte, nur mit Chloralhydrat, Bleinitrat und Eisenchlorid durchgeführt. Soviel läßt sich mit Bestimmtheit sagen, daß es zwar nicht absolut konstant, aber doch nicht entfernt so leicht beeinflussbar und veränderlich ist wie *Penicillium f. H.*

Die Versuche mit anderen *Penicillium*formen lehren also, daß durchaus nicht alle *Penicillien* sich so leicht wie meine Stammmasse *glaucum f. H.* durch Gifte zu konstanten oder selbst inkonstanten Abänderungen zwingen lassen. Es wäre von Interesse, eine größere Anzahl von Formen in dieser Richtung zu untersuchen.

Auch bei Arten von *Aspergillus* ist es mir gelungen, auf experimentellem Wege mehr oder weniger konstante Abänderungen zu gewinnen. Zum mindesten unterscheiden sich aber meine Formen von *Aspergillus niger* in so wichtigen Punkten von dem bei *Penicillium* Gefundenen, daß ich ihnen eine besondere Besprechung widmen muß.

Ich schicke ihr die Mitteilung der Versuchsergebnisse mit den anderen untersuchten *Aspergillen* voraus, die im wesentlichen mit denen von *Penicillium glaucum f. H.* übereinstimmend ausgefallen sind.

## Abschnitt III.

Versuche mit *Aspergillus*formen.A. *Aspergillus flavus* Link.

## 1. Herkunft, Aussehen und Entwicklung.

*Aspergillus flavus* bezog ich von der Zentralstelle für Pilzkulturen in Amsterdam und frischte ihn sogleich als Einzellkultur auf. Auf festen und flüssigen Nährböden ist seine Deckenfarbe ein reines Chromgrün, das auf Nährlösung nach etwa 2 bis 3 Wochen in ein schmutziges Braungrün übergeht. Auf Malzagar verfärbt sich der Konidienrasen grünblau, so daß solche Kulturen äußerlich von *Aspergillus glaucus*-Agarkulturen nicht zu unterscheiden sind, um so leichter dagegen mikroskopisch. Ich muß hinzufügen, daß sich diese Farbenübereinstimmung von *flavus* und *glaucus* nur auf einen von Herrn Prof. Wehmer erhaltenen Stamm bezieht, während ein anderer *glaucus*-Stamm, den ich von gekochten Pflaumen isolierte, ein ganz anderes Aussehen besitzt, auch physiologisch sich wesentlich anders verhält, dagegen morphologisch und zytologisch ganz mit dem Wehmer'schen Stamm übereinstimmt. Der Unterschied liegt nur in der Farbe und in dem größeren Sauerstoffbedürfnis.

*Aspergillus flavus* macht die Nährlösung normalerweise nicht sauer, sondern alkalisch, und zwar deutlich.

Morphologisch verhielt sich der Stamm genau so, wie Wehmer (1903) in seiner Monographie der Gattung *Aspergillus* angegeben hat.

Bezüglich der Optimaltemperatur zeigte mein *flavus*-Stamm jedoch ein anderes Verhalten wie der Wehmer'sche. Bei 37° C, der von ihm angegebenen Optimaltemperatur, brachte er nur noch steriles Mycel hervor. Schon oberhalb 30° ist die Konidienfarbe verändert, schmutzig graugelbgrün, da bei dieser Temperatur nur noch winzige, zwergige Köpfchen ausgebildet werden, die sehr wenig Konidien abschnüren. Durch länger anhaltende Kultur bei 32 bis 35° C wurde der Stamm so schwer geschädigt, daß nur noch von einem kümmerwachstum die Rede sein konnte, das merkwürdigerweise auch bei darauffolgender dauernder Kultur in Optimaltemperatur nicht gebessert wurde.

Durch Keimungsversuche auf der Malzagarhaut stellte ich



als Optimaltemperatur 28 bis 29° C fest. Während bei Zimmer-temperatur (18 bis 20° C) erst nach 24 Stunden eine schwache Keimung einsetzt, beginnt sie bei 28° C schon nach 5 1/2 Stunden. Nach neun Stunden waren stets sämtliche Sporen gekeimt. Bei dieser Temperatur bedeckt sich der Mycelrasen innerhalb von 48 Stunden nach der Aussaat mit Konidienträgern. Unbeeinflusste, normale Kulturen zeigten bei Optimaltemperatur eine charakteristische eigelbe Färbung der jungen Konidien. Oft ist anfänglich die ganze Konidiendecke eigelb, meist aber nur an größeren oder kleineren Stellen, während im übrigen sofort chromgrüne Konidien zum Vorschein kommen. Das Mycel ist dabei stets farblos, später grau. Sekundäres Mycel fehlt, dagegen ist steriles Luftmycel häufig stark entwickelt.

Auch in diesem eigelben Stadium sind die Sporen bereits keimungsfähig. Auf festen Nährböden konnte ich diese gelbe Färbung nie beobachten. Dagegen ist es keine Seltenheit, daß die gelben Konidien nicht ergrünen, sondern gleich die bräunliche Altersfarbe annehmen. Eine konstant gelbe Form liefern sie nicht.

## 2. Abänderungen unter der Einwirkung von Giften.

Unter dem Einfluß derselben Gifte, mit denen *Penicillium* f. H. behandelt worden war, und die in den gleichen 16 verschiedenen Konzentrationen zur Verwendung kamen, entstanden Abänderungen der Deckenfarbe, die hier zunächst abgekürzt protokolliert seien. Ich erwähne hier nur die Konzentrationen, bei denen irgendeine Abänderung erzielt wurde; die übrigen, die normale Decken lieferten, lasse ich dagegen, des geringeren Interesses wegen, aus.

### a) Kupfersulfatversuche.

1 : 4000 bis 1 : 40 Mill.: schwärzlich blaugrün. Keine gelben Konidien.  
< 1 : 2000 bis < 1 : 800 Mill.: sämtliche Kulturen sind schwärzlich blaugrün abgeändert. Im Alter schwärzlich grünbraun.

1 : 4000, < 1 : 4000

1 : 40 000, < 1 : 40 000

1 : 200 000

1 : 40 Mill., < 1 : 40 Mill.

< 1 : 800 Mill.

} schwärzlich blaugrün, in 5 Generationen konstant geblieben. Dann gingen alle Kulturen verloren, da sich infolge Mißgeschicks der Wärmeschrank auf 55° C erhitzte, wodurch sämtliche darin stehenden Kulturen abstarben.

Bei der später angesetzten Wiederholung dieser Reihen waren alle Kulturen bis auf 1 : 2000, 1 : 100 000, 1 : 40 Mill. und  $< 1 : 2000$  ebenso schwärzlich blaugrün abgeändert, wurden aber nicht auf Konstanz geprüft, da inzwischen anders behandelte den gleichen Erfolg versprachen.

Es sei hier gleich bemerkt, daß die entstandenen Abänderungen meist, wie bei *Penicillium*, die gesamten Konidienrasen umfaßten. Bei Kupfersulfat war es stets so. Sehr oft aber waren die Decken bei anderen Giften nur fleckenweise abgeändert, während andere Teile des Mycels normal gefärbte Konidienköpfchen hervorbrachten.

Auch hier zeigt sich bereits die Eigentümlichkeit, wie bei *Penicillium*, daß die Abänderungen nicht an bestimmte Konzentrationen gebunden sind, sondern in gleicher Weise gänzlich launenhaft auftreten.

#### b) Kaliumbichromatversuche.

1 : 40 000: leuchtend spangrün, bei Abimpfung auf giftfreie Nährlösung sofort zur Stammmasse zurückschlagend.

Bei dreimaliger Wiederholung wurde zweimal bei derselben Konzentration 1 : 40 000 die gleiche inkonstante Abänderung erhalten, die, wie bei  $\text{CuSO}_4$ , die gesamte Konidiendecke umfaßte.

Hier scheint es, als sei eine bestimmte Art der Abänderung doch eng an eine gewisse Konzentration gebunden. Aber die Wiederholungsreihe 3, die, obwohl genau in derselben Weise wie die vorhergehenden angesetzt, die spangrüne Abänderung nicht besaß, läßt die Launenhaftigkeit des Auftretens wiederum deutlich erscheinen.

#### c) Eisenchloridversuche.

1 : 2000 ließ nur ganz kümmerliches Wachstum zu. Dagegen förderten alle anderen Konzentrationen die Konidienbildung, so daß schon nach 36 Stunden die geschlossenen Konidiendecken vorhanden waren.

1 : 40 000: leuchtend spangrün, genau wie die vorstehende Kaliumbichromatkultur, aber ebenso inkonstant. Auch die durch Wiederholung der Reihe bei derselben Konzentration erhaltene gleiche Abänderung schlug sofort zurück, so oft auch davon abgeimpft wurde. Bei Abimpfung auf Nährlösung mit Eisenchloridzusatz 1 : 40 000 blieb sie bestehen, doch war es auch nach einem Wachstum von 6 Impfgenerationen auf dieser nicht möglich, sie unter normalen Bedingungen konstant zu erhalten.

Die Nährlösung reagierte, wie schon bei allen vorerwähnten Abänderungen, nicht alkalisch, sondern neutral.

$\left. \begin{array}{l} < 1 : 2000 \\ < 1 : 40\ 000 \\ < 1 : 200\ 000 \\ < 1 : 2\ \text{Mill.} \end{array} \right\} \text{ sämthch blaugrün abgeändert, neutrale Nährlösung.}$

< 1 : 2000, < 1 : 40 000 und < 1 : 200 000: auf gutfreier Nährlösung 8 Generationen konstant. Da dann der Kriegsanfang dazwischen kam, und ich später den Thermostaten auf 35° C stellen mußte, der anderen Aspergillen wegen, das Wachstum bei Zimmertemperatur aber auf Nährlösung nur kümmerlich war, so brach ich die Kulturreihen ab. Die Reihe 1 : 2000, die ich bei der erhöhten Temperatur weiterkultivierte, zeigte nur kümmerliches Wachstum und graugelbliche Konidien, während die folgende Generation dann völlig steril blieb. Auch bei Zimmertemperatur erholte sie sich nicht wieder.

Bisher war die Zahl der bei den Abänderungen erhaltenen Farbentöne auf zwei beschränkt, ganz im Gegensatz zu der Mannigfaltigkeit der Farbtönungen bei *Penicillium*, bei dem allerdings gerade die bisher besprochenen Gifte auch nur eine geringere Menge Abänderungen hervorbrachten. Anders verhielt sich das bei Chloralhydrat.

#### d) Chloralhydratversuche.

$\left. \begin{array}{l} 1 : 40\ 000 \\ 1 : 100\ 000 \\ 1 : 40\ \text{Mill.} \end{array} \right\} \text{ blaugraugrün abgeändert.}$

1 : 40 000: 1.—3. Generation: blaugraugrün in der Gesamtheit der Konidien.  
 4. Generation stellenweise zur Stammmasse zurückgeschlagen.  
 5. „ : nur noch der Rand der Konidiendecke ist blaugraugrün, die ganze Mitte dagegen chromgrün wie die Stammmasse.

6.—8. Generation: chromgrün wie die Stammmasse, auch reagiert die Nährlösung wieder schwach alkalisch, anstatt neutral.

1 : 100 000:  
 1.—2. Generation: blaugraugrün.  
 3. Generation: Rückschlag zur Stammmasse; in den folgenden 2 Generationen wie diese.

1 : 40 Mill.:  
 1. Generation: blaugraugrün.  
 2. „ : schwärzlich olivgrün, sauer reagierende Nährlösung.  
 3.—4. Generation: ebenso schwärzlich olivgrün.  
 5.—7. „ : Rückschlag zum Chromgrün der Stammmasse, und zwar in der Gesamtheit der Konidienköpfchen, ohne Übergang.

$\left. \begin{array}{l} < 1 : 4000 \\ < 1 : 200\ 000 \\ < 1 : 40\ \text{Mill.} \end{array} \right\} \text{ schwärzlich blaugrün.}$

1. Generation: schwärzlich blaugrün, aber nur etwa zur Hälfte, der übrige Teil normal chromgrün. Neutrale Nährlösung.
2. Generation: (abgeimpft von den Konidien der blaugrünen Hälfte) bis auf einen chromgrünen Fleck schwärzlichblaugrün. Davon abgeimpft:
3. Generation: rein schwärzlich blaugüne Decke.
- 4.—6. „ : Rückschlag zur Stammmasse.

Bei Chloralhydrat zeigen sich zum ersten Male deutliche Abweichungen im Auftreten und im Verhalten der Abänderungen. Nicht nur umfassen sie hier z. B. bei  $< 1:40$  Millionen nicht mehr die Gesamtheit aller Konidienköpfchen, sondern nur einen bestimmten Teil der Decke, was bei *Penicillium* nie beobachtet werden konnte; auch war beim Zurückschlagen zur Stammmasse nicht mehr die gesamte Zahl der Köpfchen sofort wie die Köpfchen der Stammmasse gefärbt, sondern nur die eines Teiles der Decke, wenigstens in einigen Fällen ( $1:40000$  und  $< 1:40$  Millionen). Einzellkulturen (10), die ich mit Chloralhydrat  $1:4000$  anlegte, nachdem ebensoviele mit  $1:40$  Millionen angesetzte gänzlich unveränderte chromgrüne Konidiendecken geliefert hatten, zeigten, daß nicht einzelne Sporen abgeändert werden und andere nicht, und darauf die Unregelmäßigkeit des Auftretens der Abänderung zu schieben sei, sondern daß das Mycel einer und derselben Spore teils abgeänderte, teils unabgeänderte Konidien hervorbringt. Von den zehn Einzellkulturen waren nur zwei ganz schwärzlich blaugrün abgeändert, fünf fleckenweise zu größeren und geringeren Teilen, drei überhaupt nicht. Dieselbe Launenhaftigkeit, wie sie für *Penicillium* galt, war also auch hier vorhanden.

Einmal ( $1:40$  Millionen) gelangte ein Umschlag in der Deckenfarbe zur Beobachtung, der, wie die Mehrzahl der Farbänderungen, mit veränderter Reaktion der Nährlösung verbunden war.

#### e) Salizylsäureversuche.

Salizylsäure, dauernd zugesetzt, verlangsamt die Entwicklung. Von einer Schädigung kann aber doch nicht geredet werden, da nach 5 Tagen geschlossene Konidiendecken allenthalben vorhanden sind.

1 : 2000	}	blaugrün abgeändert, Nährlösung neutral.
1 : 4000		
1 : 2 Mill.		

1 : 2000 und 1 : 4000 schlugen auf Nährlösung ohne Gift sofort zur Stammmasse zurück.

1 : 2 Mill.: K 15 f.

1.—3. Generation: blaugrün.

4. „ : chromgrün wie die Stammmasse.

5.—25. „ : blaugrün.

Die Kultur hat die Eigentümlichkeit, daß immer nur eine, selten einmal mehr als eine von 3—4 Parallelkulturen normal fruktifiziert, trotz völlig gleichartiger Behandlung, während die anderen völlig steril bleiben.

< 1 : 2000, < 1 : 4000 bis < 1 : 800 Mill.: sämtlich blaugraugrün abgeändert, nicht auf Konstanz geprüft.

Die schon bei *Penicillium* beobachtete Erscheinung des Zurückschlagens zur Stammmasse in einer Generation, ohne daß damit die erworbene Abänderung nun ganz verloren geht, tritt hier bei 1 : 2 Millionen wieder hervor. Im übrigen zeichnet sich grade diese Form durch erhebliche Konstanz<sup>1</sup> aus. Sie war die einzige, die längere Kultur bei 35° C ohne tiefgreifende Schädigung überstand, wenn sie sich auch während dieser Zeit nicht so schnell entwickelte und erst in vier Wochen so weit war, wie sonst in zehn Tagen.

#### f) Bleinitratversuche.

1 : 40 000: blaugraugrün abgeändert.

< 1 : 4000	} blaugraugrün, Nährlösung neutral.
< 1 : 100 000	
< 1 : 2 Mill.	
< . : 40 Mill.	

Alle diese Kulturen besaßen die merkwürdige Eigenschaft, nach etwa zehn Tagen sich in der Gesamtheit der Decken chromgrün zu verfärben, um schließlich wie die Stammmasse in Braungrün überzugehen. Wie bei der Kultur 1 : 4000 festgestellt wurde, ging damit die Alkalität der Nährlösung parallel.

Die hier geschilderte Eigentümlichkeit ist, schwer zu erklären. Sie beruht sicher auf keiner Augentäuschung, da sie übereinstimmend bei allen vier Kulturen beobachtet werden konnte, dagegen sonst nie. Schwierig wird die Deutung besonders dadurch, daß es ja die zuerst abgeschnürten, ältesten, die oberste Schicht bildenden Konidien waren, die den Farbwechsel durchmachten, nicht etwa die jüngsten. Von der Kultur < 1 : 100 000

<sup>1</sup>) Auch sie ist, nach Abschluß der Arbeit, in der 26. Generation zurückgeschlagen.

hatte ich nach sechs Tagen, ehe noch der merkwürdige Umschlag aufgetreten war, auf giftfreie Nährlösung abgeimpft:

2.—7. Generation: blaugraugrün in der Gesamtheit der Köpfchen.

8. „ : graugelb infolge der ungeeigneten hohen Temperatur.

9. „ : hellblaugraugrün, scheinbar angepaßt an die neuen Temperaturverhältnisse.

10.—12. Generation: graugelb, sehr spärliche Konidien.

13.—15. „ : steril, immer verkümmert.

Die Nährlösung aller dieser Kulturen reagierte neutral.

Nach dem Rückschlag zur Stammrasse (vgl. S. 277) impfte ich wieder von dieser, wie von der Kultur 1:2 Millionen auf giftfreie Nährlösung ab, erhielt aber diesmal nur Decken von der chromgrünen Farbe der Stammrasse. Es ist also an dem tatsächlichen Rückschlag der Sporen nicht zu zweifeln.

#### g) Uranyl nitratversuche.

1:2000 behindert das Wachstum, so daß es nicht mehr zu Konidienentwicklung kommt.

1:4000

1:200 000

1:2 Mill.

1:40 Mill.

1:800 Mill.

} blaugraugrün, neutrale Nährlösung.

1:4000: blaugraugrün, sofort zum Chromgrün der Stammrasse zurückgeschlagen.

< 1:40 000: blaugraugrün.

2. Generation: chromgrün wie die Stammrasse.

3.—8. „ : blaugraugrün.

9.—11. „ : sandfarben, infolge erhöhter Temperatur schwache Konidienentwicklung, 1—2 Konidien an jeder Sterigme.

12. und 13. Generation: steril.

< 1:2 Mill.: blaugraugrün, fleckenweise.

Hiervon abgeimpft:

2.—6. Generation: ebenso fleckenweise blaugraugrün abgeändert, nirgends die ganze Decke einheitlich.

7.—10. Generation: kümmerliche sandfarbene Kulturen infolge Temperaturerhöhung wie vorher.

Also auch bei Uranyl nitrat kam es vor, daß nur Teile der Konidiendecke abgeändert waren.

#### h) Jodkaliumversuche.

Die Konidienentwicklung setzte bei Jodkaliumzusatz erst sehr spät ein. Noch nach 5 Tagen ist nur steriles Mycel ausgebildet, nach 8 Tagen werden

die ersten Köpfchen entwickelt, und erst nach 12 Tagen sind die Decken geschlossen.

Alle Kulturen waren lange Zeit rein eigelb. Bei dem Versuch, hiervon eine konstant gelbe Form zu erhalten, fand sich, daß z. B. die von den eigelben Konidien der Kultur

$\lt 1 : 200\ 000$  abgeimpfte

2.—3. Generation zwar keine gelben Sporen besaßen, dagegen aber blaugrün abgeänderte.

4. Generation: chromgrün wie die Stammrasse.

5.—6. „ : graublaugrün.

7. „ : chromgrün wie die Stammrasse, ebenso die folgenden drei.

Die gelben Konidien der Jodkaliumgeneration verfärbten sich nach 20 Tagen vom Rande her gleichfalls chromgrün.

Es liegt hier also der Fall ähnlich wie bei den Bleinitratkulturen  $\lt 1 : 4000$ ,  $\lt 1 : 100\ 000$  usw. Solange die Kulturen noch jung sind, erhält man bei der Abimpfung von ihnen die konstant abgeänderte Form. Beim Abimpfen von denselben, aber alten Kulturen dagegen findet Rückschlag zur Stammrasse statt, ohne Wiederauftreten der Abänderung in der Deszendenz. Nur kommt hier noch dazu, daß die Abänderung in der beeinflussten Kultur selbst wegen mangelnder Verfärbung nicht sichtbar wird.

### i) Rhodankaliumversuche.

Rhodankalium wurde in Verbindung mit Schwarzbrot verwandt, das damit in den 8 verschiedenen Konzentrationen getränkt wurde (je 20 ccm). Man braucht aber keine Petrischalen zu nehmen, wenn man hart gewordenes Brot fein reibt, in *Erlenmeyer* kölbchen füllt und mit der Giftlösung durchfeuchtet autoklaviert.

Die Kulturen entwickelten sich außerordentlich schnell und kräftig. Schon nach 2 Tagen war die Oberfläche des Brotes von einer lückenlosen Konidiendecke überzogen, vielfach von sekundärem weißen Mycel (vergl. S. 234 das bei *Pen. Gesagte*) überwuchert, das weder bei der Stammrasse noch bei einer der bisherigen Abänderungen aufgetreten war. Die Farbe der primären Konidien war ein intensives bläuliches Saftgrün, während der normale *Aspergillus flavus* auf Schwarzbrot ohne Gift primäre schmutzichromgrüne, schon nach 8 Tagen braun verfarbte Konidien besitzt, sekundäre aber darauf nicht ausgebildet werden. Die nach 10 Tagen erscheinenden sekundären Konidien der Giftkulturen sahen blaugraugrün aus. Doch enthalten die Polster große Kolonien matt strohgelber (sog. neapelgelber) Köpfchen.

Von diesen neapelgelben Konidien der Kultur  $1 : 100\ 000$  wurde auf Nahrungslösung ohne Gift abgeimpft. Sie blieb 5 Generationen konstant in der Weise, daß zunächst blaugraugrüne primäre und später neapelgelbe sekundäre Koni-

dien abgeschnürt wurden. In der 6. Generation trat Rückschlag zur Stammmasse ein, der nicht rückgängig zu machen war. Mit derselben Generation hörte die Entwicklung sekundärer Konidien auf.

Auf Brot ohne Giftzusatz abgeimpft, war der Unterschied zwischen primären blaugraugrünen und sekundären neapelgelben genau so scharf und blieb in 7 Generationen bestehen, ehe Rückschlag zur Stammmasse eintrat.

Nährlösung mit Rhodankaliumzusatz wurde nur in der Giftkonzentration  $< 1 : 100\ 000$  zu einer Kultur verwandt. Auch hierauf wurden zuerst blaugüne primäre und dann sekundäre neapelgelbe Konidien abgeschnürt. Die Kultur blieb 6 Generationen konstant, sowohl bei Abimpfung von den primären, als auch von den sekundären Konidien. Nach 3 monatiger Ruhe waren die stumpfgelben Konidien zwar noch keimungsfähig, entwickelten aber nur noch vollkommen sterile Mycelien, sowohl bei optimaler, als bei Zimmertemperatur.

Rhodankalium ruft demnach die Entwicklung sekundärer Konidien hervor, wozu *Aspergillus flavus* sonst keineswegs neigt. Auffällig ist dabei, daß diese Neigung bei Fortfall des auslösenden Einflusses bestehen bleibt und erst nach einer längeren Generationsreihe zusammen mit der Konidienfarbe verschwindet, sowie die Tatsache, daß die sekundären Konidien anfänglich zweifarbig sind, während in der Deszendenz die primären blaugraugrün wie der eine Teil der unter dem Gifteinfluß entstandenen, die sekundären dagegen neapelgelb wie der andere Teil jener sekundären Konidien gefärbt sind, ganz gleich, von welchem Teil man abimpft. Es geben also blaugraugüne wie strohgelbe sekundäre Konidien stets erst blaugraugüne primäre und dann sekundäre strohgelbe, aber nie sind umgekehrt etwa schon die primären strohgelb. Leider konnte wegen Rückschlags die Konstanz nicht sehr weit verfolgt werden.

#### k) Sublimatversuche.

Mit Sublimat wurde gar kein Erfolg erzielt. Dagegen hinderte es die Keimung bis zur Konzentration  $1 : 2$  Millionen.

#### l) Manganversuche.

Manganchlorid brachte gleichfalls keinerlei Abänderung hervor, obwohl ich die Reihen dreimal wiederholte. —

In Tabelle 3 (s. S. 282 u. 283) sind Häufigkeit und Dauer der Konstanz der Abänderungen zusammengestellt.



Die gleichzeitig mit jeder Reihe angesetzten giftfreien Kontrollkulturen zeigten niemals irgendeine Abweichung vom normalen Aussehen. Sie waren stets chromgrün, wie auch die Stammmasse geblieben ist.

Die abgeänderten Sporen sind cytologisch nicht von den normalen zu unterscheiden. Ebensowenig waren morphologisch irgendwelche Abweichungen im Bau der Konidienträger oder in der Sporengröße zu erkennen. Nur die Pigmentierung ist etwas stärker bei den blaugrünen Formen. Außer der veränderten Färbung ist die Neutralisierung, resp. die Säuerung der sonst alkalischen Nährlösung das einzige Unterscheidungsmittel.

Die Launenhaftigkeit des Auftretens von Abänderungen, die schon bei *Penicillium* so auffällig sich bemerkbar machte, springt auch bei *Aspergillus flavus* deutlich in die Augen. Nur sind hier die Abänderungen überhaupt seltener und an Zahl sehr viel geringer (nur 6). Abänderungen und Rückschlag können in derselben Art, wie bei *Penicillium*, die Gesamtheit der Konidienköpfchen umfassend, auftreten; jedoch besteht hier noch die Möglichkeit, daß nur Teile der Decke, selbst bei Einzellkulturen, abgeändert werden, während andere völlig normal bleiben, auch ebensolche Deszendenz geben, wie durch Versuch jedesmal in mehreren Kulturen festgestellt werden konnte. Diese Beobachtung des fleckenweisen Auftretens würde also mit den Angaben Waterman's für *Pen. glauc.* und *Asp. nig.* (vergl. S. 228) in Parallele zu setzen sein, nur daß ich sie für *Penicillium* nirgends bestätigt fand. Dies fleckenweise Auftreten ist jedoch von »Sektorenmutation« wohl zu unterscheiden, da von irgendwelcher gradliniger Begrenzung keine Rede sein kann.

Besonders bemerkenswert und erstaunlich ist der bei gewissen Bleinitratkulturen (z. B.  $< 1 : 100\,000$ ) beobachtete Rückschlag abgeänderter Konidien ein und derselben Impfgeneration, noch im Konidienträgerverbände, zur Farbe der Stammmasse, ohne daß irgendein erkennbarer Grund dafür anzugeben ist.

Das Umschlagen einer Farbänderung in eine andere scheint selten vorzukommen, jedenfalls gelangte es in meinen Versuchen nicht oft zur Beobachtung (z. B. Chloralhydrat  $1 : 40$  Mill.). Abänderungen, Rück- oder Umschlag hängen eng zusammen mit der Reaktion der Nährlösung, was darauf hindeuten könnte,

Giftzusatz	Konzentrationsstufen							
	1:2000	< 1:2000	1:4000	< 1:4000	1:40000	< 1:40000	1:100000	< 1:100000
CnSO <sub>4</sub> . . . . .		+	+ 5* (?)	+ 5* (?)	+ 5* (?)	+ 5* (?)	+	+
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> . . . . .					+ *			
Fe <sub>2</sub> Cl <sub>3</sub> . . . . .		+ 8* (?)			+ *	+ 8* (?)		
CCl <sub>3</sub> COH . . . . .				+	+ 5*		+ 2*	
C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OH)COOH	+ *	+ ?	+ *	+	+	+ ?		+ ?
PbNO <sub>3</sub> . . . . .				+	+			+ 12* (?)
UO <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . . . . .			+ *			+ 11* (?)		
KJ . . . . .								
KCNS . . . . .	+ ?		+ ?		+ ?		+ 5*	+ 6*
HgCl <sub>2</sub> . . . . .								
MnCl <sub>2</sub> . . . . .								

Die Zeichen bedeuten dasselbe wie in Tabelle 1. Eingeklammerter Stern mit Fragezeichen gibt an, daß die Konstanzfrage nicht mit Sicherheit zu beantworten ist, supraoptimale, nicht gleichgebliebene Temperatur Sterilität oder Konidienmangel u.

daß die Bedingungen für das Auftreten der veränderten Deckenfarbe vor allem in verändertem Stoffwechsel zu suchen sind.

Bezüglich der Konstanz der Formen gilt dasselbe Schema wie für *Penicillium*. Es sind sofort zurückschlagende, erst nach längerer Konstanz und überhaupt nicht zurückschlagende zu unterscheiden, wenn auch von der letzten Art wegen der Unmöglichkeit der Schaffung dauernd gleichmäßig günstiger Kulturbedingungen nur ein Vertreter genannt werden konnte.

Trotz einiger Abweichungen im Auftreten der Abänderungen besteht doch eine bemerkenswerte Ähnlichkeit darin zwischen *Aspergillus flavus* und *Penicillium glaucum* f. H.

### B. *Aspergillus fuscus* Schieman.

Dieser Pilz war mir mit anderen zufällig von Herrn Prof. W e h m e r über-sandt worden und wurde von mir wegen seiner charakteristischen Färbung zu ähnlichen Versuchen wie den bisher beschriebenen verwandt. Sein morphologisches und physiologisches Verhalten findet sich in der Schieman-n-schen Arbeit (1912) beschrieben. Geprüft wurde nur mit Bleinitrat, Eisenchlorid und Chloralhydrat. Nur unter dem Einfluß von Bleinitrat wurde eine anstatt rotbraun grünlichgelb gefärbte Abänderung (Kultur 1:4000) erhalten, die bei Abimpfung auf giftfreie Nährlösung 3 Impfgenerationen konstant blieb, dann aber zur Stammmasse zurückschlug.

Die Zahl der Versuche ist hier zu gering, um behaupten zu können, daß

elle 3.

r Gifte

	1:200 000	< 1:200 000	1:2 Mill.	< 1:2 Mill.	1:40 Mill.	< 1:40 Mill.	1:800 Mill.	< 1:800 Mill.
5* (?)	+	+	+	+ 5* (?)	+ 5* (?)	+	+ 5* (?)	
	+ 8* (?)		+ ?					
	+ ?		+ ?	+ 4*	+ 3*			
+ 25	+ ?		+ ?		+ ?			+ ?
10* (?)		+ ?		+ ?			+ ?	
	+ 6*			+ ?			+ ?	

mit verbundene schwache Deckenfärbung zur Folge hatte, ohne daß diese Verkümmerng durch günstige Wachstumsbedingungen zu überwinden gewesen wäre.

eine Ähnlichkeit mit *Penicillium glauc.* f. F. bestände, indessen ist die Beeinflußbarkeit augenscheinlich gering.

### C. *Aspergillus cinnamomeus* Schieman.

Dieser ebenfalls durch die Freundlichkeit von Herrn Prof. We h m e r erhaltene rehbraune *Aspergillus* wurde mit denselben Giften wie *fuscus* behandelt. Es fand sich, daß Eisenchlorid in den Konzentrationen 1 : 2000, 1 : 4000, 1 : 40 000, 1 : 100 000 und 1 : 200 000 das helle Rötlichgelbbraun der normalen Kulturen in ein Rötlichviolettgrau verwandelte. Konstanzprüfung, als Einzell- und Vielzellkulturen vorgenommen, ergab immer sofortigen Rückschlag zur Stammrasse bei Abimpfung auf giftfreie Nährlösung. In der Schnelligkeit der Sporenentwicklung wird übrigens *Asp. cinnamomeus* keineswegs durch den Eisenzusatz günstig beeinflusst. Die Grenzkonzentration  $Fe_2Cl_3$  1 : 1200 war auch im Laufe vieler Generationen nicht höher hinauf zu verschieben.

### D. *Aspergillus ochraceus* Wilhelm.

Noch ein dritter brauner *Aspergillus*, *Aspergillus ochraceus*, derselben Quelle entstammend, wurde auf die gleiche Weise geprüft. In der Färbung sieht er dem Schie m a n n schen *fuscus* zum Verwechseln ähnlich. Bezüglich seiner morphologischen Verschiedenheiten verweise ich auf We h m e r (1903) und Schie m a n n (1912).

Durch Bleinitrat 1 : 40 000, 1 : 200 000 und 1 : 800 Mill., sowie Chloralhydrat < 1 : 4000, < 1 : 2 Mill. und < 1 : 40 Mill. wurden dunkelgraubraune Abänderungen erzielt, die sämtlich nicht konstant waren.

Die allerdings wenig umfangreichen Versuche mit diesen hellbraunen *Aspergillen* haben nur inkonstante oder vorüber-

gehend konstante Abänderungen geliefert, die aber in der Art wie bei *Penicillium f. H.* in Erscheinung traten, die ganze Konidiendecke umfassend.

Demgegenüber werden sich aber bei dem nun noch zu behandelnden *Aspergillus niger* wichtige Unterschiede zeigen.

#### E. *Aspergillus niger* van Tieghem.

Diese Form wollte sich im Bonner Institut nicht einfangen lassen. Auf meine Bitte übersandte ihn mir deshalb Fräulein E. Schiemann, Berlin, in Reinkultur. Einen zweiten Stamm erhielt ich, gleichfalls in Reinkultur, mit anderen *Aspergillen* und *Penicillien* von Herrn Prof. Wehmer, Hannover. Beiden danke ich für ihr freundliches Entgegenkommen.

#### 1. Morphologie der Schiemannschen *niger*-Rasse.

Der Konidienrasen ist auf Nährlösung wie auf Agar von tief schwarzbrauner Farbe. Die Konidienträger stehen dichtgedrängt. Sporen werden massenhaft abgeschnürt. Unterseits ist das Mycel farblos. Die Nährlösung wird nicht auffallend verfärbt. Sekundäres Mycel tritt bei dieser *niger*-Rasse nicht auf. Bezüglich der Keimung und Entwicklung des Pilzes, sowie der Dimensionen von Hyphen, Trägern, Sterigmen und Sporen kann ich auf die Schiemannschen Angaben (1912) hinweisen.

#### 2. Die proteusähnliche Abänderung<sup>1</sup>.

##### I. Die Schiemannsche *niger*-Rasse.

Ohne große Mühe konnte ich diesen *Aspergillus niger*-Stamm durch äußere Eingriffe zur Abänderung zwingen, durch Gifte, wie durch Temperaturerhöhung und andere Bedingungen. Dabei trat jedoch in völligem Gegensatz zu meinem *Penicillium f. H.*, sowie in beschränkterem Maße auch noch zu *Aspergillus flavus*, die auf fast jeden Eingriff in anderer Weise abänderten, eigentlich, soweit nicht cytologische Befunde in Betracht gezogen werden, immer nur eine und dieselbe Abänderung auf, bald von geringerer, bald von größerer, ja selbst, soweit ich sehen kann, vollkommener Konstanz, eine Form nämlich, die durch hellbraune Konidienköpfchen und andere Merkmale von der Stammform verschieden ist. Sie besitzt sehr große Ähnlichkeit mit der Schiemann'schen Mutante *proteus*, ohne mit ihr,

<sup>1</sup>) Die proteusähnliche und die fuscusähnliche Abänderung werden zuweilen als *proteoides* resp. als *fuscoides* bezeichnet. Beide Benennungen decken sich.

wie ich zeigen werde, identisch zu sein. Ich will sie als proteusähnliche Form bezeichnen. Gleich hier sei bemerkt, daß eine andere niger-Rasse, die von der eben erwähnten Stammform morphologisch in doppelter Hinsicht etwas abweicht, ebenfalls durch solche Bedingungen gezwungen werden konnte, die proteusähnliche Form zu bilden.

Außerdem ist mir nur noch eine andere Abänderung aus dem niger (Schiemann) gelungen, die ich als fuscus-ähnliche Form beschreiben werde.

a) Art des Auftretens.

Sie tritt in ganz anderer Weise auf, wie es für die Abänderungen von *Penicillium f. H.* oder *Asp. flavus* beschrieben wurde. Während dort unter dem Gifteinfluß, wenn überhaupt Abänderung auftrat, die Gesamtheit aller Konidien eines Mycels einheitlich abgeänderte Färbung zeigte, oder doch wenigstens zusammenhängende Teile davon abweichend gefärbte Köpfchen besaßen (*flavus*), sind die Konidiendecken von *Asp. niger* bei dem ersten Auftreten der Abänderung niemals, weder in ihrer Gesamtheit, noch in einheitlich wirkenden Flecken, verändert. Die hellbraunen Köpfchen, deren Deszendenz die proteusähnlichen Decken ergeben, stehen vielmehr, allerdings meist in sehr großer Zahl, zerstreut über die sonst unverändert aussehende Kultur als hochträgerige, hellgelbbraune Köpfchen, die sich auch im Alter nicht dunkler färben. Zuweilen ist die Decke der unveränderten Köpfchen so dicht von ihnen übersät, daß diese kaum noch sichtbar sind: erst bei genauer Betrachtung erkennt man die schwarzbraune Schicht der unabgeänderten Köpfchen darunter. Sie können auch, in größerer Zahl an einer Stelle gehäuft, die Decke als hellen Schopf überragen, aber niemals bilden sie von vornherein die Gesamtheit aller Köpfchen. Durch Einzellversuche ließ sich feststellen, daß sie mit den normal schwarzbraunen an ein und demselben Mycel auftreten und dasselbe Bild geben wie bei Massenaussaat, wenn sie auch ebenso wenig mit unbedingter Sicherheit zu erhalten sind, wie die Abänderungen bei den früher beschriebenen Pilzen, da sie unter bestimmten Bedingungen einmal entstehen und ein andermal fehlen, ohne erkennbare Ursache.

Auch darin unterscheiden sich diese abgeänderten hellbraunen Köpfchen von den normalen der Stammmasse, daß sie sich später entwickeln, daß sie nicht gleichzeitig mit den dunkeln erscheinen oder wenigstens reifen.

Impft man von diesen hellbraunen Köpfchen ab, so erhält man nicht sofort eine homogene Decke rein hellbrauner Köpfchen, sondern Decken von demselben gesprenkelten Aussehen der ersten, ganz gleich, ob man von Einzell- oder Vielzellkulturen ausgeht. Erst nach einer wechselnden Zahl von Impfgenerationen erhält man, wenn es überhaupt zu Konstanz kommt, was nur selten eintritt, Decken nur von der typisch abgeänderten Art mit Köpfchen von hellbrauner bis kaffeebrauner Färbung, die alle, soweit sich das im Einzelnen prüfen läßt, beim Abimpfen die proteusähnliche Rasse ergeben.

#### b) Auftreten der proteusähnlichen Abänderung unter dem Einfluß von Giften.

Es wurden verschiedene Wege gefunden, um diese Abänderung zu erhalten, zunächst Gifteinfluß. Ich ließ ihn in der gleichen Weise, wie bei *Penicillium f. H.* ausführlich mitgeteilt wurde, einwirken und will daher nur die Kulturen mit abgeänderten Köpfchen anführen. Alle übrigen, nicht besonders angeführten Kulturen waren mit der Stammmasse identisch.

### 1. Versuche mit Bleinitrat.

Alle 16 Kulturen besaßen abgeänderte helle Köpfchen in großer Zahl. Das Mycel war anfänglich gelb gefärbt.

Abgeimpft wurde zwecks Konstanzprüfung von diesen hellen Köpfchen, soweit nicht durch absichtliches Abimpfen von den normal, d. h. wie bei der Stammmasse gefärbten Köpfchen geprüft werden sollte, ob diese Köpfchen nicht bloß unabgeändert aussähen, ihre Deszendenz aber doch die proteusähnliche Form lieferte. Von solchen dunklen, also normal gefärbten Konidien wurde jedesmal auch dann abgeimpft, wenn eine abgeänderte Kultur zur Stammmasse zurückschlug, analog wie bei *Penicillium*. Das Abimpfen von den hellen Köpfchen gelang ohne Schwierigkeit, da sie die dunkeln an Höhe überragen.

1 : 200 000 } Rückschlag zur Stammmasse auf giftfreier Nährlösung. Auch  
 1 : 40 Mill. } in 3 weiteren Generationen ist kein helles Köpfchen sichtbar. So oft auch von den hellen Köpfchen der 1. Generation abgeimpft wurde, niemals zeigten sich in der folgenden wieder solche.

< 1 : 40 000 : J 16 c<sub>1</sub>.

1. Generation (auf dem Gift<sup>1</sup>): helle Köpfchen in großer Zahl, mehr helle als dunkle; Nährlösung nach 8 Tagen schwarzbraun verfärbt, ebenso die Mycelunterseite.

2. Generation: (auf giftfreier Nährlösung<sup>1</sup>): fast keine normal schwarzbraunen Köpfchen mehr, sonst ebenso.

3. Generation: dunkle Köpfchen nur noch am Rande der Decke.

4. „ : nur helle Köpfchen.

5. „ : hellbraune bis kaffeebraune Köpfchen.

6.—39. „ : konstant ebenso.

Anfangs, bis zur 10. Generation, wurden stets mehrere Parallelkulturen von jeder Impfgeneration angelegt. Sie hatten aber von der 4. Generation an völlig gleiches Aussehen, so daß später immer nur 1 Kultur angesetzt wurde. Die Deckenfarbe variiert, wie oben beschrieben, ohne erkennbaren Grund, da die Zusammensetzung der Nährlösung und die Temperatur des Wärmeschrankes von Anfang an die gleiche geblieben ist, abgesehen von geringen Schwankungen der Temperatur innerhalb ein bis zwei Graden, die in einem gewöhnlichen Laboratoriumsraum unvermeidlich sind. Die Decken waren in den letzten Generationen zuweilen fast mausgrau mit gelblichen Stellen, meist jedoch kaffeebraun. Übrigens zeigte der *Schiemannsche proteus*<sup>2</sup>, den ich nebenher unter denselben Bedingungen kultivierte, seit längerer Zeit dieselbe Erscheinung, während er früher ebenso hellbraun bis scheckig aussah wie meine Rasse. Möglicherweise spielt die Laboratoriumsluft eine Rolle dabei, die im Sommer bei den tagsüber offen stehenden Fenstern weniger in Betracht kommt.

Eine der Parallelkulturen der 5. Impfgeneration ist gleichfalls weiterverfolgt worden: J 16 c<sub>1</sub> (ax), hat sich aber genau so wie ihre Schwesterkultur verhalten und ist bisher 31 Generationen konstant geblieben.

< 1 : 200 000: J 16 c<sub>1</sub>.

1. Generation: zahlreiche helle Köpfchen, auch sonst wie J 16 c<sub>1</sub>.

2. „ : überwiegend helle Köpfchen.

3.—39. „ : homogen hell- bis kaffeebraun.

< 1 : 2000: J 16 a<sub>1</sub>. Sofort zur Stammrasse zurückgeschlagen. Aus ihr durch Anwendung von Nährlösung veränderter Konzentration später eine konstant proteoide Form erhalten (vergl. S. 297).

Die Bleinitratreihen wurden 6 mal wiederholt. Zweimal lieferten die gleichen Konzentrationen < 1 : 40 000 und < 1 : 200 000 dieselben konstanten Formen: J 16 c<sub>1</sub> (a), bisher 36 Generationen konstant; J 16 c<sub>1</sub> (b), 27 Generationen konstant, in der 28. Generation zur Stammrasse zurückgeschlagen, auch in den folgenden Generationen durchaus normal schwarzbraun; J 16 c<sub>1</sub> (b).

<sup>1</sup>) Die erste Generation ist hier, wie bei allen folgenden Kulturen, die gifthaltige Kultur, die zweite die durch Abimpfung von der gifthaltigen auf giftfreier Nährlösung entstandene Generation.

<sup>2</sup>) *Asp. proteus*, *Asp. fuscus* und *Asp. cinnamomeus* wurden mir von Herrn Prof. Wehmer, der die 3 Stämme von Fräulein Schiemanu direkt erhielt, zufällig mit anderen Aspergillen übersandt, nachdem mein proteoides schon lange vorhanden war.

bisher 35 Generationen konstant. Von den übrigen Kulturen, die gleichfalls helle Köpfchen in wechselnder Menge aufwiesen, war keine konstant. In drei anderen Kulturreihen mit Bleinitratzusatz hatten nur wenige Kulturen helle Köpfchen, einmal 1 : 4000 und 1 : 2 Mill., die erste 3, die zweite 2 Generationen konstant; die andere < 1 : 2000, < 1 : 4000 und < 1 : 200 000, sämtlich sofort zurückschlagend; die dritte 1 : 100 000, 4 Generationen konstant, < 1 : 4000 und < 1 : 40 000, sofort zurückschlagend. Bei der 6. Wiederholung der Reihen war keine abgeänderte dazwischen. Einem Einzelversuch mit Bleinitrat < 1 : 200 000 verdankt noch die Kultur J 16 c<sub>1</sub> (b<sub>1</sub>) ihre Entstehung, die eine Zeitlang durch ein besonders auffälliges Rotbraun ihrer Konidien auffiel und 32 Generationen als konstant verfolgt wurde.

Diese Versuche mit Bleinitrat zeigen bereits, daß die proteusartige Abänderung bald recht konstant, bald ganz inkonstant erhalten werden kann. Irgendwelche äußere morphologische Unterschiede zwischen den Formen verschiedener Konstanz habe ich nicht beobachten können, wodurch es mir sehr wahrscheinlich werden mußte, daß es sich bei ihnen allen um ein und dieselbe Abänderung handelt, die sich sehr auffällig auch dadurch von der Stammmasse unterscheidet, daß sie die Nährlösung schwarzbraun färbt und ihre saure Reaktion in alkalische umwandelt.

Zu beachten ist, daß die Rückschläge hier und im Folgenden in Vielzellkulturen auftreten, so daß also alle Mycelien von dem Rückschlage betroffen werden, ähnlich wie bei Penicillium, wo schon darauf hingewiesen wurde, daß das auf noch unbekannte Außenfaktoren hinweist, von denen der Rückschlag abhängt. Während aber dort der Rückschlag stets nach einer geringeren Zahl von Generationen eintrat, wurde hier der außergewöhnliche Fall beobachtet, wo das erst nach 27 Generationen geschah: J<sub>16</sub> c<sub>1</sub> (b). Das läßt es nicht als völlig ausgeschlossen erscheinen, daß die bisher als dauernd konstant beschriebenen Formen doch noch bei weiterer Kultur eines Tages zurückschlagen werden.

Im wesentlichen gleich war das Verhalten der

## 2. Manganchloridkulturen.

Helle Köpfchen besaßen die Kulturen 1 : 4000, 1 : 100 000, 1 : 200 000, 1 : 2 Mill., < 1 : 2000, < 1 : 4000 bis < 1 : 800 Mill.

1 : 4000: J 19 b.

1.—8. Generation: überwiegend helle Köpfchen, aber nicht ausschließlich.

9. „ : Rückschlag zur Stammmasse.



Erneutes Abimpfen von weiter zurückliegenden Kulturen, der 8., 6., 4., 3. Generation hatte immer den gleichen Erfolg, daß die der 9. Generation zeitlich entsprechende Generation Rückschlag zeigte!

1 : 100 000: J 19 d.

Verhielt sich wie die geschilderten Bleinitratkulturen J 16 c<sub>1</sub> und J 16 e<sub>1</sub>. Sie liegt jetzt in der 28. Generation vor. Alle ihre Köpfchen, hellbraune bis kaffeebraune, geben beim Abimpfen die proteoide Form.

1 : 200 000: J 19 e.

1. Generation: zahlreiche helle Köpfchen.
2. „ : Mehrzahl heller Köpfchen.
- 3.—5. „ : ausschließlich helle Köpfchen.
6. „ : Rückschlag zur Stammmasse.

Es ist auffällig, daß der Rückschlag solcher anfänglich konstanten Rassen gänzlich unvermittelt, ohne jeden Übergang auftritt und zwar, da eine Vielzellkultur vorliegt, bei allen Mycelien, die aus den ausgesäten Sporen hervorgehen.

< 1 : 800 Mill.: J 19 h<sub>1</sub>.

1.—9. Generation: konstant, anfangs zahlreiche, von der 4. Generation an ausschließlich helle Köpfchen.

10. Generation: Rückschlag zur Stammmasse.

Trotz allen Abimpfens zu verschiedenen Zeiten von verschiedenen Generationen, auch durch Anlegen von Einzelkulturen war keine weitergehende Konstanz zu erzielen.

Zweimal wurden die Manganreihen erneut angesetzt, aber beide Male war keine einzige Kultur abgeändert.

Bei der Kultur 1 : 4000 (J 19 b) gelang es, sie auf andere Weise zur Konstanz zu zwingen, nämlich durch Anlegen von Einzelkulturen (vergl. S. 302).

Merkwürdig ist hier vor allem die mit 1 : 4000 Manganchlorid erzielte Abänderung (J<sub>19</sub>b) und zwar dadurch, daß sie immer genau 8 Generationen konstant blieb.

Alle anderen Gifte haben länger konstant bleibende Kulturen nicht ergeben. Stets trat Rückschlag nach einigen bis vielen Generationen ein. Da ihr Verhalten aber doch für die endliche Beurteilung der proteusähnlichen Rasse von Wert ist, seien die Versuche hier kurz aufgezeichnet.

### 3. Uranylнитratversuche.

< 1 : 100 000: J 14 d<sub>1</sub>.

1. Generation: zahlreiche helle Köpfchen.
2. „ : helle und schwarzbraune zu gleichen Teilen.
3. „ : nur helle bis kaffeebraune.
4. „ : graubraune Köpfchen, unverfärbte Nährlösung.
5. „ : nur graugelbliche und graubräunliche Köpfchen, verfärbte Nährlösung.

- 6.—7. Generation: winzige graubraune Köpfcchen, unverfärbte Nährlösung.  
 8.—9. „ : kaffeebraune Köpfcchen, verfärbte Nährlösung.  
 10. „ : winzige graubraune Köpfcchen, unverfärbte Nährlösung.  
 11.—12. „ : helle Köpfcchen im Überschuß, verfärbte Nährlösung.  
 13. „ : schwarzbraun wie die Stammmasse, unverfärbte Nährlösung.  
 14.—15. „ : ausschließlich helle Köpfcchen, verfärbte Nährlösung.  
 16. „ : umbrabraun, unverfärbte Nährlösung.  
 17. „ : kaffeebraun, verfärbte Nährlösung.  
 18. „ : schwarzbraun wie die Stammmasse, auch in 12 weiteren Generationen.

Aus dieser Unregelmäßigkeit könnte man geneigt sein zu folgern, daß die proteusähnliche Form doch identisch sei mit der Schiemann'schen proteus-Mutante, die ja grade gekennzeichnet ist durch die große Variabilität von Farbe und Wuchsform, die Schiemann auf geringe Verschiedenheiten des Substrates zurückführt, hervorgerufen durch geringe physikalische Änderungen, die nicht in der Hand des Experimentators liegen. Allerdings beziehen sich ihre Angaben auf das Verhalten des proteus auf Agarnährboden. Zudem ist die proteusähnliche Rasse im Gegensatz zum echten proteus in der Farbe nicht von der Temperatur abhängig. Bei 35 bis 37° C ist die Färbung genau so wechselnd wie bei 25 bis 30° C oder selbst bei Zimmertemperatur (18 bis 20°), während proteus, auch nach meinen Beobachtungen nur oberhalb 27° C, besonders bei 30° C so fleckig hell- bis kaffeebraune Decken aufweist wie meine Form, unterhalb 27° aber schwarz (schwarzbraun) fruktifiziert. Noch weniger stimmt die proteusähnliche Form mit proteus darin überein, daß bei dieser nach etwa drei Wochen Rückschlag zur Stammmasse stattfindet. Allerdings ist der proteus in meiner Kultur auch bei mehrmonatiger Zwischenimpfzeit nicht zurückgeschlagen. Nachdem ich ihn  $\frac{1}{2}$  Jahr lang alle acht bis zehn Tage einmal auf frischen Agar übergeimpft hatte, blieb er zu Anfang des Krieges drei Monate lang im Agarröhrchen, resp. im Nährlösungskölbchen sich selbst überlassen. Meine Befürchtung, ihn inzwischen verloren zu haben, erfüllte sich jedoch nicht; denn nach so langer Zeit auf Nährlösung zurückversetzt, wuchs er darauf sofort wieder bei 35° C in der für ihn charakteristischen Art. Mag sein, daß er im Lauf der Jahre seit seiner ersten Entstehung zur Konstanz gelangt ist, die ihm bis dahin abging.

Bei der Wiederholung der Uranylнитratreihen traten in allen Kulturen der Reihe  $< 1 : 2000$  bis  $< 1 : 800$  Mill. helle Köpfchen in reichlicher Menge auf. Von einer Konstanzprüfung wurde abgesehen.

Die Uranylнитratkultur  $J_{14} d_1$  zeigt ein besonders schwankendes Verhalten, sowohl hinsichtlich der Konidienfarbe, als auch der Konstanz. Als Zwischenfarbe tritt ein Graubraun auf, das nicht mit Verfärbung der Nährlösung verbunden ist. Trotz des langen Hin- und Herschwankens gelangte die Kultur nicht zur Konstanz einer der Abänderungen.

#### 4. Salizylsäureversuche.

$1 : 4000$ ,  $1 : 40000$ ,  $1 : 100000$ ,  $1 : 200000$ ,  $1 : 2$  Mill.,  $1 : 40$  Mill.,  $1 : 800$  Mill.,  $< 1 : 2000$ ,  $< 1 : 4000$ ,  $< 1 : 40000$ ,  $< 1 : 40$  Mill. besaßen helle Köpfchen in geringerer oder größerer Zahl.

$1 : 100000$ : J 15 d.

1. Generation: zahlreiche hellbraune Köpfchen.

2. „ : wenige, zerstreut stehende helle Köpfchen.

3. „ : Rückschlag zur Stammmasse.

$1 : 40$  Mill.: J 15 g.

1.—7. Generation: in allen überwiegend helle Köpfchen, in den letzten 3 Generationen eine zusammenhängende Schicht über den dunklen bildend, aber nicht etwa an sekundärem Mycel entstanden, sondern an demselben, einzig vorhandenen primären, nur infolge der größeren Länge ihrer Konidienträger die normal schwarzbraunen verdeckend, die aber überall darunter vorhanden sind.

8. Generation: einheitlich schwarzbraun wie die Stammmasse.

Auch in 18 weiteren Generationen kam niemals wieder ein helles Köpfchen zum Vorschein.

$< 1 : 4000$ : sofort zur Stammmasse zurückgeschlagen.

Die beiden Reihen wurden nicht wiederholt.

Die Kultur  $J_{15} g$  (5. bis 7. Generation) macht bei oberflächlicher Betrachtung ganz den Eindruck, als stimme hier die Art des Auftretens mit der bei *Penicillium* beobachteten überein, wo alle Konidien einer Decke zugleich abgeändert waren. Bei genauerem Zusehen erkennt man jedoch, daß hier etwas wesentlich anderes vorliegt, indem ein und dasselbe Mycel gleichzeitig abgeänderte und unabgeänderte Konidienköpfchen zeitigt. Das war freilich schon bei *Asperg. flavus* der Fall, aber dort war es ein Nebeneinander, hier dagegen ein Übereinander. Da jedoch die abgeänderten Köpfchen die später erscheinenden sind, so

ist hier eine Erklärung viel leichter möglich als bei *Asperg. flavus*. Es macht sich eben der Gifteinfluß augenscheinlich nicht sofort äußerlich sichtbar geltend, sondern erst nach einer gewissen Zeit, wirkt dann aber scheinbar einheitlich.

### 5. Eisenchloridversuche.

Eisenchlorid befördert bei der Stammrasse die Konidientwicklung außerordentlich stark, so daß bereits nach 48 Stunden eine völlig zusammenhängende Konidiendecke vorhanden ist, wie auf Nährlösung sonst bestenfalls nach 4 Tagen.

$< 1 : 100\ 000$ ,  $< 1 : 2$  Mill.,  $< 1 : 40$  Mill. und  $< 1 : 800$  Mill. besaßen reichlich helle Köpfchen in den ersten 3 Generationen auf Normallösung. Leider gingen diese Kulturen infolge Erhitzung auf  $55^{\circ}$  C zugrunde. Die sofort neu angesetzten Reihen besaßen helle Köpfchen bei den Konzentrationen  $< 1 : 2000$ ,  $< 1 : 40\ 000$  und  $< 1 : 800$  Mill. Ihre Deszendenz auf Nährlösung ohne Gift war jedoch wie die Stammrasse rein schwarzbraun.

Hier ist bemerkenswert, daß die Kulturreihen mit Eisenchloridzusatz in dauernd gleichhoher Konzentration ( $1 : 2000$  usw. bis  $1 : 800$  Mill.), wo die Beschleunigung der Fruktifikation besonders deutlich ist, keine abgeänderten Sporen besitzen. Es sieht fast so aus, als wenn hier, wo der Gifteinfluß sich nicht sofort bemerkbar macht, bei der Schnelligkeit und Üppigkeit des Fruktifizierens das Wachstum der Decken eher abgeschlossen sei, als das Gift abändernd einzuwirken vermag. Dafür spricht besonders die Beobachtung, daß in zwei von sechs dieser Kulturen nach Zusatz von wenig (1 ccm) frischer Eisenchloridlösung ( $1 : 40\ 000$ ) innerhalb 24 Stunden einige wenige helle Köpfchen auftauchten, während in keiner der anderen Kulturen solche zu sehen waren.

Wie wenig das Auftreten der hellen Köpfchen in Giftkulturen von einer bestimmten Konzentration abhängig ist, beweist die Unregelmäßigkeit dieser Eisenchlorid- (und ihrer Wiederholungs)reihen von neuem.

### 6. Kupfersulfatversuche.

$1 : 2$  Mill.,  $1 : 40$  Mill.,  $1 : 800$  Mill. besaßen helle Köpfchen, jedoch nur spärlich.

$1 : 800$  Mill.: J 19 h.

1. Generation: hellbraune Köpfchen in geringer Zahl.
2. „ : kaffeebraune Köpfchen.
3. „ : überwiegend helle Köpfchen, Nährlösung wie in den vorhergehenden Generationen verfärbt
4. Generation: ebenso, aber Nährlösung unverfärbt.
- 5.—6. „ : fast nur helle Köpfchen, Nährlösung verfärbt.

Die Kultur hatte dasselbe Schicksal wie die Eisenchloridkulturen. Bei mehrfacher Wiederholung der Reihen zu verschiedenen Zeiten besaß niemals eine Kultur helle Köpfchen.

## 7. Kaliumbichromatversuche.

Die schwarzbraunen Decken von  $< 1 : 2$  Mill.,  $< 1 : 40$  Mill. und  $< 1 : 800$  Mill. waren ganz mit hellen Köpfchen übersät. Aber alle Versuche, durch Abimpfen von ihnen die proteusähnliche Rasse konstant zu erhalten, schlugen fehl. Alle 2 Tage, vom Erscheinen der hellfarbigen Köpfchen an, bis die Kulturen 3 Wochen alt waren, impfte ich von ihnen ab, ebenso legte ich viele Einzelkulturen an, aber nicht ein einziges Mal war auch nur ein helles Köpfchen in den zurückgeschlagenen Decken zu finden. Deshalb habe ich die Reihe auch nicht wiederholt.

Außer mit den bisher angeführten Giften wurden die gleichen Versuche mit Chloralhydrat und Sublimat ausgeführt, doch ohne Erfolg, trotz je 3maliger Wiederholung der Reihen<sup>1</sup>.

### c) Kontrollkulturen.

Zu jeder Reihe wurden wie bei *Penicillium* je zwei giffreie, aber sonst gleichartig behandelte Kontrollkulturen angelegt. Alle sahen aus wie die Stammmasse. Helle Köpfchen fehlten überall. Sie verhielten sich also entsprechend den Kontrollkulturen sonst, wo auch niemals Abänderungen auftraten. Freilich standen sie an Zahl den beeinflussten Kulturen ganz erheblich nach, da sie durchschnittlich nur 12% der laufenden Kulturen betrogen.

Auftreten und Konstanz der proteoiden Linien sei noch übersichtlich zusammengestellt in

<sup>1</sup>) Nicht unerwähnt bleibe, daß *Archievsky* (1908) bei Anwendung von Zinksulfat braun abgeänderte Köpfchen in schwarzen *Asp. niger*-Decken erhielt, ohne daß er Aussagen über ev. Erblichkeit dieser Erscheinung gemacht hatte.

Gift	Konzentration							
	1:2000	< 1:2000	1:4000	< 1:4000	1:40000	< 1:40000	1:100000	< 1:100000
PbNO <sub>3</sub> . . . . .	+ ?	+ *	+ ?	+ ?	+ ?	+ 39	+ ?	+ ?
MnCl <sub>2</sub> . . . . .		+ ?	+ 8*	+ ?		+ ?	+ 28	
UO <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . . . . .								+ 17*
C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (OH)COOH		+ ?	+ ?	+ *	+ ?	+ ?	+ 2*	+ *
Fe <sub>2</sub> Cl <sub>3</sub> . . . . .								
CuSO <sub>4</sub> . . . . .								
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> . . . . .								
CCl <sub>3</sub> COH . . . . .								
HgCl <sub>2</sub> . . . . .								

Die Zeichen haben dieselbe Bedeutung wie früher.

Aus der Tabelle, in die jedoch, wie bei den früheren, die Ergebnisse der Wiederholungsreihen nicht mit aufgenommen sind, erkennt man, daß nur drei Kulturen dauernde Konstanz erlangten, während die große Mehrzahl aber sogleich oder nach einer geringeren oder größeren Zahl von Generationen zurückschlug. In einem Falle, bei J<sub>16</sub>C<sub>1</sub>(b), geschah dies sogar erst nach sehr vielen Generationen (27). Im ganzen blieben 7 Kulturen konstant.

Es gelang mir nun, noch auf andere Weise abgeänderte Köpfchen in *Asperg. niger*-Kulturen zu gewinnen. Ehe daher von Versuchen, die Konstanz der proteusähnlichen Rasse zu erzwingen, bzw. sie zu erschüttern, die Rede sein soll, will ich zunächst andere Möglichkeiten anführen, sie zu erhalten.

#### d) Auftreten der proteusähnlichen Abänderung unter dem Einfluß höherer Temperaturen.

Es wurden dreimal je fünf Kulturen auf normaler Nährlösung einmal dauernd bei 45° C gehalten, das andere Mal nur bis zum Sichtbarwerden der Keimschläuche.

Die kurzdauernde Behandlung war gänzlich ohne Einfluß. Deshalb ging ich in späteren Versuchen dieser Art bis 50° C hinauf, ohne besseren Erfolg. Oberhalb 50° C wurden die Sporen innerhalb 24 Stunden, bei 55° C augenblicklich abgetötet.

Die ersten fünf Kulturen, die dauernd bei 45° C gehalten waren (vom 21. März 1914), brachten samtartig kurzträgerige

elle 4.

es Giftes

200 000	< 1:200 000	1:2 Mill.	< 1:2 Mill.	1:40 Mill.	< 1:40 Mill.	1:800 Mill.	< 1:800 Mill.
* + 5*	+ 39	+ ? + ?	+ ? + ?	+ *	+ ? + ?	+ ?	+ ? + 9*
+ ?		+ ? + ?	+ * + *	+ 7* + ?	+ ? + * + *	+ ? + 6 (?)	+ * + *

Decken tiefschwarzer kleiner Köpfchen hervor. Mir kam es darauf an, zu untersuchen, ob sich von ihnen vielleicht eine kurzträgerige Form konstant erhalten ließe, und zwar impfte ich erst nach etwa zwei Monaten (20. Mai 1914) von einer der Kulturen ab. Das Ergebnis war kurz folgendes:

- 1.—2. Generation: tiefschwarz, kurz.
- 3.—6. „ : graubraun, kurz.
- 7. „ : gelblichbraun, kurz.
- 8. „ : schwarzbraun, kurz.

Obgleich diese Deszendenz bei 35° C sich entwickelte, blieb das Merkmal der Ausbildung auffallend kurzer, etwa 0,2 bis 0,3 mm langer Konidienträger längere Zeit erhalten. Ich habe dieselbe Erscheinung öfters auch bei anderen Aspergillen, z. B. bei *Asperg. fuscus*, *Asperg. flavus* und *Asperg. clavatus*, beobachten können, wo auch normale Lebensbedingungen nicht mit einem Schlage einen unter ungünstigen Bedingungen aufgetretenen Zwergwuchs beseitigen können.

Hier bei dieser Kultur Jy trat jedoch mit der Rückkehr zum Habitus der Stammmasse in der 9. Generation plötzlich die proteusähnliche Veränderung auf in Gestalt sehr zahlreicher hellbrauner, besonders hochträgeriger Köpfchen, so daß die Kultur von der vorhergehenden 8. Generation doppelt abstach. Ebenso verfärbte sich die Nährlösung in der angegebenen Weise. Die folgenden drei Generationen besaßen nur hellbraune bis kaffeebraune Köpfchen. Leider habe ich sie beim Ausrangieren

alter Kulturen aus Versehen mit abgetötet, so daß sich über das weitere Verhalten der Kultur nichts aussagen läßt.

Von einer Schwesterkultur dieser Hitzeserie wurde gleichfalls nach 2 Monaten abgeimpft. Auch hier war die 2. Generation genau so kurzrasig, wie die unter dem Hitzeinfluß entstandene, und ebenfalls sehr dunkel- und kleinköpfig. Auch hier fand der Übergang zu der proteusähnlichen Form über die kurzträgerige, graubraune statt. Nur vollzog er sich rascher. Die in der 4. Generation aufgetretene proteoide Form blieb konstant bis zur 18., um dann plötzlich zur Stammmasse zurückzuschlagen.

Hitzekulturen, die am 5. Mai 1914 angelegt waren und genau so aussahen wie die früheren, schlugen sämtlich sofort in der folgenden Generation zur Stammmasse zurück.

Von einer 3. Reihe vom 4. Juli 1914 wurde nur eine Kultur auf Konstanz geprüft. Diesmal wurde von den kurzträgerigen Köpfchen schon nach 14 Tagen abgeimpft, und innerhalb von 10 Tagen konnten 3 weitere Generationen vom gleichen Aussehen gezogen werden. Während der ersten 3 Kriegsmonate ihrem Schicksal überlassen, war die 6. Generation hellbraun abgeändert mit schwarzbraun verfärbter Nährlösung. So blieb sie bis zur 10. Generation, um dann zur Stammmasse zurückzuschlagen, weshalb sie nach einigen weiteren Generationen vernichtet wurde.

Konstant war also die proteusähnliche Form durch Einwirkung von erhöhter Temperatur auf eine Impfgeneration nur eine beschränkte Anzahl von Generationen zu erhalten, und zwar erst nach Überwindung des als erste Wirkung der Hitze sich bemerkbar machenden Zwergwuchses. Ein Versuch, durch wiederholte Kultur in supraoptimaler Temperatur eine überhaupt nicht zurückschlagende Form zu erhalten, schlug fehl. Die Kulturen erstarkten vielmehr sichtlich von Generation zu Generation, so daß die bei 45° C gewachsenen Rasen der 5. und 6. Generation von normal ausgebildeten nicht mehr zu unterscheiden waren. Bei nun folgender Anwendung noch höherer Temperatur (47° C) blieben aber die Myceldecken dauernd steril.

- e) Auftreten der proteusähnlichen Veränderung unter dem Einfluß höherer Konzentration der Nährlösung.

Infolge zufälligen Mangels an destilliertem Wasser konnte einmal die Aspergillusnährlösung nur mit 600 anstatt mit 1000 ccm angesetzt werden. Ehe ich die fehlenden ccm zufügte, beimpfte ich einige Kölbchen, die mit dieser konzentrierteren Nährlösung beschickt worden waren, mit Sporen der Stamm-



rasse. Das Resultat war überraschend. Die Stammmasse wuchs darauf mit fast ausschließlich hellen Köpfchen. Nur der Rand der Decke zeigte unabgeänderte schwarzbraune Köpfchen, deren Deszendenz die Stammmasse lieferte. Impfte ich dagegen von hellen Köpfchen ab, so erhielt ich bei einigen von ihnen auf Nährlösung gewöhnlicher Konzentration die proteusähnliche Form konstant in einigen Generationen, während andere sofort zurückschlugen. Beim Zurückversetzen auf die konzentriertere Nährlösung waren die zurückgeschlagenen Deszendenten aber sofort wieder in der Gesamtheit ihrer Köpfchen typisch proteusartig abgeändert.

Nach diesen Erfahrungen impfte ich alle meine zurückgeschlagenen, ursprünglich durch Gift oder Hitze veränderten Linien auf doppelt konzentrierte Nährlösung, soweit ich noch Abkömmlinge davon besaß.

Die Bleinitratkultur  $J_{16} a_1$ , die seit der 2. Generation zurückgeschlagen und so bis zur 10. geblieben war, wuchs sofort proteusähnlich und verfärbte die Nährlösung. Auf Normallösung zurückgeimpft, blieb sie konstant bis zur vorliegenden 40. Generation. Erneute Abimpfung von der 12. (nebenher weiterkultiviert) schwarzbraunen Kulturgeneration auf konzentrierte Nährlösung und Weiterbehandlung wie vorher hatte dasselbe Ergebnis. Diese Kultur ist bisher in 40 Generationen als typisch proteusähnlich verfolgt  $J_{16} (ax)$ .

Dagegen waren gleichartige Versuche mit allen anderen zurückgeschlagenen Linien erfolglos; bestenfalls änderten sie auf der konzentrierten Nährlösung zwar ab, blieben aber, abgeimpft auf Normallösung, höchstens 3 Generationen konstant. Ließ ich diese abgeänderten Kulturen mehrere Generationen auf der konzentrierten Nährlösung wachsen, so gewöhnten sie sich daran wie an erhöhte Temperaturen und sahen nicht mehr abgeändert aus. Dagegen hatte kurzdauernde Einwirkung auf die Sporen dieser Kulturen sofort den gewünschten Erfolg.

Mir schien es von Wert, die Beziehung meiner proteusähnlichen Abänderung zu der Beschaffenheit der Nährlösung und ihrer Zusammensetzung festzustellen. Es erhoben sich die Fragen: 1. auf welche Bestandteile der Nährlösung das Auftreten der

hellbraunen Sporen zurückzuführen sei, 2. ob nur auf einen bestimmten oder auf mehrere gleichzeitig, resp. alle und 3. ob die betreffenden Substanzen durch andere ersetzbar seien?

Es fand sich, daß das Auftreten der hellbraunen Sporen mit dem Gehalt der Nährlösung an Zucker, Pepton und Kaliumnitrat in doppelter Konzentration nichts zu tun hat, wenn nur je einer dieser Bestandteile Konzentrationsverdoppelung erfuhr. Übrigens ließen sich ebensowenig helle Köpfchen hervorrufen, wenn man den Normalgehalt der Lösung an je einer dieser Substanzen noch mehr erhöhte, ihn verdrei- bis verzehnfachte. Zucker-, Pepton- und Kaliumnitratgehalt ließen sich, jeder für sich, in weiten Grenzen steigern, ohne andere Wirkung als schließlich wachstumshemmende zu haben. Dagegen erzielte ich sofort hellbraune Köpfchen in überwiegend großer Zahl, wenn ich den Gehalt von  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  oder an  $\text{MgSO}_4$ <sup>1</sup> verdoppelte. Jeder dieser Stoffe, für sich verdoppelt, befördert danach das Auftreten der Abänderung, im Gegensatz zu den drei anderen Bestandteilen der Nährlösung.

Was jedoch verdoppelter Zucker-, Pepton- oder Kaliumnitratgehalt allein für sich nicht vermögen, das bringen sie zu je zweien oder alle drei gemeinsam erstaunlicherweise wohl zustande. Dagegen wird die Wirkung des Magnesiumsulfats durch gleichzeitige Erhöhung des Kaliumnitratgehalts aufgehoben. Auch wenn ich die Konzentration aller Nährlösungsbestandteile außer Pepton verdoppelte, blieb die entstehende Konidiendecke unabgeändert.

Übersichtlicher lassen sich die Ergebnisse dieser Versuche aus der nachstehenden Tabelle 5 entnehmen, wo gleichzeitig die Zahl der Generationen angegeben ist, während deren kein Rückschlag zur Stammrasse stattfand, wenn von der konzentrierteren auf normale Nährlösung abgeimpft wurde.

Die Nährlösung enthielt die besonders aufgeführten Salze und organischen Verbindungen in doppelter Konzentration verwendet.

<sup>1</sup>) B e n e c k e (1894) gibt an, daß bei Magnesiumsulfat m a n g e l hellbraune Köpfchen beobachtet wurden, was er freilich mit mangelnder Reife der Sporen erklärt.

Tabelle 5.

	Bestandteil in doppelter Konzentra- tion	Aussehen der Kulturen nach 8 Tagen	Die Gene- ration, in der Rück- schlag erfolgte		Bestandteil in doppelter Konzentra- tion	Aussehen der Kulturen nach 8 Tagen	Die Gene- ration, in der Rück- schlag erfolgte
1	MgSO <sub>4</sub>	überwiegend hellbraune Köpf- chen; unver- färbte Nähr- lösung	5.	12	Pepton Zucker KNO <sub>3</sub>	überwiegend hellbraune Köpf- chen; unver- färbte Nähr- lösung	4.
2	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	"	2.	13	Pepton KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> MgSO <sub>4</sub>	überwiegend hellbraune Köpf- chen; verfärbte Nährlösung	4.
3	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> MgSO <sub>4</sub>	überwiegend helle Köpfchen; verfärbte Nährlösung	2.	14	Zucker KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> MgSO <sub>4</sub>	" unverfärbte Nährlösung	5.
4	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> KNO <sub>3</sub>	"	2.	15	Zucker KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> KNO <sub>3</sub>	"	2.
5	Pepton Zucker	"	5.	16	Zucker KNO <sub>3</sub> MgSO <sub>4</sub>	"	2.
6	Pepton KNO <sub>3</sub>	"	7.	17	Zucker Pepton K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> KNO <sub>3</sub>	"	2.
7	Pepton MgSO <sub>4</sub>	überwiegend hellbraune Köpf- chen; verfärbte Nährlösung	2.	18	Zucker Pepton KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> MgSO <sub>4</sub>	nur hellbraune Köpfchen; unverfärbte Nährlösung	4.
8	Pepton KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	"	5.	19	Zucker KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> MgSO <sub>4</sub> KNO <sub>3</sub>	normal	—
9	Zucker KNO <sub>3</sub>	"	5.	20	Zucker Pepton KNO <sub>3</sub> KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> MgSO <sub>4</sub>	überwiegend helle Köpfchen; verfärbte Nährlösung	2.
10	Zucker KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	überwiegend hellbraune Köpf- chen; unver- färbte Nähr- lösung	2.	21	MgSO <sub>4</sub> MgSO <sub>4</sub> KNO <sub>3</sub>	normal	—
11	Zucker MgSO <sub>4</sub>	"	2.	22	Pepton KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> MgSO <sub>4</sub> KNO <sub>3</sub>	überwiegend helle Köpfchen; verfärbte Nährlösung	5.

Nach einigen weiteren Tagen hatten übrigens alle Kulturen, abgesehen von den normal gebliebenen, braun verfärbte Nährlösung.

Weiter wurden Pepton und Kaliumnitrat durch andere stickstoffhaltige Substanzen ersetzt, zum Teil gleichfalls in doppelter Konzentration. Die proteusähnliche Form trat auf bei Kultur auf Asparagin (1 %) +  $\text{KNO}_3$  (0,026 %), Asparagin (0,5 %) + Ammoniumnitrat (0,013 bis 0,026 %), Asparagin (0,5 %) + Ammoniumchlorid (0,026 %); Asparagin (0,5 %) und Ammoniumkarbonat (0,026 %); Asparagin (0,5 %) + Hydroxylamin (0,026 %); auf Tyrosin (0,5 bis 1,0 %) + schwefelsaurem Hydroxylamin (0,013 bis 0,016 %); auf Glykokoll (1 % bis 2 %); auf Asparaginsäure (1 % bis 2 %); auch bei Ersatz des Rohrzuckers durch Traubenzucker (8 %) + Kaliumnitrat (0,026 %) + Pepton (1 %); Traubenzucker (4 %) + Pepton (0,5 %); auf Glykokoll (4 %) + Pepton (0,5 %) und Traubenzucker (8 %) +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,207 %) + Pepton (1 %).

Wie man aus diesen Angaben entnehmen kann, sind also nur wenige Bestandteile der Normallösung, für sich allein in doppelter Konzentration verwandt, imstande, Abänderung zu verursachen. Es sind demnach in den meisten Fällen nicht einzelne bestimmte Bestandteile, sondern es ist das Zusammenwirken mehrerer oder aller für das Entstehen der Abänderungen verantwortlich zu machen. Die durch eine Verbindung in ungewöhnlicher Konzentration hervorgerufene abändernde Wirkung kann durch eine andere, die für sich in der verwendeten Konzentrationshöhe keine Abänderung zu bewirken vermag, aufgehoben werden [vergl.  $\text{KNO}_3$  (0,026 %) +  $\text{MgSO}_4$  (0,032 %)]. Durch Ersatz der stickstoffhaltigen Bestandteile der Nährlösung, resp. des Zuckers durch andere, sie vertretende Stickstoff- und Kohlenstoffquellen konnte in einzelnen Fällen ebenso die proteoide Abänderung erhalten werden. Alle anderen Nährstoffkombinationen der oben angegebenen Art, sowohl in gewöhnlicher wie in verdoppelter Konzentration, gaben keine Abänderungen.

In der Mehrzahl der Fälle wurden überwiegend hellsandfarbene bis kaffeebraune Köpfchen entwickelt. Bloß die Kultur 18 der Tabelle 5 besaß nur solche. Es war dies das einzige Mal, daß die proteusähnliche Abänderung gleich bei ihrem ersten Erscheinen die Gesamtheit aller Köpfchen der Decke umfaßte.

Konstant war von den letzterwähnten Kulturen nur die Asparagin und Ammoniumchlorid in doppelter Konzentration enthaltende Kultur, und zwar 14 Generationen, worauf Rückschlag erfolgte. Alle anderen schlugen auf gewöhnlicher Nährlösung augenblicklich zur schwarzbraunen Stammrasse zurück.

## f) Versuche zur Erhaltung der Konstanz durch Ausgehen von Einzellkulturen.

### 1. Inkonstante Formen.

Schon an anderer Stelle habe ich darauf hingewiesen, daß auch Einzellkulturen, die man von den auf Giftlösungen entstandenen hellen proteoides-Köpfchen auf normaler Nährlösung anlegt, meist sowohl niger wie proteoides-Konidienköpfchen ausbilden, woraus ersichtlich ist, daß tatsächlich beiderlei Arten an ein und demselben Mycel entstehen. Die niger-Köpfchen solcher Kulturen lieferten bei Massenaussaat sowohl wie bei Einzellkultur stets, so oft ich auch prüfte, nur normal schwarzbraune Köpfchen.

Bei den inkonstanten Formen, d. h. denen, die sofort, auf Normallösung abgeimpft, ausschließlich bloß noch niger-Köpfchen erzeugen, bedurfte es noch einer besonderen Untersuchung durch Einzellkultur, ob es sich dabei wirklich immer um einen allgemeinen Rückschlag zur Stammrasse handelt. Da dieser bisher ja stets nur in Vielzellkulturen beobachtet wurde, die freilich immer von Konidien hellbrauner Köpfchen angelegt wurden, war an die Möglichkeit zu denken, daß der Rückschlag nur teilweise erfolgte, also in einzelnen Sporen, und vielleicht die Mycelien einer konstanten proteusähnlichen Form von der rascher wachsenden Stammrasse überwuchert würden. Aber von je 15 Einzellkulturen je eines Köpfchens der Kulturen 2 und 3 aus Tabelle 5 besaß keine auch nur ein proteoides Köpfchen.

### 2. Vorübergehend konstante Formen.

Da alle diese Kulturen von einer bestimmten Generation an als Vielzellkulturen zurückschlugen, war anzunehmen, daß sie von der letzten konstanten Generation an als Einzellkulturen dasselbe Ergebnis haben würden, wie die der ersten Gruppe. Einzellkulturen (5), von der letzten Generation mit konstant hellbraunen Köpfchen der Asparagin-Ammoniumchloridkultur hergestellt, besaßen denn auch nur schwarzbraune Köpfchen, ebenso (5) solche von der 5. Generation der Kultur 1 aus Tabelle 5 angelegte.

Nicht anders verhielten sich z. T. auch Einzellkulturen, die von der vorletzten konstanten Generation solcher Kulturen hergestellt wurden. Unter je 25 Einzellkulturen zweier Köpfchen der 13. Generation der 14 Generationen konstant gebliebenen Asparagin-Ammoniumchloridkultur war keine einzige proteusähnlich abgeändert. Nicht einmal ein einzigstes helles Köpfchen wurde im Laufe der Entwicklung sichtbar. Das gleiche Ergebnis hatten je 10 Einzellkulturen, hergestellt von der 4. konstanten Generation der Kultur 1, sowie

von der gleichen der Kultur 5 aus Tabelle 5. Die Erbllichkeit muß also bezüglich der Abänderung in allen diesen Fällen als erloschen betrachtet werden.

Anders verhielt es sich mit der Mangankultur J 19 b, die in der 9. Generation plötzlich zurückgeschlagen war. Ich legte von einem hellen Köpfchen der 8. Generation 15 Einzellkulturen an, von denen eine einzige helle Köpfchen besaß, und zwar nur solche. Sie ist seitdem in 25 Generationen konstant geblieben.

Derselbe Versuch mit der 9. Generation der 10 Generationen konstant gebliebenen Mangankultur J 19 h ausgeführt, mißlang jedoch. Obwohl ich dreimal hintereinander je 20 Einzellkulturen anlegte, erhielt ich keine proteoiden Decken.

### 3. Konstante Formen.

Es war nun von Interesse, zu erfahren, wie sich die konstante Form der proteusähnlichen Rasse, also eine Form mit nur hell- bis dunkelbraunen Köpfchen, bei derartigen Versuchen verhalten würde. Zwecks Reinhaltung der Linien war inzwischen schon mehrfach von Einzellkulturen ausgegangen worden; rückgeschlagene Kulturen waren aber in diesem Falle einfach der Vernichtung anheimgefallen. Das Vorkommen solcher Rückschläge deutete übrigens darauf hin, daß die Verhältnisse bei *Aspergillus niger* ähnlich wie bei *Penicillium* lägen.

Die Mangankultur J 19 d, eine der dauernd konstanten Linien, von deren 4. Impfgeneration Einzellkulturen angelegt wurden, zeigte unter 10 nur 6 ausschließlich abgeänderte, die anderen 4 waren, obwohl gleichfalls von proteoiden Sporen desselben Köpfchens herstammend und unter den gleichen äußeren Bedingungen gekeimt und herangewachsen, normal schwarzbraun. Unter 10 Einzellkulturen der 9. Impfgeneration derselben Manganlinie war nur eine einzige zurückgeschlagen; ebenso viele, also je 10, der 16. Generation, sowie der 19. und der 22. Generation waren sämtlich abgeändert hellbraun bis kaffeebraun wie die Kulturen, von denen diese Einzellkulturen hergestellt waren.

Einzellkulturen, von einem Köpfchen der 14. Generation der dauernd konstanten Bleinitratkultur J 16 e<sub>1</sub> herstammend, zeigten unter 10 zwei zurückgeschlagene. 10 Einzellkulturen der 20. und 10 der 31. Impfgeneration waren sämtlich proteoid geblieben.

Das gleiche Verhalten ließ sich bei der Bleinitratkultur J 16 c<sub>1</sub> feststellen, die anfänglich, solange die Linie verhältnismäßig jung war (7. und 11. Generation), Neigung zu Rückschlag besaß, wenn man von einzelnen Sporen ausging. Nach einer längeren Reihe von Impfgenerationen war das nicht mehr der Fall; 10 Einzellkulturen der 21. und 16 der 31. Generation waren ohne Ausnahme proteusähnlich.

Das Ergebnis dieser Versuche ist somit folgendes:

Die Sporen konstanter Linien der proteoiden Form, die bei Massenaussaat völlig konstant bleiben, schlagen doch bei Einzell- aussaat z. T. zur Stammrasse zurück, wenigstens bei solchen

Linien, die erst wenige Generationen hindurch konstant gewesen sind. Danach hat also Einzellaussaat ein anderes Ergebnis als Massenaussaat, was wohl nur so gedeutet werden kann, daß bei Einzellkultur irgendwelche unbekannte Faktoren die zunächst nicht ganz »festen« Sporen doch noch zu Rückschlag veranlassen. Rückschlagende und nicht rückschlagende Sporen unterscheiden sich übrigens äußerlich nicht voneinander.

Konstanz läßt sich nach meinen Versuchen zwar auf verschiedene Art erzielen, aber bei keinem wirksamen Mittel mit der Möglichkeit sicherer Voraussage. Wo sie nicht von vornherein vorhanden ist, läßt sie sich, soweit bisher zu übersehen ist, nur mit Geduld und Ausdauer auf dem einen oder andern Wege mehr oder weniger zufällig herstellen.

g) Versuche, die proteusähnliche Abänderung in die Stammrasse zurückzuführen.

Ob nicht auch bei ganz konstanten Formen die Konstanz sich aufheben und Rückschlag sich erzwingen ließ, war nun zu entscheiden. Da Einzellkulturen nicht immer zum Ziele geführt hatten, mußte nach anderen Möglichkeiten gesucht werden.

Der einfachste Weg schien nach den Schiemannschen Angaben die Kultur auf verändertem Substrat. Ich schickte deshalb die proteoide Form (alle erhaltenen konstanten Stämme) zunächst über Malzagar. Auf derartigen Platten glich sie der Stammrasse außerordentlich in der Färbung, gleichviel, ob sie darauf bei Zimmer-, Optimal- oder noch höherer Temperatur wuchs, sehr im Gegensatz zu dem Schiemannschen proteus, der auf der Agarplatte bei über 30° C genau so scheckig sandfarben bis kaffeebraun aussah, wie mein proteoides auf Nährlösung bei jeder Temperatur. Erst bei genauem Vergleich mit Plattenkulturen der Stammrasse fielen geringe, mehr nach Braun gehende Unterschiede in der Farbe und die geringere Größe der aber sonst genau so dicht gedrängt stehenden Köpfchen (gleichfalls ein Gegensatz zu den zerstreut stehenden bei proteus!) auf. Impfte ich von solchen Platten, selbst wenn sie mehrere Monate alt waren, auf Nährlösung zurück, so erhielt ich sofort die typisch abgeänderte proteusähnliche, scheckige Decken bildende Abänderung zurück. In der letzten Zeit weisen, wie schon bemerkt, alle proteoiden Linien eine viel einheitlichere, meist kaffeebraune Färbung auf, auch auf Nährlösung, ohne daß ein Grund für diese Erscheinung mit einiger Sicherheit anzugeben ist. Doch die Kleinheit der Köpfchen, ihre verminderte Zahl, die langsamere Entwicklung und die Verfärbung der Nährlösung ist erhalten geblieben<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>) Damit geht, besonders seit die Stämme nicht mehr in Optimaltemperatur wachsen, ein verlangsamtes, fast kümmerliches Wachstum parallel.

Ähnlich tiefbraunes Aussehen besaß die Abänderung auf alkalischem Agar (2 % Agar, 3 % Glukose und 2 ccm  $\frac{1}{2}$  n NaOH), auf Schwarzbrot, Zwieback, Kartoffel, Mohrrübe, Weizenmehl, das schwarzbraun verfärbt wurde, und Reisstärke. Auch mehrfache Überimpfung über diese festen Nährböden hob die Konstanz keineswegs auf. Wohl geschah dies, wenn eine erst wenige Generationen konstante Linie der proteoiden Abänderung, wie die Mangankultur J 19 d, die damals erst in der 4. Impfgeneration vorlag, über eines dieser Substrate geschickt wurde, worauf sie mit Ausnahme von Mohrrübe nicht konstant blieb. Nach 10 Generationen hielt sie dagegen die Zwischenskultur auf jeder Art festen Nährbodens aus, ohne Rückschlag zu zeigen.

Auf anderen Nährböden wuchs der proteoides in derselben Art wie für Nährlösung beschrieben, so auf Pflaumensaftgelatine — darauf ziemlich einheitlich kaffeebraun, wie auch die verflüssigte Gelatine sich färbte —, sowie auf Fruchtsäften: Apfelsinen-, Dattel- und Himbeersaft. Bei Rückimpfung auf normale Nährlösung wurde stets die proteusähnliche Form in allen ihren Eigenschaften unverändert zurückerhalten.

Noch weniger wurde Rückschlag erzielt durch Anwendung derselben und ähnlicher Gifte, durch deren Zusatz die Veränderung ursprünglich hervorgebracht war. Kupferchlorid, Kaliumbichromat (1 : 1000 und 1 : 500), Manganchlorid (1 : 100 000), Lithiumchlorid, das erst nach mehreren Wochen einen spärlichen Konidienrasen aufkommen ließ, Narkotika wie Chloralhydrat, Äther und Chloroform (Kultur unter der Glasglocke in den beiden letzten Fällen!) ließen weder bei Zimmer-, bei Optimal- oder der Maximaltemperatur nahe gelegenen Temperaturen, noch nach Einwirkung in mehreren aufeinanderfolgenden Impfgenerationen Rückschlag zur Stammmasse eintreten. Die Deszendenz war und blieb konstant.

Man kann aus all diesen letzterwähnten Versuchen keinen andern Schluß ziehen, als daß es noch weit weniger aussichtsreich ist, zwangsweise die Stammmasse aus der konstant abgeänderten zurückzugewinnen, als umgekehrt, und daß es nur bei solchen Linien durch Übergang über feste Nährböden mit einiger Sicherheit gelingt, die erst wenige Generationen existieren.

#### h) Weitere Versuche über die Bedingungen für die Entstehung der proteusähnlichen Abänderung.

Da es nach den Angaben Sautons (1910) nicht ausgeschlossen war, daß es sich bei meiner Form um eine Kümmerform und zwar um eine nicht durch Gifteinfluß, Temperaturerhöhung usw., sondern durch Eisenmangel hervorgerufene handelt, obwohl dagegen das Auftreten heller Köpfchen gerade auch in Kulturen mit Eisenchloridzusatz sprach, wurden 10 Kulturen der Bleinitratlinie J 16 c<sub>1</sub> (b), sowie ebenso vielen der Manganlinie J 19 b je 0,01 % Eisenchlorid zugesetzt, und die eine Hälfte der Kulturen bei Zimmertemperatur,



die andere Hälfte bei 35° C gehalten. Bei beiden Reihen konnte aber nur ein erheblich verlangsamtes Wachstum gegenüber gleich behandelten Kontrollkulturen der Stammmasse festgestellt werden, dagegen kein Auftreten schwarzbrauner Köpfchen. Man hat also kein Recht, in dem Falle der proteusähnlichen Form von der Selektion einer Kummervariante, die durch Eisenmangel bedingt sei, zu sprechen.

Weiter gibt Wehmer (1913) an, daß *Aspergillus niger* auf schwach alkalischer Nährlösung hellbraun abgeändert würde, ohne etwas über eine ev. Konstanz zu erwähnen. Da nun die Nährlösung meiner proteusähnlichen Abänderung nicht wie die der Stammmasse sauer, sondern meist alkalisch, selten neutral reagierte, mußte wenigstens in einigen Versuchen mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß durch Giftzusatz oder Konzentrationsänderung, die wohl auch bei den Hitzekulturen anzunehmen ist, die Nährlösung nicht mehr wie gewöhnlich ganz schwach sauer, sondern alkalisch reagierte, und dies der eigentliche Grund des Auftretens der hellen Köpfchen sei. Deshalb impfte ich die Stammmasse in Kölbchen mit Nährlösung, die durch Zusatz von Ammoniaklösung in 10 verschiedenen Verdünnungsgraden schwach alkalisch gemacht war. Aber in keinem erschienen die erhofften hellen Köpfchen. Die Ursache für ihr Erscheinen kann also wohl nicht in der ursprünglichen Alkalität der Nährlösung liegen. Stärkere Alkalitätsgrade verhindern die Keimung, weshalb auch bei Einzellkulturen der proteusähnlichen Form die Sporen bei Selbstaussaat auf die gebrauchte Nährlösung in einem bestimmten Alter der Kulturen, wenn eben die Nährlösung stärker alkalisch wird, nicht mehr auskeimen. Überträgt man sie aber auf frische Nährlösung, so keimen sie sofort; die Keimkraft ist nicht verloren gegangen.

Auch die Vermutung, daß Bakterien an der Veränderung der Stammmasse schuld seien, bestätigte sich nicht. Wurden die Keimmycelien vor dem Reifwerden der Sporen mit der Platinnadel aus der Nährlösung entfernt, so blieb die Flüssigkeit beim Stehenlassen der Kölbchen im Wärmeschrank bei 37° C vollständig klar; nur besaßen die Kölbchen, in denen die veränderte Form gewachsen war, etwas gelblich verfärbte, im Laufe einiger Tage noch etwas nachdunkelnde Lösung. Mit ihr bestrichene Agarplatten blieben bei sorgfältigem Verschuß sowohl im Impfkasten bei Zimmertemperatur aufbewahrt, als auch im Wärmeschrank bei 37° C absolut steril. Bakterien dürften danach bei der Entstehung dieser Veränderung keine Rolle spielen; denn auch, wenn auf Agar gekeimte Sporen oder Mycelstücke einer größeren Plattenkolonie der proteoiden Form in Nährlösung übertragen wurden, kamen darin keine Bakterien zur Entwicklung, trotz der für ihr Gedeihen günstigen, von dem Pilz selbst hervorgerufenen Alkalität der Nährlösung.

## II. Verhalten eines anderen *Aspergillus niger*-Stammes gegenüber den gleichen abändernden Faktoren.

Es war schließlich von Interesse, einige der Abänderung erzeugenden Bedingungen an einem Stamm anderer Herkunft zu

erproben, um es sicherer zu machen, daß diese Faktoren wirklich als abändernde zu bewerten seien. Durch das liebenswürdige Entgegenkommen Herrn Prof. Wehmers kam ich in den Besitz eines niger-Stammes, der, wie aus Tabelle IV der Schiemann'schen Arbeit (1912, S. 24) hervorgeht, andere morphologische Eigentümlichkeiten zeigte, wovon ich mich auch selbst überzeuge. Er unterschied sich auch noch dadurch auffällig von dem Schiemann'schen Stamm, daß er sowohl auf der Agarplatte als auch im Kölbchen meist mit weißem, steril bleibendem Luftmycel überwucherte, das die Kulturen wie Spinnweb überzog und sie bald unansehnlich machte.

Nach neunmonatiger Fortzucht im Röhrchen legte ich von einer Einzelkultur Vielzell-Kölbchenkulturen an, die ich zunächst durch mehrere Generationen verfolgte, ehe ich den Stamm durch Gift und Konzentrationsänderung zu beeinflussen suchte. Da es sich nur um Stichproben handeln sollte, wandte ich zunächst  $\text{CuCl}_2$  1 : 4000, sowie doppelt konzentrierte Nährlösung an. Der Erfolg war in beiden Fällen der gleiche. Helle Köpfchen erschienen in Menge, und die Nährlösung war schwarzbraun verfärbt. Es war also die proteusähnliche Form entstanden. Beide Kulturen sind bisher, die eine in 20, die andere in 14 Generationen, konstant geblieben. Das Hauptmerkmal der Stammrasse, die Ausbildung spinnwebartigen Luftmycels ist zwar erhalten, tritt aber nicht in allen Generationen auf. Auch hier bringt Überimpfen über Agarplatten keinen Rückschlag hervor, obwohl darauf die abgeänderte der Stammrasse sehr ähnlich sieht und niemals helle Köpfchen erscheinen läßt.

Weil ich zufällig in diesen beiden Fällen zu der von vornherein konstanten proteoiden Abänderung gelangt war, und es so scheinen konnte, als änderte dieser Wehmer'sche Stamm besonders leicht ab, machte ich weitere Versuche mit noch anderen Giften, so mit Kupfersulfat, Bleinitrat und Manganchlorid, in der gleichen Weise wie bei den vorher beschriebenen Versuchen. Bei Kupfersulfat traten keine hellen Köpfchen auf; bei Bleinitrat hatten 1 : 2000 und 1 : 40 000 reichlich helle Köpfchen, schlugen aber nach 2, resp. 3 Generationen zur Stammrasse zurück. Nur Manganchlorid brachte die proteusähnliche Form sowohl in der Konzentration 1 : 2000, als in der Konzentration 1 : 100 000 als konstant bleibend (10 Generationen verfolgt) hervor.

Das wichtigste an diesen Versuchen ist, daß auch ein anderer Stamm im gleichen Sinne sich abändern ließ, ohne dabei seine spezifischen Merkmale gegenüber einem von anderer Herkunft verloren zu haben. Nebenher scheint es, als wäre dieser Stamm sogar ein günstigeres Objekt für derartige Versuche. Vielleicht lassen sich auch noch leichter

abzuändernde bei der großen Zahl der allenthalben in den Laboratorien gezüchteten niger-Stämme finden<sup>1</sup>.

### 3. Die fuscusähnliche Abänderung.

Abgesehen von dieser proteusähnlichen Abänderung entdeckte ich, erst im Frühjahr 1915, gelegentlich der Herstellung von Einzellkulturen, eine weitere, die ich als fuscusähnliche bezeichnen möchte, da sie mit *Aspergillus fuscus* Schiemannt ziemlich weitgehend übereinstimmt, sogar mehr als die proteusähnliche mit *proteus*.

Gelegentlich einer Plattenreihe, die von der 5., zurückgeschlagenen Impfgeneration der in 4 Generationen konstant gebliebenen Kultur 5 von Tabelle 5 (ihrerseits einer Einzellkultur vom Aussehen der Stammmasse) angelegt worden war, entwickelten sich auf einer Platte unter 4 Kolonien drei mit rein hellbraunen Köpfchen, auf einer anderen unter 7 eine solche und auf allen anderen (8) Platten nur rein schwarzbraune. Alle diese Platten, die von einem einzigen schwarzbraunen Köpfchen durch Schütteln der Sporen in flüssigem Agar (100 cem) und Ausgießen des letzteren in 10 Petrischalen erhalten waren, entstammten demselben Malzagarvorrat, der schon seit Wochen zum Plattengießen für die Stammmasse gedient hatte, ohne daß jemals ein helles Köpfchen darauf zu entdecken gewesen wäre.

Da ich sofort eine Infektion mit *Aspergillus fuscus* argwöhnte, obgleich die Kolonien mit den hellbraunen Köpfchen nur sehr langsam sich entwickelten und auch von etwas anderer Färbung zu sein schienen, legte ich sofort Einzell- und Vielzellkulturen von verschiedenen dieser Kolonien, gleichzeitig jedoch auch von *Aspergillus fuscus* und *Aspergillus ochraceus*, die sich oftmals in der Farbe gleichen, an. Während aber die K öl b c h e n k u l t u r e n der beiden letztgenannten Rassen bei 35° C schon am 3. Tage geschlossene Konidiendecken besaßen, war dies bei denen der neuen hellbraunen Abänderung nicht der Fall. Erst nach 5—8 Tagen setzte langsam die Köpfchenbildung ein, und färbte sich die Nährlösung der fuscusähnlichen Form über Rötlichbraun bis tief Schwarzbraun, während die der fuscus- und der ochraceus-Kulturen unverfärbt blieb.

Die Konidien dieser Linie J I waren auf Nährlösung genau so gefärbt, wie die der proteusähnlichen bei ihrem ersten Auftreten, nur sind die Köpfchen größer. Zum Unterschied von dieser blieb aber die Deszendenz der Linie J I auch auf Agar rein hellbraun. Auf Platten wie auf Nährlösung war J I vom ersten Augenblick der Entstehung an in der Gesamtheit aller ihrer Köpfchen einheitlich in der neuen Art abgeändert. Ihre späteren Generationen wuchsen auf Agar etwas schneller, aber immer noch langsamer als fuscus und ochraceus, die während anderthalbjähriger Kultur auf Agar stets mit der gleichen

<sup>1</sup>) Leider ist die einzige, nach Abschluß der Arbeit weiter kultivierte proteoide Linie des Wehmer'schen Stammes in der 20. Generation zur Stammmasse zurückgeschlagen.

Geschwindigkeit sich entwickelten. Auf Nährlösung nahm die Schnelligkeit des Wachstums von fuscoides dauernd ab, und zwar innerhalb einiger weniger Generationen, nicht erst nach langer Zeit der Kultur. Trotz reichlich entwickelten Mycels traten die Konidienköpfchen von Generation zu Generation später auf, obwohl die Decken schließlich ganz von hellen Köpfchen bedeckt waren. Um zu finden, was daran schuld sei, setzte ich der Nährlösung in einem Fall 0,1 % Eisenchlorid, in einem anderen 1 Tropfen 1/10 n Salzsäure, in einem dritten eine Spur Phosphorsäure zu, in zwei anderen Fällen verdoppelte ich den Kaliumphosphat-, bzw. den Magnesiumsulfatgehalt. Nur der Eisenchloridzusatz und der erhöhte Kaliumphosphatgehalt hatten die gewünschte Wirkung, nämlich die, daß schon nach 2 Tagen geschlossene Konidiendecken vorhanden waren, wie sonst kaum nach 8—10 Tagen. Alle anderen Nährlösungsänderungen hinderten zwar weder Mycel-, noch Konidienentwicklung, beschleunigten sie aber nicht. Seitdem kultivierte ich die J I-Linie, sowie alle anderen noch erhaltenen fuscoides-Linien, die sämtlich dieselbe Eigenschaft der verspäteten Fruktifikation auf gewöhnlicher Aspergillus-Nährlösung aufwiesen, auf Nährlösung + 0,1 % Eisenchloridlösung. Die J I-Linie liegt zurzeit in der 16. Generation vor. Wegen der völligen Übereinstimmung der Deszendenz verschiedener Agarplattenkolonien derselben oben beschriebenen Reihe, schied ich alle bis auf diese 16 Generationen hindurch verfolgte aus.

Da die neue Form auf dem Wege des Plattengießverfahrens gewonnen war, wandte ich nun dieselbe Methode teils auf die Stammmasse, teils auf andere noch vorhandene Einzellkulturen zurückgeschlagener, ursprünglich proteusähnlicher Linien an, in der Meinung, daß wahrscheinlich zu hohe Temperatur des Agars für das Auftreten der fuscoides-Form verantwortlich zu machen sei; denn nur wenn wenige Sporen von den zahllosen eines Köpfchens keimten und wenige Kolonien auf den Agarplatten entstanden, waren fuscusähnliche dazwischen. Von etwa 20 Kulturen verschiedener Herkunft goß ich je 4 Platten, immer unter Anwendung etwas höherer als der üblichen Temperatur beim Beimpfen (ca. 50° anstatt ca. 40° C). Aber nur bei der Kultur 15 von Tabelle 5 hatte ich wie bei der Kultur 5 Erfolg. Auf der ersten Platte (a) entwickelten sich 21 Kolonien, darunter 4 mit rein hellbraunen Köpfchen, wie vorher langsamer als die übrigen schwarzbraunen. Die zweite Platte (b) besaß unter 25 keine abgeänderte Kolonie. Unter den 8 Kolonien der 3. Platte (c) war eine mit besonders kleinen hellbraunen Köpfchen. Auf der 4. Platte (d) endlich erschien unter 18 Kolonien eine mausgraue.

Von den hellen kleinen Köpfchen der Kolonie von Platte c wurde auf Nährlösung abgeimpft und die Kultur als J II bezeichnet. Diese Impfgeneration besaß überwiegend hellbraune Köpfchen. Die dunklen, die für sich konstant die Stammmasse lieferten, waren jedoch sicher nur durch das unvermeidliche Mitübertragen einer Spore eines nebenstehenden schwarzen Köpfchens dazwischen geraten; denn sie traten in den folgenden Impfgenerationen, bis zur vorliegenden 14. nicht wieder auf.

Einzell- wie Vielzellkulturen der Platte b gaben sämtlich die unveränderte Stammmasse.

Von 3 der hellbraunen Kolonien auf a wurden gleichfalls Vielzell- und Einzelkulturen angelegt, J III—J IV. Die Linien J III und J IV waren von Anfang an, auf Nährlösung abgeimpft, jetzt in 15 Impfgenerationen, sowohl als Einzell- wie als Vielzellkulturen, konstant. Die Linie J V besaß, in der 2. Generation, als Vielzellkultur abgeimpft, eine sehr große Zahl schwarzbrauner Köpfchen, die in den folgenden 3 Generationen, auch bei Anlage zahlreicher Parallelkulturen, nicht schwinden wollten, trotz sorgfältigsten Abimpfens von hellen Köpfchen. Einzelkulturen, von verschiedenen dieser Parallelkulturen herührend, zeigten dasselbe Bild. Zuerst erschienen auf der sonst noch sterilen Decke an verschiedenen Stellen Trupps von schwarzbraunen Köpfchen, ehe das übrige Mycel sich mit hellbraunen Konidien bedeckte. Ebenso gaben Einzelkulturen schwarzbrauner Köpfchen Decken schwarzbrauner Konidien, in denen aber doch einige wenige helle Köpfchen sichtbar wurden, so daß die Decken denselben Eindruck machten wie diejenigen, in denen die proteoide Abänderung auftrat. Erneut von den hellen Köpfchen angelegte Einzelkulturen schlugen sämtlich zur Stammmasse zurück.

Von der 5. Generation an ist die Kultur J V dann als Vielzell- und Einzelkultur konstant hellbraun geblieben, ohne in 21 Generationen je wieder schwarzbraune Köpfchen gezeigt zu haben.

Von den grauen Köpfchen der Platte d erhielt ich die proteusähnliche Abänderung, aber nur in 3 Generationen konstant. Eine Parallelkultur (Einzelkultur) ist 12 Generationen konstant geblieben, um in der 13. zurückzuschlagen<sup>1</sup>. Noch bei anderen Versuchen erhielt ich die fuscusähnliche Abänderung. Gelegentlich der Wiederholung der früher erwähnten Bleinitratversuche, bei der ich Bleinitrat in den 8 verschiedenen Verdünnungsgraden mit konzentrierter Nährlösung kombinierte und beides gleichzeitig auf die keimenden Sporen der Stammmasse einwirken ließ, um sie dann isoliert in gewöhnliche Nährlösung zu übertragen und darin weiter wachsen zu lassen, erhielt ich bei allen Konzentrationen sehr langsam sich entwickelnde Decken sandfarben bis hellbraun gefärbter Köpfchen. Die Nährlösung färbte sich langsam dunkelbraun. Die noch sterilen Mycelien hoben sich aus der Nährlösung empor und bildeten ganz abenteuerliche Gestalten. Die Kontrollkultur, die nur dem vorübergehenden Einfluß der konzentrierten Nährlösung ausgesetzt war, bedeckte sich schnell homogen mit schwarzbraunen Köpfchen und zeigte in ihrem ganzen Verhalten nichts Absonderliches. Ich konnte nicht alle diese hellköpfigen Kulturen auf Konstanz prüfen, aber die, deren Konstanz verfolgt wurde, J 16 a<sub>1</sub> (a), J 16 d<sub>1</sub> (a) und J 16 e<sub>1</sub> (a) sind bis heute nicht zurückgeschlagen (12—14 Generationen). Nie war auch nur ein schwarzes Köpfchen unter den hellbraunen. Auf Agar sind alle gleichfalls hellbraun.

Durch Kombinationen anderer Gifte (CuSO<sub>4</sub> und HgCl<sub>2</sub>) mit konzentrierter Nährlösung habe ich die fuscusähnliche Abänderung nicht erhalten können, bei dauerndem Einfluß von Bleinitrat und konzentrierter Nährlösung nur die proteusähnliche.

<sup>1</sup>) Nach Abschluß der Arbeit ist diese Kultur in der 14. und 15. Generation wieder typisch proteoid abgeändert gewesen.

Was die fuscusähnliche Form am deutlichsten von der proteoiden unterscheidet, ist die Art ihrer Entstehung und ihres Auftretens: Die Abänderung umfaßt sofort bei ihrem ersten Auftreten sämtliche Köpfchen des aus einer Spore sich entwickelnden Mycels. Sie ist konstant, ohne bisher Neigung zu Rückschlag gezeigt zu haben. Nur in dem Fall J V, wo an dem Mycel einer Spore, wie mehrfach beobachtet wurde, unabgeänderte und abgeänderte Köpfchen nebeneinander entstehen, wurde trotz Ausgehens von hellen Sporen erst im Laufe einiger Generationen der Zustand erreicht, der für die anderen fuscoidea-Linien von vornherein charakteristisch war.

#### 4. Morphologische Charakteristik der proteoiden und der fuscoidea Abänderung.

##### a) Allgemeine Charakteristik.

###### 1. proteoide Form.

Von der Stammmasse unterscheidet sich die proteusähnliche Abänderung zunächst hinsichtlich der Größe der Köpfchen. Da bedeutend weniger Sporen abgeschnürt werden, besitzen sie geringeren Durchmesser. Das Größenverhältnis ist 3 : 1 bis 7 : 1. Doch sind zwischen einer überwiegenden Zahl solcher kleinen, stets solche von fast gleicher Größe wie der der Stammmasse (100 bis 350  $\mu$ ), besonders am Rande der Decke, zu finden. Im Alter, d. h. in dem Stadium, wo die Nährlösung tief schwarzbraun verfärbt ist, ist die Blase mitsamt dem oberen Teil des Konidienträgers rotbraun verfärbt, so daß sie sich im mikroskopischen Bilde scharf von den hell bleibenden Sterigmen abhebt, ganz im Gegensatz zu dem typischen *Aspergillus niger*, wo sich vor allem die Sterigmen verfärben.

Nach meinen Messungen gleich alter Konidienköpfchen der Stammmasse und der proteusähnlichen Form ist die Blase der letzteren größer als bei der ersteren. Achtundvierzig Stunden alte Köpfchen von *Aspergillus niger* besaßen Blasen von durchschnittlich 19 bis 22  $\mu$  Breite (vgl. Schieman 50  $\mu$ !), während sie bei eben so alten proteoiden Köpfchen 30 bis 36  $\mu$  maß. Dagegen sind die Konidienträger gewöhnlich etwas dünner, 7 bis 12  $\mu$  gegenüber 11 bis 18  $\mu$ .

Die Mehrzahl der Köpfchen besitzt, soweit es sich um Nährlösungskulturen handelt, nur primäre Sterigmen, die als Schopf auf dem Wirbel der Blase angeordnet sind. Sehr oft ist die letztere kolbig oder gar kugelförmig und wächst zu neuen Blasen oder ganzen Konidienträgern aus, so daß die merkwürdigsten Mißbildungen und kompliziertesten zymösen Verzweigungen dabei zustande kommen. Es ist auch keine Seltenheit, daß die Sterigmen ohne Vermittlung einer eigentlichen Blase dem kolbig verdickten Trägerende unvermittelt aufsitzen. Ebenso kommen aber völlig normal gebaute Köpfchen vor. Die sekundären Sterigmen sind, wo sie ausgebildet werden, selten mehr als 3 oder 4 an der Zahl, meist nur 1 oder 2. Die normal entwickelten primären Konidien messen 12 bis 15  $\mu \times 5 \mu$ , die sekundären 4 bis 5  $\mu \times 2$  bis 3  $\mu$ .

Während die reifen Sporen der Stammmasse eine dicke, mit dunklen Pigmentwarzen und -höckern besetzte Sporenhaut besitzen, dagegen nur die unreifen jüngsten Sporen pigmentfrei sind, ist die Sporenhaut bei der proteusähnlichen Form hellbraun durchsichtig, kaum mit wenigen flachen Pigmenthöckern besetzt. Reichlicher pigmentierte Sporen kommen allerdings in wechselnder Menge an jedem Köpfchen vor, worauf wohl das Scheckige der proteoiden Kulturen zurückzuführen ist. An Größe stehen die Konidien denen der Stammmasse nicht nach (3 bis 4  $\mu$  Durchmesser). Beim Abimpfen der Sporen auf Nährlösung ist der Farbunterschied besonders auffällig sichtbar. Während die schwarzbraunen der Stammmasse beim Ausschwenken der Platinöse stets zusammenhaften und sich als dunkler Fleck von der Nährlösung abheben, verteilen sich die hellen Sporen der proteoiden Form sofort über die Oberfläche und sind nicht sichtbar. Nur ein feiner irisierender Schimmer ist zu bemerken, als wenn den Sporen eine ölartige Substanz anhaftete, die sich bei der Übertragung in Nährlösung darauf ausbreitet. Eine zurückgeschlagene Kultur kann man dagegen schon äußerlich daran erkennen, daß man die abgeimpften Sporen auf der Nährlösung wieder sieht, und daß das irisierende Häutchen fehlt.

Schon die gleichaltrigen Mycelien unterscheiden sich deutlich von solchen der Stammmasse durch die schwächere Verzweigung der einzelnen Mycelfäden, was auch makroskopisch

in die Augen fällt. Nach 24 Stunden hebt sich das normale niger-Mycel knopfartig weiß vom Nährboden ab, dagegen ist das proteoides-Mycel in diesem Alter noch schleierartig, kaum erkennbar. Art der Verzweigung und Dicke der Mycelfäden stimmen dabei überein, nur die Zahl der von der keimenden Spore gebildeten Keimschläuche ist erheblich geringer. Dem schwächeren Wachstum entspricht das längere Sterilbleiben der Mycelien. Nach etwa 8 bis 14 Tagen treten aus den Konidienträgern schwarzbraune Tröpfchen aus, und Nährlösung wie Mycelunterseite verfärben sich allmählich ebenso.

Die Stammmasse gedeiht auf Nährlösung am besten bei 35° C, doch auch bei 37 bis 38° C kommt sie gut fort, ohne daß die Myceldecke sich krümmt und aus der Nährlösung hinaushebt. Anders verhält sich die proteoide Abänderung. Obwohl auch noch bei 37° C der proteoides zu gedeihen vermag, liegt doch das Optimum erheblich tiefer, bei 30 bis 33° C. Auch das Maximum liegt tiefer als für die Stammmasse, etwa bei 42° gegenüber 48 bis 50° C (für die Fruktifikation!). Übrigens ist es schwierig, die Kardinalpunkte für das Gedeihen auf Nährlösung irgendwie sicher festzustellen, da ich fand, daß selbst ein und dieselbe Linie zu verschiedenen Zeiten sich recht wesentlich anders verhielt, so daß die Angaben keine große Bedeutung haben.

Auffällig ist noch ein physiologisches Moment, bestehend in einem scheinbar größeren Sauerstoffbedürfnis der abgeänderten Rasse. Als ich junge Mycelien von ihr sowohl, als von der Stammmasse bis zur Köpfchenbildung im hängenden Tropfen einer mit Vaseline abgedichteten feuchten Kammer wachsen ließ, lieferten alle Mycelien der Stammmasse Köpfchen von normaler Größe, die der proteoiden Form dagegen zwar ebenso reichlich, aber winzigste sporearme und fast unpigmentierte Köpfchen von nur  $\frac{1}{7}$  des sonst gemessenen Durchmessers. Drehte ich aber das Deckglas um und ließ in einer großen feuchten Kammer weiter wachsen, so zeigten sich sehr bald Köpfchen von gewöhnlicher proteoides-Größe. Zugleich ist die Empfindlichkeit gegen Gifte dem unveränderten niger gegenüber gesteigert. Die oben genannten Gifte, die dieser mit wenigen Ausnahmen (z. B. Sublimat) in der Konzentration 1 : 1000 ohne Schaden vortrug, hinderten die Entwicklung des proteoides erheblich.



Der Wehmer'sche niger-Stamm unterschied sich von dem Schieman'schen außer durch die erwähnte häufige Ausbildung schleierartigen Luftmycels durch die größere Breite der Konidienträger, die 15—18  $\mu$  beträgt, sowie der bedeutenderen Dimensionen von Blase und primären, wie sekundären Sterigmen. Diese dickeren Konidienträger besitzt auch die proteoide Form dieser Rasse, wodurch sie mikroskopisch von proteoides-Linien anderer Abstammung rasch zu unterscheiden ist. Die primären Sterigmen sind hier 11—19  $\times$  3,6  $\mu$ , die sekundären, die meist vorhanden sind, 5—7  $\times$  3—5  $\mu$  groß. Die übrigen Eigenschaften dieser abgeänderten Form decken sich mit dem, was für den ersten proteoides galt.

Ehe ich von weiteren Unterschieden gegenüber der Stammrasse zu berichten haben werde, bedarf es noch einer Begründung, weshalb hier von proteoides, anstatt von proteus die Rede ist. Vor allem konnte ich für meinen proteoides eine derartige Abhängigkeit der Köpfchenfarbe von der Temperatur, wie sie von Schiemann für proteus beschrieben wurde, niemals feststellen. Ich fand im Gegenteil, daß mein proteoides von der Temperatur hinsichtlich seiner Deckenfarbe ganz unabhängig ist. Auch sah ich ihn auf festem Nährsubstrat niemals hellfarbig fruktifizieren, obwohl ich einen Agarnährboden zur Kultur verwandte, wie ihn Schiemann gleichfalls benutzte. Noch weniger konnte ich irgendeine gesetzmäßige Abhängigkeit des Rückschlagens von dem Alter der Kulturen auffinden.

Andererseits sind trotz einiger morphologischer, vielleicht weniger schwer in die Wagschale fallender Verschiedenheiten Ähnlichkeiten doch vorhanden. Auch proteus verfärbt die Nährlösung manchmal, freilich selten, schwarzbraun, auch bei ihm ist das Mycel dünnhäutig und in der Entwicklung gegenüber der Stammrasse stark verlangsamt, die Mehrzahl der Köpfchen klein und schlecht entwickelt, sind die Decken uneinheitlich gefärbt. Freilich war es mir schon allein wegen Platzmangels nicht möglich, den proteus z. B. auf Nährlösung genau so eingehend zu verfolgen, wie meinen proteoides. Ich muß mich daher auf diese Angaben beschränken.

#### 2. Fuscoide Form.

Die Konidiendecken dieser Abänderung sind auf Nährlösung rötlichbraun, im Alter fast violett-rötlichbraun gefärbt. Die Nährlösung nimmt die gleiche rötlichgoldbraune, später mehr schwärzlichbraune Färbung an wie bei der proteusähnlichen

Abänderung. Morphologisch unterscheidet sie sich jedoch nur dadurch von *Asp. niger*, daß alle Konidien der Köpfchen schwächer pigmentiert sind. Alle Ausmaße von Konidienträgern und Mycelfäden dagegen sind genau die gleichen wie bei der Stammmasse.

Näher noch als *proteus* und *proteoides* scheinen sich auf den ersten Blick *fuscus* (auch nach meinen Befunden) und *fuscoides* zu stehen. Abgesehen von der Verfärbung der Nährlösung, die *fuscus* abgeht, und der rötlichbraunen anstatt umbrabraunen Deckenfarbe ist der Hauptunterschied gegenüber *fuscus* nur in dem Eisenhunger zu suchen, der jenem gänzlich mangelt. Seit mehr als 30 Generationen ( $1\frac{1}{2}$  Jahr) fruktifizierte *fuscus* rasch und üppig auf Nährlösung bei  $35^{\circ}\text{C}$ , genau wie die Stammmasse, ohne je eine Spur von Eisenzusatz, während *fuscoides* ohne diesen kümmerlich wuchs und auf die Dauer nicht zu gedeihen vermochte.

#### b) Zytologische Befunde.

Sie vor allem hielten mich davon ab, *proteoides* mit *proteus* und *fuscoides* mit *fuscus* zu identifizieren.

Burgeff (1912) suchte die Variantenbildung bei *Phycomyces nitens* durch die Annahme der Heterokaryose zu erklären, wobei die Kerne verschiedenartig und verschiedenwertig gedacht sind. Es erschien mir daher wünschenswert, meine *Aspergillus*-formen auch zytologisch zu untersuchen, um festzustellen, ob eine solche Möglichkeit auch bei ihnen angenommen werden kann.

Das Verfahren wurde denkbar einfach gestaltet:

Mittelt eines Glasstabes wurden Objektträger, wie photographische Platten, mit einer feinen Malzagarhaut von wenigen  $\mu$  Dicke überzogen, indem ein Tropfen Agar auf den Objektträger getropft und mit dem Glasstabe ausgerollt wurde. In dem noch flüssigen Agar wird mit der Impfnadel etwas Sporenmateriale verteilt, möglichst so, daß die Sporen vereinzelt zu liegen kommen. Im Thermostaten läßt man darauf, nachdem man die Objektträger in die feuchte Kammer gebracht hat, keimen. In Zwischenräumen von 20 Minuten,  $\frac{1}{2}$  Stunde oder länger untersucht man mikroskopisch, wie weit die Keimung fortgeschritten ist und fixiert die einzelnen Stadien durch Eintragen der Objektträger in  $\frac{1}{10}$  Mittelflemming, in der sie 24 Stunden bleiben. Bei Optimaltemperatur setzt die Keimung in 3—7 Stunden ein und schreitet dann rasch vorwärts, so daß man in wenigen Stunden alle in Frage kommenden Entwicklungsstadien erhält. Aus der Fixierungsküvette gelangen die Objektträger 2 Stunden in fließendes Wasser, werden 6—8 Stunden in 2 proz. Wasserstoff-superoxyd gebleicht und in 2 proz. Eisenaunlösung übergeführt, worin sie

längere Zeit bleiben können. Nach raschem Abspülen in 3—4 mal gewechseltem Wasser bringt man sie in Hämatoxylin, worin sie 2—4 Stunden gelassen werden. Dann differenziert man in 2—4 proz. Eisenaalaun unter Kontrolle bei starker, 1200—1500facher Vergrößerung. Die Differenzierung muß so lange fortgesetzt werden, bis sich der Agar vollständig entfärbt hat und in den Keimschläuchen nur noch die Kerne deutlich gefärbt erscheinen. Bei ruhenden Kernen geschieht das eher, als bei in Teilung begriffenen. Versuche mit Eosin-Lichtgrün (S i e b e n 1912) gaben gleichfalls gute Augenblicksbilder, verblaßten aber zu schnell. Eisenhämatoxylin lieferte dagegen stets dauerhafte Präparate, wie gewöhnlich. Nachdem die Objektträger dann durch viertelstündiges Spülen in fließendem Wasser von dem überschüssigen Beizmittel befreit worden sind, wird durch Alkohol, Nelkenöl und Nylol in der üblichen Weise in Kanadabalsam übergeführt. Das feine Agarhäutchen, in dem die gekeimten Sporen eingebettet liegen, stört bei der mikroskopischen Betrachtung nicht.

An den gekeimten Konidien der Stammmasse läßt sich nun Folgendes feststellen: Vor dem Austreiben des Keimschlauches schwillt die Spore bedeutend an, so daß der Durchmesser der gekeimten Konidie etwa das Fünffache der ungekeimten beträgt. Ursprünglich besitzt sie nur einen Kern. Während der Quellung teilt sich dieser rasch in 2, 4, 6 bis 10 oder noch mehr, ehe der Keimschlauch sich ausstülpt. Das achtkernige Stadium ist das häufigste vor der Keimschlauchbildung (Abb. 2). Stülpt sich der Keimschlauch aus, so wandert nicht gleich einer der Kerne hinein, vielmehr ist er zuerst kernlos (Abb. 2), und ebenso wächst die Spitze kernlos weiter, falls es sich nicht um einen angelegten Konidienträger handelt, in dessen Ende sich die Kerne häufen. Die Keimungsbilder der beiden untersuchten niger-Stämme, des Schiemannschen und des Wehmerschen, weichen trotz auffälliger morphologischer Verschiedenheiten (breiterer Konidienträger, Sekundärmycel!) nicht im geringsten voneinander ab.

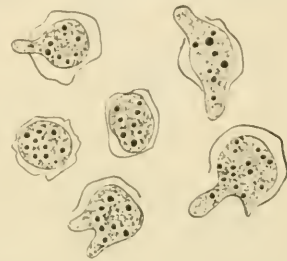


Abb. 2. *Asp. niger*. Schiem.-Rasse, normal.  
1125:1.

Während nun für die Sporen der Stammmasse das achtkernige Stadium vor der Ausbildung eines Keimschlauches das Normale ist, das 4-Kernstadium etwas Seltenes, mehr als acht Kerne aber sehr häufig sind, keimen die Sporen der proteusähnlichen Abänderung in der Regel schon, wenn sie erst auf dem 2-Kern-

stadium angelangt sind (Abb. 3), häufig sogar, wenn sie nur erst einen Kern besitzen (Abb. 4), etwas, was bei *Aspergillus niger*, wie mir scheint, normalerweise niemals vorkommt. Das 4-Kernstadium wird bei den keimenden Sporen der proteoiden Form eben so selten erreicht, wie es bei denen der Stammmasse dabei bleibt, ehe der Keimschlauch austreibt. Die Zellen der ausgewachsenen Hyphen von *Asp. niger* sind, wie man bereits leicht an lebendem Material feststellen kann, vielkernig und



Abb. 3. Zweikernstadium.



Abb. 4. Einkernstadium.

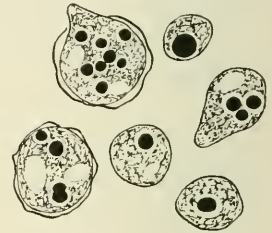


Abb. 5. Riesenzellen  
J<sub>19</sub> d.

*Aspergillus niger* proteoides.

1125:1.

enthalten mindestens acht Kerne verschiedener Größe, meist jedoch viel mehr. Die Hyphenzellen der proteusähnlichen Abänderung sind gewöhnlich nur vierkernig. Übrigens bestehen ziemlich weitgehende Verschiedenheiten zwischen den abgeänderten Linien verschiedener Entstehungsart. So wachsen sich z. B. die Konidien der Manganlinie J<sub>19</sub> d zu Riesenzellen aus, die vor dem Austreiben des Keimschlauches auf das Dreifache des gewöhnlichen Umfangs anschwellen können, gleichfalls aber in der Mehrzahl auf dem 2- bis 4-Kernstadium auskeimen, obwohl hier auch das 8-Kernstadium keine Seltenheit ist. Entsprechend der Zellgröße ist auch die Größe des ruhenden Kernes als riesenhaft zu bezeichnen (Abb. 5).

Andere Linien, z. B. die Bleilinie J<sub>16</sub> c<sub>1</sub> übertreffen in ihren keimenden Sporen die Stammmasse an Kernzahl ganz bedeutend, indem sie völlig vollgestopft von Kernen erscheinen, deren Zahl erst nach ihrer teilweisen Auswanderung in den Keimschlauch feststellbar ist, da sie außerordentlich klein sind (Abb. 6).

In anderen Fällen ist zwar die Zahl der Kerne gering, aber

zugleich auch ihre Größe. Auch Keimungsbilder von Sporen mit wechselnder und ungerader Kernzahl sind typisch für einige Linien. Und zwar bieten Linien des gleichen Ursprungs, aber von verschiedener zeitlicher Entstehung (z. B.  $J_{16}c_1$  und  $J_{16}c_1(a)$ , bzw.  $J_{16}c_1(b)$  für jede von ihnen typische, nicht übereinstimmende Bilder. Ob diese zytologischen Besonderheiten der einzelnen



Abb. 6. *Asperg. proteoides*  $J_{16}c_1$ .  
1125:1.



Abb. 7. *Asperg. proteus*.  
Schiem.  
1125:1.



Abb. 8. *Asperg. cinnamomeus*. Schiem.  
1125:1.

sonst völlig übereinstimmenden proteoides-Stämme dazu nötigen werden, diese in eine Anzahl verschiedener Formen zu zerspalten, lassen meine nur orientierenden Beobachtungen und ein Vergleich mit anderen Aspergillen noch nicht übersehen: *A. glaucus*-Stämme von einander sehr abweichendem Aussehen, sowie den gewöhnlichen chromgrünen und den abgeänderten blaugrünen *A. flavus* konnte ich zytologisch von einander nicht unterscheiden. Andererseits fand ich, daß bei dem Wehmerschen *niger*-Stamm, dem Schieman'schen *proteus* und anderen Aspergillen Keimungstypus und Kernzahl für die einzelnen Arten etwas durchaus Charakteristisches ist.

Der Schieman'sche *proteus* ist in seinen Kernverhältnissen der Stammmasse sehr ähnlich, doch ist das 4-Kernstadium vor der Keimschlauchbildung typisch für ihn (Abb. 7).

Zwischen *fuscus* und *fuscoides* sind die zytologischen Unterschiede besonders auffällig. Die *fuscus*-Mutante, mehr übrigens noch die *cinnamomeus*-Mutante Schiemanns, weichen so außerordentlich ab von dem, was für *niger*, *proteus* oder die *proteoides* Abänderung gilt, daß es, besonders für *cinnamomeus*, fast fraglich scheint, ob man es hier mit Abänderungen zu tun hat, die mit dem *proteus* oder dem *proteoides* zu vergleichen sind. Bei *Asp. cinnamomeus* z. B. (Abb. 8, s. S. 317) wandert der einzige, sich weiter zunächst nicht teilende Kern aus der Spore in den Keimschlauch,



Abb. 9. *Asperg. fuscus*. Schiem.  
1125:1.

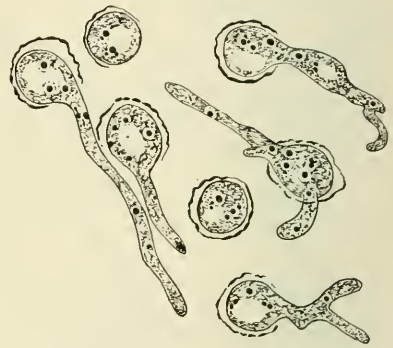


Abb. 10. *Asperg. niger fuscoides*.  
1125:1.

der sich darauf durch eine Wand gegen die leere Spore abschließt. Auch die Struktur des Kernes ist eine andere als bei *niger* und selbst bei allen anderen von mir untersuchten *Aspergillus*-arten. Während er bei diesen allen ein echter Caryosomkern mit stark sich färbendem Caryosom (vergl. Hartmann 1911) und einer hyalinen Kernsaftzone ist, enthält er bei *cinnamomeus* mehrere Caryosome und keine hyaline Zone. Auch *Asperg. fuscus* (Abb. 9) besitzt solche Kerne, ebenso ist er typisch einkernig. Daneben kommen gelegentlich zwei Kerne in einem Keimschlauch vor, von denen dann der eine ein gewöhnlicher Caryosomkern ist.

Die Verhältnisse bei der *fuscoides* Form (Abb. 10) dagegen erinnern mehr an die von *ochraceus*, was die Kleinheit und Menge der Kerne anbetrifft, dagegen gleichen die Kerne in ihrem Aufbau wiederum den typischen *niger*-Kernen, während die

von ochraceus (Abb. 11) mehr denen von fuscus oder cinnamomeus ähneln.

Zieht man also die Kernverhältnisse der Stammrasse, der Schieman'n'schen Mutanten und der von mir erzielten Abänderungen in Betracht, so erkennt man, daß die Abweichungen zytologischer Art zu groß sind, als daß es geraten schiene, die proteusähnliche Abänderung mit dem proteus, die fuscusähnliche mit fuscus zu identifizieren. Es bestehen eben nur gewisse Ähnlichkeiten, selbst Übereinstimmungen. Die Unterschiede sind aber meines Erachtens zu groß, um die einander Ähnlichen unvorbehaltlich einander gleich zu setzen.

Was die Annahme einer Heterokaryose anbetrifft, so fällt sie angesichts der geschilderten Kernverhältnisse mit ihren immerhin beträchtlichen Verschiedenheiten für *Asp. niger* von selbst als nicht notwendig in sich zusammen. Es fragt sich vielmehr, ob nicht die Schnelligkeit der Kernteilung und die mikroskopisch erkennbare Abweichung im Aufbau der Kerne weit eher für das Auftreten von Abänderungen in Betracht kommen, als bloße fiktive, nicht nachweisbare Verschiedenwertigkeit von Kernen gleichen Baus.

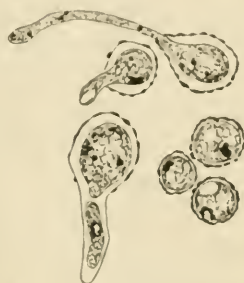


Abb. 11. *Asp. ochraceus*.  
1125:1.

#### Abschnitt IV.

##### Theoretisches.

Durch experimentelle Eingriffe, wie Gifteinfluß, erhöhte Temperatur und Änderungen der Nährlösungskonzentration und -zusammensetzung, also durch Änderung von Lebenslagefaktoren lassen sich in Einzellkulturen von *Penicillium glaucum* f. H., *Aspergillus flavus* und *Aspergillus niger* Abänderungen erzeugen, die bei Zurückversetzung unter Bedingungen, bei denen die Stammrassen unverändert blieben, sich verschieden lange konstant erhalten. Und zwar sieht man sie nicht nur ganz vereinzelt, mehr ausnahmsweise, erst nach längerer Vorbereitung durch Einwirkung auf eine ganze Reihe vorhergehender Kulturgenerationen (vergl. Schieman'n 1912), auftreten, sondern außer-

ordentlich häufig, in bemerkenswert großer Zahl und gleich bei erstmaliger Anwendung der Einflüsse.

Bei *Penicillium glaucum* f. H. sind zwar die Abänderungen meist bei verschiedenen Giften verschieden, ebenso bei *Aspergillus flavus*, aber nicht an bestimmte Giftkonzentrationen gebunden. Ja bei *Aspergillus niger* kann, abgesehen von Besonderheiten in den Kernverhältnissen, ein und dieselbe Abänderung unter den verschiedensten Bedingungen (Gift, Temperaturerhöhung usw.) auftreten. Daß selbst kurzdauernder Einfluß, von minimaler Stärke sogar, Abänderung bewirken kann, ist sehr wahrscheinlich gemacht.

Der Art der Entstehung nach lassen sich, ohne Rücksicht auf die Erbliehkeitsverhältnisse, zwei Gruppen von Abänderungen unterscheiden, einmal solche, die vom ersten Augenblick des Auftretens an die Gesamtheit aller Sporulationsorgane einer Decke umfassen (die Mehrzahl aller erhaltenen Abänderungen: alle bei *Penicillium* f. H., bei *Aspergillus flavus* und die fuscus-ähnliche bei *Aspergillus niger*), und solche, die zunächst nur einen, wenn auch gewöhnlich großen Teil der Fruktifikationsorgane ausmachen (einige der *Asp. flavus*-Abänderungen und die proteusähnliche Form von *Asp. niger*). Der erstere Fall ist der bei weitem häufigere, während letzterer ziemlich isoliert steht, aber, besonders bei *Asp. niger*, so oft beobachtet wurde, daß er als selbständiger Typus wohl Beachtung verdient.

Zwischen *Penicillium* und *Aspergillus* bestehen insofern noch Unterschiede, als der Ort des Auftretens bei beiden nicht der gleiche zu sein braucht. Während bei *Aspergillus* stets (einzige Ausnahme die Rhodankaliumkulturen von *Asp. flavus*) primäre Konidien abgeändert sind, schon weil sekundäre in der Regel nur bei der abgeänderten Rasse (*proteoides*) und auch da nur verhältnismäßig selten vorzukommen und keine abweichenden Verhältnisse zu zeigen pflegen, tritt die Abänderung bei *Penicillium glaucum* f. H. oftmals erst bei den sekundären Konidien in Erscheinung. Ebenso kommt es hier vor, daß primäre und sekundäre Konidien verschiedenartig abgeändert sind und beide verschiedene Formen liefern.

Zwischen Inkonzanz und kürzerer oder längerer Konstanz der abgeänderten Typen bestehen alle möglichen Übergänge.



Man kann in bezug auf diese Pilze keineswegs behaupten, daß die beiden Arten der Variabilität, der konstanten und der nicht konstanten, ihrer Art und Entstehung nach grundverschieden (so z. B. Baur 1913 und 1914) und nicht miteinander zu vergleichen seien, wenn auch manchmal die zunächst inkonstanten Typen nicht zur Konstanz gebracht werden konnten.

Gangbare Wege, die inkonstanten in konstante Rassen überzuführen und umgekehrt, trotz äußerlicher Übereinstimmung im Aussehen und in der Art des Auftretens, konnten aber nicht gefunden werden. Wo dies möglich war, beruhte es auf einem Zufall, wie überhaupt die Launenhaftigkeit bei all den beschriebenen Erscheinungen ein charakteristisches Merkmal ist.

Bemerkenswert ist jedoch bei *Aspergillus proteoides*, daß die Konstanz nur anfänglich meist unvollkommen ist, von Generation zu Generation aber fester wird. —

Eine neu auftretende, durch Änderung der Lebenslage hervorgerufene Form kann sein:

1. inkonstant, sofort zurückschlagend;
2. zunächst mit Neigung zum Rückschlag, spätere Generationen konstant;
3. konstant:
  - a) nur wenige Generationen;
  - b) eine größere Anzahl von Generationen;
  - c) dauernd, das heißt solange wie beobachtet und zwar unter den verschiedensten Kulturbedingungen, selbst bei Zusatz von Giften;
4. umschlagend konstant, nicht bei einer Stufe stehen bleibend, sondern weiter abändernd;
5. intermittierend konstant, mit scheinbar zur Stammmasse zurückschlagenden Zwischengliedern.

Die proteoide Form von *Aspergillus niger* zeigt besonders deutlich, daß eine und dieselbe Form je nach ihrer Entstehung inkonstant oder konstant sein kann.

Die umschlagenden Abänderungen (4) wurden hauptsächlich bei *Penicillium f. H.* beobachtet und sind dafür besonders typisch. Worauf dieses Umschlagen der Deckenfarbe beruht, konnte nicht festgestellt werden. Daß Temperatur und Luftfeuchtigkeit bei manchen eine Rolle dabei spielen, ist möglich, obwohl

nicht für alle sehr wahrscheinlich, da die umschlagenden Formen unter den gleichen Bedingungen durchaus nicht alle zur gleichen Zeit umändern, sondern zu ganz verschiedenen Zeiten.

Bemerkenswert ist das bei allen drei untersuchten Pilzspezies zuweilen vorkommende Zurückschlagen der Sporen zur Farbe der Stammmasse (5), ohne Verlust der gewonnenen Abänderung, die nach einer oder einigen wenigen Generationen wieder erscheint und konstant bleibt.

Besonders hervorgehoben werden muß aber, daß durchaus nicht alle untersuchten *Penicillium*- und *Aspergillus*-Rassen eine solche leichte Abänderungsfähigkeit besitzen. Bei meinen Stämmen *Penicillium glaucum* f. F. und *Penicillium luteum* Zukal (?), sowie denen von *Aspergillus fuscus*, *cinnamomeus* und *ochraceus* waren entweder alle meine Bemühungen, sie zu Abänderungen zu zwingen, ganz erfolglos, oder diese waren nur vorübergehend konstant zu erhalten.

Daß den vielleicht unbedeutend erscheinenden bloßen Farbänderungen auch noch andere, tiefergehende Abweichungen von der Konstitution der Stammmasse zugrunde liegen, beweisen wohl die beobachteten morphologisch-zytologischen und die physiologischen Verschiedenheiten, auch wenn sich letztere zuweilen nur durch die veränderte Reaktion der Nährlösung dokumentieren. —

Lassen sich nun die gefundenen Erscheinungen in den heute üblichen Klassifikationen der Variationen unterbringen?

In der experimentellen Erblchkeitslehre ist, abgesehen von den Kombinationen, die bei asexuellen Organismen außer Betracht liegen, allerdings in erster Linie für höhere Pflanzen, folgende Unterscheidung eingeführt und allgemein gebräuchlich:

1. Modifikation.
2. Mutation.

Unter Modifikationen werden bekanntlich Veränderungen verstanden, die bei allen Individuen unter dem Einfluß einer veränderten Gesamtumgebung oder besonderer Einzelbedingungen auftreten, aber bei Zurückversetzung unter die normalen Verhältnisse nicht erblich sind.

Der Begriff der Mutation ist eng verknüpft mit dem Namen de Vries (1901 und 1903, 1912). Die Fassung, die er ihm gab, hat sich bei vielen, aber nicht allen Autoren auch erhalten, obwohl

die von ihm beschriebenen Mutationen bei *Oenothera lamarckiana* z. T. höchstwahrscheinlich Kombinationen sind (Heribert Nilsson-Ehle 1912). De Vries versteht unter Mutation: durch unbekannte Ursachen, ohne Beziehung zur Lebenslage in sehr geringer Zahl zustande kommende und plötzlich, sprungweise auftretende, vom ersten Augenblick ihrer Entstehung an erblich konstante Veränderungen mit neuen Eigenschaften.

Über die Beziehungen der Mutationen zur Lebenslage sind die Meinungen heute noch geteilt. Schon de Vries (1903, 1912) deutete an, daß, obgleich die äußeren Faktoren, die die Mutationen hervorrufen, bisher nicht bekannt seien, sie doch vielleicht in dem Zusammenwirken extrem günstiger oder extrem ungünstiger Lebensbedingungen zu suchen seien. Dieser Meinung haben sich z. B. Goldschmidt (1913), Flu (1913), Eisenberg (1912, 1913, 1914), Bernhardt (1915) und andere angeschlossen. Dagegen nehmen Forscher wie Johannsen (1913), Baur (1914), Bateson (1913), Jollos (1913), Reiner Müller (1909, 1911 und 1912), Beijerinck (1912), Cl. Dobell (1912), Seyffert (1912), Toenniesen (1913, 1914 und 1915) u. a. an, daß die Mutationen durch bestimmte Außenfaktoren zwar erzeugt werden können, daß aber meist die wahren Ursachen gänzlich unbekannt seien und jene Außenbedingungen mehr eine untergeordnete Rolle spielen. Die Beziehungen zur Lebenslage seien eben erst noch zu erforschen.

Einigkeit herrscht nur bezüglich des letzten Teilbegriffes, der Forderung der Erblichkeit. Es ist daher verständlich, daß z. B. Baur (1914) kurz die erblichen Veränderungen als Mutationen bezeichnet, ohne Rücksicht auf die Art ihrer Entstehung. Von Degeneration kann man nur sprechen, wenn die Lebensfähigkeit eines Organismenstammes leidet, bzw. zum allmählichen Verlöschen kommt. Verschwindet aber nur irgendeine bestimmte Eigenschaft — meist handelt es sich um solche physiologischer Art —, so braucht das keineswegs eine »Abbausercheinung des Genotyps« (Johannsen 1913) zu bedeuten. Weil der betreffende abgeänderte Organismus nicht mehr in der gleichen Weise wie die Stammmasse auf dem ihm gebotenen »Normal«-nährboden fortkommt, ist er noch lange nicht degeneriert. Im Gegenteil dokumentiert sich die neue Eigenschaft

vielleicht besonders deutlich auf diese Weise. Es ist nur Sache des Experimentators, durch Veränderung der Nährlösung eine ihm zusagende Nährmittelzusammensetzung zu finden, auf der der abgeänderte Typus ebenso gut gedeiht, wie die Stammmasse auf der ihr zusagenden. Es ist daher nicht möglich, meine fuscusähnliche Rasse als Degeneration zu bewerten, nachdem sich gezeigt hat, daß ihr nichts als ein etwas größeres Quantum an Eisensalz oder Kaliumphosphat fehlt, um ebenso prächtig zu wachsen und zu fruktifizieren wie *Aspergillus niger* z. B. auf eisenfreier Nährlösung. Nichts spricht also dafür, daß die Abänderungen bei *Penicillium* und *Aspergillus* nur Degenerationen seien (vgl. Beijerinck 1912 und 1914).

Lassen sich nun aber die eigenen erhaltenen Abänderungen als Modifikationen oder Mutationen deuten? Zwar scheinen sie durch bestimmte, greifbare Ursachen hervorgebracht zu sein; jedenfalls sahen wir nur unter gewissen Bedingungen Abänderungen auftreten, aber unmittelbarer Zusammenhang mit ihnen ist oft nicht ganz sicher wegen der Launenhaftigkeit des Auftretens, wenn auch bei *Penicillium glaucum* f. H. bestimmte Farbtönungen der Sporendecken einzelnen Giften zugeordnet zu sein scheinen (z. B. Grauseegrün den Salicylsäure-, Weißlichgrün den Manganchloridkulturen). Gleichwohl kann man meist kaum von genau bekannten Ursachen sprechen, sondern nur von günstigen Bedingungen, unter denen die Abänderungen mit einem verschieden hohen, manchmal allerdings sehr hohen Grade von Wahrscheinlichkeit zu erhalten sind. Bisher nicht zu fassende Stoffwechselprodukte der Pilze sind vielleicht außer den geschaffenen Bedingungen von großer Bedeutung.

Andererseits erscheinen die Abänderungen trotz aller Launenhaftigkeit nicht so selten, wie das allgemein von den Mutationen angenommen zu werden pflegt, etwa  $\frac{1}{2}$  bis 2% günstigen Falls betragend (Schiemann 1912). Die Tatsache, daß bei *Aspergillus niger* sehr viele Köpfchen eines Mycels, bei *Aspergillus flavus* in der Mehrzahl der Fälle alle, seltener ein großer Teil der Gesamtheit aller Köpfchen, bei *Penicillium glaucum* f. H. dagegen stets und bei *Aspergillus niger* in einigen wenigen Fällen gleichfalls sämtliche Köpfchen eines Mycelindividuums abgeändert sind, wie bei echten Modifikationen, beweist, daß,

wenn man hier überhaupt von Mutationsprozenten reden soll, diese bis zu 100% betragen können (vgl. Fischers Aberrationen bei Vanessaarten!)

Das einzig sichere Kriterium für die Beurteilung wäre die Konstanz. Wir sahen aber gerade, daß bezüglich dieser ganz erhebliche graduelle Verschiedenheiten bestanden. Eine und dieselbe Abänderung war ja in dem einen Falle sofort, anscheinend unbeschränkt, konstant, in dem anderen Falle vom Charakter einer gewöhnlichen Modifikation; außerdem gab es die verschiedensten Übergänge. Es ist also ganz unmöglich, die erzeugten Abänderungen teils als Modifikationen, teils als Mutationen anzusprechen; denn beide Begriffe decken sich nicht mit den gefundenen Tatsachen: entweder die Ursachen sind wenig klar, keineswegs immer von der gleichen, unfehlbaren Wirkung, dabei die Abänderungen nicht konstant, oder aber, die Bedingungen sind mit größerer Sicherheit anzugeben, doch dann gerade sind die Abänderungen in verschiedenem Grade konstant.

Zunächst ist jedoch über Konstanz und Erbllichkeit bei der asexuellen Vermehrung meiner Pilze einiges zu sagen. Bekanntlich ist man vielfach der Meinung, daß der Begriff der Mutation schon deshalb auf asexuelle Organismen nicht anwendbar sei, weil man bei ihnen gar nicht feststellen könne, ob eine neu aufgetretene Eigenschaft »vererbbar« sei oder nur »stabilisiert« (Bernhardt 1915). Nimmt man an, bei der Vermehrung durch Zweiteilung handle es sich nicht um »eigentliche Vererbung«, sondern um »direkte Übertragung«, »Stabilisation«, »Konstantbleiben« oder wie man es sonst nennen mag (vgl. auch Jost 1913), so müßte man auch die vegetativ entstandenen Knospenmutationen aus der Erblchkeitslehre verbannen. Versteht man aber wie Godlewski (1909) unter Vererbung »die Fähigkeit des Organismus, den morphologischen Ausgangspunkt seiner Entwicklung aus einem bestimmten Teil seines eigenen Körpers auszubilden und vermittelt desselben seine Eigenschaften auf die Nachkommenschaft, die sich daraus entwickeln kann, zu übertragen«, so scheint es nicht angängig, asexuell sich vermehrenden Organismen die Vererbung abzustreiten.

Bei meinen Pilzen erscheinen gerade die Fortpflanzungs-

zellen deutlich abgeändert, durch deren Aussaat Mycelien entstehen, die wiederum in gleicher Weise abgeänderte Sporen hervorbringen, allerdings auf vegetativem Wege. Trotzdem liegt zurzeit, wie mir scheint, kein stichhaltiger Grund vor, von etwas anderem als von Vererbung zu reden, so wenig wir freilich wissen, was das ist, wenn auch das Verhalten sexuell entstandener Fortpflanzungsorgane noch festzustellen ist. Meine am längsten kultivierten Formen sind nun schon seit 40 ( $J_{16a_1}$ ) bzw. 38 ( $H_6a_1$ ) Generationen konstant geblieben. Das würde bei einer einjährigen höheren Pflanze mit Vermehrung durch Samen einer Konstanz durch eben so viele Jahre entsprechen. Selbst gewaltsame Eingriffe konnten die Konstanz nicht aufheben. Übrigens ist zu bedenken, daß man auch bei der reinsten Linie höherer Pflanzen unter Erblichkeit nicht eine absolute, dauernde Konstanz verstehen kann, da bekanntlich reine Linien gelegentlich durch Mutation sich verändern können.

Jedenfalls zeigen meine Abänderungen ganz deutlich das, was Baur (1914) als Charakteristikum der »vererbbaeren Modifikationen« (eigentlich ein widersinniger Ausdruck; denn Modifikationen werden doch eben als nicht erbliche Abänderungen definiert) bezeichnet, nämlich das Auftreten von Veränderungen infolge veränderter Kulturbedingungen und Änderung der Reaktionsweise der Nachkommen in der Art, daß »diese jetzt auf die normalen Außenbedingungen in der gleichen Weise reagieren, wie die unveränderten Individuen auf die veränderten Bedingungen«. Mit Fug und Recht kann man sie also, glaube ich, in das vielumstrittene Kapitel der Vererbung erworbener Eigenschaften einreihen.

Lediglich von einer Nachwirkung kann man wohl kaum reden, da die Veränderung in Fällen, wo sie dauernd konstant ist, bisher weder nach einer größeren Zahl von Impfgenerationen verschwunden ist oder dazu gewaltsam gebracht werden konnte, noch nachläßt, resp. langsam abklingt. Deshalb kann man meine Abänderungen auch nicht als Dauermodifikationen im Sinne von Jollos (1913) bezeichnen. Das Wesen der Dauermodifikationen liegt ja darin, daß die durch äußere Einflüsse erzeugten Veränderungen allmählich abklingen und zum Normaltyp zurückkehren. Bisher handelt es sich hier stets um eine

Anpassung an bestimmte Stoffe, die allmählich wieder verloren geht (Arsenfestigkeit von Trypanosomen, Spirochaeten und Paramäzieren). Dabei kann es eine lange Reihe von Generationen dauern, bis der Unterschied gegenüber der Stammform ausgeglichen ist. Baur spricht in dem Falle, wo die »Modifikation« sich als »erblich« erweist, davon, daß sie für eine bestimmte Zeit »fest induziert« sei, und vergleicht z. B. die Jollosschen Dauermodifikationen von Paramäzieren mit der Tatsache, daß orthotrope radiäre Efeuzweige, als Stecklinge gezogen, niemals in kriechende, dorsiventral gebaute sich umwandeln, und daß Stecklinge von Araukariensprossen zweiter Ordnung zwar unbegrenzt plagiotrop weiterwachsen, aber sich nicht aufrichten wie Hauptsprosse, infolge einer Umstimmung der Vegetationspunkte. Ob aber diese »feste Induktion« mit dem Konstantbleiben der Merkmale einer Abänderung wirklich verglichen werden kann, das würde sich wohl erst dann entscheiden lassen, wenn man festgestellt hätte, ob auch asexuelle oder sexuelle Fortpflanzungsorgane die »Induktion« wie bei diesen auf die Nachkommen übertragen, was bekanntlich bei den asexuellen Brutknospen vieler dorsiventraler Lebermoose nicht der Fall ist.

Daß meine Abänderungen mit dem de Vriesschen Begriff der Halb- oder Mittelrassen ganz und gar nichts zu tun haben, geht schon daraus hervor, daß letztere nur unter günstigen Ernährungsbedingungen in der Zeit des üppigsten Wachstums auftreten und sich auf morphologische Merkmale beziehen, die nicht immer an dasselbe Organ gebunden zu sein brauchen (vgl. de Vries 1901, Tammes 1904, Lehmann 1909).

Als Gesamtergebnis meiner bisherigen Erörterungen würde also die Tatsache anzusehen sein, daß meine Abänderungen in das Schema Modifikation-Mutation nicht hineinpassen. Sie sind teils inkonstant wie jene, teils konstant wie diese, ohne daß hinsichtlich der bewirkenden Faktoren oder des Auftretens irgendwelche Unterschiede nachweisbar wären. Modifikation und Mutation lassen sich hier also nicht starr scheiden, wie es wohl bei höheren Pflanzen geschehen ist. Dieses Ergebnis erscheint mir um so bedeutungsvoller, weil es auch bei den experimentellen Untersuchungen über die Varia-

bilität der Bakterien erzielt worden ist, wie im folgenden noch kurz zu zeigen ist.

Die ältesten Untersuchungen befassen sich mit den farbstoffbildenden Bakterien (*Bac. prodigiosus*, *Bac. pyocyaneus*, *Staphylococcus* u. a.). Wurden diese vielfach mit Mißtrauen aufgenommen als nicht absolut rein im Sinne von Johannsens reinen Linien, so beweisen die neueren Arbeiten mit diesen Organismen (Neumann 1897, Laurent 1908, Garbowsky 1907, Baerthlein 1912c, Beijerinck 1912, Wolf 1912, Eisenberg 1914b, Balsler 1914), daß der Zweifel unberechtigt war. Die Versuche der einzelnen Experimentatoren zeigen, daß keineswegs allein Giftreiz Abänderung bewirkt, sondern daß die Übertragung auf flüssige Nährböden, Farbstoff-, Alkoholzusatz oder Kultur bei Temperaturen, die dem Optimum des Wachstums nahe liegen, für das Zustandekommen von Abänderungen gleich günstig sind. Auch das Alter der Kultur, von der abgeimpft wird, spielt eine Rolle, ebenso Beschränkung der Luftzufuhr. Die Zahl der erhaltenen Abänderungen bei *Bac. prodigiosus* z. B., die bei Wolf nur zwei betrug, ließ sich wesentlich erhöhen (auf 22 bei Eisenberg). Die meisten schlagen entweder sofort zurück, sind also typische Modifikationen, oder erst nach längerer Zeit. Ebensogut sind aber absolut konstante Rassen keine Seltenheit, ohne daß sich ein Unterschied gegenüber jenen hinsichtlich der bewirkenden Bedingungen oder des Auftretens nachweisen ließe. Von Wichtigkeit ist auch, daß ein- und dasselbe Agens verschiedene konstante Abänderungen bewirken kann.

Die meisten Versuche sind mit den *coli mutabile*-Bakterien seit der Neißer-Massini'schen Entdeckung der Laktosevergärung angestellt worden. Eine große Zahl dieser Stämme zeigt, aus dem tierischen Organismus auf Endoagar und ähnliche Milchzucker enthaltende Nährböden abgeimpft, die Erscheinung, daß auf den weißen, die Laktose zunächst nicht angreifenden Bakterienkolonien »rote«, Laktose vergärende »Knöpfe«, Sekundärkolonien auftreten, von denen man durch Abimpfung stets vergärende »rote« Kolonien ohne weitere Knopfbildung erhält. Seit den ersten Angaben Massini's (1907) über dieses *Bact. coli mutabile* ist eine große Zahl bestätigender und



die Kenntnis erweiternder Versuche veröffentlicht worden: Burk (1908), Sauerbeck (1909), Benecke (1909), Burri (1909 und 1910), Kowalenko (1910), Seyffert (1912), R. Müller (1909, 1911 und 1912), Bernhardt und Markoff (1912), Baerthlein (1912 a u. b und 1913 a), Revis (1910, 1912 und 1913), Klein (1913), Bernhardt (1912 b u. 1915). Die Bakterien der »Knöpfe« behalten ihr neu erworbenes Gärvermögen konstant, auch unter abnormen, schädigenden Bedingungen, sowie nach Passage durch den Tierkörper (Massini, Seyffert, Burk, Müller u. a.); selbst nachdem ein derartiger Stamm 16 Jahre nicht mehr in Berührung mit Laktose gekommen war, hatte er das Gärvermögen dafür nicht verloren (Reichenbach 1913). Das gilt aber nicht für alle Stämme. Klein (1913) fand zwei, die das Vermögen der Laktosevergärung leicht durch Passage über andere Nährböden wieder einbüßten, z. B. schon nach einmaliger Passage über Nährlösung + Traubenzucker. Auch gelang es zuweilen zufällig, z. B. durch Eintrocknenlassen auf nicht laktosehaltigem Nährboden, sowie durch dreimalige Passage über Kaninchenblutagar, Rückschlag zu erhalten (Bernhardt und Markoff 1912).

Gewisse Bakterien dieser Gruppe werden durch bloße Berührung mit der Laktose zu Vergärrern, andere erst nach wochen-, selbst monatelanger Züchtung darauf. Zuerst sollten nur wenige Individuen diese Fähigkeit erhalten können, mit der Zeit sich die disponierten Keime vermehren (Baerthlein), als Erfolg allmählicher Anpassung und Auslese (Revis), bis Burri bewies, daß zwar bei Aussaat vieler Individuen nur wenige die Gärfähigkeit erwarben, daß aber beim Abimpfen möglichst weniger Keime, die nun genügend weit voneinander entfernt sich entwickeln konnten, alle die neue Eigenschaft annahmen. Schließlich konnte Klein feststellen, daß in flüssigen Nährböden alle Keime nach 8 Tagen imstande seien, Milchzucker zu vergären. Die Menge an Zucker usw., die zur Weckung der Gärfähigkeit benötigt wird, ist nur gering: 0,1% genügt bereits, 0,2% bis 2% sind am günstigsten (Klein). Je älter jedoch die Ausgangskultur ist, desto länger dauert es, bis die Knöpfe auftreten (Kowalenko).

An Typhus- und Paratyphusbakterien kamen ganz

ähnliche Erscheinungen zur Beobachtung. Auch diese Stämme erwarben das Gärungsvermögen für Zucker und Alkohole: R. Müller (1909 a und 1911 a u. b), Mühlmann (1909), Jacobsen (1910), Boddaert (1910), Penfold (1910 u. 1911), Sobernheim und Seligmann (1910), Neufeld und Lindemann (1910), Fromme (1911), Bernhardt (1912), Baerthlein (1911 b), Dittborn (1913), Sachs-Müke (1913), Grote (1913), Lingelsheim (1913), Saisawa (1913), Eisenberg (1914 c), Bernhardt (1915). Nicht alle Keime ändern gleichzeitig ab, sondern nur immer einige wenige; innerhalb einer gewissen Zeit wird ein Maximum erreicht (Müller, Penfold). Durch Luftzutritt wird die Umwandlung stark begünstigt (Lingelsheim). Auch nicht alle Stämme sind überhaupt oder mit der gleichen Geschwindigkeit zum Abändern zu bringen. Während es zuweilen schon nach 2 Tagen gelingt (Penfold), kann es in anderen Fällen 16 Monate (Penfold), selbst 2 Jahre (Twort 1907) und länger dauern, bei ununterbrochener Kultur auf zuckerhaltigen Nährböden. Müller gibt 3 bis 6 Tage, Penfold 5 bis 15 Tage als günstigste Zeit für das Auftreten von Abänderungen an. Erbliche Konstanz besitzen sie gleichfalls, jedoch scheint es hier leichter zu Rückschlägen zu kommen (Saisawa), die allerdings auch nur gelegentlich, nicht mit absoluter Sicherheit auftreten. Lingelsheim fand, daß die abgeänderten Typen besonders auf flüssigen Nährböden zäh festgehalten werden, daß aber schädigende Einflüsse, wie mehrfaches Erhitzen auf 55 bis 60° C oder Zusatz antiseptischer Mittel, wie Methylviolett, den Rückschlag begünstigten. Durch weitere Züchtung werden die morphologischen Eigenschaften der abgeänderten Typen immer beständiger (Mühlmann). Allerdings weichen gerade in dieser Beziehung die Meinungen noch erheblich voneinander ab (Bernhardt und Ornstein 1913, Sobernheim und Seligmann).

Ganz ähnliches Verhalten zeigen *Bact. enteritidis* Gaertner und *Bact. dysenteriae*: Baerthlein (1911 a), Sobernheim und Seligmann (1909), Bernhardt (1912 a u. b), Baerthlein (1911 a u. 1912 b), Bernhardt und Markoff (1912), Dittborn (1913). Die plötzlich auftretende Neuerwerbung (Baerthlein) wird bei weiterer Züchtung immer beständiger (Mühlmann)

1909). Auch hier besitzt derselbe Stamm gegenüber der Einwirkung der gleichen Substanzen zu verschiedenen Zeiten nicht immer die gleiche Widerstandskraft, ohne daß von einer bestimmten Gesetzmäßigkeit die Rede sein könnte (Bernhardt und Markoff).

Bei Pestbacillen (Markl 1914) und Choleravibrionen (Baerthlein 1911c und 1912d, Wankel 1912, Horowitz 1912, Stamm 1914, Eisenberg 1912b, Czernel 1913) konnten bei aller Konstanz dennoch stets Rückschläge, z. B. stets nach längerem Stehen der abgeänderten Kulturen, erzielt werden (Markl, Baerthlein).

Diphtherie- und Pneumoniebacillen verhalten sich nicht anders (Baerthlein 1912c und 1913b, Bernhardt und Paneth 1913, Römer 1914, Bernhardt 1915, Baerthlein 1912, Eisenberg 1914, Rosenow 1914, Toennießen 1913, 1914, 1915).

Erblicher, das heißt konstanter Verlust des Sporenbildungsvermögens, analog dem, was Hansen für Hefen angegeben hat, ist schon von Behring (1889) bei Milzbrandbacillen nach Zusatz von alkalischer Silberlösung und salzsaurem Chinin, dann von Baerthlein (1912c) und Eisenberg (1912a und 1914a) mit einwandfreiem Material nach Zusatz von Karbolsäure oder Traubenzucker, bzw. Glycerin beobachtet worden, jedoch nur selten so, daß sämtliche Deszendenten einer Zelle sofort zu 100% asporogen wurden, sondern meist umgekehrt so, daß 90 bis 98% sporogen blieben, doch nimmt die Anzahl der ersteren im Laufe der Versuche stets zu (Eisenberg). Balser (1914) erhielt schon nach fünfmaligem Abimpfen in Alkohol nur asporogene Milzbrandbacillen. Auf kulturellem Wege lassen sie sich nicht wieder zur Sporulation zurückführen, obwohl die Virulenz durch Tierpassage wieder zunimmt. Nicht alle Stämme machen die Umwandlung gleich schnell und leicht durch, aber auch schwer zur Asporogenität zu bringende Stämme besitzen immer einzelne Individuen, die leicht asporogen werden. Bezüglich der Konstanz gilt, daß sie entweder nur vorübergehend vorhanden ist, oder längere Zeit ( $\frac{1}{2}$  Jahr) andauert, um dann ganz unvermittelt wieder der Sporulation zu weichen, oder wirklich dauernd anhält, ohne daß Rückschlag bisher beobachtet werden konnte (Eisenberg, Balser).

Ich habe hier nur die wichtigsten und am eingehendsten bearbeiteten Bakterienarten herausgreifen können. Soviel ergibt sich jedoch wohl mit Sicherheit aus dem Mitgeteilten, daß die Ähnlichkeit meiner Pilzabänderungen mit denen bei Bakterien eine sehr viel größere ist, als zur Zeit die mit Mutations- und ähnlichen Erscheinungen bei höheren Pflanzen, obwohl fast alle die genannten Bakteriologen bemüht sind, die erblich konstanten Abänderungen bei den Bakterien als »Mutationen« zu deuten. Ich vermag mich jedoch eher der Ansicht Klein's (1913) anzuschließen, daß zwar eine gewisse Ähnlichkeit mit den sogenannten Mutationserscheinungen bei den höheren Pflanzen nicht zu leugnen sei, daß es aber zunächst rätlicher sei, nicht nach Analoga zu suchen, sondern die tatsächlichen Verhältnisse bei den Bakterien, und also auch bei den Fadenpilzen und manchen anderen niederen Organismen, vorurteilslos zu untersuchen, um von hier aus eine Revision des ganzen Mutationsbegriffes vorzunehmen. Vielleicht werden dadurch angeregte, neue ausgedehnte und eingehende Untersuchungen an höheren Pflanzen ebenfalls schließlich zu dem Ergebnis führen, daß auch bei ihnen nicht mehr in der üblichen schematischen Weise zwischen Modifikationen und Mutationen unterschieden werden kann. Dann allerdings würde das alte, schon viel erörterte Problem, wie es kommt, daß gewisse Anpassungen an die Umgebung bei manchen Pflanzen nicht erblich (als »Modifikationen«), die gleichen bei andern aber erblich fixiert (also gewissermaßen als »Mutationen«) auftreten, sofort leicht verständlich sein.

Einstweilen muß es genügen, festgestellt zu haben, daß auch bei den Fadenpilzen eine große Zahl mehr oder weniger konstanter Abänderungen experimentell erzeugt werden kann, und zwar bei manchen Eingriffen fast mit der Sicherheit eines physiologischen Experiments, womit vielleicht der große Formenreichtum vieler Penicillien und Aspergillen in der Natur eine Erklärung findet, und daß sich von ihnen nur sagen läßt, daß für sie die von mir angegebene Einteilung (S. 321) Geltung hat. Die Bedingungen dafür, daß ein Bakterien-, bzw. ein Pilzstamm veränderten Typs einmal dauernd erblich erhalten bleibt, ein ander Mal nicht, sind vorläufig genau so dunkel, wie für die Tatsache, daß *Capsella Heegeri* Solms keineswegs stets erblich

ist, z. B. durch Cystopus wieder zum Rückschlag zur Stammrasse gebracht werden kann (Solms-Laubach 1900).

Nach Angaben Prof. Fittings sollen die Untersuchungen im Bonner Institut fortgeführt werden.

## Abschnitt V.

### Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

Bei *Penicillium glaucum* f. H., *Aspergillus flavus* und *Aspergillus niger* konnte ich durch experimentelle Eingriffe, bei *Penicillium* durch Gifte, bei den *Aspergillen* durch Giftzusatz, erhöhte Temperatur, Änderung der Nährlösungskonzentration oder -zusammensetzung leicht Abänderungen erzielen, die sich bei Kultur unter normalen Bedingungen verschieden lange Zeit, zum Teil gar nicht, zum Teil aber solange, wie bisher verfolgt: 30 bis 40 Impfgenerationen, konstant halten lassen. Sie treten sofort, bei der einmaligen Einwirkung eines dieser Einflüsse auf; und zwar vermögen nicht bloß starke Eingriffe, etwa besonders hohe Giftkonzentrationen, abändernd zu wirken, sondern auch verschwindend geringe, wie 1 : 40 Mill. oder gar 1 : 800 Mill. Gift, selbst, wie es scheint, bei nur vorübergehender Einwirkung auf jüngere oder ältere Entwicklungsstadien der noch nicht fruktifizierenden Mycelien. Solche Abänderungen sind, wenigstens bei manchen Einflüssen, fast mit der Sicherheit physiologischer Versuche zu erzielen, also nicht, wie bei Mutationen üblich, nur in ganz seltenen, zufälligen Ausnahmen. Freilich macht sich bei den Versuchen vielfach doch eine nicht geringe, zurzeit unerklärliche Launenhaftigkeit in ihrem Auftreten noch immer geltend, so daß eine bestimmte nicht jederzeit beliebig erzeugt werden kann, woraus wohl zu folgern ist, daß dann außer jenen Einflüssen noch unerkannte Bedingungen an ihrer Bildung beteiligt sind. Sehr bemerkenswert in dieser Hinsicht ist, daß in solchen Fällen Massenausaat leichter und sicherer als Einzelaussaat zum Ziele führt, daß ein und dieselbe Giftkonzentration ganz verschieden gefärbte Formen hervorrufen kann, und daß eine bestimmte Abänderung nicht immer an ein bestimmtes Gift gebunden zu sein scheint. Gifteinfluß gleicher oder einer andern Art kann neue Veränderungen hervorrufen oder das Auftreten der bei erstmaligem Giftzusatz ausgebliebenen Abänderung bewirken.

Nicht bei allen untersuchten Pilzarten lassen sich aber gleich leicht mehr oder weniger konstante Abänderungen gewinnen (z. B. *Penicillium glaucum* f. F. widerstand allen sonst wirksamen Einflüssen gänzlich).

Die Änderungen betreffen in erster Linie die Farbe der Konidiendecken: bei *Penicillium glaucum* f. H. wurde eine große Zahl verschiedener solcher Farbänderungen erzielt, viel weniger bei *Aspergillus flavus*, während bei *Asp. niger* nur zwei solche Formen, *proteoides* und *fuscoides*, den von Schiemann als Mutanten erhaltenen Formen *proteus* und *fuscus* in vielem ähnlich, ohne ihnen völlig zu entsprechen, gewonnen wurden. Fast stets trat bei dieser Art, unter den denkbar verschiedensten Einflüssen nur ein und dieselbe Farbänderung auf, die ich als *proteusähnliche* bezeichnet habe, selbst bei einem zweiten *Asp. niger*-Stamm mit z. T. anderen morphologischen Eigenschaften, ohne daß dieser dabei seine sonstigen spezifischen Merkmale verloren hätte. Übrigens besitzt *Asp. proteoides*, auch wenn er ganz konstant ist, also nicht teilweise zurückschlägt, zum Unterschied gegen die anderen Formen, keine einheitlich gefärbten, sondern scheckige Decken mit hell- bis kaffeebraunen Köpfchen. Mit der Änderung der Konidienfarbe sind bei meinen neuen Formen oft verbunden: veränderte Reaktion der Nährlösungen, Verfärbung derselben, gesteigerte Giftempfindlichkeit, manchmal auch morphologische Verschiedenheiten der Konidienträger und der Sporen (letzteres bei *Asp. proteoides* und *fuscoides*). Die *proteoiden* Abänderungen von *Asp. niger*, die unter den verschiedensten Bedingungen immer wieder von neuem erhalten werden konnten und sich morphologisch und physiologisch ganz übereinstimmend verhalten, weichen doch voneinander noch durch auffallende Unterschiede in der Zahl und Größe der Zellkerne ab, so daß es noch fraglich erscheint, ob es sich dabei um identische Formen handeln kann, wie man ohne zytologische Untersuchung ohne weiteres glauben würde.

Die Abänderungen umfassen schon bei ihrem ersten Auftreten, bei *Penic. glaucum* f. H. sowohl in Vielzell-, wie in Einzellaussaaten, stets die gesamten Decken, desgl. meist bei *Asp. flavus*, doch kommt es hier auch vor, daß eine Abänderung fleckenweise auftritt. Bei *Asp. niger* wird dagegen, auch

in Einzellkulturen, fast stets nur eine gewisse, oft freilich sehr große Zahl der Köpfchen einer Decke abgeändert, die eine später entstehende helle Oberschicht über den dunklen, normalen bilden; nur einmal war von vornherein die Gesamtheit aller Köpfchen verfärbt. Abgeändert sind bei *Penicillium glauc.* f. II. entweder bereits die primären Konidien der beeinflussten Mycelien oder erst die sekundären, die an einem sekundären Mycel der Decke erscheinen, oder sowohl die primären als die sekundären, wobei die sekundären oft wieder anders in der Farbe abgeändert sind wie die primären; bei *Asp. flavus* und *Asp. niger* allein die primären Konidien, sekundäre werden hier meist nicht ausgebildet (Ausnahme: Rhodankaliumversuche mit *Asp. flavus*). Bei *Penic. glaucum* hat jede Art abgeänderte Konidien meist die ausgesprochene Neigung, auf Normallösung Mycelien nur mit Konidien ihresgleichen zu bilden; doch liefern die primären in ihrer Deszendenz nach mehreren Generationen häufig primäre nur von der Farbe der sekundären, sofern nicht im Laufe der Weiterkultur in einer Generation plötzlich bei allen Konidien Umschlag in eine neuartige Farbentönung eintritt, was mehrfach der Fall war. Bei *Penicillium*abänderungen kam es auch vor, daß die Primärkonidien unter normalen Kulturbedingungen Mycelien mit Primärkonidien ihresgleichen, aber mit anders abgeänderten Sekundärkonidien weiterhin konstanter Deszendenz lieferten, woraus gefolgert wurde, daß die Bedingung zur Entstehung dieser weniger in dem Vorhandensein der Gifte als im veränderten Stoffwechsel des Pilzes zu suchen seien.

Bei allen untersuchten Pilzspezies ist die Konstanz der experimentell veränderten Formen sehr verschieden. Eine Form kann sein,

1. inkonstant, d. h. sofort, in der nächsten Impfgeneration zurückschlagend;

2. zunächst mit Neigung zum Rückschlag, spätere Generationen konstant: die Formen von *A. proteoides*);

3. konstant (von Anfang an):

a) nur wenige Generationen;

b) eine größere, und zwar meist unbestimmte Anzahl von Generationen;

Konstanzverlängerung gelingt übrigens bei a und b zuweilen dadurch, daß man auf eine weiter zurückliegende Impfgeneration zurückgeht (Pen. f. H. 11 d 1);

c) dauernd konstant, d. h. so lange wie beobachtet, und zwar unter den verschiedensten Kulturbedingungen, selbst bei Zusatz von Giften;

4. umschlagend konstant, nicht bei einer Färbung bleibend, sondern ohne erkennbaren äußeren Anlaß weiter abändernd, besonders bei *Penicillium glaucum* f. H.;

5. intermittierend konstant, mit scheinbar zur Stammmasse zurückschlagenden Zwischengliedern: bei allen drei Pilzspezies beobachtet.

Abgesehen von den proteoiden Formen des *Asp. niger* umfassen Umschlag oder Rückschlag stets die gesamten Decken; teilweiser Um- oder Rückschlag (sog. Übergangsformen) wurde nicht beobachtet. Er wird nicht durch erkennbare äußere Umstände bedingt, ist stets unvermittelt, niemals allmählich, tritt sichtbar meist erst in einer Generation auf, die auf eine abgeänderte folgt: nur bei einer geringen Zahl (durch Bleinitrat oder Jodkalium) abgeänderter Kulturen von *Asp. flavus* schlugen die in ein und derselben Generation anfänglich abgeänderten Sporen in höherem Alter zurück: die jungen, abgeänderten Sporen gaben die abgeänderte Form konstant, die alten, zurückgeschlagenen ebenso die Stammmasse.

Bei den proteoiden Rassen von *Asp. niger* dagegen, selbst denen, die sich später konstant abgeändert ziehen lassen, beobachtet man anfangs, solange die Zahl der Kulturgenerationen noch gering ist, besonders, wenn man Einzellaussaaten macht, neben vollständigem, auch teilweisen Rückschlag. Es sind oft viele Generationen dazu nötig, bis keine zurückgeschlagenen Köpfchen mehr auftreten. Andererseits gelingt es seltsamerweise zuweilen, durch Einzellaussaat auch von den als Massenkultur völlig zurückschlagenden Konidien die abgeänderte Form konstant zu erhalten. Rückschlagende und nicht rückschlagende Sporen unterscheiden sich übrigens äußerlich nicht von einander.

Einmal vorhandene Konstanz zu erschüttern, z. B. Rückschlag zu erzwingen, ist im allgemeinen bei keiner meiner Pilzarten gelungen.



Für alle diese in normalen Nährlösungen beobachteten Um- und Rückschläge dürften vielleicht Stoffwechselprodukte, Temperaturschwankungen, auch lösliche Bestandteile der Kulturgefäße oder Bestandteile der Laboratoriumsluft usw. in Betracht kommen.

Die erhaltenen Abänderungen lassen sich nicht schlechthin als Modifikationen und Mutationen bezeichnen. Manche freilich, die sofort zurückschlagenden, könnte man wohl als typische Modifikationen ansehen, wenn nicht merkwürdigerweise dieselben Formen, unter gleichen oder anderen Bedingungen entstanden, und andere Rassen, die in ihrem Auftreten ebenfalls echten Modifikationen gleichen, mehr oder weniger konstant sein würden. Wieder andere entsprechen in ihrem Auftreten viel mehr den Mutationen, aber freilich, ohne konstant zu sein. Die bei den höheren Pflanzen übliche Klassifikation der Abänderungen versagt also hier völlig. Meine Ergebnisse, die mit zahlreichen Beobachtungen über die Variation von Bakterien weitgehende, auffallende Übereinstimmung besitzen, weisen zusammen mit diesen darauf hin, daß die heute in der Botanik geläufigen Ansichten über die Entstehung von Abänderungen einer Revision oder Ergänzung dringend bedürfen.

---

## Literaturverzeichnis.

- Arcichowsky, 1908, Zur Frage über den Einfluß von  $ZnSO_4$  auf eine Reihe von Generationen von *Asp. niger*. Autoreferat. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 21.
- Baerthlein, 1911, a) Über mutationsartige Wachstumserscheinungen bei Cholerastämmen. Berliner klin. Wochenschr. 48, 1. 373.
- , 1911, b) Über Mutationserscheinungen bei Bakterien. Berliner klin. Wochenschr. 48, 2. 1410.
- , 1912, a) Über Mutationserscheinungen bei Bakterien. Arb. d. kaiserl. Gesundheits.-Amts. 40.
- , 1912, b) Über neuere bakteriologische Befunde bei Ruhrerkrankungen. Berliner klin. Wochenschr. 49.
- , 1912, c) Weitere Untersuchungen über Mutationserscheinungen bei Bakterien. Deutsche med. Wochenschr. 38, 1443.

- Baerthlein, 1912, d) Über die Differentialdiagnose der choleraähnlichen Vibrionen. *Berliner klin. Wochenschr.* 49.
- , 1913, a) Über die Mutationen bei Bakterien und die Technik zum Nachweis dieser Abspaltungsvorgänge. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.* 71.
- , 1913, b) Über Mutation bei Diphtherie. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref.* 57. Beiheft, 84\*.
- Barber, A. Marshall, 1907, On heredity in certain microorganisms. *Kansas University Science Bull.* 4. No. 3.
- Balsler, 1914, Der Einfluß des Alkohols auf Bakterien. Inaug.-Diss. med. Gießen.
- Baur, 1913, Die Frage nach der Vererbung erworbener Eigenschaften im Lichte der neuen experimentellen Forschung mit Pflanzen. *Archiv f. soz. Hygiene.* 8.
- , 1911, Referat über Semonsche Arbeiten. *Zeitschr. f. ind. Abst. u. Vererbungslehre.* 5. 247.
- , 1914, Einführung in die experimentelle Vererbungslehre. 2. Aufl. Berlin. Bornträger.
- Behring, 1889, Beiträge zur Ätiologie des Milzbrandes. *Archiv f. Hygiene.* 6 u. 7.
- Beijerinck, 1912, Mutationen bei Mikroben. *Folia microbiologica.* 1.
- Benecke, 1894, Ein Beitrag zur mineralogischen Nahrung der Pflanzen. *Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch.* 12.
- , 1909, Reiner Müller, künstliche Erzeugung neuer vererbbarer Eigenschaften bei Bakterien. *Ref. Zeitschr. f. ind. Abst.* 2, 108.
- , 1912, Bau und Leben der Bakterien. Leipzig u. Berlin. Teubner. Kap. 8.
- Bernhardt, 1912, a) Beiträge zur Morphologie und Biologie der Bakterien. *Zeitschr. f. Hyg.* 71.
- , 1912, b) Über Modifikationen von Bakterien. *Ref. Berliner klin. Wochenschr.* 49.
- , 1915, Über Variabilität pathogener Organismen. *Zeitschr. f. Hyg.* 79.
- u. Markoff, 1912, Über Modifikationen bei Bakterien. Beitrag zur Frage der sog. Mutationen bei Bakterien. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.* 65.
- u. Ornstein, 1913, Über Variabilität pathogener Mikroorganismen. *Berliner klin. Wochenschr.* 50, 16.
- u. Paneth, 1913, Über die Variabilität des Diphtheriebacillus. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref.* 57. Beiheft, 82\*.
- Boddaert, 1910, Über die Umwandlung agglutinbildender Eigenschaften des Paratyphus B-Bacillus. *Deutsche med. Wochenschr.* 36, 1026.
- Burgeff, 1912, Über Sexualität, Variabilität und Vererbung bei *Phycomyces nitens*. Vorläufige Mitteilung. *Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch.* 30.
- , 1914, Untersuchungen über Variabilität, Sexualität und Erblichkeit bei *Phycom. nit.* Kunze. I. Flora. 7 (neue Folge).
- Burk, 1908, Mutation bei einem der Coligruppe verwandten Bacterium. *Archiv f. Hygiene.* 65.

- Burri, (1909) 1910, Über scheinbar plötzliche Neuerwerbung eines bestimmten Gärvermögens durch Bakterien der Coli-Gruppe. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 28. (Vorl. Mitteilung dazu im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 54, 210. 1909.)
- Csernel, 1913, Beiträge zur sog. Mutation bei Cholera-vibriolen. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 69.
- Ditthorn, 1913, Über das Verhalten der Typhus- und typhusähnlichen Bacillen (Paratyphus A u. B und enteritidis Gaertner) zu verschiedenen Zuckerarten und diesen nahestehenden mehrwertigen Alkoholen. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 67.
- Dobell, 1913, Some recent work on mutation in microorganisms. I u. II. Journal of Genetics. 2.
- Eisenberg, 1912, a) Untersuchungen über die Variabilität der Bakterien. I. Mitteilung: Über sporogene und asporogene Rassen des Milzbrandbacillus. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 63.
- , 1912, b) ebenso. II. Mitteilung: Über sog. Mutationsvorgänge bei Cholera-vibriolen. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 66.
- , 1914, a) ebenso. III. Mitteilung: Weitere Untersuchungen über das Sporenbildungsvermögen bei Milzbrandbacillen. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 73, 81.
- , 1914, b) ebenso. IV. Mitteilung: Über den Variationskreis des Bac. prodig. und Bac. violac. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 73, 449.
- , 1914, c) ebenso. V. Mitteilung: Über Mutationen in der Gruppe des Bact. fluorescens, Bact. pneumoniae, bei Sarcina tetragena und bei Bac. typhi. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 73, 466.
- , 1913, a) Über sog. Mutationen (Sprungvariationen) bei Bakterien. Berliner klin. Wochenschr. 50, 797.
- , 1913, b) Über die Vererbung erworbener Eigenschaften bei Bakterien. Berliner klin. Wochenschr. 50, 234.
- Ehrlich, 1909, Über die neuesten Ergebnisse auf dem Gebiete der Trypanosomenforschung. Archiv f. Schiffs- u. Tropenhyg. 13. Beiheft 6.
- , 1912, Über Chemotherapie: Bericht über die 5. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in der internat. Hyg. Ausstellung in Dresden. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Beilage. 50, 94.
- Flu, 1913, Over varieties en mutaties bij microorganismen. Natuurkundig Tijdschr. v. Neederl. Indië. Deel 72.
- Fromme, 1911, Über einen atypischen Typhusstamm. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 58.
- Garbowski, 1907, Über Abschwächung und Variabilität bei Bact. lut. Smith et Baker und Bac. tumescens Zopf. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 19 u. 20.
- Godlewski, 1909, Das Vererbungsproblem. Leipzig. Engelmann.
- Goldschmidt, 1913, Einführung in die Vererbungswissenschaft. Leipzig u. Berlin. Engelmann.

- G o n d e r, 1912, Untersuchungen über arzneifeste Mikroorganismen. I. Trypanosoma Lewisi. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 61.
- G r o t e, 1913, Zur Variabilität des Bac. paratyphus B. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 70.
- H a g e m, 1910, a) Untersuchungen über norwegische Mucorineen. Annales Mycol. VII.
- , 1910, b) Untersuchungen über norwegische Mucorineen. Videnskabs-Selskabs Skrifter. I. Math.-nat. Klasse. No. 4.
- H a n s e n, 1898, Om variationen hos ölvästs-vamparne och hos andre Saccharomyceter. Ref. von Klöcker im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 4.
- , 1906, Oberhefe und Unterhefe. Studien über Variation und Erbllichkeit. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 16.
- , 1907, Oberhefe und Unterhefe. Studien über Variation und Erbllichkeit. 2. Mitteilung. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 18.
- H a r t m a n n, 1911, Die Konstitution der Protistenkerne. Jena. Fischer.
- H o r o w i t z, 1912, Entgegnung zu Wankel. Zeitschr. f. Hyg. 72.
- J a c o b s e n, 1910, Mitteilungen über einen variablen Typhusstamm (Bact. coli mutabile), sowie über eine eigentümlich hemmende Wirkung usw. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 56.
- J e n n i n g s, 1910, Assortive mating, variability and inheritance of size in the conjugation of Paramaecium. Journal of exper. Zoology. 11.
- , 1913, The effects of conjugation in Paramaecium. Journal of exper. Zoology. 14.
- J o h a n n s e n, 1913, Elemente der exakten Erbllichkeitslehre. 2. Aufl. Jena. Fischer.
- J o l l o s, 1913, a) Experimentelle Untersuchungen an Infusorien. Biolog. Centralbl. 33.
- , 1913, b) Über die Bedeutung der Konjugation bei Infusorien. Archiv f. Protistenk. 30.
- , 1914, Variabilität und Vererbung bei Mikroorganismen. Zeitschr. f. ind. Abst. 12.
- J o s t, 1913, Pflanzenphysiologie. 3. Aufl. Jena. Fischer.
- K l e i n, 1913, Über die sog. Mutation und die Veränderlichkeit des Gärvermögens bei Bakterien. Zeitschr. f. Hyg. 73.
- K o w a l e n k o, 1910, Studien über sog. Mutationserscheinungen bei Bakterien unter besonderer Berücksichtigung der Einzelkultur. Zeitschr. f. Hyg. 66.
- L a u r e n t, 1908, Etude sur la variabilité du Bacille rouge de Kiel. Recueil de l'Inst. Bot. de Bruxelles. 4.
- L e h m a n n, 1909, Über Zwischenrassen in der Veronica-Gruppe agrestis. Zeitschr. f. ind. Abst. 2.
- v. L i n g e l s h e i m, 1913, Zur Frage der Variation der Typhusbacillen und verwandter Gruppen. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 68.
- M a r k l, 1914, Zur Frage der Mutation bei Pestbacillen. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 74.

- Massini, 1907, Über einen in biologischer Beziehung interessanten Coli-stamm (*Bact. coli mutabile*). Ein Beitrag zur Variation der Bakterien. *Archiv f. Hyg.* 61.
- Mühlmann, 1909, Untersuchungen über Dysenterie und verwandte Fragen. Mutationsversuche. *Archiv f. Hyg.* 69.
- Müller, Reiner, 1909, a) Über mutationsartige Vorgänge bei Typhus-, Paratyphus- und verwandten Bakterien. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref.* 42. Beiheft 57.\*
- , 1909, b) Vererbung erworbener Eigenschaften bei Bakterien. *Die Umschau.* Jg. 13, 400.
- , 1911, a) Mutationen bei Typhus- und Ruhrbakterien. (Mutation als spezif. Kulturmerkmal). *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.* 58.
- , 1911, b) Paratyphustochterkolonien in Typhuskolonien. *Münchener med. Wochenschr.* 58.
- , 1912, Bakterienmutationen. *Zeitschr. f. ind. Abst.* 7.
- Neufeld u. Lindemann, 1910, Beitrag zur Kenntnis der serumfesten Typhusstämme. *Centralbl. f. Bakt. Ref.* 54. Beiheft 229.\*
- Neumann, 1897, Studien über die Variabilität der Farbstoffbildung bei *Micrococcus pyog. a aureus* und einigen anderen Spaltpilzen. *Archiv f. Hyg.* 30.
- Nilsson-Ehle, Heribert, 1912, Die Variabilität der *Oenothera Lamarck.* und das Problem der Mutation. *Zeitschr. f. ind. Abst.* 7.
- Penfold, 1910, Variation of fermentation properties of *Bac. typhosus*. *Brit. med. Journal.* 2.
- , 1911, Studies in bacterial variation with special reference to the chemical functions of the members of the typho-coli group. *Journal of hyg.* 11, 30.
- Reichenbach, 1913, Die Vererbung erworbener Eigenschaften bei einzelnen Lebewesen. *Archiv f. soz. Hyg.* 8.
- Revis, 1910, The stability of the physiological properties of coliform organisms. *Centralbl. f. Bakt. Abt. II.* 26.
- , 1912, a) Note on the artificial production of a permanently atypical *Bact. coli*. *Centralbl. f. Bakt. Abt. II.* 31.
- , 1912, b) The selection action of media on organisms of the coli group etc. *Centralbl. f. Bakt. Abt. II.* 33, 407.
- , 1912, c) Coccoid forms of *Bact. coli* and the method of attack on sugars by *Bact. coli* in general. *Centralbl. f. Bakt. Abt. II.* 33, 424.
- , 1913, Further studies on variation in physiological activity in *Bact. coli*. *Centralbl. f. Bakt. Abt. II.* 39.
- Römer, 1914, *Berliner klin. Wochenschr.* No. 1.
- Rosenow, 1914, Wechselseitige Mutationen bei Pneumokokken und Streptokokken. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.* 75.
- Sachs-Mücke, 1913, Eine von Prof. v. Lingelsheim beschriebene Typhusbakterienform im Vergleich zu den bisher bekannt gewordenen sog. Mutationen. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.* 68.

- S a i s a w a , 1913, Über den modifizierenden Einfluß von kohlehydrathaltigen Nährböden auf Bakterien. *Zeitschr. f. Hyg.* 74.
- S a u e r b e c k , 1909, Über das *Bact. coli mutabile* (Massini) und coli-Varietäten überhaupt. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.* 50.
- S a u t o n , 1910, Influence du fer sur la formation des spores de l'*Asp. nig.* *Compt. rend. hebdomad. d. séances de l'Acad. d. sc.* 151.
- S c h i e m a n n , 1912, Mutationen bei *Asp. nig.* v. Tiegh. *Zeitschr. f. ind. Abst.* 7.
- S e y f f e r t , 1912, Über Mutationserscheinungen bei künstlich giftfest gemachten Colistämmen. *Zeitschr. f. Hyg.* 71.
- S c h o u t e n , 1913, a) Mutation bei Mikroorganismen. Handelingen van het 14. nederlandsch Natuur en Geneeskundig Congres gehouden te Delft.
- , 1913, b) Mutaties bij Mikroorganismen. Utrecht. Kemink u. Sohn.
- , 1914, Eine sporenlose Form von *Dematium pullulans* de Bary und eine sterile Zwergform von *Phyc. nit.* Agardh. *Folia microbiologica.* 3.
- S i e b e n , 1912, Einführung in die botanische Mikrotechnik. Jena. Fischer.
- S o b e r n h e i m , 1909, Über Enteritis-Bakterien. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref.* 44. Beiheft 127.\*
- u. S e l i g m a n n , 1909, Weitere Beiträge zur Biologie der Enteritisbakterien. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref.* 50. Beiheft 134.\*
- S o l m s - L a u b a c h , 1900, Kruziferenstudien. *Bot. Zeitg.* 58.
- S t a m m , 1914, Zur Frage der Veränderlichkeit der Cholera vibrionen im Wasser. *Zeitschr. f. Hyg.* 76.
- T a m m e s , 1904, Ein Beitrag zur Kenntnis von *Trifolium quinquefolium*. *Bot. Zeitg.* 62.
- T ö n n i e s s e n , 1913, Über Wesen und Ursache der Mutation bei Bakterien. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.* 69.
- , 1914, a) Über Vererbung und Variabilität bei Bakterien mit besonderer Berücksichtigung der Virulenz. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.* 73.
- , 1914, b) Über Vererbung und Variabilität. Weitere Untersuchungen über die Fluktuation, insbesondere über ihre Entstehungsweise, ihre Erbllichkeit und ihre Bedeutung für die Artbildung. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.* 75.
- , 1915, Über Vererbung und Variabilität bei Bakterien. Ein Beitrag zur Entwicklungslehre. *Biolog. Centralbl.* 35.
- T w o r t , 1907, The fermentation of glucosides by bacteria of the typhoid-coli group and the acquisition of new fermenting powers by *Bac. dys.* and other microorganisms. *Proceedings of the Royal Society. Series B* 79.
- d e V r i e s , 1901 u. 1903, Mutationstheorie. I und II. Leipzig. Veit.
- , 1912, Die Mutationen in der Erblchkeitslehre. Berlin. Bornträger.
- W a t e r m a n , 1912, Mutation bij *Penicillium glaucum* en *Asp. niger*. Verslag van de gewone Vergaderingen der Wis- en Natuurkundige Afdeling von 1912. 25. Mai. Amsterdam.
- , 1913, Mutation bei *Penicillium glaucum* und *Asp. niger*. *Zeitschr. f. Gärungsphysiologie.* 1.

- W a n k e l, 1912, Beiträge zur Frage nach der Artbeständigkeit der Vibrionen, im besonderen der Choleravibrionen. *Zeitschr. f. Hyg.* 71.
- W e h m e r, 1903, Monographie der Pilzgattung Aspergillus. Genf.
- W e s t l i n g, 1912, Über die grünen Spezies der Gattung Penicillium. Versuch einer Monographie. *Arkiv för Botanik.* 11. Upsala u. Stockholm.
- W o l f, 1909, Über Modifikationen und experimentell ausgelöste Mutationen von Bac. prod. und andere Schizophyten. *Zeitschr. f. ind. Abst.* 1.

---

## Tafelerklärung.

Die einzelnen Farbdigramme geben, von links nach rechts gerechnet, die Farben der Decken von *Penicillium glaucum* f. H. im Alter von 5, 10, 14 und 21 Tagen an, soweit es sich um Nährlösungskulturen handelt. Bei den Gelatinekulturen ist das Alter 3, 6, 10 und 21 Tage. Die Klammer unter je 2 halben Abteilungen eines Diagramms gibt an, daß die Kultur in diesem Stadium zweifarbig ist.

---

