Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und

Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 3 (1912)

Heft: 6

Artikel: Studien über funktionelle Anpassungen bei Bakterien

Autor: Thaysen, A.C.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-984071

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 22.10.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Studien über funktionelle Anpassungen bei Bakterien.

Von Dr. A. C. THAYSEN.

(Mitteilung aus dem bakteriologischen Laboratorium des Schweiz. Gesundheitsamtes.)

Einleitung.

Mutationserscheinungen, wie sie von Neisser und Massini 1) beschrieben wurden, sind in den letzteren Jahren in recht grosser Zahl beobachtet worden und der Ausdruck Mutation hat sich allmählich in die Bakteriologie eingebürgert als Bezeichnung für solche Variationserscheinungen, die unter dem Einfluss äusserer Faktoren zu anscheinend plötzlicher Neuerwerbung einer Eigenschaft führen.

Als klassisches Beispiel einer Bakterienmutation diente von jeher das Verhalten des von Neisser aufgefundenen Bact. coli mutabile. Dieses Stäbchen, das Laktose nicht direkt zu zersetzen vermag, konnte durch Züchtung auf milchzuckerhaltigem Nährboden in eine die betreffende Zuckerart zerlegende Rasse überführt werden. Diese Rasse hatte also unter dem Einfluss des Michzuckers eine neue Eigenschaft, die Produktion von Laktase, erworben, die, wie es schien, sich nicht allmählich ausbildete, sondern plötzlich und in voller Entwicklung zu Tage trat. Es war, mit anderen Worten, Bact. coli mutabile in einem Sprunge — ohne Ausbildung von Zwischenformen — von dem nicht vergärenden Stammtypus in die vergärende Rasse übergegangen, ein Vorgang, in dem man, wie erwähnt, eine Mutation im Sinne von de Vries erblicken wollte.

Von verschiedener Seite ist man in neuester Zeit gegen die Bakterienmutationen aufgetreten und besonders Pringsheim und Burri haben von der Einführung der Mutationstheorie in die Bakteriologie zur Erklärung der in Frage kommenden Erscheinungen Abstand genommen. Schon Benecke²) hatte sich allerdings gegen den Ausdruck «Mutation» gewehrt, weil er in dem durch das Wachstum auf milchzuckerhaltigem Nährboden bedingten Uebergang von Bact. coli mutabile in eine Laktose vergärende Rasse keinen richtungslosen, d. h. unbeeinflussten Variationsvorgang erblicken konnte. Immerhin hielt der genannte Forscher es doch für verantwortlich, den Ausdruck beizubehalten, so lange wenigstens, bis der scheinbar sprunghafte Charakter der Umwandlung, der «plötzliche» Uebergang in die vergärende Rasse genauer untersucht und wo möglich aufgeklärt worden war. Anderer Meinung ist Pringsheim³). Für ihn entbehrt die Bezeichnung «Mutation»

¹⁾ R. Massini, Arch. f. Hygiene, Bd. 61, 1907, p. 250.

⁹) W. Benecke, Zeitschr. f. indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 2, 1909, p. 215.

³) H. Pringsheim, Die Variabilität niederer Organismen, Verlag von J. Springer, Berlin, 1910.

in diesem Falle jeder Berechtigung, weil die Umwandlung von Bact. coli mutabile in eine vergärende Rasse nicht als eine sprunghafte im Sinne von de Vries aufgefasst werden kann. Denn es handelt sich hier im Gegensatz zu den wahren Mutationen, welche die Entstehung der verschiedensten Merkmale morphologischer Natur bewirken können, nur um die Erwerbung eines einzigen physiologischen Artmerkmales.

«Es gibt bei dieser Mutation», sagt *Pringsheim*, «nur eine mögliche Sprungweite» — die Erwerbung des Vergärungsvermögens — «so, dass für sie der Ausdruck Variation vollkommen ausreicht.»

Da nun die Umwandlung ausserdem absolut von dem Vorhandensein der Laktose abhängig ist, eine ausgeprägte adaptive Natur besitzt, so glaubt Pringsheim sich berechtigt, die Bezeichnung «Mutation», in diesem Zusammenhange gebraucht, ganz aufgeben und die Entstehung der Laktose vergärenden Rasse von Bact. coli mutabile und damit auch die Bakterienmutationen im allgemeinen als funktionelle Anpassungen auffassen zu dürfen, Anpassungen — «über deren Art und Weise, wie sie zustande kommen, wir jedoch nicht genauer informiert sind.»

Musste nun auch die Annahme einer sprunghaften Umwandlung im wahren Sinne des Wortes als unberechtigt bezeichnet werden, liessen sich auf der anderen Seite die Bakterienmutationen auch schwierig als typische Anpassungen auffassen, solange der Beweis für die Existenz von Zwischenformen zwischen den Extremen, Nichtvergärer und Vergärer, fehlte. Diesen Beweis zu führen war aber nicht möglich, solange man die Umwandlung von Bact. coli mutabile und der anderen sich analog verhaltenden Bakterien in der Weise bewerkstelligte, wie es Neisser und Massini getan hatten. Denn die vergärende Rasse musste, um überhaupt beobachtet werden zu können, in voll entwickeltem Zustande auf der Endoplatte, auf der sie als sogenannte «Knöpfe» in der Mutterkolonie erkennbar war, vorhanden sein. Erst als Burri 1) für seine Studien über Bact. imperfectum 2) Schüttelkulturen zur Anwendung brachte, wurde es möglich, die Entstehung der vergärenden Rasse genauer zu verfolgen. Burris Untersuchungen verdienen deshalb auch ein besonderes Interesse und um so mehr, als mit aller Deutlichkeit aus ihnen hervorgeht, dass die Umwandlung eine allmählich verlaufende ist, die zur Ausbildung zahlreicher Zwischenformen Veranlassung gibt.

Die Schüttelkulturen, die Burri für seine Untersuchungen gebrauchte, enthielten zwei Prozent der fakultativ vergärbaren Zuckerart, bei Bact. imperfectum, also Saccharose, und in diesen Kulturen, die mit reichlichem Material, etwa 100 Millionen Zellen der Stammkultur geimpft waren, ent-

¹) R. Burri, Ueber scheinbar plötzliche Neuerwerbung u. s. w., Centralbl. f. Bakt. II. Abt., Bd. 28, 1910, p. 321.

⁹⁾ Ein von *Burri* isoliertes Bakterium, das nicht befähigt ist, Rohrzucker direkt anzugreifen, bei geeigneter Züchtung aber Saccharose spaltende Rassen liefern kann, und sich also gegenüber Rohrzucker so verhält, wie *Bact. coli mutabile* gegen Milchzucker.

stand die neue Rasse in Form scheinbar gut isolierter Kolonien, die somit den «Knöpfen» der Endoplattenkolonien von Bact. coli mutabile entsprechen würden.

Beim Impfen von Schüttelkulturen mit fallenden Mengen Imperfectum Zellen beobachtete Burri nun die auffallende Erscheinung, dass die Menge der entstandenen Kolonien von der Zahl der ausgesäten Keime unbeeinflusst blieb. So entwickelten sich annähernd gleich viele Kolonien, ob die Schüttelkulturen 100 Millionen, 10 Millionen, 1 Million, oder 100,000 Zellen enthielten, und nicht, wie man erwarten sollte, eine der geringeren Aussaat entsprechende kleinere Anzahl. In Schüttelkulturen endlich, die nur mit wenigen Zellen, einige Hundert oder weniger, geimpft waren, gingen so viele Kolonien auf, wie Keime ausgesät waren, alle aus vergärenden Zellen bestehend. Entgegen der früheren Annahme, die in den Zellen einer Mutabilekultur zwei Typen, «mutierende» und «nicht mutierende» erblicken wollte, schliesst Burri hieraus, dass alle Zellen einer Imperfectumkultur und somit auch einer Mutabilekultur gleichwertig sind und, dass sie sich alle in die vergärende Rasse überführen lassen, alle zum «Mutieren» gebracht werden können. Wenn sie es unter gewissen Verhältnissen trotz der Anwesenheit des spezifischen Zuckers nicht können, so ist dies ausschliesslich auf äussere Einflüsse zurückzuführen.

Mit Recht macht Burri darauf aufmerksam, dass den einzelnen Zellen in einer sehr reichlich geimpften Kultur nur ungenügende Entwicklungsbedingungen geboten werden. Einmal wird die Nährstoffmenge, die den einzelnen Keimen zur Verfügung steht, in gleichem Masse kleiner werden, wie die Zahl der vorhandenen Zellen zunimmt. Und weiterhin werden die von den Keimen abgeschiedenen Stoffwechselprodukte bei kräftiger Impfung sich sehr beträchtlich geltend machen und eine Weiterentwicklung erschweren. Nur eine geringe Zahl besonders lebenskräftiger Zellen vermag unter diesen ungünstigen Verhältnissen aufzukommen und die Enzymproduktion in Gang zu setzen, durch die der anfänglich nicht zerlegbare Zucker zu einer wertvollen Nährstoffquelle wird.

Diese Zellen sind es, die zu makroskopisch sichtbaren Kolonien auswachsen. Wird die Aussaat dagegen eine geringere, so ändern sich die Verhältnisse. Die schädliche Wirkung der Stoffwechselprodukte wird proportional mit der Zahl von ausgesäten Zellen abnehmen, die Nährstoffmenge, die jedem einzelnen Keim zur Verfügung steht, in gleichem Grade zunehmen, so dass jetzt eine der geringeren Aussaat entsprechende grössere Anzahl, von Zellen zu Kolonien auswachsen und ihre Enzymproduktion in Gang setzen kann. Schliesslich wird bei ganz geringer Aussaat eine Stufe erreicht werden, wo die Lebensbedingungen sich so günstig gestalten, dass alle ausgesäten Keime auswachsen können.

Burris oben geschilderte Versuch zeigte weiterhin, dass es mit den in einer spärlich geimpften Schüttelkultur entstandenen Kolonien eine besondere Bewandtnis hat. Während nämlich die Ausbildung von sichtbaren Kolonien in den Schüttelkulturen mit reichlicher Aussaat durchschnittlich 5 Tage in Anspruch nimmt, ein Zeitraum, der nach Burri mit der relativ langsam erfolgenden Aktivierung des Saccharose spaltenden Enzyms in Zusammenhang zu bringen ist, so entstehen in den nur wenigen Zellen enthaltenen Kulturen schon nach 24 Stunden mit dem blossen Auge sichtbare Kolonien. Dass diese ebenfalls aus vergärenden Zellen bestehen sollten, schien nicht gerade wahrscheinlich. Abimpfungen von Zellen einer solchen Kolonie und Aussaaten in Saccharose enthaltenen Nährböden, zeigten denn auch, dass dieses nicht der Fall war. Die ausgesäten Keime unterschieden sich in nichts von einem gewöhnlichen Bact. imperfectum.

Anders aber beim Aelterwerden der Kolonien. Zellen, die aus 2 Tage alten Kolonien abgeimpft waren, entwickelten, in eine Saccharoseschüttelkultur gebracht, sichtbare Kolonien erst nach 5 Tagen, aus 3 Tage alten Kolonien dagegen schon nach 4 Tagen, aus 4 Tage alten nach 3 Tagen, aus 5 Tage alten nach 2 Tagen, bis endlich nach 6 Tagen die Erregung der Zellen den Punkt erreicht hatte, wo die Saccharose direkt unter Gasentwicklung zerlegt werden konnte.

Jeder, der sich mit dem Wesen einer Mutation vertraut gemacht hat, wird zugeben, dass diese Umwandlung nicht als eine solche aufgefasst werden kann. Die stufenweise Erregung weist deutlich auf eine Anpassung hin, eine Anpassung, die durch das Wachstum im saccharosehaltigen Nährboden bedingt wird, eine funktionelle Anpassung also, wie Wilh. Roux 1) und mit ihm Pringsheim sich ausgedrückt hatten.

Eine andere Frage ist nun die, warum *Bact. imperfectum* sich gerade an Rohrzucker, nicht aber an Milchzucker oder eine andere nicht zerlegbare Zuckerart anpassen lässt.

Wenn es sich um eine wirkliche Neuentstehung einer Eigenschaft handelte, wäre es recht natürlich zu erwarten, dass das Plasma eines Organismus, der mit so grosser Leichtigkeit zu Invertaseproduktion gebracht werden kann, ebenso gut und ebenso leicht zur Bildung von laktosespaltenden Enzymen angeregt werden könnte. Dieses ist aber nicht der Fall und Burri äussert deshalb die Ansicht, dass die Anpassung von Bact. imperfectum nicht auf die Neuentstehung saccharosespaltender Enzyme zurückzuführen ist. Die Zersetzung von Rohrzucker lag vielmehr von vorneherein in dem Bereich seiner Fähigkeiten; es besass, wie Burri sich ausdrückt, Bact. imperfectum und mit ihm die übrigen «mutierenden» Bakterienarten ein «latentes Gärungsvermögen» gegen die betreffende Zuckerart, das aber nur dann nach und nach in Wirksamkeit treten konnte, als dem Plasma die Gelegenheit zur Verarbeitung dieses Zuckers geboten wurde.

Ich habe im Vorhergehenden die Ansichten *Pringsheims* und *Burris* über die Bakterienmutationen in grossen Zügen wiedergegeben, damit nochmals auf ihre grundlegende Bedeutung für das Verständnis der uns be-

¹⁾ Wilh. Roux, Der Kampf der Teile im Organismus, Leipzig 1881.

schäftigenden Fragen hingewiesen sei. Arbeiten aus neuester Zeit zeigen nämlich, dass diese Ansichten noch nicht allgemeine Anerkennung gefunden haben. So haben unter anderen vor kurzem Jacobsen 1) und Reiner Müller 2) Arbeiten veröffentlicht, die noch ganz auf dem Boden der Massini'schen Anschauungen fussen.

Auf die Arbeit von *Jacobsen* soll hier nicht näher eingetreten werden, da schon *Pringsheim* ³) gezeigt hat, dass es sich bei den von dem betreffenden Forscher geschilderten Vorgängen weder um « Mutationen » noch um funktionelle Anpassungen handelt.

Dass Reiner Müller, der früher interessante Beobachtungen auf diesem Gebiete gemacht hatte, immer noch an der Mutationstheorie festhält, ist recht auffallend. In der Einleitung zu seiner oben erwähnten Arbeit schreibt dieser Autor: «Nur über die Deutung dieser Vorgänge» — (die funktionellen Anpassungen) — «bestehen Meinungsverschiedenheiten. Es sei gar keine echte Mutation im Sinne von Hugo de Vries, wie Massini angenommen habe. Mir scheint das mehr ein Streit um ein Wort zu sein, der das Wesen dieser Umwandlungen nicht ändert. Dann hat Burri neuerdings behauptet, die Erwerbung dieser neuen Eigenschaft erfolge gar nicht plötzlich ohne Zwischenstufen. Ich bezweifle nicht die von Burri gemachten Kulturvorgänge, aber seine Deutung dieser Beobachtungen scheint mir nicht gerechtfertigt, der Beweis einer allmählichen Anpassung unter Bildung von Zwischenformen nicht erbracht».

Selbstredend kann die neue Auffassung nicht «das Wesen der Umwandlung» ändern — es wäre dieses ein recht unbilliges Verlangen — aber deshalb das Bestreben Pringsheims und Burris, die Verhältnisse klarzulegen, auf einen Streit um ein Wort zu reduzieren, heisst wirklich die Bedeutung dieses Streites unterschätzen. Denn die fraglichen Erscheinungen haben nicht nur für die Bakteriologie ein Interesse. Auch der Deszendenzforschung muss es wertvoll sein, einmal über diese Verhältnisse richtig orientiert zu werden, und nicht zum mindesten aus diesem Grunde ist es notwendig, dass wir eine Entscheidung zwischen «Mutation» oder «funktionelle Anpassung» treffen.

Aus allem, was wir bis jetzt über die Bakterienmutationen wissen, geht deutlich hervor, dass es sich bei diesen Umwandlungen um Vorgänge handelt, die nicht einmal den wahren Mutationen in irgend einer Weise parallel verlaufen. Hierauf hat schon *Pringsheim* hingewiesen. Zum Ueberfluss vergleiche man W. Johannsen: « Die Elemente der exakten Erblichkeitslehre » und de Vries eigene Angaben in seiner « Mutationstheorie ».

Kann es nun wundern, dass gewissenhafte Naturforscher sich die Mühe geben, eine befriedigende Erklärung für diese Vorgänge zu finden? Und

¹⁾ K. Jacobsen, Centralbl. f. Bakt. I. Abt., Originale Bd. 57.

²) R. Müller, Centralbl. f. Bakt. I. Abt., Originale Bd. 58.

³⁾ H. Pringsheim, Mediz. Klinik, Jahrg. 1911, Nr. 4.

warum hartnäckig an dem Wort « Mutation » festhalten, wenn doch gezeigt werden kann, dass es sich hier um einen einfachen Variationsvorgang, eine funktionelle Anpassung, handelt? Schon die adaptive Natur der Umwandlung spricht gegen eine sprunghafte Aenderung, noch deutlicher aber die von Burri gemachten Beobachtungen über den stufenweisen Verlauf des Vorganges, Beobachtungen, deren Deutung allerdings, wie erwähnt, nicht von allen Seiten als richtig anerkannt werden. An anderer Stelle möchte ich auf diesen Punkt zurückkommen. Die Versuche, über die ich dann zu berichten habe, werden hoffentlich zur Genüge zeigen können, dass Burris Annahme einer allmählichen Umwandlung unter Ausbildung von Zwischenformen vollständig berechtigt war.

Im Lichte der neuen Auffassung gewinnt ein näheres Studium von Bakterien mit funktionellem Anpassungsvermögen an Interesse. Dieses letztere wird mit der Auffindung neuer Formen nicht erschöpft; auch eine genauere Untersuchung über ihre natürlichen Standorte, über den Einfluss äusserer Faktoren auf die Anpassung und noch einer Menge anderer Fragen könnte für die weitere Abklärung auf diesem Gebiete von Bedeutung sein. In der vorliegenden Arbeit habe ich versucht, einigen dieser Fragen näher zu treten und dabei der Isolierung solcher Formen, die in ihrer Anpassung sich von den bis jetzt bekannten unterschieden, ein besonderes Interesse gewidmet.

Gewinnung der Versuchsstämme und ihre natürlichen Standorte.

In seiner schon erwähnten Arbeit hat Reiner Müller gezeigt, dass ganze Gruppen von Bakterien sozusagen als Artscharakteristikum ein Anpassungsvermögen an irgend einen Stoff besitzen können, oder, wie dieser Autor sich ausdrückt, unter dem Einfluss irgend eines Stoffes «mutieren». So lassen sich z. B. Typhusbakterien ganz allgemein an die Zerlegung von Rhamnose, Paratyphusbakterien an Raffinose anpassen und es wäre wohl nicht undenkbar, dass noch eine ganze Reihe solcher Beispiele aufgefunden werden könnte.

Für eine genauere Verfolgung der Anpassung selbst kommt dieser Umstand doch offenbar erst in zweiter Linie in Betracht und, um meine Untersuchungen nicht zu weitläufig zu gestalten, habe ich mich deshalb auf das Studium solcher Bakterien beschränkt, die sich entweder an Saccharose oder Laktose anpassen liessen. Einmal sind dieses Zuckerarten, die in der Aussenwelt eine gewisse Verbreitung haben so, dass eine Isolierung aus den natürlichen Standorten von Bakterien, die sich an sie anpassen liessen, möglicherweise Typen zu Tage fördern könnte, die imstande wären, neues Licht auf das Zustandekommen der Anpassung zu werfen.

Und ferner standen mir bei der Wahl dieser zwei Zuckerarten Formen — Bact. imperfectum und Bact. coli mutabile — zur Verfügung, die, da sie genau untersucht sind, als Vergleichsobjekte sehr wertvoll sein mussten.

Was nun die natürlichen Standorte dieser Bakterien betrifft, so sind meines Wissens in der Literatur nur zwei Fundstätten — Fäkalien und gärendes Gras — angegeben, die als solche in Betracht kommen könnten. So wurde Bact. coli mutabile bekanntlich aus den Darmentleerungen eines unter Verdacht von Typhus erkrankten Mannes isoliert, Bact. imperfectum teils aus gärendem Gras, teils aus Kuhmist (ein Mal) erhalten und auch Burk 1) gibt als Fundort für seine Stämme gärendes Gras an.

Betrachtet man das Vorkommen im menschlichen Darm als ein mehr zufälliges, so kommen besonders zwei Fundstätten als natürliche Standorte in Betracht: gärendes Gras, bzw. Gras und der Darm der Herbivoren. Von diesen zwei Fundorten könnten dann wiederum beide als natürliche Standorte betrachtet werden, oder aber, es ist nur der eine als solcher zu bezeichnen, während der andere, bedingt durch den Kreislauf Gras—Darm—Gras, nur als ein sekundärer Aufenthaltsort angesehen werden kann. Um hierüber Klarheit zu bekommen und gleichzeitig in Besitz einiger der gewünschten Stämme zu gelangen, habe ich eine ganze Reihe von Analysen teils von Gras, teils von Kuh- und Pferdemist ausgeführt. Ferner wurden 32 der allgemein verwendeten Kraftfutter 2) untersucht, die jedoch keine der gesuchten Bakterien enthielten.

Wie weiter unten angeführt, lieferten die untersuchten Grasproben den weitaus grössten Anteil der isolierten Stämme; zirka 50 untersuchte Grasproben ergaben 7 Stämme mit funktionellem Anpassungsvermögen an Saccharose oder Laktose, ein positives Resultat also in etwa 14 % der Fälle. Dagegen fiel die Untersuchnng einer entsprechenden Anzahl Fäkalienproben nur einmal positiv aus, und zwar wurde der in Frage kommende Stamm aus Kuhmist isoliert, während die zirka 25 untersuchten Pferdemistproben niemals die gesuchten Bakterien enthielten.

Es sprechen diese Befunde entschieden für das Gras als natürlicher Standort und auch das sonstige Verhalten der betreffenden Bakterien lässt sich ganz gut hiermit in Einklang bringen. So ist z. B. die Beweglichkeit — ein gutes Reagens auf günstige Lebensverhältnisse — bei Körpertemperatur oft vollständig aufgehoben, bei niederen Temperaturen dagegen eine sehr lebhafte. Und in allen ihren kulturellen Merkmalen stimmen diese Organismen auffallend mit einer Gruppe von grasbewohnenden Bakterien überein, die von Burri und Düggeli³) als «Grascoli» bezeichnet wird. Man wird deshalb wohl nicht sehr fehlgehen, wenn man das Vorkommen im Darm als ein mehr zufälliges betrachtet und im Gras den eigentlichen Aufenthaltsort dieses Typus erblickt.

¹⁾ A. Burk, Arch. f. Hygiene, Bd. 65, 1908, p. 397.

²) Herr Dr. *Paul Liechti*, Vorstand der agrikulturchemischen Anstalt auf dem Liebefeld bei Bern, hat mir in liebenswürdigster Weise das hierfür notwendige Material zur Verfügung gestellt.

³) Burri und Düggeli, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Originale Bd. 49, 1909 p. 145.

Das Auffinden der gesuchten Stämme in dem für die Analyse verwendeten Material wird durch das Verhalten der Bakterien gegen die fakultativ vergärbare Zuckerart sehr erleichtert. Der Gang der Analysen richtete sich denn auch danach. Bei den Fäcesuntersuchungen wurden zirka 5 g des Materials mit 100 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung zu einer Emulsion verrieben und von dieser Stammlösung in gewöhnlicher Weise passende Verdünnungen hergestellt und auf Agarplatten ausgesät. Die Platten kamen 48 Stunden bei 30° zu stehen und die nach dieser Zeit aufgegangenen Kolonien wurden darauf näher untersucht. Alle die Paratyphus- und Coli-ähnlichen unter ihnen wurden auf Schrägagar übertragen und aus den dabei erhaltenen Kulturen Schüttelkulturen in Dextroseagar angelegt. Alle Stämme, die diese Zuckerart nicht vergoren, wurden ausgeschaltet; der Rest dagegen in Schüttelkulturen von Saccharose- und Laktosepeptonagar, zubereitet wie von Burri und Düggeli angegeben, ausgesät. Diese Kulturen wurden bei 30° hingestellt und die Wachstumsvorgänge in den nicht innerhalb 24 Stunden vergorenen Kulturen von Tag zu Tag genauer verfolgt. Die Verarbeitung der Grasproben geschah in der von Burri und Andrejew 1) angegebenen Weise, die Untersuchung der auf den Platten aufgegangenen Kolonien wie oben geschildert.

Grosses Gewicht muss darauf gelegt werden, dass die Wachstumsvorgänge in den nicht innerhalb 24 Stunden vergorenen Saccharose- und Laktosekulturen Tag für Tag auf eine längere Zeitdauer hinaus genauer verfolgt werden, denn es zeigte sich bald, dass die Anpassung nicht bei allen Stämmen sich so abspielt wie z. B. bei Bact. imperfectum. Es spielen hierbei offenbar individuelle Verschiedenheiten eine grosse Rolle, ein Verhalten, worauf später näher eingegangen werden soll.

In einer kurzen Mitteilung ²) habe ich bereits über die Stämme mit funktionellen Anpassungsvermögen berichtet, die ich aus Gras und Fäkalien isolieren konnte. Mit einer einzigen — allerdings nicht gerade prägnanten — Ausnahme stehen sie alle den paratyphusähnlichen Bakterien nahe und man könnte geneigt sein, sie nach ihrem kulturellen Verhalten in eine Gruppe zusammenzufassen, eine Gruppe, deren Glieder sich alle so gegen Saccharose oder Laktose verhalten, wie sich nach Reiner Müller die Typhusbakterien gegen Rhamnose, die Paratyphusbakterien gegen Raffinose verhalten. In diese Gruppe würde dann auch Bact. imperfectum sehr gut hineinpassen. Nur Bact. coli mutabile käme etwas ausserhalb der Rahmen der Gruppe, wenn das Fehlen des Indolbildungsvermögens als Hauptcharakteristikum für die hierhin gehörenden Bakterien betrachtet werden sollte. Denn nach den Angaben von Massini, die meines Wissens bis jetzt nicht widerlegt wurden, vermag Bact. coli mutabile genau wie die typischen Colibakterien, die Eiweissstoffe bis auf Indol abzubauen. Ich habe die Angaben

¹⁾ Burri und Andrejew, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Originale Bd. 56, 1910.

²) A. C. Thaysen, Centralbl. f. Bakt., I. Abt, Originale Bd. 60, p. 1.

von Massini an zwei Stämmen von Bact. coli mutabile 1), die mir freundlichst von Herrn Prof. Burri überlassen wurden, nachgeprüft, konnte aber niemals eine positive Indolreaktion erhalten, trotzdem ich als Züchtungsmedium Peptonwasser gebrauchte. Ich bemerke dabei ausdrücklich, dass nur die salzsaure Paradimetylamidobenzaldehydlösung nach Ehrlich als Reagens benutzt wurde.

Diese Beobachtung beansprucht deshalb ein gewisses Interesse, weil sie zeigt, dass die an Laktose angepasste Rasse von Bact. coli mutabile nicht als ein typisches Bact. coli commune Escherich aufgefasst werden darf. Und durch sie wird auch der von Benecke²) angeführte Einwand, dass Bact. coli mutabile ein wirkliches Colibakterium sei, das durch den Aufenthalt im menschlichen Darm vorübergehend sein Laktosevergärungsvermögen verloren hätte, mit anderen Worten, dass die Anpassung nur als eine Regeneration einer verloren gegangenen Eigenschaft wäre, hinfällig.

Es lässt sich also Bact. coli mutabile ganz zwanglos dem Bact. imperfectum und meinen Stämmen an die Seite stellen und ich möchte vorschlagen, dass man seinen Namen dahin ändert, dass er nur das eigentümliche Verhalten gegen Milchzucker zum Ausdruck bringt, ohne näheres über die Verwandtschaftsverhältnisse anzugeben, dass man, analog wie bei Bact. imperfectum, den Organismus einfach als Bact. mutabile Neisser bezeichnet.

Kulturelles Verhalten der Stämme.

Wenn ich vorhin erwähnte, dass man mit einem gewissen Recht die in Frage kommenden Bakterien in eine Gruppe zusammenfassen könnte, so sollte damit nicht gesagt sein, dass die einzelnen Glieder unter sich nicht kleinere kulturelle Verschiedenheiten aufweisen können. Eine genauere Verfolgung der Kulturmerkmale lässt vielmehr öfters Verschiedenheiten erkennen und besonders das Vergärungsvermögen gegenüber den vier gebräuchlichsten Zuckerarten ist eine recht wechselnde Grösse. Während Dextrose und Maltose in allen Fällen zerlegt werden, ist die Vergärbarkeit von Saccharose und Laktose eine verschiedene, und zwar wird dabei immer nur das eine dieser zwei Kohlehydrate fakultativ vergoren, während das andere entweder sofort oder gar nicht angegriffen wird. In den folgenden Tabellen sind meine Stämme nach ihrem Zuckerspaltungsvermögen zusammengestellt.

Aus Kuhmist isoliert.

Tabelle I.

Stamm	Dextrose	Maltose	Laktose	Saccharose
K	+	+	1	$\left(\begin{array}{c} t \\ t \\ 1 \end{array}\right)$

¹⁾ Der eine trug die Bezeichnung « Original Frankfurt ».

²) W. Benecke, Ztschr. f. indukt. Abstammungs- u. Vererbungslehre, Bd. 2, 1909, p. 215.

Aus Gras isoliert.

Tabelle II.

Stamm	Dextrose	Maltose	Laktose	Saccharose
Е	+	+		- 1
B ₄	+	+		+
A	+ .	+	1	
Br	+	+	+	(+)
O_2	+ ,	+	+ ,	(' +)
М	+	+	+	$\left(\begin{array}{c} \frac{1}{1} \\ \frac{1}{1} \end{array}\right)$
D_4	+	+	+	(1)

Bemerkungen: + = Vergärung. + = Keine Vergärung. + = Latentes Gärvermögen.

Hieran schliessen sich Bact. mutabile und Bact. imperfectum wie folgt:

Tabelle III.

Stamm	Dextrose	Maltose	Laktose	Saccharose
Bact. mutabile	+	+ :		
Bact. imperfectum.	+	+ :	+	$\begin{pmatrix} \frac{1}{1} \\ + \end{pmatrix}$

Für die Feststellung dieser Reaktionen wurden Zuckeragarschüttelkulturen nach Burri und Düggeli¹) verwendet. Sie enthielten den betreffenden Zucker in zweiprozentiger Lösung. Die benutzten Zuckerarten wurden von Kahlbaum bezogen und auf ihre Reinheit geprüft.

Gemeinsam für alle Stämme ist ihre Färbbarkeit. Sie nehmen, wie zu erwarten war, die gewöhnlichen Anilinfarbstoffe leicht auf und entfärben sich nach *Gram*.

Das Wachstum auf Agar- und Gelatineplatten ist im Grossen und Ganzen Paratyphus- bis Coli-ähnlich. So zeigen die bei 30° aufgestellten

¹⁾ Burri und Düggeli, Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Originale Bd. 49, 1909, p. 145.

²) Gleich nach der Isolierung wurden alle Stämme nach dem Verfahren von Burri*) auf Einzellkulturen verarbeitet. Auch alle zum Vergleich herangezogenen Stämme sind aus einer Zelle hervorgegangen.

^{*)} R. Burri, Das Tuscheverfahren usw. Verlag von Gustav Fischer, Jena 1909.

Agarplatten der Stämme E, A, Br, O₂, M und D₄ nach 48 Stunden von 1 bis 3 mm grosse, meist cirkelrunde, ziemlich flache Kolonien mit mehr oder weniger hervortretendem welligen Rand. In durchfallendem Licht sind die Kolonien bläulich-weiss und durchsichtig, in auffallendem Licht etwas fettglänzend und bräunlich durchsichtig. Die Tiefenkolonien sind gelblichweiss und wetzsteinförmig. Bei schwacher Vergrösserung, 90 Mal, lassen sich in den Oberflächenkolonien keine Eigentümlichkeiten erkennen. Sie stimmen darin mit den Kolonien eines zum Vergleich herangezogenen typischen Bact. coli commune überein. Das Wachstum auf Agar von B₄ ist je nach den Züchtungstemperaturen etwas verschieden. Während die zirkelrunden Kolonien dieses Bakteriums bei niederen Temperaturen, z. B. 20°, flach und ziemlich trocken sind, entstehen nach 24 bis 48 Stunden auf den bei 30°-37° gehaltenen Agarplatten stark schleimigglänzende, ziemlich gewölbte Kolonien von 1-3 mm Grösse, die in auffallendem Licht weiss erscheinen, in durchfallendem Licht einen Stich ins Bläuliche zeigend. Bei schwacher Vergrösserung zeigen die Kolonien von B₄ dicht an einanderliegende dunkle Strahlen, die vom Centrum der Kolonie ausgehen. Abweichend von allen übrigen verhält sich Stamm K. Seine Oberflächenkolonien auf Agar fliessen oft schon in den ersten 24 Stunden zusammen und bedecken die ganze Oberfläche des Nährbodens als ein homogener Rasen. Aelterwerden der Kultur wird dabei das Substrat bräunlich verfärbt. Auch bei K ist das Wachstum flach und schwach fettglänzend, in durchfallendem Licht bläulich irisierend. Die Tiefenkolonien sowohl von Stamm B4 wie von K sind wetzsteinförmig und gelblichweiss.

Auf Schrägagar zeigen alle Stämme ziemlich das gleiche Verhalten. Ein flacher, grauweisser, etwas fettglänzender Rasen, der in durchfallendem Licht bläulich irisiert. Auch hier sind die Kulturen von B_4 bei höheren Temperaturen gehalten mehr saftigglänzend und weisslicher als die bei Zimmertemperatur bebrüteten. Stamm K deckt schon nach 24 Stunden die ganze Oberfläche des Schrägagars mit einem dünnen Belag und färbt nach einiger Zeit das Substrat bräunlich. Beim Vergleich mit dem Wachstum von Bact. mutabile und Bact. imperfectum 1) lassen sich zwischen diesen beiden und meinen Stämmen keine nennenswerte Unterschiede wahrnehmen.

Die Gelatineplattenkulturen bieten annähernd das gleiche Bild wie die der Agarplatten, nur dass die Kolonien hier vielleicht etwas weniger fettglänzend erscheinen. Stamm Kerzeugt im Gegensatz zu den übrigen Stämmen ein proteolytisches Enzym, das die Gelatine nach 8—14 Tagen, zuweilen noch langsamer, zur Verflüssigung bringt.

Die Dimensionen der Stäbchen sind, wie aus beistehender Tabelle hervorgeht, ziemlich konstant. Auch in dieser Hinsicht stimmen meine Stämme mit Bact. mutabile und Bact. imperfectum überein.

¹⁾ Der geprüfte Stamm wurde mir von Herrn Prof. Burri gütigst überlassen.

Tabelle IV.

$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$

Die Masse sind im Tuschepunkte an lebenden Zellen ermittelt. Für ihre Feststellung wurde ein Tropfen steriler Tusche (1—10) auf einen sterilen Objektträger gebracht und hierin eine passende Menge Material einer 24 Stunden alten Agarkultur des betreffenden Organismus verrieben. Von dieser Aufschwemmung wurden mittels steriler Feder kleinste Tröpfchen auf eine gut abgekühlte Gelatineplatte übertragen. Nach dem Eintrocknen wurden die Tröpfchen mit einem sterilen Deckglas zugedeckt und die in den Tuschepünktchen vorhandenen Stäbchen ausgemessen. Die in der Tabelle IV angeführten Zahlen geben jeweilen den Durchschnitt von zehn Messungen an.

Tabelle V.

Bouillonkultur		Nach 24stündiger Bebrütung bei											
von Stamm	20 °	23 °	25°	27 °	30°	33 °	35 °	37 °					
E	+++	+++	+++	+++	+++	++	0	0					
\mathbf{B}_{4}	+++	+++	+++	+++	+++	++	+?	0					
\mathbf{A}	++	++	++	++	++	+ ?	+?	0					
Br	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++					
O_2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++					
M	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++					
D_4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++					
K	++	++	++	++.	++	+++	+++	+++					
Bact. mutabile	0	0	0	0	0	. 0	0	0					
Bact. imperfect.	++	++	++	++	+ ?	+?	0	0					

Bemerkungen:

^{+++ =} Sehr lebhafte Bewegung. +? = Fragliche Bewegung.

^{++ =} Deutliche, z. T. lebhafte Bewegung.

^{0 =} Keine Bewegung.

Einiges Interesse beansprucht der Einfluss, den die Temperatur auf die Beweglichkeit ausübt. Wie aus der vorstehenden Zusammenstellung (Tabelle V) ersichtlich, ist die Beweglichkeit der bei niederen Temperaturen gehaltenen Kulturen oft lebhafter, als die der bei Körpertemperatur bebrüteten.

Das Wachstum auf Kartoffel ist das für die Paratyphus B-Coli-Gruppe eigene: ein gelblichgrauer etwas glänzender Belag, der allmählich das Substrat dunkel verfärbt.

Neutralrotagar wird von allen Stämmen in der charakteristischen Weise vergoren und verfäbt.

Die Säuremenge, die aus Dextrose gebildet wird, unterliegt bei den einzelnen Stämmen, die untersuchten Mutabile- und Imperfectum-Kulturen inbegriffen, keinen grossen Schwankungen. In dieser Beziehung verhalten sie sich wie Bact. paratyphosus B und Bact. coli commune. Eine diesbezügliche Zusammenstellung zeigt Tabelle VI.

Tabelle VI.

Säure-		Stamm												
grad	E	B4	A	Br	O ₂	М	D ₄	K	muta	Bact. imper- fect.	norg-	coli	Kon- trolle	
	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm		ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm		
Nach 24 Stunden	1,8	1	2,7	2,3	2,3	?	2,3	2,8	1,2	2,8	1,8	2,6	0	
Nach 6 Tagen	1,8	2,3	2,8	3,1	3,1	?	3,1	2,9	2,8	2,8	3,2	3,2	0	

Die Zahlen geben die Mengen von $\frac{n}{10}$ Na (OH) an, die, mit Phenolphtalein als Indikator, zur Absättigung der aus 10 ccm einer 2 % Dextrosepeptonwasserkultur gebildeten Säure gebraucht wurden. Als Kontrolle dienten Gläser mit 10 ccm des reinen Züchtungsmediums. Kulturen und Kontrolle wurden unter anaërobem Verschluss bei 30 % gehalten.

Tabelle VII.

Stamm	Gesamt- Gasmenge	Durch K (OH) absorbier- bares Gas	Durch K (OH) nicht absor- bierbares Gas
	ccm	cem	cem
E	26	13	13
B_4	7	2,5	4,5
A	27	16	11
Br	12	3,75	8,25
O_2	14	5	9
D_4	11,5	3,5	8
K	7,5	2,5	5
Bact. mutabile	12	3,5	8,5
Bact. imperfectum	16	9	7
Bact. paratyph. B	12	3,75	8,25
Bact. coli commune	11,5	3,50	8

Auch die aus Dextrose gebildeten Gärungsgase deuten auf eine Verwandtschaft zu der Paratyphus-Coligruppe hin. Das vorstehende Schema (Tabelle VII) gibt die Resultate der diesbezüglichen Analysen an.

Bei der Bestimmung der Gärungsgase habe ich die von Burri und Düggeli¹) angegebene Methode benutzt; die angeführten Zahlen verzeichnen die aus 10 ccm gewöhnlichen 2 % Dextroseagars in 24 Stunden bei 37 ° gebildeten Gasmengen.

Das Milchgerinnungsvermögen ist bei den verschiedenen Stämmen ein wechselndes. Nur B4 und A lassen die Milch ganz intakt und verhalten sich dabei wie Bact. mutabile und Bact. imperfectum²).

Die übrigen Stämme koagulieren die Milch nach kürzerer oder längerer Zeit. Bei K ist dieses unter allen Umständen auf eine reine Labwirkung zurückzuführen, denn dieser Stamm zersetzt, wie schon erwähnt, nicht Laktose. Auf das Verhalten gegen Milch soll übrigens später, bei der Vergleichung der Mutterstämme mit ihren vergärenden Rassen etwas näher eingegangen werden.

In ihrer schon erwähnten Arbeit haben Burri und Andrejew 3) auf die Bedeutung der biochemischen Reaktionen für die Abtrennung der typischen Colibakterien von den ihnen nahe stehenden paratyphusähnlichen Formen hingewiesen. Die von diesen Autoren untersuchten typischen Colibakterien gaben alle eine positive Indolreaktion, während die geprüften, paratyphusähnlichen Stämme, die nicht die beim Abbau der Eiweissstoffe gebildete Indolaminopropionsäure unter Freimachen von Indol zu zersetzen vermochten, nur die Proteïnochromreaktion zeigten. Nach dieser Richtung hin untersucht, zeigten meine Stämme ein einheitliches Verhalten und hierin stimmten sie wiederum mit Bact. imperfectum und Bact. mutabile überein. Die Proteinochromreaktion fiel bei allen positiv aus, Indol wurde dagegen nicht gebildet. Nur Stamm K, der, wie am Anfang dieser Arbeit erwähnt, aus Kuhmist isoliert war, zeigte neben Proteïnochromreaktion Rotfärbung beim Zusatz der Erlich'schen Lösungen zu der 10 Tage alten Peptonwasserkultur. Dieser rote Farbstoff verdankt jedoch, wie eine spätere Untersuchung ergab, nicht dem Vorhandensein von Indol seine Entstehung, denn er liess sich nicht wie der Indolfarbstoff mit Amylalkohol ausschütteln. Die in meiner vorläufigen Mitteilung gemachten Angaben über die Indolbildung von Stamm K sehe ich mich deshalb genötigt dahin zu berichtigen, dass dieser Organismus aus Pepton Verbindungen bildet, die wie Indol, mit Paradimethylamidobenzaldehyd in Gegenwart eines Oxydationsmittels einen roten Farbstoff erzeugen.

Der ausgeprägt paratyphusähnliche Verlauf der biochemischen Reaktionen liess es berechtigt erscheinen, auch die serologischen Verwandtschafts-

¹⁾ Burri und Düggeli, C. f. Bakt., I. Abt. Originale, Bd. 49, 1909, p. 145.

⁹) Letzteres soll nach *Burri* die Milch langsam aufhellen und sich in dieser Hinsicht wie *Bact. paratyphosus* verhalten. Der von mir geprüfte Stamm zeigte jedoch dieses Verhalten nicht.

³⁾ Burri und Andrejew, C. f. Bakt., I. Abt. Originale, Bd. 56, 1910.

verhältnisse und eine mögliche Pathogenität näher zu prüfen. In dieser Hinsicht waren jedoch keine positiven Befunde zu verzeichnen. Zwei agglutinierende Parathypus-B Sera, wovon das eine vom Schweizerischen Seruminstitut in Bern bezogen wurde, das andere durch Immunisierung eines Kaninchens mit dem für meine vergleichenden Untersuchungen benutzten Parathypus-B Stamm hergestellt war und die beide bis zur Titergrenze (1-10,000) von einer typischen Parathypus-B Kultur agglutiniert wurden, vermochten nur in Verdünnungen von 1-100 und 1-200 meine Stämme zu beeinflussen. Und Mäuse, die mit einer ganzen Oese der verschiedenen Stämme subcutan geimpft wurden, blieben am Leben. Sowohl hierin, wie in ihrem ganzen kulturellen Verhalten zeigen meine Stämme und mit ihnen Bact. mutabile und Bact. imperfectum eine Verwandtschaft zu einer Gruppe von paratyphusähnlichen Bakterien, die Burri und Düggeli aus gärendem Gras isoliert hatten. Ob man in dem Stamm K, der wie früher bereits betont, aus Kuhmist isoliert wurde und der sich in mehreren Beziehungen von den übrigen Stämmen abweichend verhält, nur eine an den im Kuhdarm herrschenden Lebensbedingungen angepasste Rasse des normalen Typus zu erblicken hat, oder ob man ihn als eine besondere Bakterienart betrachten muss, soll dahingestellt bleiben.

Eigentümlichkeiten bei der Anpassung.

Einfluss der Temperatur auf die Entwicklung des «neuen» Enzyms.

Bevor ich zur Besprechung des Verlaufes der Anpassung bei den einzelnen Stämmen übergehe, möchte ich nochmals mit einigen Worten auf die Verhältnisse, wie sie bei Bact. imperfectum und Bact. mutabile liegen, zurückgreifen. Ich lasse dabei die Plattenkulturen als Mittel zur Erregung der Stämme ausser Betracht, weil sie einen Einblick in die feineren Vorgänge der Anpassung nicht gestatten.

Wird eine mit reichlichem Material geimpfte Saccharoseschüttelkultur von Bact. imperfectum zur Bebrütung bei 37° hingestellt, so lässt in den ersten 4—5 Tagen nichts vermuten, dass dieser Organismus imstande wäre, den vorhandenen Zucker anzugreifen. Erst nach 5—6 Tagen entwickeln sich in der Schüttelkultur Kolonien, die aus angepassten d. h. Rohrzucker zerlegenden Zellen bestehen. Diese Zeit, die bis zur Entstehung der Kolonien verstreicht, betrachtet Burri als die für die Aktivierung des in den Imperfectum-Zellen vorhandenen Invertase-Proferments erforderliche Reizwirkungsdauer des Rohrzuckers. Bei Bact. mutabile ist der entsprechende Zeitraum offenbar ein viel kürzerer; denn in einer bei 37° gehaltenen Laktoseschüttelkultur vom betreffenden Organismus zeigen sich oft schon nach 48—72 Stunden Anzeichen einer Zerlegung des Zuckers, indem nach dieser Zeit sehr zahlreiche kleinste Kolonien und meist auch viele Gasbläschen in der Schüttelkultur zu erkennen sind.

Worauf lässt sich nun dieses verschiedene Verhalten der beiden Organismen zurückführen? Bietet vielleicht die Aktivierung des laktosespaltenden Enzyms dem Plasma geringere Schwierigkeiten, als die Ausbildung von Invertase? Oder haben wir es bei Bact. mutabile mit einem Organismus zu tun, dessen «Proferment» (Burri) eine höhere Entwicklungsstufe erreicht hat und deshalb weniger Zeit verbraucht, um in die wirksame Form überzugehen, als es bei dem im Plasma von Bact. imperfectum vorhandenen Proferment der Fall ist? Oder endlich, ist es auf äussere Einflüsse, Temperatur usw. zurückzuführen, wenn Bact. mutabile in so viel kürzerer Zeit als Bact. imperfectum sich an die Zerlegung der fakultativ vergärbaren Zuckerart anpasst?

Wäre nun auch eine einwandfreie Entscheidung der ersten Frage nur dann möglich, wenn es sich um einen einzigen Organismus handelte, der sich sowohl an Laktose wie an Saccharose anpassen liesse, so können doch an dem vorhandenen Material von Bakterienformen, die sich entweder an die Zerlegung von Laktose oder Saccharose anpassen lassen, Beobachtungen gemacht werden, die imstande sind, die erste wie die übrigen Fragen näher zu beleuchten. Ich verweise diesbezüglich auf die Tabellen 1X—XII. Es sind in diesen Tabellen kurze Anmerkungen verzeichnet über die von Tag zu Tag auftretenden Veränderungen in den bei verschiedenen Temperaturen aufgestellten Schüttelkulturen der verschiedenen Stämme.

Das Nährsubstrat hat, abgesehen vom Zucker, in der ganzen Versuchsreihe genau die gleiche Zusammensetzung 1) und jede Schüttelkultur ist mit annähernd gleich viel Material — eine Nadelspitze voll — einer 24 Stunden alten Kultur des betreffenden Organismus geimpft.

Um die in den Tabellen angeführten Daten zu verstehen, ist es notwendig, das Dextrosevergärungsvermögen der verschiedenen Stämme zu berücksichtigen. Dieses muss, genau wie andere Lebensfunktionen, von der Temperatur in der Weise beeinflusst werden, dass es mit abnehmender Temperatur verringert wird, bis es unterhalb einer gewissen Grenze nicht mehr den normalen Verlauf zeigt. Die Temperatur nun, die eben noch eine innerhalb 24 Stunden deutlich erkennbare Reaktion ermöglicht, möchte ich als die minimale Vergärungstemperatur bezeichnen. Sie gibt also die unterste Grenze für den normalen Verlauf der einfachsten hier in Betracht kommenden Gärungserscheinung, die Zerlegung von Dextrose, an. Sie muss unter allen Umständen auch die Minimaltemperatur der normalen Anpassung repräsentieren, und nur oberhalb dieser Grenze dürfen die Anpassungserscheinungen bei den verschiedenen Stämmen unter einander verglichen werden.

¹) Pepton Witte $2^{0}/_{0}$, Kochsalz $0.8^{0}/_{0}$, Agar $1.5^{0}/_{0}$; dazu kommt für die Stämme E, B_{4} und Mutabile $2^{0}/_{0}$ Laktose; für die Stämme O_{2} , K, Br, D_{4} , M, A und Imperfectum $2^{0}/_{0}$ Saccharose.

Grossen Schwankungen unterliegt die minimale Vergärungstemperatur bei den einzelnen Stämmen nicht. Laut der folgenden Tabelle würde sie bei etwa 18—23° zu finden sein, oder, wenn man von kleineren Abweichungen absieht und in erster Linie eine für sämtliche Stämme einheitliche Temperatur sucht, bei etwa 20°.

Tabelle VIII.

Tempe- ratur	E	B ₄	A	Br	O ₂	M	D.	Bact. imperfect.	Bact. mutabile	K
23°	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	++
20°	+++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+
18°	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0
17°	++	+	++	+	+	++	++	0	++	0

Bemerkungen zu vorstehender Tabelle.

Die Organismen wurden als Schüttelkulturen in gewöhnlichen Traubenzuckeragar ausgesät und die Kulturen bei den betreffenden Temperaturen aufgestellt.

- +++ bedeutet: Kräftige Gärung, d. h. Agarsäule an mehreren Stellen zerrissen.
 - ++ bedeutet: Schwache Gärung, d. h. einige Gasbläschen in der Agarsäule.
 - + bedeutet: Beginnende Gärung, d. h. 1-3 Gasbläschen in der Agarsäule.
 - 0 bedeutet: Keine Gärung.

In der Tabelle IX ist nun das Verhalten der verschiedenen Stämme gegenüber dem fakultativ zerlegbaren Zucker bei der minimalen Vergärungstemperatur (20°) veranschaulicht. In den allermeisten Fällen kann auch die Anpassung sich bei dieser Temperatur abspielen. Nur der an die Zerlegung von Saccharose anpassbare Stamm A beansprucht, wie die Tab. XI zeigt, eine höhere Temperatur und hier fällt somit die minimale Anpassungstemperatur nicht mit der minimalen Vergärungstemperatur zusammen, ein Verhalten, das bei Ausdehnung der Untersuchung auf ein grösseres Material zweifellos öfters angetroffen werden könnte und die Aufstellung besonderer Minimaltemperaturen der Anpassung berechtigen würde. Dass auch Maximaltemperaturen der Anpassung als besondere Grössen vorkommen können, ist bei Stamm B4 ersichtlich, denn dieser Organismus kann bei einer Temperatur von 37° die neue Rasse nicht mehr ausbilden, obwohl er bei dieser Temperatur noch kräftiges Wachstum zeigt. Die Tabellen IX-XII lassen deutlich erkennen, dass die Anpassung mit zunehmender Temperatur beschleunigt wird. Stamm E gebraucht z.B. bei 20° etwa 18 Tage bis zur Ausbildung der neuen Rasse, während er bei 37° den Vorgang schon in 3-4 Tagen vollziehen kann. Und ein ganz analoges Verhalten treffen wir in mehr oder weniger ausgeprägtem Grade bei allen übrigen Stämmen. Eine beschleunigende Wirkung der Temperatur ist somit unverkennbar vorhanden.

Verlauf der Anpassung bei 20° von:

	Stamm	Nach 1 Tag	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nach 5 Tagen	Nach 6 Tagen	Nach 7 Tagen	Nach 8 Tagen	Nach 9 Tagen	Nach 10 Tagen	Nach 15 Tagen	Nach 20 Tagen	Nach 30 Tagen
re Stämme	E	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	Keine Ver- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	Mit blossem Auge sicht- bare Kolonien	Kolonien grösser, z. T. steck- nadelkopf- gross
An die Zerlegung von Laktose anpassbare Stämme	E halb erregt	*	»	Mit Lupe sichtbare Kolonien	Einige Gas- bläschen u. Kolonien z. T. steck- nadelkopf gross	Kolonien	<u>-</u>			· -			_	_
rlegung von	B ₄	>>	* '>	»	Wie vorher	Wie vorher	Kolonien mit blos- sem Auge sichtbar	Wie vorher	Kolonien grösser, 2 Gas- bläschen	_	_	-	<u>-</u>	_
An die Ze	Bact. muta- bile	>	»	KeineVer- änderung	Mit blos- sem Auge sichtbare Kolonien	Kolonien grösser	Wie vorher	Wie vorher	Kolonien grösser				_	
ämme	A	KeineVer- änderung	Keine Ver- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung
npassbare St	K	>>	»	»	»	»	>	» ·	»	٥	>>	Mit blos- sem Auge sichtbare Kolonien	Kolonien grösser	Kolonien z. T. steck- nadelkopf- gross
An die Zerlegung von Saccharose anpassbare Stämme	Br	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	KeineVer- änderung	Mit blos- sem Auge sichtbare Kolonien	»
You S	O ₂	ν ν	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
gillig	D_4	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	>>	»	»
Zerle	М	»	»	»	»	>	»	»	»	»	»	>	· »	»
An die	Bact. imperfect.	×	>	»	»	»	»	»	»	»	K	»	>>	»

Verlauf der Anpassung bei 25° von:

	Stamm	Nach 1 Tag	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nach 5 Tagen	Nach 6 Tagen	Nach 7 Tagen	Nach 8 Tagen	Nach 9 Tagen	Nach 10 Tagen	Nach 15 Tagen	Nach 20 Tagen	Nach 30 Tagen
re Stämme	E	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	Mit Lupe sichtbare Kolonien	Mit blos- sem Auge sichtbare Kolonien	Wie vorher	Kolonien grösser	Einige Gas- bläschen, sonst wie vorher	Kolonien zahlreicher viele Gas- bläschen	_		_
An die Zerlegung von Laktose anpassbare Stämme	E halb erregt	» ,	Mit blos- sem Auge sichtbare Kolonien	Kolonien z. T. steck- nadelkopf- gross; einige Gas- bläschen	Wie vorher	Zahlreiche Gas- bläschen; Kolonien zahlreicher	_		_	_		6		_
ırlegung von I	В4	**	KeineVer- änderung	Mit Lupe sichtbare Kolonien	Kolonien wie vorher; einige Gas- bläschen	Mit blos- sem Auge sichtbare Kolonien	Kolonien grösserund zahlreicher viele Gas- bläschen			_			_	_
An die Ze	Bact. muta- bile	»	Mit blos- sem Auge sichtbare Kolonien	Wie vorher	Kolonien grösser	Einige Gas- bläschen; Kolonien grösser	Wie vorher	Zahlreiche Gasbläschen; Kolonien zahlreicher		_	_	_		
ämme	A	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung
An die Zerlegung von Saccharose anpassbare Stämme	K	»	»	»	»	*»	»	Mit blos- sem Auge sichtbare Kolonien	Wie vorher	Kolonien grösser	Wie vorher	Kolonien z. T. steck- nadelkopf- gross		
saccharose a	Br	»	»	»	»	»	»	KeineVer- änderung	Mit Lupe sichtbare Kolonien	Mit blos- sem Auge sichtbare Kolonien	»	Kolonien grösser		-
Von S	O2.	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	» ·		_
gung	D_4	»	»	»	» »	»	»	»	» »	»	»	»		
Zerle	M	. »	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»		
An die	Bact. imperfect.	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»		

Verlauf der Anpassung bei 30° von:

	Stamm	Nach 1 Tag	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nach 5 Tagen	Nach 6 Tagen	Nach 7 Tagen	Nach 8 Tagen	Nach 9 Tagen	Nach 10 Tagen	Nach 15 Tagen	Nach 20 Tagen	Nach 30 Tagen
ure Stämme	Е	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	Mit Lupe sichtbare Kolonien	Einige Gas- bläschen u. mit bloss. Auge sicht- bare Kolon.	Zahlreiche Gas- bläschen; Kolonien grösser	Agarsäule von Gas zerrissen, getrübt; Kolonien zahl- reicher	Wie vorher	Wie vorher	Wie vorher	Ausser den erst entstandenen Kolonien unzäh- lige mit Lupe sichtbareKolonien	_		_
An die Zerlegung von Laktose anpassbare Stämme	E halb erregt	»	Agarsäule von Gas zerrissen; Kolonien mit blossem Auge sichtbar	Wie vorher	Kolonien grösser; Nährsub- strat getrübt	Wie vorher	_	_		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	<u>-</u>		_	\ <u></u>
erlegung von	B ₄	»	Mehrere Gas- bläschen	Agarsäule von Gas zerrissen; Kolonien mit blossem Auge sichtbar	Wie vorher	Nährsub- strat getrübt; Kolonien nicht grösser	Wie vorher	_	_		_			_
An die Z	Bact. muta- bile	»	Mit blos- sem Auge sichtbare Kolonien	Einige Gas- bläschen; Kolonien grösser	Wie vorher	Zahlreiche Gas- pläschen ; Nährsubstrat getrübt	Kolonien nicht wesentlich grösser	<u>-</u>	_				_	
ämme	A*)	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	Mit blossem Auge sichtb. Kolonien	Kolonien grösser
An die Zerlegung von Saccharose anpassbare Stämme	К	»	»	»	»	Mit blos- sem Auge sichtbare Kolonien	Kolonien grösser	Wie vorher	Kolonien grösser	Kolonien z. T. steck- nadelkopf- gross	_	_	_	_
Saccharose a	Br	>>	»	»	»	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	Mit Lupe sichtbare Kolonien	Mit blos- sem Auge sichtbare Kolonien	Kolonien grösser	Kolonien grösser		_	_
VOII	O ₂	»	»	«	»	»	»	»	»	»	»			
gung	D_4	»	»	×	»	» »	»	» »	»	»	»			. :
Zerle	M	»	»	»	»	»	»	» »	»	»	»	_		_
An die	Bact. imperfect.	»	»	»	»	×	»	.»	»	» *	»	(-	_	-

^{*)} Die minimale Anpassungstemperatur von Stamm A liegt bei 26-27 o.

Verlauf der Anpassung bei 37° von:

	Stamm	Nach 1 Tag	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nach 5 Tagen	Nach 6 Tagen	Nach 7 Tagen	Nach 8 Tagen	Nach 9 Tagen	Nach 10 Tagen	Nach 15 Tagen	Nach 20 Tagen	Nach 30 Tagen
sbare Stämme	E	KeineVer- änderung	Zahlreiche Gas- bläschen	Agarsäule von Gas zerrissen; Kolonien mit Lupe sichtbar	Nährsub- strat getrübt; Kolonien nicht grösser	Kolonien mit blos- sem Auge sichtbar	Wie vorher	Wie vorher	Kolonien nicht grösser		_		_	
An die Zerlegung von Laktose anpassbare Stämme	E halb erregt	>	Agarsäule von Gas zerrissen; zahlreiche kleinste Kolonien	Wie vorher	Wie vorher Substrat trüb	Wie vorher	Kolonien nicht grösser	<u>-</u>	_	_	_		_	_
gung v	B ₄	»	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	Einige Gas- bläschen	Wie vorher	Wie vorher	Wie vorher	Wie vorher	Wie vorher	Wie vorher	Wie vorher	Wie vorher
An die Zerle	Bact. muta- bile											4		
re Stämme	A	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	KeineVer- änderung	2 mit Lupe sichtbare Kolonien	Wie vorher	Die beiden Kolonien mit blos- sem Auge sichtbar	Die beiden Kolo- nien stecknadel- kopfgross; aus- serdem mehrere kleine Kolonien	
Saccharose anpassbare Stämme	K	»	»	»	Mit Lupe sichtbare Kolonien	Mit blos- sem Auge sichtbare Kolonien	Kolonien grösser	Kolonien grösser	Kolonien z. T. steck- nadelkopf- gross			_	_	5/-
	Br	»	»	»	KeineVer- änderung	Mit Lupe sichtbare Kolonien	Mit blos- sem Auge sichtbare Kolonien	»	Kolonien grösser	Kolonien z. T. steck- nadelkopf- gross			_	_
An die Zerlegung von	O ₂	» »	»	»	»	»	»	»	»	»				
/erleg	D ₄	»	» .	»	» »	»	»	»	»	»	_	-	-	
die 7	M	»	»	»	»	»	»	»	»	»		-		-
A.	Bact. imperfect.	»	»	»	» -	»	»	»	»	»				-

Noch auf ein weiteres Moment weist die Tabelle IX hin. Bei 20° braucht E, wie erwähnt, zirka 18 Tage, um das neue, laktosespaltende Enzym auszubilden. Der gleiche Zeitraum genügt aber bei dieser Temperatur auch den an Saccharose anpassbaren Stämmen, Br. und Imperfectum z. B., für die Aktivierung von Invertase, ein Verhalten, das nicht wohl denkbar wäre, wenn die Ausbildung von Milchzucker spaltenden Enzymen dem Plasma leichter wäre, als die von Invertase. Denn die enge, systematische Verwandtschaft der hier in Betracht kommenden Organismen berechtigt zu der Annahme einer sehr weitgehenden Uebereinstimmung für die analogen Funktionen des Plasmas der verschiedenen Arten.

Sieht man von der Existenz eines «Profermentes» und seiner mehr oder weniger vorgeschrittenen Entwicklung ab, so wäre zu erwarten, dass die Anpassung bei aufgehobener Wirkung der Temperatur, d. h. bei der minimalen Vergärungstemperatur innerhalb der beiden an Saccharose einerseits und Laktose anderseits anpassbaren Gruppen, sich bei den einzelnen Vertretern in ziemlich dem gleichen Zeitraum abspielen würde. Diese Annahme trifft denn auch bis zu einem gewissen Grad zu. Ein Blick auf die Tabelle IX zeigt, dass die Anpassung bei den Stämmen O, K, Br, D₄, M und Bact. imperfectum, deren kulturelle Merkmale übrigens nicht vollständig übereinstimmen, so gut wie gleich schnell verläuft. Anders dagegen in der Gruppe von Laktose fakultativ zerlegenden Organismen. Hier braucht, wie mehrmals betont, Stamm E für seine Anpassung zirka 18 Tage, während das kulturell kaum von Stamm E zu unterscheidende Bact. mutabile und Stamm B₄ schon nach 4-6 Tagen die Fähigkeit zur Laktosespaltung erworben haben. Es müssen sich somit in diesem Falle andere Faktoren geltend machen, Faktoren, welche, da die äusseren Lebensbedingungen gleich sind, zweifellos in einer verschiedenen « Empfindlichkeit » der betreffenden Organismen gegen die «Reizwirkung» des Zuckers (um vorläufig diesen Ausdruck beizubehalten) gesucht werden müssen. Worauf diese verschiedene Empfindlichkeit zurückzuführen ist, lässt sich an Hand des in den Tabellen IX—XII aufgeführten Stammes « E halb erregt » näher beleuchten.

« E halb erregt », der später eingehender besprochen werden soll, ist eine zum Teil an die Zerlegung von Laktose angepasste Rasse von Stamm E. Um ihn zu gewinnen, entnahm ich einer bei 30° aufgestellten und unter anäerobem Verschluss gehaltenen Laktosepeptonwasserkultur von Stamm E nach 3-tägiger Bebrütung eine Oese Material und isolierte hieraus mittels des Tuschepunktverfahrens eine einzige Zelle. Die Nachkommenschaft dieser einen Zelle ist die Rasse « E halb erregt ». Bei diesem Organismus muss das neue Enzym, die Laktase, eine gewisse Entwicklungsstufe erreicht haben, denn die Tabellen IX—XII zeigen, dass er, unter gleichen äusseren Bedingungen, sich durchweg in viel kürzerer Zeit an die Zerlegung von Laktose anpasst, als der Mutterstamm E. Wenn nun die Anpassung der beiden Organismen B4 und Bact. mutabile einen mit dem entsprechenden Vorgang bei « E halb erregt » so übereinstimmenden Verlauf nimmt, wie es aus den

Tabellen IX bis XII hervorgeht und sich — trotz Aufhebung störender äusserer Einflüsse — nicht wie bei E abspielt, so deutet dieses zweifellos darauf hin, dass wir es bei B_4 und Bact. mutabile mit Organismen zu tun haben, in deren Plasma das neue Enzym ebenfalls eine gewisse Entwicklungsstufe erreicht hat, also schon vorhanden sein muss. Und analog liegen dann offenbar die Verhältnisse bei den Saccharose fakultativ vergärbaren Stämmen, wo A bei seiner Minimalanpassungstemperatur (27°) längere Zeit für die Ausbildung von Invertase verbraucht als die Stämme Br, O, D_4 , M und Bact. imperfectum bei ihrer Minimaltemperatur (20°).

Diese Beobachtungen auf das verschiedene Verhalten von Bact. imperfectum und Bact. mutabile übertragend, musste demnach angenommen werden, dass nicht eine leichtere Angreifbarkeit der Laktose oder eine beschleunigende Wirkung der Temperatur in erster Linie die schnellere Anpassung von Bact. mutabile gegenüber Bact. imperfectum bewirke. Das Hauptgewicht wäre vielmehr auf die weiter vorgeschrittene Entwicklung der in den Mutabile-Zellen enthaltenen « Prolaktase » als der « Proinvertase » der Imperfectum-Zellen zu legen.

Einfluss des molekularen Sauerstoffs auf den Anpassungsvorgang und Bedeutung des von den fakultativ zerlegbaren Zuckerarten ausgehenden Kontaktreizes.

Im Anschluss an die vorhergehenden Erörterungen soll hier ein Versuch mitgeteilt werden, der angestellt wurde, um die Bedeutung des freien Sauerstoffs für den besprochenen Anpassungsvorgang festzustellen. Es handelt sich darum zu entscheiden, ob die Gegenwart von molekularem Sauerstoff, oder besser gesagt, möglichst aërobe Lebensbedingungen die Anpassung verhindern könnten.

Um den Testbakterien solche Lebensbedingungen zu verschaffen, musste ich mich nach einem Züchtungsverfahren umsehen, das dem Sauerstoff ungehinderten Zutritt zu den einzelnen Keimen gestatten würde. Hierzu eignete sich offenbar ein flüssiges Nährsubstrat am besten, weil es den Zellen volle Bewegungsfreiheit gestattet und ihnen dadurch ermöglicht, ihre positive Aërotaxie zu befriedigen. Eine Forderung, die weiterhin an das Züchtungsverfahren gestellt werden musste, bestand darin, Bedingungen zu schaffen, welche imstande waren, das Auftreten anaërober Verhältnisse in den tieferen Schichten des Züchtungsmediums zu verhindern. Mit diesen Forderungen vor Augen wählte ich als Nährsubstrat ein 2 % Peptonwasser 1), dem die fakultativ zerlegbaren Zuckerarten in 2-prozentiger Konzentration zugesetzt waren, und als Züchtungsgefässe gewöhnliche Petrischalen. Um ein zu

¹) Pepton « Witte » 2 %, Kochsalz 0,8 % in destilliertem Wasser gelöst. — Hierzu für die an Laktose anpassbaren Stämme 2 % Milchzucker, für die an Saccharose anpassbaren 2 % Rohrzucker. Das Nährsubstrat wurde zu 8 cm³ in Reagenzgläser abgefüllt und vorsichtig sterilisiert.

rasches Verdampfen der in ihnen enthaltenen Flüssigkeit zu verhindern. brachte ich sie nach der Impfung in eine grössere Glasschale, deren Boden mit feuchtem Filtrierpapier bedeckt war. Geprüft wurde das Verhalten der Stämme Br und Bact, imperfectum in saccharosehaltigem und B_4 nebst Ein laktosehaltigem Nährsubstrat und zwar in folgender Weise. 8 cm³ des Nährsubstrates wurden in eine sterile Petrischale gegossen und mit Material einer 24-stündigen Kultur des betreffenden Organismus geimpft. Die verschiedenen Schalen kamen sodann in die Thermostaten und zwar die Br und Bact. imperfectum enthaltenden bei 30°, die E und B4 enthaltenden bei 27°. Je 6 Uhr abends und 8 Uhr morgens wurde aus den zuletzt geimpften Schalen eine kleine Oese = 0,004 cm³ Material in Schalen mit frischem Nährsubstrat übertragen, um zu verhindern, dass die Zahl der in einer Schale vorhandenen Keime so anzuwachsen imstande war, dass sie nicht alle in Kontakt mit dem Sauerstoff der Luft kommen konnten. In dieser Weise wurden die vier Stämme unter dem Einfluss des Sauerstoffes 11 Tage mit dem betreffenden fakultativ vergärbaren Zucker in Berührung gelassen. Nach dieser Zeit wurde das Ueberimpfen abgebrochen und Material aus den zuletzt aufgestellten Schalen auf gewöhnlichen Schrägagar Die hierauf entstandenen Kulturen wurden auf Einzellkulturen verarbeitet, die so gewonnenen Reinkulturen in Saccharose- (Br und Bact. imperfectum) und Laktosepeptonagarschüttelkulturen (E und B_4) ausgesät und diese bei 30° bzw. 23° aufgestellt. Nach 48 Stunden zeigten die Schüttelkulturen von E und B_4 das Bild einer beginnenden Vergärung, indem das Substrat von zahlreichen Gasbläschen durchsetzt war. Hier hatte sich also die Anpassung, allerdings mit einiger Verzögerung, abgespielt, In den Kulturen von Br und Bact, imperfectum waren dagegen erst nach 6 Tagen vereinzelt stecknadelkopfgrosse Kolonien entstanden, ein Zeichen, . dass eine Anpassung nicht stattgefunden hatte. Da ich vermutete, dass die häufigen Uebertragungen in frisches Nährsubstrat und nicht etwa der reichliche Sauerstoffzutritt das teilweise Ausbleiben der Anpassung verursacht haben konnte, überimpfte ich zur Kontrolle eine Kultur von Stamm E, die in gleichem Nährsubstrat wie oben und bei gleicher Temperatur, aber anaërob gehalten wurde, in ähnlichen Intervallen wie vorhin. Ich benutzte hiefür die von Kürsteiner 1) 2) beschriebenen Reagenzglasreihen, die mit dem oben erwähnten Nährsubstrat beschickt und nach der Impfung mittels alkalischer Pyrogallollösung sauerstofffrei gemacht wurden. Tatsächlich machte sich nun auch in diesem Falle eine ganz ähnliche Verzögerung in der Anpassung geltend, obwohl hier nicht das Vorhandensein des Luftsauerstoffes den Vorgang hat beeinflussen können. Wir sind somit gezwungen, das teilweise Ausbleiben der Anpassung mit den häufigen Ueberimpfungen in frisches

¹⁾ Kürsteiner, J. Beiträge zur Untersuchungstechnik obligat anaërober Bakterien. Inaug.-Dissertation. Zürich 1909.

²) Herr Dr. *J. Kürsteiner* hatte die Liebenswürdigkeit, mir die nötigen Gläser zur Verfügung zu stellen.

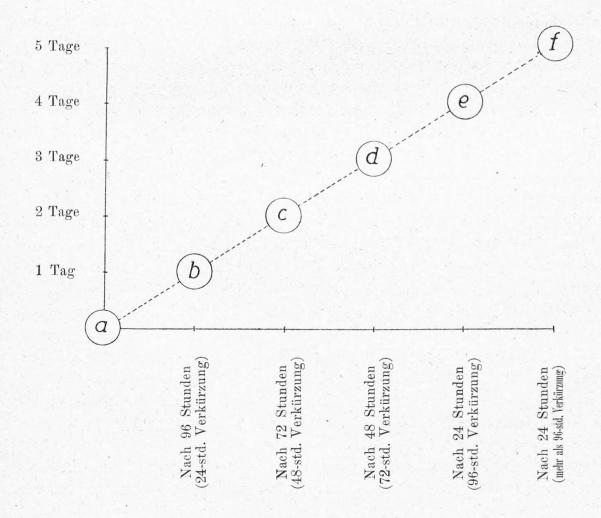
Nährsubstrat in Zusammenhang zu bringen, welcher Zusammenhang sich bei weiterer Betrachtung als ein Befund von nicht zu unterschätzender Bedeutung erwiesen hat.

Wenn ich im Folgenden etwas näher auf diese Verhältnisse eintrete, so geschieht es in erster Linie, um auf die Förderung von Fragen gärungstheoretischer Natur hinzuweisen, welche uns ein eingehenderes Studium der Anpassung bieten kann. Zunächst möchte ich der besseren Uebersicht wegen mit einigen Worten auf zwei einander gegenüberstehende Anschauungen bezüglich des Zusammenhanges von Wachstum und Gärung eintreten. Vor kurzem hat Otto Rahn 1) in einem Aufsatz über die Stundengärleistung von Bact. lactis acidi die Ansicht vertreten, dass Gärung und Wachstum der Gärungsorganismen zwei einander ergänzende, demnach untrennbare Vorgänge seien und dass das Wachstum proportional mit der Gärung die Energiequelle für die Weiterentwicklung - zu- und abnehme. Demgegenüber wird von vielen Seiten behauptet, dass der Lebenszyklus der Gärungserreger in zwei Stadien zerfalle, ein vegetatives und ein darauf folgendes fermentatives, in welch letzterem das Wachstum mehr oder weniger in den Hintergrund tritt, während umgekehrt die Gärung im vegetativen Stadium nicht oder nur begrenzt eingesetzt hat. Nach dieser Auffassung wären Wachstum und Gärung als zwei zum Teil getrennt verlaufende Prozesse anzusehen, bei welchen eine Beeinflussung des einen den andern nicht in allen Fällen in Mitleidenschaf zu ziehen brauchte. Eine entscheidende Beweisführung zu Gunsten einer dieser Annahmen ist, wie auch Rahn bemerkt, auf direktem Wege, durch Studium der Gärung selbst kaum möglich, denn unsere chemischen Methoden sind durchgehend zu wenig genau, um die geringen Mengen der in den ersten Wachstumstadien einer frischen Kultur eventuell gebildeten Gärungsprodukte quantitativ zu bestimmen. Es ist deshalb, wie schon hervorgehoben, von grösstem Interesse, dass wir in der Anpassung der fakultativ vergärenden Bakterien eine Lebenserscheinung vor uns haben, die den gleichen Gesetzen gehorcht, ich meine in gleicher Weise auf Einflüsse reagiert, wie die typische Gärung, so dass wir Beobachtungen, z. B. solche über die Beziehungen zwischen Anpassung und Wachstum, welche wir bei der Umwandlung der in Frage kommenden Bakterien feststellen, direkt auf die typischen Gärungserscheinungen übertragen dürfen. Die Frage nun, ob denn wirklich der fragliche Anpassungsvorgang einen günstigeren Ausgangspunkt für die Feststellung solcher Beobachtungen darstelle, als die typische Gärung, kann nur bejahend beantwortet werden. Man bedenke, dass jede Verzögerung, jede Beschleunigung der Anpassung sich in dem nachträglichen Verhalten der in Betracht kommenden Organismen dem fakultativ zerlegbaren Zucker gegenüber kundgeben muss, so dass wir gewissermassen die Organismen selbst als Indikator für stattgefundene Vorgänge verwerten können und nicht wie bei der Gärung auf unzureichende chemische Methoden als Hilfs-

¹⁾ Otto Rahn, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 32, 1912, p. 375.

mittel für ihre Feststellung abzustellen brauchen. Es werden z. B. Organismen, die in ihrer Anpassung behindert werden, sich nicht in der normalen Zeit zu Vergärern des fakultativ zerlegbaren Zuckers ausbilden können. Ich erinnere an den oben erwähnten Versuch über den Einfluss des Luftsauerstoffes auf die Anpassung. Umgekehrt werden aber solche Zellen, die unter besonders günstigen Bedingungen bezüglich der Anpassung standen, die verschiedenen Phasen der Umwandlung um so schneller durchlaufen. Man denke nur an den Einfluss der Temperatur auf den Verlauf der Anpassung. Es fragt sich nur noch, ob wir berechtigt sind, von den Gärungserscheinungen eines Mikroorganismus, der sich bezüglich des betreffenden Gärungsvorganges im Stadium der Anpassung befindet, Schlüsse zu ziehen auf den Gärungsvorgang eines typischen Gärungserregers.

Ich sagte oben, dass der Anpassungsvorgang in gleicher Weise auf äussere Einflüsse reagiert wie die typische Gärung, eine Behauptung, die sich an Hand der untenstehenden graphischen Skizze näher präzisieren lässt. Die Figur ist nach der Tabelle auf Seite 335 in Burri's Abhandlung: «Ueber scheinbar plötzlicher Neuerwerbung eines bestimmten Gärungsvermögens etc.» Centralbl. f. Bakt., 2. Abt. Bd. 28 konstruiert. Wie in der Einleitung dieser Arbeit hervorgehoben wurde, konnte Burri zeigen, dass der Anpassungsvorgang als eine allmählich sich steigernde Fähigkeit zur Spaltung des fakultativ vergärbaren Zuckers aufgefasst werden muss und zwar des-



halb, weil man je nach der Einwirkungsdauer des fakultativ zerlegbaren Zuckers Zwischenformen mit verschieden erregtem Gärungsvermögen isolieren kann. In dem vorstehenden Koordinatensystem ist nun auf der Ordinate die verschiedene Zeitdauer, während welcher der anpassbare Organismus (Bact.imperfectum), hier mit a bezeichnet, mit dem fakultativ zerlegbaren Zucker in Berührung war, aufgetragen, auf der Abszisse die Zeit, nach welcher die Zwischenformen b, c, d, e und f bei Aussaat in ein Nährsubstrat mit dem fakultativ zerlegbaren Zucker diesen unter Vergärung zerlegen konnten.

Von dem ursprünglichen Typus a, der noch nie mit dem fakultativ zerlegbaren Zucker in Berührung war, bis zu derjenigen Form (f), bei der die Anpassung sich vollzogen hat und die den Zucker unter normalen Gärungserscheinungen zu zerlegen vermag, haben wir also eine geradelinige Steigerung einer Eigenschaft, der Fähigkeit zur Spaltung des betreffenden Zuckers. In diesem System müssen die Kräfte, die den Uebergang von a in b beherrschen, auch diejenigen sein, die den Uebergang von b in c, von c in d, von d in e und von e in f bewirken. Die Fähigkeit zur Zuckerspaltung muss also in allen ihren Entwicklungsstadien den gleichen Kräften unterworfen sein, so dass Einflüsse, die den Anpassungsvorgang behindern oder beschleunigen, ebenfalls Hindernisse oder Förderungsmittel der Gärung sein müssen.

Von diesem Gesichtspunkte aus gewinnt der weiter oben besprochene Versuch, welcher den Einfluss des Luftsauerstoffs auf den Anpassungsvorgang behandelte, an Interesse. Wir haben dort eine Verzögerung der Anpassung feststellen können, die nach der Annahme Rahns u. a. Hand in Hand mit einer Verlangsamung des Wachstums hätte gehen sollen. Dieses ist aber von vorneherein ausgeschlossen. Man bedenke nur, dass die Versuchsorganismen während 24 Stunden 2 mal in frisches Nährsubstrat überimpft wurden und, dass die 12 Stunden alten Kulturen immer kräftig getrübt waren. Nicht eine Verlangsamung, sondern im Gegenteil eine kräftige Beschleunigung der vegetativen Vermehrung hatte sich Hand in Hand mit einer Verzögerung der Anpassung abgespielt. Wir können daraus schliessen, dass die Anpassung, respektive Gärung, nicht in allen Fällen dem Wachstum parallel verläuft und dass die Auffassung Rahn's u. a. jedenfalls einer gewissen Einschränkung unterliegen muss.

Ich möchte jetzt der anderen Anschauung nähertreten und untersuchen, ob sich diese vielleicht mit den von mir gemachten Beobachtungen besser in Einklang bringen lasse. Es wird, wie schon bemerkt, von den Anhängern dieser Anschauung behauptet, dass der Lebenszyklus eines Gärungserregers mit einem vegetativen Stadium anfange, in welchem die Gärtätigkeit noch nicht eingesetzt hat. Erst allmählich soll die Spaltung von Kohlehydraten beginnen und zwar unter gleichzeitiger, mehr oder weniger ausgeprägter Abnahme des Wachstums. Mit dem Auftreten der Gärung ist der Organismus dann in das zweite, das fermentative Stadium, eingetreten. Was zu

dieser Theorie Veranlassung gegeben hat, vermag ich nicht zu entscheiden. Ich glaube aber, dass — wie auch Rahn hervorhebt — das sogenannte Inkubationsstadium der Milch nicht unwesentlich dazu hat beitragen können. Uebrigens ist es ja eine täglich im Laboratorium zu beobachtende Erscheinung, dass sichtbare Gärung erst dann eintritt, wenn die Kultur eines Gärungsorganismus — sei es eine Hefe- oder eine Bakterienart — ein gewisses Alter erlangt hat.

Vergegenwärtigen wir uns einmal die Verhältnisse, wie sie sich etwa bei einem in Traubenzuckerbouillon ausgesäten Bact. coli commune gestalten könnten. Es sei beispielsweise anfangs eine Zelle in das Substrat eingesät worden. Die reichlich vorhandenen Nährstoffe werden dieser Zelle Gelegenheit zur Weiterentwicklung geben; sie wird sich vergrösseren und schliesslich in zwei Hälften zerfallen, von denen jede die Hälfte des mütterlichen Plasmas und damit gleichzeitig aller mütterlichen Inhaltsstoffe (darunter auch des dextrosespaltenden Enzyms) in sich aufnehmen, wenn wir voraussetzen, dass diese Stoffe im mütterlichen Körper gleichmässig verteilt waren. Entspricht nun die Enzymmenge, die in jeder der Tochterzellen vorhanden ist, auch derjenigen der ursprünglichen Mutterzelle? Bei dieser scheinbar so einfachen Frage müssen wir offenbar Halt machen und von ihr ausgehen, um uns ein Bild der Verhältnisse, wie sie die zwei Anschauungen voraussetzen, zu verschaffen. Man stelle sich zunächst vor, dass die Tochterzellen tatsächlich die gleiche Menge Enzym wie die Mutterzelle enthalten. In diesem Falle sind die Verhältnisse sofort übersichtlich. Wie die Mutterzelle zwei Zellen, jede mit der ursprünglichen Enzymmenge schuf, so werden auch diese Abkömmlinge erzeugen, von denen jeder den gewöhnlichen Enzymgehalt besitzt. So wird sich proportional mit der Zunahme von Zellen mehr Enzym bilden und diese Zunahme wird bewirken, dass die Vergärung mit dem Aelterwerden der Kultur kräftiger — makroskopisch sichtbar wird. Die Zuckerspaltung hat aber in diesem Falle schon beim Heranwachsen der ersten Zelle stattgefunden, denn auch sie besass von Anfang an die gleiche, für eine Gärung erforderliche Enzymmenge, wie sie in den Zellen der späteren Generationen, bei denen wir eine Gärung feststellen können, vorhanden ist. Wenn aber der Enzymgehalt der Mutterzelle sich bei ihrer Teilung, durch «besondere Beeinflussung» bedingt, nicht so weit hat anreichern können, dass jede der Tochterzellen die ursprüngliche Menge bekommt, dann ist die zweite Anschauungsweise eher geeignet, eine befriedigende Erklärung der tatsächlichen Verhältnisse zu geben. Das in den Tochterzellen vorhandene Enzym wird, wenn die gleiche Beeinflussung immer wirkt, in jeder Zelle der kommenden Generationen noch mehr abnehmen, so dass wir beim Heranwachsen der Kultur schliesslich eine enzymarme Generation erhalten, die wegen zu geringen Enzymgehaltes nicht befähigt ist, den Zucker anzugreifen und zu zerlegen. Erst wenn die angenommene «besondere Beeinflussung aufgehoben wird, werden diese Generationen samt ihren Nachkommen in die Lage versetzt, den ursprünglichen, normalen Enzymgehalt

wieder herzustellen, und von dem Zeitpunkte an, wo dieses geschehen ist, tritt Gärung ein. In der angegebenen Weise würde der Gärungsprozess nicht nur makroskopisch, also anscheinend, sondern tatsächlich in zwei Stadien zerfallen, ein vegetatives, während dessen die besondere Beeinflussung wirkt, und ein fermentatives Stadium, bei welchem der normale Enzymgehalt der Zellen wieder hergestellt ist.

Es fragt sich nun, ob es denn gelinge, eine solche « besondere Beeinflussung » nachzuweisen und zu schaffen. Wäre dieses möglich, dann müssten wir in der Lage sein, eine nachweisbare Trennung von Wachstum und Gärung zu bewirken, indem wir die eine dieser Lebensfunktionen steigern unter gleichzeitiger Zurückdrängung der anderen. Und durch eine derartige indirekte Beweisführung hätte dann wiederum die zweite Anschauung zum mindesten sehr an Wahrscheinlichkeit gewonnen. Für die Anpassung, die wie ich oben hervorhob, als ein mit der Gärung identisch verlaufender Vorgang anzusehen ist, kann der Beweis als geliefert betrachtet werden. Ich zeigte in dem betreffenden Versuch, dass eine beschleunigte Vermehrung Hand in Hand mit einer Verlangsamung der Anpassung gegangen war, und wies dadurch nach, dass diese zwei Lebenserscheinungen als getrennt verlaufende Vorgänge auseinander gezogen werden können. Daraus folgt, dass wir in der Möglichkeit beschleunigten Wachstums eine solche «besondere Beeinflussung » zu erblicken hätten, durch welche wir imstande wären, die Anpassung und somit auch die Gärung von dem Wachstum zu trennen.

Beschleunigte Vermehrung eines Organismus lässt sich ganz allgemein durch Züchtung unter den optimalsten Bedingungen hervorrufen, d. h. durch Darbietung günstiger Nährstoffe, günstiger Temperatur und durch Entfernung gebildeter Stoffwechselprodukte. Dieses war der Fall in dem schon mehrfach erwähnten Versuch über den Einfluss des Luftsauerstoffs auf den Verlauf der Anpassung. Hier waren immer genügende Nährstoffe (Pepton) vorhanden, die Temperatur war konstant und zusagend und - worauf ich besonderes Gewicht legen möchte — die Stoffwechselprodukte wurden durch die häufigen Ueberimpfungen in frisches Nährsubstrat ferngehalten. Ganz analoge Verhältnisse treffen wir nun in jeder frischen, mit wenig Material geimpften Kultur, oder, um bei dem früheren Beispiel zu bleiben, in der mit einer Coli-Zelle geimpften Traubenzuckerbouillonkultur. Hier sind anfangs auch keine Stoffwechselprodukte, dagegen reichliche Nährstoffe und andere günstige Entwicklungsbedingungen vorhanden und die Folge wird offenbar sein, dass die vegetative Vermehrung beschleunigt, die Gärung dagegen vorläufig zurückgedrängt wird. Ich möchte dieses mit ein paar Zahlen aus einer Arbeit von Thöni 1) näher beleuchten. Thöni hatte Versuche angestellt, um die Säureproduktion in jungen Kulturen verschiedener Milchsäurebakterien festzustellen.

¹⁾ J. Thöni, Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz, 1906.

Tabelle XIV.

Nach Stunden	Bei 25°			Bei 30 °	Bei 35°		
	Säure- grad	Zahl der in 1 cm³ Kultur enthaltenen Organismen	Säure- grad	Zahl der in 1 cm³ Kultur enthaltenen Organismen	Säure- grad	Zahl der in 1 cm³ Kultur enthaltenen Organismen	
24 Stunden	0	7 000	0	7 500 000	4,5	18 750 000	
48 Stunden	1	3 000 000	3	4 500 000	- 10	15 000 000	
72 Stunden	3	5 000 000	6	3 500 000	12	12 500 000	

In der obenstehenden Tabelle sind die Daten für Bact. casei ε verzeichnet. In allen Versuchsreihen wurde die gleiche Menge Substrat mit der gleichen Menge von Zellen geimpft und doch sind ganz verschiedene Resultate erhalten worden. In der ersten Kolumne haben 7000 Zellen bei 25° nach 24 Stunden keine nachweisbare Säuremenge produziert. Diese 7000 Zellen haben sich in weiteren 24 Stunden zu 3 Millionen vermehrt und dabei 1 Grad Säure erzeugt. Bei 30°, die eine für diesen Organismus günstigere Temperatur darstellt, hatte die Zahl der ausgesäten Keime sich in 24 Stunden zu 7 500 000 vergrössert und diese 7,5 Millionen hatten noch keine Säure gebildet. Nach weiteren 24 Stunden ist ihre Zahl auf 4,5 Millionen zurückgegangen, während nunmehr der Säuregrad 3 beträgt. Und in noch weiteren 24 Stunden hat ihre Zahl weiter abgenommen, der Säuregrad aber weiter zugenommen. Bei 35° endlich, die die Optimaltemperatur von Bact. casei ε. sein dürfte, haben die Organismen sich in 24 Stunden zu 18,75 Millionen vermehrt, eine Zahl, die in den folgenden Tagen kleiner wird, ohne dass das Fortschreiten der Säurebildung behindert, viel weniger denn gegehemmt wird.

Diese Resultate lassen sich nicht durch die erste Anschauung allein erklären. Wären Wachstum und Gärung hier gleichzeitig verlaufen, dann hätte in dem Falle, wo die ausgesäten Zellen sich in 24 Stunden zu 7 Millionen vermehrten, viel mehr Säure gebildet werden müssen als dort, wo 7000 Zellen sich in 24 Stunden zu 3 Millionen vermehrten. Nehmen wir dagegen die zweite Theorie zu Hülfe, dann werden die Verhältnisse klar. In der zweiten Kolumne haben wir gegenüber der ersten günstigere Entwicklungsbedingungen, denn die Temperatur ist eine zusagendere. Die Wirkung ist auffällig. Die Vermehrung ist hier eine zehnfach schnellere geworden, ohne dass die Gärung beschleunigt worden ist. Die zwei Funktionen sind, mit anderen Worten, durch die günstigeren Lebensbedingungen auseinandergezogen worden. Die Zahlen der dritten Kolumne lassen sich in diesem Falle nicht verwerten, denn hier ist die Vermehrung eine so rapide, dass dasjenige, was sich in den übrigen Fällen in 48, oder sogar 72 Stunden abspielt, hier in 24 Stunden abgeklungen ist. Immerhin lässt sich auch hier ersehen, dass die Säurebildung zu-, die Wachstumsgeschwindigkeit aber gleichzeitig abnimmt. Betrachten wir die erste Kolumne für sich,

dann haben wir in der Tat eine parallel verlaufende Steigerung der beiden Funktionen, wie sie auch Rahn in seinen Versuchen beobachtet hatte. Aber auch diese Tatsache lässt sich ganz gut mittels der zweiten Anschauung erklären. Die Temperatur ist hier eine für ein beschleunigtes Wachstum ungünstige, so dass diese besondere Beeinflussung, die die beiden Funktionen hätte trennen sollen, tatsächlich nicht vorhanden ist. Das Resultat wird natürlich sein, dass jede Mutterzelle vor ihrer Teilung Zeit genug hat, um so viel Enzym zu produzieren, dass ihre beiden Tochterzellen je den normalen Enzymgehalt erhalten kann, wodurch dann für Wachstum und Säureproduktion beziehungsweise Gärung die Möglichkeit eines mehr oder weniger gleichzeitigen Verlaufes geschaffen wird. Wir sehen hieraus, dass die beiden Theorien einander nicht antagonistisch gegenüberzustehen brauchen. Es ist Raum für beide in den tatsächlichen Verhältnissen und es wird lediglich von äusseren Einflüssen abhängen, welche von beiden in einem gegebenen Fall die zutreffende ist.

Bevor ich diese Auseinandersetzungen schliesse, möchte ich nur noch einen weiteren Versuch, den ich angestellt habe, und der zu dem oben Erörterten in gewisser Beziehung steht, erwähnen.

Ich wollte ermitteln, ob das blosse Vorhandensein, der Kontaktreiz des fakultativ vergärbaren Zuckers genüge, um die Anpassung zu bewerkstelligen. Um dieses zu prüfen, impfte ich wässerige Zuckerlösungen 1), die zu je 2 cm³ in Reagenzgläsern abgefüllt und vorsichtigt sterilisiert waren, mit den 4 Stämmen: Br, Bact. imperfectum, E und B4. Dabei sollten nur wenige, etwa 50 bis 100 Zellen der 4 Versuchstämme in die betreffenden Zuckerlösungen ausgesät und so lange unter anaërobem Verschluss bei einer Temperatur von 30° darin gehalten werden, bis die Anpassung unter gewöhnlichen Verhältnissen hätte stattfinden müssen. Die aufgestellten Zuckerlösungen mit den in ihnen enthaltenen Zellen sollten dann in Gelatine ausgesät und zu Platten gegossen werden. Die Platten sollten bei einer für die Anpassung ungünstigen Temperatur (20°) hingestellt und die auf ihnen aufgehenden Kolonien, sobald sie sichtbar wurden, auf zuckerfreies Nährsubstrat abgeimpft und von da weg in Saccharose-, respektive Laktosepeptonagar ausgesät werden, um eine möglicherweise stattgefundene Anpassung festzustellen.

In dem ersten Versuch liess ich die ausgesäten Zellen 15 Tage mit dem Zucker in Berührung. Nach dieser Zeit waren sie aber alle abgetötet. In einem folgenden Versuch setzte ich deshalb die Einwirkungsdauer des Zuckers auf 6 Tage herab. Nach Ablauf dieser Zeit wurden die Test-kulturen mit Gelatine zu Platten gegossen. Auch in diesem Falle waren die ausgesäten Br-, Imperfectum- und E-Zellen abgetötet. Auf der Platte, die B_4 - Zellen enthielt, waren nach 3 Tagen 3 Kolonien sichtbar. Sie wurden auf Schrägagar abgeimpft, die hierauf entstandenen Kulturen in Laktose-

¹) Für Bact. imperfectum und Br eine $2^{\circ}/_{\circ}$ Saccharoselösung in destilliertem Wasser, für E und B_4 eine entsprechende Laktoselösung.

peptonagar ausgesät und bei 23° aufgestellt. Bis zum 4. Tage blieben diese Schüttelkulturen umverändert. Am 5. Tag liessen sich Kolonien mit dem blossen Auge in ihnen erkennen. Die Kolonien vergrösserten sich in den folgenden Tagen und erwiesen sich beim Abimpfen als aus vergärenden Zellen bestehend. Für einen dritten Versuch löste ich die Zuckerarten in physiologischer Kochsalzlösung anstatt in destilliertem Wasser und liess die ausgesäten Zellen 6 Tage mit dem Zucker in Kontakt. Auch jetzt waren die ausgesäten Br-Zellen eingegangen. Auf den mit den übrigen Versuchstämmen geimpften Gelatineplatten gingen je ca. 100 Kolonien auf, ein Zeichen, dass die Keime sich in den Zuckerlösungen nicht nennenswert vermehrt hatten. Gelatineplatte, die Imperfectum-Zellen enthielt, wurden nun zwei Kolonien, von der Platte mit E-Zellen eine und von der mit B₄-Zellen drei Kolonien auf Schrägagar übertragen und die hierauf entstandenen Kulturen wie gewöhnlich zum Anlegen von Schüttelkulturen gebraucht. Diese wurden bei 30° (Bact. imperfectum) und 23° (E und B₄) aufgestellt. Nach 4 Tagen liess die eine Imperfectum-Kultur zwei mit Lupe sichtbare Kolonien, die andere dagegen noch nach 5 Tagen keine Veränderung erkennen. In der Schüttelkultur von E waren erst nach 6 Tagen Kolonien mit der Lupe sicht-Die Schüttelkulturen von B₄ zeigten am 5. Tag mit dem blossen Auge erkennbare Kolonien, die eine Kultur ausserdem 2 Gasbläschen. Verglichen mit den in den Tabellen X und XI angeführten Daten, wird man eine vollständige Uebereinstimmung in dem Verlauf der Anpassung bei den in Berührung mit dem fakultativ vergärbaren Zucker gestandenen und dem der Originalstämme finden. Daraus dürfte hervorgehen, dass die « Reizwirkung » des Zuckers erst bei der Entwicklung der Organismen zur Wirkung kommt und mit der Lebenstätigkeit der anpassbaren Bakterien aufs Engste verknüpft ist.

Korrelative Aenderungen in den Eigenschaften der fakultativ vergärenden Organismen nach stattgefundener Anpassung.

Ist die Anpassung eingeleitet, dann lässt sich der mehr direkte Vorgang, die Aktivierung des neuen Enzyms, Schritt für Schritt verfolgen. Dieses wurde schon von Burri hervorgehoben und von ihm in der Weise nachgewiesen, dass er nach verschiedenen Zeitintervallen aus einer bei 30° aufgestellten Saccharosepeptonwasserkultur von Bact. imperfectum Material entnahm, auf Schrägagar überimpfte und die hierauf aufgegangenen Kulturen — die Zwischenformen — in Saccharosepeptonagar aussäte. Je weiter nun ihre Anpassung vorgeschritten war, d. h. je länger sie unter den Einflüssen, die zur Anpassung führen, gestanden hatten, um so schneller zeigten die geimpften Saccharoseschüttelkulturen das Bild einer Anpassung, Kolonien und Gasbläschen.

In ähnlicher Weise wie Burri, habe ich von zwei meiner Stämme, B_4 und E, je eine solche Zwischenform isoliert. Dabei wurde von 24 Stunden

alten Schrägagarkulturen der zwei Originalstämme je eine Nadelspitze voll Material in je 10 cm^3 Laktosepeptonwasser ausgesät, diese Kulturen anaërob verschlossen und bei 30° aufgestellt. Nach 3 Tagen wurde aus beiden Kulturen je eine Oese Material entnommen und hierauf, wie auf Seite 22 angeführt, mittels des Tuschepunktverfahrens je eine Zelle isoliert. Die Rassen oder, wenn man will, die Zwischenformen « B_4 halb erregt» und «E halb erregt» entstammen den zwei isolierten Zellen. Dass sie wirklich in bezug auf die Schnelligkeit, mit der sie sich anpassen lassen, eine Mittelstellung zwischen den Originalstämmen B_4 , E und ihren vergärenden Rassen einnehmen, dürfte aus der folgenden Tabelle XV hervorgehen.

Tabelle XV. Verlauf der Anpassung der Stämme bei 230:

Stamm	Nach 1 Tag	Nach 2 Tagen	Nach 3 Tagen	Nach 4 Tagen	Nach 5 Tagen	Nach 6 Tagen	Nach 7 Tagen	Nach 8 Tagen
Е	Keine Verän- derung	Keine Verän- derung	Keine Verän- derung	Keine Verän- derung	Mit Lupe sichtbare Kolonien	Wie vorher	Wie vorher	Kolonien mit blos- sem Auge sichtbar
E halb erregt	»	Mit blos- sem Auge sichtbare Kolonien	Viele, bis steckna- delkopf- grosse Kolonien	Kolonien wie vor- her. Eini- ge Gas- bläschen	Kolonien grösser	Kolonien wie vor- her; viele Gas- bläschen		_
${ m E}$ erregt	Ver- gärung		_		_		_	_
B ₄	Keine Verän- derung	Keine Verän- derung	Mit Lupe sichtbare Kolonien	Wie vorher	Mit blossem Auge sichtbare Kolonien. 2 Gas- bläschen	Kolonien grösser	Kolonien wie vor- her; meh- rere Gas- bläschen	
B ₄ halb erregt	»	Mehrere Gasbläs- chen und mit Lupe sichtbare Kolonien	Zahl- reiche Gasbläs- chen; Kolonien nicht grösser	Ver- gärung	_	_	V	
B ₄ erregt	Ver- gärung		_	_	_	_	_	_

Bemerkung: Mit «erregt» sind jeweilen die vergärenden Rassen bezeichnet.

Es kann also keinem Zweifel unterliegen, dass wir es hier mit wahren « Zwischenformen » zu tun haben, die aufs deutlichste das Stufenweise in dem Verlauf der Anpassung zu Tage treten lassen. Wir werden später einen Vorgang kennen lernen, der mit der eben besprochenen Verschiebung des Gärungseintrittes korrelativ verläuft und deshalb geeignet ist, die Burri'sche Auffassung der Anpassung als ein allmählich verlaufender Vorgang zu stützen.

Die Erkennung einer durch die Anpassung bewirkten korrelativen Aenderung in den Eigenschaften der angepassten Bakterien wäre deshalb von Interesse, weil man aus der Ausdehnung dieser Aenderung Rückschlüsse auf die Umwälzungen ziehen könnte, die die Ausbildung des neuen Enzyms in der Organisation des Plasmas verursacht hätte. Zur Feststellung einer korrelativen Aenderung der Eigenschaften nach geschehener Anpassung wurden deshalb die von mir isolierten Stämme nebst Bact. mutabile und Bact. imperfectum in Laktose- respektive Saccharosepeptonagar ausgesät und die vergärenden Rassen der verschiedenen Stämme durch Ueberimpfen der in den Schüttelkulturen entstandenen Kolonien auf Schrägagar gewonnen. Diese Rohkulturen der Rassen wurden sämtlich auf Einzellkulturen verarbeitet und als solche in Peptonagar, der den fakultativ vergärbaren Zucker enthielt, ausgesät. Dabei erwiesen sich alle Rassen als kräftige Vergärer der fraglichen Zuckerart. Die Rassen und die «Zwischenformen» «B4 halb erregt» und «E halb erregt» wurden nun, genau wie früher die Originalstämme, anf ihre kulturellen Merkmale geprüft und erwiesen sich in bezug auf Wachstum, Grösse, Färbbarkeit, Beweglichkeit, in ihrem Wachstum auf Kartoffel, in ihrem Verhalten zu Neutralrotagar, in ihrer Säureproduktion, in ihrem Verhalten zu den biochemischen Reaktionen, in Agglutinabilität und Pathogenität vollständig identisch mit den entsprechenden Mutterstämmen, so dass eine nähere Besprechung aller dieser Punkte nur eine Wiederholung von früher Gesagtem sein würde. Nur das Verhalten in Milch und das Gasbildungsvermögen boten gewisse Abweichungen, die eine besondere Besprechung erfordern. In der folgenden Tabelle XVI sind die Stämme zusammengestellt, die ein etwas unerwartetes Verhalten gegenüber Milch aufwiesen.

Dass « B_4 erregt», die vergärende Rasse von Stamm B_4 , unter anaëroben Verhältnissen die Milch zur Gerinnung bringt, bei Luftzutritt dagegen nicht, ist sehr wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die von diesem Organismus aus Milchzucker gebildete geringe Säuremenge unter aëroben Lebensbedingungen nicht zur Wirkung kommt, weil sie von den alkalischen Stoffwechselprodukten der Bakterien gesättigt wird. Viel auffallender ist, dass die vergärenden Rassen vom B4 und Bact. mutabile unter anaëroben Verhältnissen die Milch gerinnen machen, während die Mutterstämme unter gleichen Umständen das Kasein nicht zur Ausscheidung bringen. Ausbildung von Labenzym als Folge der Anpassung ist natürlich ausgeschlossen, denn wenn dieses der Fall sein sollte, müsste «B4 erregt» die Milch auch bei Luftzutritt koagulieren können, was, wie wir gesehen haben, nicht zutrifft. Ebenso wenig kann das eigentümliche Verhalten von B_4 , und Bact. mutabile darauf zurückgeführt werden, dass die Milch ein ungünstiges Substrat für das Zustandekommen der Anpassung wäre. Denn entnimmt man einer genügend alten Milchkultur von B4 oder Bact. mutabile etwas Material und führt es in ein laktosehaltiges Nährsubstrat über, tritt eine vollkommen typische Vergärung des Zuckers ein; ein Zeichen, dass

Tabelle XVI.

Stamm	Nach 1 Tag	Nach 5 Tagen	Nach 8 Tagen	Nach 12 Tagen	Nach 20 Tagen	Nach 30 Tagen	Nach 50 Tagen	Nach 80 Tagen
E	Nicht geronnen	Nicht geronnen	Nicht geronnen	Nicht geronnen	Geronnen	_		_
E halb erregt	»	»	. »	Begin- nende Ge- rinnung	Geronnen	_	_	10
E	»	»	Begin- nende Ge- rinnung	Geronnen		_		-
E anaërob gehalten	»	»	Nicht geronnen	Nicht geronnen	Geronnen		•	
E erregt anaërob gehalten	»	»	Begin- nende Ge- rinnung	Geronnen			_	
В.	, »	»	Nicht geronnen	Nicht geronnen	Nicht geronnen	Nicht geronnen		
B ₄ halb erregt	»	»	»	»	»	»	_	_
$_{erregt}^{\mathrm{B_{4}}}$	»	»	»	»	»	»		
B₄ anaërob gehalten	»	»	»	»	»	»	Nicht geronnen	Nicht geronnen
B ₄ halb erregt anaërob gehalten	»	»	»	»	»	»	»	»
B ₄ erregt anaërob gehalten	»	»	»	»	Geronnen	7 3 7 7 3 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1		
Bact. mutabile	»	»	»	»	Nicht geronnen	Nicht geronnen	Nicht geronnen	-
Bact. mutabile erregt	» »	»	»	Begin- nende Ge- rinnung	Geronnen			
Bact. mutabile anaërob gehalten	»	»	»	Nicht geronnen	Nicht geronnen	Nicht geronnen	Nicht geronnen	Nicht geronnen
Bact. mutabile erregt anaërob gehalten	»	»	».	Begin- nende Ge- rinnung	Geronnen			7

Bemerkung: Die verwendete Milch wurde zu 10 cm³ in Reagenzgläser abgefüllt, fraktioniert sterilisiert, geimpft und bei 30° aufgestellt.

die Anpassung sich in der Milch hat vollziehen können. Welche nun auch die Einflüsse sind, die das unerwartete Verhalten von B_4 « erregt» und Bact. mutabile erregt bewirken, von einer eigentlich korrelativen Aenderung einer Eigenschaft als Folge der Anpassung kann nicht mit Recht gesprochen werden und es lässt sich wohl behaupten, dass die vergärenden Rassen,

ganz allgemein genommen, auch gegenüber Milch ein normales Verhalten aufweisen.

Von grossem Interesse erwies sich das Gasbildungsvermögen der angepassten Stämme. Schon bei der ersten Prüfung, die im November 1910 vorgenommen wurde, hatte sich gezeigt, dass die vergärenden Rassen, besonders B_4 erregt und E erregt aus Dextrose mehr Gas abzuspalten vermochten als die entsprechenden Mutterstämme.

In der Tabelle XVII sind die damals gewonnenen Resultate verzeichnet. Für das Verständnis der Tabelle verweise ich auf Seite 13.

Tabelle XVII.

Stamm	Gesamtgasmenge	Durch K (OH) absorbierbares Gas	Durch K (OH) nicht absorbierbares Gas					
the control of the co	em³	cm ³	em³					
E	26	13	13					
E halb erregt	28	14	14					
E erregt	40	23	17					
B_{4}	7	2,5	4,5					
B ₄ halb erregt	15,5	7,5	8					
B ₄ erregt	24	15	9					
A	27	16	11 -					
A erregt	?	?	?					
Br	12	3,75	8,25					
Br erregt	13	5	8					
O_a	14	5	9					
O ₂ erregt	?	?	?					
M	?	?	?					
M erregt	?	?	?					
D_4	11,5	3,5	8					
D ₄ erregt	15	5	10					
K	7,5	2,5	5					
K erregt	8	2,5	5,5					
Bact. mutabile	12	3,5	8,5					
Bact. mutabile erregt	12,5	5	7,5					
Bact. imperfectum	16	9	7					
Bact. imperfectum erregt	18	10,5	7,5					

Das auffallende Resultat dieser Analysen veranlasste mich, das Vergärungsvermögen von B_4 , E und ihren vergärenden Rassen unter den verschiedensten Bedingungen zu untersuchen, um über die Zuverlässigkeit der benutzten Versuchsanordnung klar zu werden. Es ist unnötig, auf die Einzelheiten dieser Versuche einzugehen, das Wesentliche bei ihnen ist, dass die Unterschiede in dem Vergärungsvermögen sich nicht auf Zufälligkeiten zurückführen lassen, sondern in Zusammenhang mit der erfolgten Anpassung stehen müssen.

Nachdem ich die Zuverlässigkeit der gebrauchten Gasbestimmungsmethode nach *Burri* festgestellt hatte, unternahm ich im Mai 1911 eine zweite Untersuchung meiner Stämme. Der Vollständigkeit halber muss ich

hier erwähnen, dass der Analysengang dabei etwas abgeändert worden war. Erstens stellte ich mein Nährsubstrat nicht aus frischem Fleisch, sondern aus Fleischextrat «Liebig» dar. Der Zuckergehalt dagegen war natürlich der gleiche wie früher, nämlich 2% chemisch reine Dextrose. Und ferner impfte ich, um ein so einheitliches Resultat wie möglich zu bekommen, das Nährsubstrat nicht «mit reichlichem Material», sondern verrieb 2 Oesen einer bei 30° aufgestellten Schrägagarkultur des betreffenden Organismus in 2 cm³ steriler physiologischer Kochzsalzlösung und brachte von dieser Emulsion 0,25 cm³ in den Dextrosenährboden. Die geimpften Gasanalyseröhren wurden darauf bei 30° — nicht bei 37° — aufgestellt, da es sich gezeigt hatte, dass diese eine für den Verlauf der Reaktion günstigere Temperatur war. Speziell was B_4 und seine Rassen anbetrifft, muss Gewicht darauf gelegt werden, dass die für die Analyse verwendete Schrägagarkultur bei der gleichen Temperatur, die für die Analyse selbst zur Anwendung kommt, gezüchtet wird, denn diese Organismen sind wie schon mehrmals betont, ausserordentlich empfindlich gegen Temperatureinflüsse.

Tabelle XVIII.

Stamm		Gesamtme	Durch K (OH) ab-	Durch K (OH) nicht ab-		
Staum	24 Std.	24 Std. 48 Std. 72 Std. 96 Std.		96 Std.	sorbier- bares Gas	sorbier- bares Gas
	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³
E	12	17	18	18	9,5	8,5
E halb erregt	12,5	20	22	22	12	10
E erregt	19	28	31	32	19	13
B_4	9	18	28	28	16	12
B ₄ halb erregt	11	22	35	35	21	14
B ₄ erregt	12	26	40	40	24	16
A	9,5	10	10	10	5	5
A erregt	11	11,5	11,5	11,5	5	6,5
Br	12	12	12	12	4	8
Br erregt	14	14	14	14	5	9
O_2	10	10	10	10	3	7
O ₂ erregt	11	12	12	12	4	8
M	12	12	12	12	4,5	7,5
M erregt	13	13	13	13	5	8
D_{4}	10	10	10	10	3	7
D ₄ erregt	9,5	10	10	10	3	7
K	6,5	6,5	6,5	6,5	2	4,5
K erregt	8	8	8	8	2,5	5,5
Bact. mutabile	9	9	9	9	2,5	6,5
Bact. mutabile erregt	9,5	10	10	10	3	7
Bact. imperfectum	9	9	9	9	4	5
Bact. imperfectum erregt	11	11,5	11,5	11,5	5,5	6

Die Tabellen XVII und XVIII sind nur zum Teil vergleichbar, denn die verwendeten Nährsubstrate haben, wie schon betont, nicht genau die gleiche Zusammensetzung. Und bei den im Mai 1911 ausgeführten Analysen wurde im Gegensatz zu früher eine niederere Temperatur (30°) benutzt.

Der grosse Unterschied, den die zwei Analysenreihen in den von B_4 und seinen vergärenden Rassen gebildeten Gasmengen aufweisen, rührt von den verschiedenen Temperaturen her. Ebenfalls dürfte das verschiedene Resultat bei Stamm A auf Temperatureinflüsse zurückzuführen sein. zeigt die Tabelle XVIII, dass E, B4 und ihre Rassen bei 30° erst nach 3 Tagen das Maximum von Gas gebildet haben, während die übrigen Stämme auch bei dieser Temperatur die Reaktion meist schon in 24 Stunden zum Ablauf bringen. Was aber aus beiden Tabellen deutlich hervorgeht, ist, dass die vergärenden Rassen durchweg mehr Gas produzieren, also die Dextrose kräftiger angreifen, als ihre Mutterstämme. Bei E erregt und B_4 erregt ist dieses am besten enkennbar. Sehr schön tritt auch der Unterschied zwischen «E halb erregt», «B4 halb erregt» und ihren Mutterstämmen hervor. Auch diese zwei Rassen bilden mehr Gas als die Originalstämme E und B_4 , weniger dagegen, als die entsprechenden ganz angepassten Stämme.

Sowohl bei E wie bei B_4 haben wir somit eine mit der Anpassung parallel verlaufende Steigerung des Dextrose-Gärvermögens, wodurch das Fortschreiten der Anpassung nicht nur in dem Verhalten zu Laktose, sondern auch in der Dextrosevergärung erkennbar wird. Deutlichere Beweise für den stufenweisen Verlauf der Anpassung wird man wahrscheinlich nicht erbringen können. Durch das oben Erwähnte dürfte aber auch gezeigt worden sein, dass die von gewissen Seiten so sehr vermissten «Zwischenformen» wirklich existieren.

Das auffallende Resultat der Gasanalysen bei E, B_4 und ihren vergärenden Rassen könnte den Gedanken aufkommen lassen, dass die Anpassung nicht die Ausbildung eines neuen Enzyms, Laktase, bewirkt, sondern nur den Tätigkeitsbereich des schon vorhandenen dextrosespaltenden Ferments ausgedehnt und dadurch eine Zersetzung von Milchzucker ermöglicht hätte. So interessant es auch gewesen wäre, diese Frage näher zu verfolgen, musste ich doch davon absehen. Ich versuchte allerdings die Tätigkeit des dextrosespaltenden Enzyms in der Weise zu steigern, dass ich die beiden Stämme E und B_4 mehrere Generationen hindurch unter anaëroben Verhältnissen in einem Peptonwasser mit $10^{\rm o}/{\rm o}$ Dextrose und bei einer Temperatur von $37^{\rm o}$ fortzüchtete. Eine besondere Wirkung auf Milchzucker hatten die so behandelten Organismen jedoch nicht. $^{\rm o}$)

Lässt sich somit nicht mit Sicherheit entscheiden, ob die Anpassung die Ausbildung eines neuen Enzyms bewirkt oder nur das schon vorhandene dextrosespaltende Ferment zur Zersetzung von Laktose «anregt», so glaube ich doch, besonders mit Rücksicht auf das Verhalten der übrigen Stämme,

¹) Eine andere Möglichkeit wäre natürlich die, dass das neue doppelzuckerspaltende Enzym auf das schon vorhandene dextrosespaltende aktivierend einwirke und so zu der Steigerung der Dextrosevergärung führe.

annehmen zu dürfen, dass die Abweichungen, die die vergärenden Rassen in ihrem Gasbildungsvermögen aufweisen, nur indirekt mit der Anpassung in Verbindung zu bringen sind und als korrelative Aenderungen einer Eigenschaft als Folge der Anpassung aufgefasst werden müssen.

Der geringe Grad der korrelativen Aenderung der Eigenschaften, wie er hier wahrgenommen werden kann, zeigt deutlich, wie wenig tiefgreifend die Veränderungen sind, die die Anpassung in der Organisation des Plasmas der anpassbaren Bakterien verursacht haben und sie bieten eine weitere Stütze für die Annahme, dass das «neue» Enzym nicht als neuentstanden im wahren Sinne des Wortes betrachtet werden darf.

Schluss.

In kurzen Zügen zusammengefasst lassen sich unsere Kenntnisse über die sogenannten «Bakterienmutationen» dahin susammenfassen, dass es Bakterien gibt, die durch Züchtung auf oder in einem Nährsubstrat, das einen genauer charakterisierten Stoff, z.B. Kohlehydrat, enthält, die Fähigkeit erwerben können, diesen Stoff, der für ihre Ernährung urspünglich nicht verwendbar war, in den Bereich der von ihnen zerlegbaren Nährstoffe zu ziehen, dadurch, dass ihr Plasma zur Abscheidung der für seine Zersetzung erforderlichen Spaltungsprodukte (Enzyme) angewöhnt wird. Die Ausbildung dieser, bis zu einem gewissen Grad artfremden Enzyme geschielt allmählich und lässt sich Schritt für Schritt verfolgen, wodurch der Vorgang sich als eine typische Anpassung charakterisiert.

Mit diesen Kenntnissen als Grundlage für meine Untersuchungen konnte ich feststellen, dass:

Die Bakterien, die sich an die Zerlegung von Saccharose oder Laktose anpassen lassen, ihren natürlichen Standort in Gras haben.

Sie stehen in ihren kulturellen Merkmalen den paratyphusähnlichen Organismen sehr nahe.

Bact. imperfectum, Burri, und Bact. mutabile, Neisser, verhalten sich kulturell wie meine aus Gras isolierten Stämme.

Für das Zuslandekommen der Anpassung können Minimal- und Maximaltemperaturen festgestellt werden, die für die verschiedenen Stämme wechseln können und nicht immer mit den Temperaturgrenzen des Wachtums zusammenfallen.

Innerhalb der Anpassungstemperaturgrenzen übt die Temperatur einen mehr oder weniger deutlich erkennbaren Einfluss auf den Verlauf der Anpassung aus in dem Sinne, dass sie sich in kürzerer Zeit vollzieht.

Ein Einfluss des molekularen Sauerstoffs auf den Verlauf der Anpassung kann nicht wahrgenommen werden.

Der Kontaktreiz des fakultativ zerlegbaren Zuckers genügt nicht, um die Anpassung zu bewirken. Der ganze Vorgang charakterisiert sich hierdurch als eine mit der Lebenstätigkeit der betreffenden Organismen innig verknüpfte Erscheinung.

Die Angaben von Burri, dass es ihm gelungen sei, «Zwischenformen» zu isolieren, die als Träger eines nicht vollständig in Tätigkeit getretenen Enzyms aufzufassen sind, sind durch meine Untersuchungen bestätigt worden.

Nach geschehener Anpassung lässt sich eine gewisse korrelative Aenderung in den Eigenschaften der angepassten Bakterien feststellen, insofern als die angepassten Stämme in der Regel unter gleichen Verhältnissen mehr Gas produzieren als die nicht angepassten Mutterstämme.

Zum Schluss sei es mir gestattet, Herrn Prof. Dr. Burri, der mir in liebenswürdigster Weise das Thema überliess, und Herrn Prof. Dr. Kolle, unter dessen Leitung diese Arbeit zum grössten Teil ausgeführt wurde, für das Interesse, das sie meinen Untersuchungen zukommen liessen, meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Zum Nachweis von Wasserstoffsuperoxyd in Milch.

In das Kapitel « Milch » der dritten Auflage des schweiz. Lebensmittelbuches 1) ist ein Abschnitt über den Nachweis von Wasserstoffsuperoxyd neu aufgenommen worden, dessen Formulierung einer Berichtigung bedarf. Es handelt sich um das von C. Arnold und C. Mentzel²) angegebene Verfahren, welches darauf beruht, dass Vanadinsäure in schwefelsaurer Lösung mit Wasserstoffsuperoxyd eine sofort sich einstellende rote Färbung gibt, die auf Zusatz von etwas verdünnter Schwefelsäure sehr deutlich wahrnehmbar wird und längere Zeit beständig ist. Die entsprechende Vorschrift im Lebensmittelbuch enthält nun erstens insofern einen Fehler, als ein positiver Ausfall der Reaktion am Auftreten einer blauen Färbung erkannt werden soll. Offenbar sind die Farbenerscheinungen von zwei verschiedenen Reaktionen auf Wasserstoffsuperoxyd miteinander verwechselt worden. Eine Blaufärbung entsteht, wenn man eine saure Wasserstoffsuperoxydlösung mit alkoholfreiem Aether schüttelt, eine Spur einer Kaliumbichromatlösung hinzufügt und wieder schüttelt.3) Diese Reaktion ist indessen zur Anwendung auf Milch nicht geeignet.

¹) S. 11.

²) Zeitschr. Unt. d. Nahr. u. Gen. 1903, 6, 305.

³⁾ Treadwell, Lehrb. d. anal. Chem., 6 Aufl. Bd. 1, S. 48.