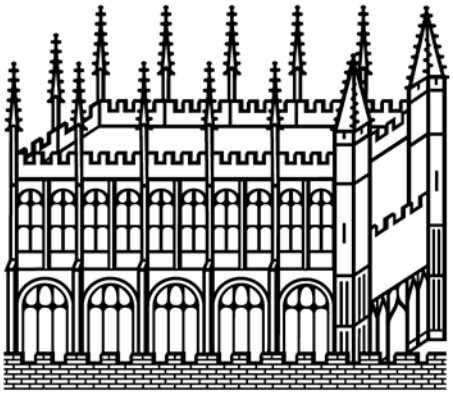


Bodleian Libraries

UNIVERSITY OF OXFORD

This book is part of the collection held by the Bodleian Libraries and scanned by Google, Inc. for the Google Books Library Project.

For more information see:

http://www.bodleian.ox.ac.uk/dbooks



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 2.0 UK: England & Wales (CC BY-NC-SA 2.0) licence.

B. 9.

C

16696 d 29





Herren Perlau & Co.

Auf Ihre w Karte
Ihnen mit, dass von Zopf
nur 5 Hefte erschienen s
Fortsetzung nicht mehr g
In den Jahren 1897/98 ist

UNION POSTALE UNIVERSELLE

POST CARD—GREAT BRITAIN & IRELAND

(GRANDE BRETAGNE ET IRLANDE)

THE ADDRESS ONLY TO BE WRITTEN ON THIS SIDE.

REPLY.



MESSRS. DULAU & CO.,

BOOKSELLERS,

37 SOHO SQUARE.

LONDON, W.

ENGLAND



Beiträge

zur

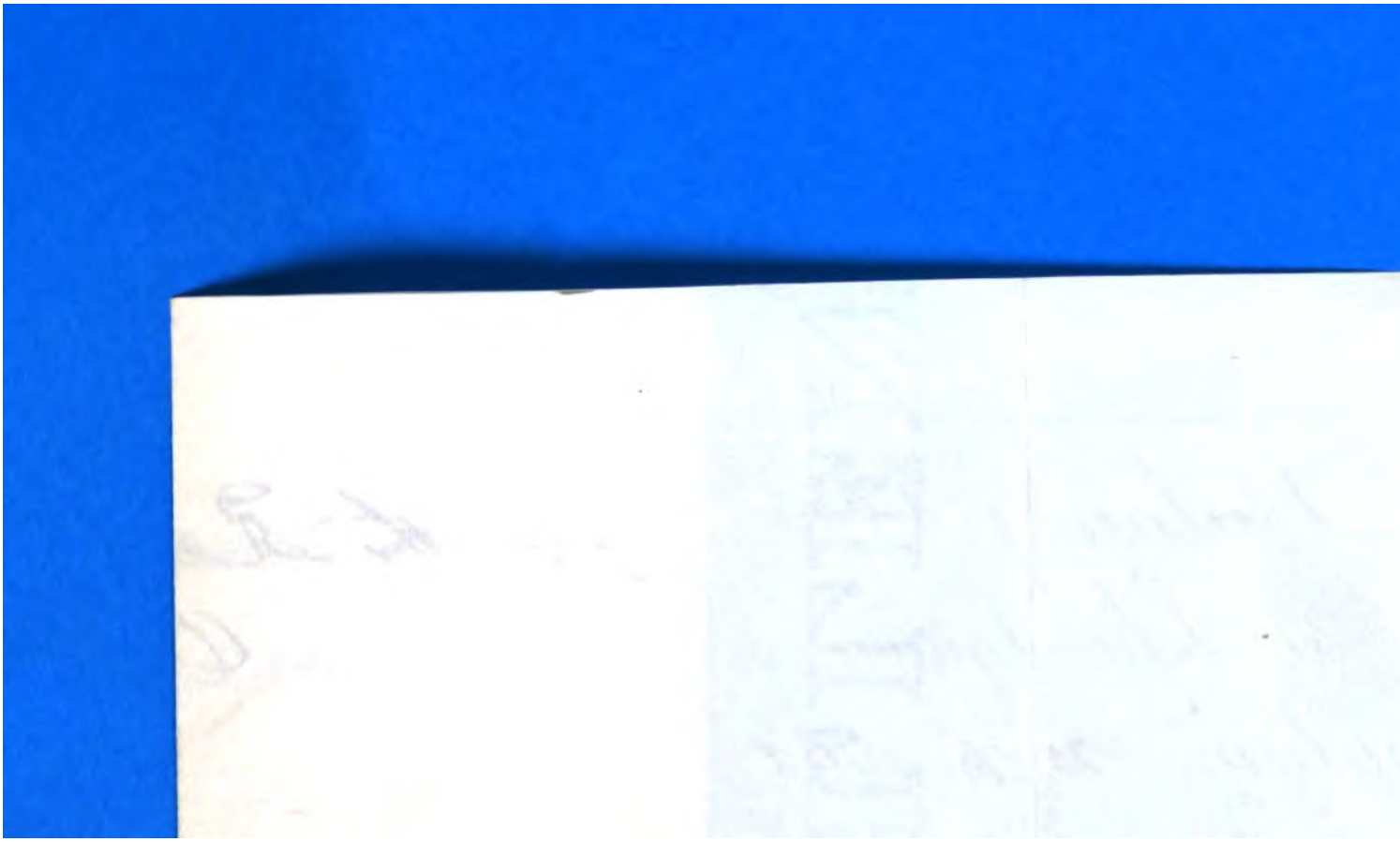
Physiologie und Morphologie

niederer Organismen.

Aus dem Kryptogamischen Laboratorium der Universität Halle a. S.

From Dulau & Co.
37, Soho Square,
London, W. 22/5 1901

You ord^d Ze
Heft 5 is th
no more



Beiträge

zur

Physiologie und Morphologie

niederer Organismen.

Aus dem Kryptogamischen Laboratorium der Universität Halle a. S.

Herausgegeben

von

Professor Dr. W. Zopf,
Vorstand des Kryptogamischen Laboratoriums der Universität Halle.

Erstes Heft.

Leipzig.
Verlag von Arthur Felix.
1892.

Vorwort.

Mit vorliegendem Hefte soll die Veröffentlichung einer Reihe von Arbeiten aus dem Kryptogamischen Laboratorium der Universität Halle beginnen, die, theils vom Vorstande, theils von Praktikanten ausgeführt, sich vornehmlich auf das Gebiet der niedersten Organismen und zwar auf Spaltpilze (Bacterien), ächte Pilze (Eumyceten), Flechten, Algen, Mycetozoen und andere niedere Thiere beziehen werden. Der Charakter dieser Arbeiten soll ein rein wissenschaftlicher sein, was natürlich nicht ausschliesst, dass auch praktisch wichtige Objecte in den Bereich derselben hingezogen werden, wie es bereits in vorliegendem Heft geschehen ist.

Halle a. S. im Januar 1892.

W. Zopf.

Inhaltsverzeichniss zum ersten Heft.

Seite

Ueber den sogenannten Froschlaichpilz (Leuconostoc) der europäischen Rübenzucker- und der javanischen Rohrzuckerfabriken von C. Liesenberg und W. Zopf 1

Leuconostoc mesenterioïdes (Cienk.).

1. Morphologie der Froschlaichform 2
2. Die hüllenlose Kulturform 8

Der javanische Leuconostoc 11

Physiologische Untersuchung der beiden Leuconostoc-Arten 13

Zusammenfassung der Ergebnisse 26

Figurenerklärung 28

Zur Kenntniss der Färbungsursachen niederer Organismen von W. Zopf . . . 30

I. Ueber das Haematochrom 30

II. Ueber die Färbungsursachen einiger Flechten mit gelbem Colorit . . 41

1. Cetraria pinastri 41

Cetraria juniperina (L.) 45

Sticta aurata Ach. 46

Physcia endococcina (Körb.) 46

2. Callopisma vitellinum (Ehrh.) 48

Der citronengelbe krystallisirende Körper 49

Calycin 50

3. Acolium tigillare (Ach.) 51
4. Placodium fulgens (Sw.) 52
5. Calycium chlorinum 55

Zur Kenntniss der Organismen des amerikanischen Baumwollsaatmehls. (Erste Mittheilung) von W. Zopf 57

I. Keimgehalt amerikanischer Baumwollsaatmehle 60

II. Bacterium vernicosum Zopf 63

Abschnitt I Morphologische Eigenschaften 63

Abschnitt II Physiologie 65

I. Die Grenzen des Schwärmvermögens 65

A. Die Temperaturgrenzen 66

1. untere Temperaturgrenze 66
2. obere Temperaturgrenze 67

B. Die Grenzen des Schwärmvermögens mit Bezug auf Wasserentziehung 71

II. Die Grenzen der Lebensfähigkeit. Seite

1. Die Temperaturgrenzen der Lebensfähigkeit . . 72

III. Die Grenzen der Wachsthumsthätigkeit 76

IV. Gährtüchtigkeit.

A. Vergährung von Kohlehydraten und mehrwerthigen Alcoholen 77

B. Verhältniss zwischen Gährthätigkeit und Temperatur 79

C. Gährthätigkeit und Wachsthum in ihrem Verhältniss zur Concentration der Nährlösungen 80

V. Fermentbildung 93

VI. Pathogene Eigenschaften 95

Figurenerklärung 97

Ueber den sogenannten Froschlaichpilz (Leuconostoc) der europäischen Rübenzucker- und der javanischen Rohrzuckerfabriken

von

C. Liesenberg und **W. Zopf.**

Vor etwa anderthalb Jahrzehnten machte in wissenschaftlichen wie in praktischen Kreisen eine Entdeckung Aufsehen, welche dahin ging, dass eine in den Säften der europäischen Zuckerfabriken schon seit längerer Zeit vielfach beobachtete, in der Bildung mächtiger, auf Kosten des Zuckers entstehender Gallertmassen sich äussernde Krankheit hervorgerufen werde durch einen pflanzlichen Organismus aus der Gruppe der Spaltpilze.

Es konnte nicht fehlen, dass diese Entdeckung zu näherer Untersuchung des betreffenden Objectes anregte, wenn auch zunächst fast ausschliesslich nach der morphologischen Seite hin. Hierbei gelangte man zu dem auffälligen Ergebnisse, dass dieser Spaltpilz bezüglich seiner Morphologie und Entwickelungsgeschichte vollständig mit gewissen blaugrünen Algen *(Nostoc)* übereinstimme, und glaubte sich hiernach berechtigt, von einer vollständigen Analogie ja sogar Homologie beider Objecte zu reden und den Spaltpilz als einen chlorophyllosen *Nostoc*, als *Leuconostoc*, zu bezeichnen. Im Gegensatz zur Morphologie wurde die Physiologie des Pilzes fast ganz vernachlässigt.

Die Untersuchungsergebnisse gingen später in alle Lehrbücher über, ohne dass bis heute jemand dieselben einmal auf ihre Richtigkeit geprüft hätte. Diese Unterlassung erklärt sich z. Th. daraus, dass das Material später nicht mehr so leicht zu haben war, theils weil seit Einführung des Diffusionsverfahrens die Krankheit der Rübensäfte minder häufig auftrat, theils auch weil es manchen Zuckerfabrikanten nicht angenehm ist einzugestehen, dass der berüchtigte Pilz sich in ihrer Fabrik eingefunden hat.

Die Nothwendigkeit einer Nachprüfung jener Untersuchungen ergiebt sich aber schon aus dem Umstande, dass die früheren Forscher mit ganz anderen, unvollkommeneren Methoden und Instrumenten arbeiteten, als heutzutage, überdies die einzige sichere Basis für genauere morphologische und insbesondere auch physiologische Studien, die absolute Reinkultur, nicht genügend gewürdigt wurde.

Wir haben in den letzten zwei Jahren eine solche Nachprüfung mit ausschliesslicher Benutzung von Reinmaterial vorgenommen und dabei Resultate erhalten, welche die bisherigen in wesentlichen Punkten berichtigen, erweitern und ergänzen dürften.[1]

Die willkommene Gelegenheit, den *Leuconostoc* der javanischen Rohrzuckerfabriken lebend zu erhalten, wurde benutzt, um auch von diesem Pilze Reinzuchten herzustellen und dieselben mit denen des *Leuconostoc mesenterioïdes* näher zu vergleichen sowohl nach der morphologischen, als nach der physiologischen Seite hin.

Zunächst seien diejenigen Ergebnisse mitgetheilt, welche sich auf die Untersuchung der gestaltlichen und entwickelungsgeschichtlichen Verhältnisse beziehen, wobei zunächst in Betracht gezogen werden soll der europäische

Leuconostoc mesenterioïdes (Cienk.).[2]

Zuvor möge noch die Thatsache hervorgehoben werden, dass ausser der bisher allein bekannten gallertbildenden Form (der sogenannten Froschlaichform, wie sie in den Rübensäften unserer Zuckerfabriken auftritt) noch eine zweite, bisher unbekannte, völlig hüllenlose Kulturform gewonnen werden konnte. Es erscheint uns zweckmässig, beide Kulturformen gesondert zu betrachten.

1. Morphologie der Froschlaichform. Das Verdienst, die Froschlaichmassen des Zuckerrübensaftes, welche Scheibler seinerzeit für Rübenplasma ansprach, als Kolonieen eines niederen Organismus und zwar eines Spaltpilzes erkannt zu haben gebührt Cienkowski.[3] Er war nämlich der erste, der die Morphologie und Entwickelungsgeschichte des von ihm *Ascococcus mesenterioïdes* genannten Spaltpilzes studirte. Hierbei gelangte er zu folgenden Resultaten: Der Spaltpilz bildet ausgesprochen — fädige Zustände, deren Membranen beträchtliche Verdickung und Vergallertung erfahren können. Auf der Zusammenhäufung der gallertigen Zustände beruht die eigenthümliche Froschlaichform. Die Fäden bestehen theils aus mehr gestreckten, cylindrischen, theils aus kurz-ellipsoïdischen bis isodiametrischen Zellen, oder wie C. sich aus-

---

1) Eine ausführliche Mittheilung dieser Resultate ist bereits in einer Novembersitzung der naturforschenden Gesellschaft zu Halle gemacht und in Kürze in den Sitzungsberichten von 1891 veröffentlicht worden.

2) Wir haben den Pilz durch einen Zufall erlangt. Als wir nämlich vor $2^1/_2$ Jahren Versuche machten, verschiedene Spaltpilze aus dem dicht an der Stadt Halle vorbeifliessenden, die Kloaken, Abflüsse von Stärkefabriken, Brauereien und Lohgerbereien aufnehmenden Saalearme (vulgo Gerbersaale) zu isoliren, erhielten wir unter anderem einen Organismus, der durch sein eigenthümliches Wachsthum in der Gelatine-Schalenkultur unsere Aufmerksamkeit erregte. Da die Kolonieen einige Aehnlichkeit mit obigem Pilze zeigten, hielten wir ihn fest, und als es uns später glückte, aus einer Zuckerfabrik hiesiger Provinz den ächten *L. mesenterioïdes* zu erhalten, konnten wir die Identität mit letzterem sicher feststellen.

3) Ueber die Gallertbildungen des Zuckerrübensaftes (Deutsches Resumé der russischen Arbeit) Charkow 1878. — Zwar hatten schon Jubert und Mendes ausgesprochen, dass der Froschlaich aus „organisirten Fermenten“ bestehe, allein man vermisst in ihrem Bericht (Journ. de fabricants de sucre 1874) den exacten Nachweis hierfür; jedenfalls haben sie die Spaltpilznatur dieses „Ferments“ nicht erkannt.

drückt: der Spaltpilz „zeigt die verschiedensten Formen, die man mit dem Namen *Micrococcus*, *Torula*, Bacterienketten, *Bacillus*, *Vibrio* belegt hat." Von Sporenbildung erwähnt C. nichts.

Hiernach würde die systematische Stellung bei den Bacteriaceen Zopf zu suchen sein.

Später ist das Object von Van Tieghem[1] untersucht worden.

Er kam zu Resulaten, die denen Cienkowski's in wesentlichen Punkten widersprechen und darin gipfeln, dass der Pilz in seinem Entwickelungsgange so vollständig einer blaugrünen Alge, nämlich dem *Nostoc* gleiche, dass man ihn als einen chlorophyllosen *Nostoc* bezeichnen und für ihn ein neues Genus *Leuconostoc* kreiren müsse. Nach v. T. bestehen die Fäden etwa aus isodiametrischen Gliedern. In erschöpften oder zur Vegetation untauglichen Flüssigkeiten vergrössern sich einzelne Zellen erheblich und erzeugen im Innern je eine Spore, deren Wandung mit der der Mutterzelle verschmilzt, sich verdickt und aussen cuticularisirt und kräftigen Contour zeigt.[2] Nach diesen Van Tieghem'schen Befunden handelt es sich also um einen endogene Dauersporen erzeugenden Spaltpilz, also um einen Bacillusartigen.

Vielleicht erklärt sich die erhebliche Differenz in den Resultaten beider Forscher aus dem Umstande, das keiner von beiden mit Reinmaterialien gearbeitet hat. Jedenfalls erscheint angesichts jener Widersprüche eine erneute morphologische Untersuchung nicht überflüssig, die sich auf vollkommene Reinzuchten stützt.

Die Ursprungs-Kolonieen, welche wir in den mit Saalewasser angestellten Schalenkulturen (Gelatine) erhielten, zeigten ein so einheitliches Aussehen, dass der Schluss berechtigt erschien, es seien Reinkolonieen. Nichtsdestoweniger wurden erst nochmals mit einer derselben Reinkulturen herzustellen versucht, indem das möglichst fein zerriebene Material mit rohrzuckerhaltiger Nährgelatine vermischt und diese in Schalen ausgegossen wurde. Da sich nun hierbei wiederum Vegetationen ergaben, die den ursprünglichen vollständig glichen, so glaubten wir ganz sicher zu sein, Reinmaterial vor uns zu haben. Allein nachdem von verschiedenen Kolonieen auf schräge Flächen im Reagirglas geimpft worden war, und man diese Kulturen einige Zeit hatte wachsen lassen, zeigte sich bei mikroskopischer Untersuchung, dass in jeder derselben noch ein anderer Spaltpilz in geringer Menge vorhanden war, obschon die eigenthümlich configurirten, fast wie stark prominirende Krystallkrusten aussehenden Kolonieen makroskopisch nichts von einer solchen Verunreinigung ahnen liessen. Wieder und wieder nach obiger Weise

---

1) Sur la gomme de sucrerie. Ann. sc. nat. Sér. 6. tom. 7. p. 180—202.

2) V. T. sagt l. c. p. 195 wörtlich: „Quand, placée dans un liquide épuisé ou impropre à son développement, la plante a cessé de s'accroître et commence à dépérir, en même temps que sa gangue gelatineuse se ramollit peu à peu, on voit sur les chapelets de grains certaines cellules grossir davantage en demeurant sphériques. Dans chacune d'elles il se forme une spore qui la remplit complètement, et dont paroi, qui se confond avec celle de la cellule mère, s'épaissit, se cutinise en dehors et prend un contour externe plus vif et plus sombre."

erneute und mit möglichst fein zertheiltem und verdünnten Material hergestellte Gelatinekulturen ergaben leider immer dasselbe ungünstige Resultat.

Dieser Uebelstand war schliesslich nicht anders zu erklären, als dass der verunreinigende Spaltpilz den so ausserordentlich stark vergallertenden Membranen des *Leuconostoc* leicht ankleben müsse und aus diesem Grunde nicht durch die übliche Gusskultur zu trennen sei. Ist ja doch schon von anderer Seite, und zwar von Holm, nachgewiesen worden, dass durch ein noch so sorgfältiges Vermischen mit Gelatine in vielen Fällen keine vollständige Trennung der einzelnen Keime niederer Organismen (Holms Untersuchungen beziehen sich speciell auf Hefe) bewirkt werden kann.

Es musste daher auf andere Mittel Bedacht genommen werden, den fremden Organismus zu entfernen. Am nächsten lag es, hierfür höhere Temperaturen in Anwendung zu bringen, da a priori die Wahrscheinlickeit gegeben war, dass der mit dicker Gallertmembran versehene *Leuconostoc* sich gegen gewisse höhere Wärmegrade widerstandsfähiger erweisen möchte, als der andere Spaltpilz, dem keine solche schützende Hülle zur Verfügung stand.

In der That liess sich mittelst Anwendung einer viertelstündigen möglichst constanten Wärme von 75° C. der gewünschte Erfolg erzielen. Die mit so behandeltem Material angestellten Schalenkulturen lieferten absolut reine *Leuconostoc*-Kolonieen, wie sie überhaupt wohl zum erstenmale gewonnen sein dürften, da wie bereits angedeutet, die früheren Beobachter keine Reinzuchten im strengsten Sinne versucht haben.

Das Aussehen solcher Reinkulturen ist ein höchst charakteristisches. Auf zuckerhaltiger schwach alkalischer Nährgelatine[1] im Impfstrich gewachsen, stellt eine solche Reinkolonie in den ersten 10—14 Tagen eine dicke, weissliche Masse dar, welche aus einzelnen, dicht bei einander gelagerten, an der Basis mit einander verschmolzenen Gallertklümpchen besteht, die am Scheitel stark glasartig glänzen, sodass der Gesammteindruck etwa der einer krustenförmigen Krystallisation ist (Taf. I Fig. 1). Den Charakter einer solchen Kolonie genau in Worte zu fassen, dürfte kaum möglich sein, jedenfalls ist er so eigenthümlich, dass unter den bisher rein gezüchteten Spaltpilzen wohl keiner dem *Leuconostoc* gleicht. Der Name *mesenterioïdes* (gekröseähnlich) passt auf diese Gelatinevegetationen entschieden nicht (etwas eher auf diejenigen Kolonieen, welche man auf gekochten Mohrrüben- oder Zuckerrübenscheiben erhält; auf ersteren namentlich entwickelt sich der Pilz besonders schön und leicht). Eine exquisit mesenterioïde Haut erhäl man, wenn man auf der Gelatinefläche mehrere Impfstriche dicht neben einander zieht, oder die Gelatine mit Keimen bestreicht.

Eigenthümlich ist der Wechsel, welchen die auf Zucker-Gelatine erzogenen Kolonieen in Bezug auf Konsistenz unterworfen sind. Während die Zuchten in den ersten 8 Tagen knorpelartige Beschaffenheit

1) Gelatine 6—10%, Rohrzucker 3%, Pepton 1%, Fleischextract 1%, oder: Gelatine 6%, Rohrzucker 6%, Traubenzucker 1%, Fleischextract 1%, Kochsalz 0,1%.

zeigen, elastisch und trocken sind, sodass es mit der Impfnadel kaum möglich ist, kleine Fragmente abzulösen, erweichen die Kolonieen in den nächsten Wochen allmählich, nehmen feuchtes Aussehen an und verlieren ihre Elasticität, bis sie schliesslich breiartige Weichheit besitzen. Auch die Reinzuchten auf Mohrrüben- oder Zuckerrüben-Scheiben zeigten diesen Wechsel im Ansehen und der Konsistenz der Kolonieen.

In Kulturen, welche in der Weise angestellt werden, dass man rohrzucker- und peptonhaltige Nährgelatine mit wenig Keimen mischt und in Schalen ausgiesst, entwickeln sich auf der Oberfläche dieses Substrats kleine warzige Ballen vom Aussehen der Taf. II Fig. 1. Die innerhalb der Gelatine sich entwickelnden Kolonieen sind kugelig und in der Jugend mit glattem Rand versehen. Diejenigen Kolonieen, welche sich auf dem Grunde der Schale entwickeln, zeigen nur anfangs die Ballenform, später wachsen sie zwischen Glaswand und Gelatine in Form einer dünnen Haut; diejenigen Kolonieen endlich, welche ganz oberflächlich liegen, breiten sich nicht selten ähnlich, aber in Form einer gefalteten Haut aus (Taf. II Fig. 1 unten).

Mischt man ferner Rohrzucker und Pepton enthaltende Nährgelatine mit möglichst wenigen Keimen des Pilzes im Reagirglase oder im Kolben und lässt das Gemisch möglichst schnell erstarren, so erhält man kleine Gallertballen, welche die Gelatine von oben bis unten hin in Abständen durchsetzen und nach Form und Umfang mit grossen gequollenen Sagokörnern verglichen werden können. Eine Kultur dieser Art ist in Taf. I Fig. 3 dargestellt.

Impft man hohe Gelatine-Schichten im Reagirglas oder Kolben mittelst Impfstichs, so bilden sich bei geeigneter Zusammensetzung der Gelatine längs desselben relativ mächtige stalactitähnliche Wucherungen (Taf. I Fig. 2).

In Impfstichen grösserer Nährgelatine-Mengen in Kolben nehmen diese Stalactiten geradezu riesige Dimensionen an.

Eine 10procentige Lösung von Melasse giebt bei Luftdurchleitung in wenigen Tagen einen mächtigen weisslichen Bodensatz, der aus kleineren oder grösseren Gallertklümpchen zusammengesetzt erscheint. Aehnliche üppige Vegetationen liefert schwach alcalische 10procentige Rohrzuckerlösung mit 1% Pepton und den nöthigen Nährsalzen, ebenfalls bei Luftdurchleitung.

Die auf dem obigen Wege der Reinzucht gewonnenen Materialien wurden nun von uns benutzt zu einer eingehenderen Prüfung gerade derjenigen Fragen, bezüglich deren die Ansichten Cienkowski's und Van Tieghem's differiren:

1. Aus welchen Elementen bestehen die vegetativen Zustände auf ihren verschiedenen Altersstufen?
2. Entwickelt der Pilz Dauersporen im Sinne Van Tieghem's? (und für den Fall der Verneinung dieser Frage)
3. Kömmt es überhaupt zur Bildung von Entwickelungsstadien, welchen der morphologische Werth von Sporen beigelegt werden darf?

Was zunächst die erste Frage anlangt, so mussten wir vor allen Dingen die Cienkowski'sche Ansicht prüfen, laut welcher die vegetativen Zellverbände sowohl aus gestreckten als auch aus mehr rundlichen Zellen bestehen können; denn von der Richtigkeit oder Unrichtigkeit derselben hängt wesentlich die systematische Stellung des Pilzes mit ab.

Wir haben daher die auf festem Substrat sowohl wie in Nährlösungen erzogenen Kolonieen in ihren jüngsten wie in ihren späteren Entwickelungsstadien verfolgt, wie sie sich nach 12, 24, 48 Stunden, dann nach einigen Tagen, einigen Wochen, 2, 6, 10 Monaten darstellen. Wir haben uns ferner eines guten optischen Hilfsmittels, nämlich Zeiss Apochromat 1,30 Apert. mit starken Compensations-Ocularen bedient. Trotzdem ist uns es nicht gelungen, andere Zellformen ausfindig zu machen, als rundliche, ohngefähr isodiametrische, welche nach Art der sogenannten Diplococcen immer zu zwei vereinigt sind und einen Querdurchmesser von ohngefähr 0,85 bis 1 mikr. besitzen. Allerdings sieht es hin und wieder aus, als ob einzelne Zellen in Richtung der Längsachse ums Doppelte des Querdurchmessers und mehr und mehr gestreckt seien, allein wenn man solche Objekte durch schwachen Druck aufs Deckglas in genau horizontale Lage bringt und bei günstigster Beleuchtung aufs schärfste einstellt, so lässt sich mit oder ohne Färbung, zu der man am besten Dahlia verwendet, sicher feststellen, dass eine solche scheinbar einheitliche und gestreckte Zelle immer aus 2 fertigen oder in Bildung begriffenen Zellen oder auch aus zwei Zellpaaren besteht. Bei Anwendung stärkster Systeme und diskreter Färbung mit Dahlia kann, wie wir glauben, ein Zweifel an diesem Sachverhalt nicht wohl aufkommen.

Cienkowski's abweichende Ergebnisse erklären sich offenbar daraus, dass ihm irgend welche fremde bacterienartige Formen mit untergelaufen sind, wie sie nach unserer Erfahrung thatsächlich in dem rohen *Leuconostoc*-Material aus den Zuckerfabriken vorkommen. Des Weiteren aber hat er auch die Glieder der wirklichen *Leuconostoc*-Verbände nicht genau gesehen, denn er bildet immer ellipsoidische Zellchen ab.

Van Tieghem dagegen hat die Zellform der vegetativen Zustände richtig beschrieben und abgebildet, obwohl auch ihm wirkliche Reinzuchten nicht zur Verfügung gestanden haben.

Eine andere Frage war die, ob der Pilz Dauersporen bildet. Während Cienkowski dieselbe gar nicht berührt, glaubt Van Tieghem solche Bildungen gefunden zu haben, und zwar sollen dieselben durch relativ erheblich grössere Dimensionen vor den vegetativen Zellen ausgezeichnet sein; er giebt an, dass die Sporen 1,8 bis 2 mikr. im Durchmesser halten, während die Dicke der vegetativen Zellen nach unseren Messungen 0,85 bis 1 mikr. beträgt; ausserdem sei die Spore von einer derben, nicht gelatinösen cuticularisirten Membran umhüllt.

Es lag uns natürlich sehr daran, gerade diese Sporenformation zu erlangen. Zu diesem Zwecke haben wir den Pilz in Reinkulturen auf und in den verschiedensten Substraten, wie zuckerhaltiger Nähr-

gelatine, Mohrrüben, Zuckerlösungen, Melasse 2 Monate, ein halbes, ein ganzes Jahr, ja bis $1^1/_2$ Jahre hindurch gezüchtet und sie sodann auf Sporenbildung genau untersucht.

Nach den sonstigen Erfahrungen der Bacteriologie dürfte man erwarten, dass wenn eine Dauersporenbildung in der von Van Tieghem beschriebenen Form überhaupt eintritt, sie sich mit der in so langen Zeiträumen nothwendig eintretenden Erschöpfung des Nährsubstrats vollziehen müsse; allein wir sind stets nur zu dem negativen Ergebniss gelangt, dass die Zellen auch der ältesten und vormals üppigsten Kulturen weder andere Dimensionen, noch andere Membran- oder Inhaltsbeschaffenheit zeigten, wie sie die vegetativen Zellen erkennen liessen. Das gilt nicht bloss für die Kulturen auf festem Substrat, sondern auch für die in Rohrzuckerlösungen, wo sie Van Tieghem beobachtet haben will. Allerdings hat es bisweilen den Anschein, als ob hier und da eine Zelle dicker und stärker lichtbrechend sei, als die übrigen, indessen sobald das Object durch Verschiebung oder Deckglasdruck vorsichtig in eine nur wenig veränderte Lage bringt, kann man sich mit Sicherheit überzeugen, dass jene Bilder Sporen nur vortäuschen, denn man sieht nunmehr, dass es sich um Zellpaare handelt, die vorher auf dem Kopfe standen.

Die Van Tieghem'sche Annahme einer Bildung jener grossen derbwandigen hüllenlosen Dauersporen scheint uns daher mit den Thatsachen in Widerspruch zu stehen und folglich auch seine Keimungsgeschichte, laut welcher die Sporenmembran abgestossen und zersprengt werden soll, unrichtig zu sein.

Möglich wäre es wohl, dass die Zellen sehr alter Kulturen eine Art Sporen darstellen, aber es ist uns nicht möglich gewesen, ein sicheres morphologisches Kriterium dafür zu finden, weder in anbetracht der Grösse, nach der Membran, noch des Inhalts. Wir werden übrigens sehen, dass auch die physiologischen Charactere solcher Zellen gegen ihre Sporennatur sprechen.

Vielleicht ist der Van Tieghem'sche Befund so zu erklären, dass dieser Forscher mit der vorgefassten Meinung an die Entwickelungsgeschichte herantrat, dass der Pilz ein Analogon von Nostoc darstelle. Aus diesem irrigen Vorurtheil heraus hat er sich den Entwickelungsgang zurechtgelegt und schliesslich die Dinge, die er finden zu müssen glaubte, erklärlicherweise auch wirklich gesehen.

Wir werden übrigens auf diesen Punkt zurückkommen bei Besprechung der hüllenlosen Form des Pilzes sowie im physiologischen Abschnitt.

Wie schon seit Cienkowski bekannt ist, können die Zellen und Fäden der Froschlaichform unseres *Leuconostoc* eine relativ mächtige Gallerthülle erhalten. Nach den chemischen Untersuchungen von Scheibler,[1]

1) Untersuchungen über die Natur der gallertigen Ausscheidung (sog. Froschlaich), welche bei der Saftgewinnung aus Rüben beobachtet wird. Zeitschr. d. Vereins f. Rübenzuckerindustrie, Jahrgang 11 (1874), p. 309—335.

Däumichen[1] und Winter[2] besteht dieselbe aus einem gummiartigen Kohlehydrat, dem Scheiblerschen Dextran. Die Auffassung Van Tieghem's,[3] es handele sich um ächte Cellulose, theilt heutzutage Niemand mehr u. V. T. selbst wird dieselbe nicht mehr hegen. Eine Schichtung an den dicken, schwach lichtbrechenden Membranen nachzuweisen, wollte mit Chromsäure und Alkalien nicht gelingen. Dagegen erhielten wir mit einer wässrigen Lösung von Corallin (Rosolsäure), welche den Membranen eine schön rosenrothe Farbe verleiht (auch andere Gummi- resp. Schleimarten werden nach Szysylowicz roth gefärbt), wenigstens Andeutungen von Einschachtelung jüngerer Membranen in ältere, aber auch nur bei Anwendung sehr starker Vergrösserungen und unter besonders günstigen Beleuchtungsverhältnissen (Taf. I Fig. 8c). Beiläufig bemerkt lässt sich mit Corallin und Dahlia eine schöne Contrastfärbung des Zellkörpers und der Hülle erzielen, wenn man zuerst Dahlia verwendet, das nur den Plasmakörper tingirt und hernach die Membran mit Corallin roth färbt. Mit anderen Farbstoffen wie Vesuvin, Bismarckbraun, Haematoxylin, Nigrosin, Methylgrün, Methylviolett, Gentianaviolett, Methylenblau, Fuchsin und Congoroth färbten sich die Gallerthüllen auch nach vorheriger Beizung durch Alaun oder Anilinöl nicht.

Chlorzinkjod löst die Membranen augenscheinlich auf oder bringt sie doch zu so starker Quellung, dass man nicht mehr recht unterscheiden kann, ob eine völlige Lösung oder bloss eine sehr weitgehende Quellung vorhanden ist. (Von anderen Kohlehydraten sind bekanntlich Lichenin, Isolichenin sowie Cellulin in Chlorzinkjod löslich.) Jodjodkalium, sowie Jod und verdünnte Schwefelsäure bringen weder Färbung noch sonstige sichtbare Veränderung hervor, wogegen conc. Schwefelsäure, Barytwasser, starke Kali- und Natronlauge die Membranen lösen.

2. Die hüllenlose Kulturform des Leuconostoc. (var. nuda). Wir haben gesehen, dass reiner *L. mesenterioïdes* bei Züchtung auf Rohrzuckerhaltiger, mit Pepton und den üblichen Nährsalzen versetzter, schwach alkalischer Gelatine höchst characteristische glänzende Gallertmassen bildet, welche einer Krystallschicht nicht unähnlich sehen; es ist ferner angeführt worden, dass in Melasselösungen und entsprechend zusammengesetzten Rohr- oder Traubenzuckerlösungen seitens des Pilzes kleine Gallertballen entstehen, die sich schliesslich zu mächtigen Gallertschichten anhäufen können, und im Impfstrich Zucker- und Peptonreicher Gelatine mächtige Eiszapfenartige Gebilde entstehen, welche (bei Züchtung in grösseren Kolben) mehrere Centimeter Dicke erreichen können.

Ein wesentlich anderes Habitusbild liefern nun solche Reinzuchten, welche auf oder in gewissen anderen Substraten hergestellt

---

1) Ueber das Vorkommen und die Entwickelung des Froschlaichpilzes bei der Osmose. Zeitschr. des Vereins für Rübenzuckerrübenindustrie 1890 p. 701—707.
2) Untersuchungen über das Zuckerrohr. Dissertation Halle 1891.
3) l. c. p. 195.

sind. Sehr instructiv ist in dieser Beziehung z. B. die Kartoffelkultur: Impft man Kartoffelscheiben, die ohne vorher gekocht zu sein, an 5 Tagen hintereinander im Dampftopf sterilisirt wurden, mittels Impfstrichs, so erhält man statt prominenter glänzender Gallertmasse einen ganz unscheinbaren, dünnen, schleimigen milchweissen Beleg, der sich zu beiden Seiten des Striches wenig ausbreitet (Taf. I Fig. 6). Sieht man diese Erscheinung zum ersten Mal, so glaubt man leicht, es habe sich trotz des absolut reinen Ausgangsmaterials und trotz der sicher sterilisirten Unterlage ein fremder Spaltpilz entwickelt. Allein wenn man eine kleine Partie des Schleimes mit rohrzuckerhaltiger Nährgelatine mischt und das Ganze in Schalen ausgiesst, so erhält man nach wenigen Tagen aus jedem Keim einen kleinen Froschlaichballen, der auf Kartoffelscheiben übergeimpft, wieder den dünnen Schleim erzeugt.

Diese eigenartigen Schleimkolonieen liessen sich aber auch auf anderen Nährböden erzielen, so z. B. auf gewöhnlicher Fleischwasser-Pepton-Nährgelatine; im Impfstrich auf schräger Fläche entstand hier eine schmale, dünne, bandförmige, mit kleinen Krenulirungen am Rande versehene Schleimschicht (Taf. I Fig. 4); ferner auf Milchgelatine, Glyceringelatine, saurer Fischsuppen-Gelatine, die Pepton und Glycerin enthält, und Maltosegelatine, wo die Colonieen denselben Character annehmen. Im Impfstich solcher gelatinirter Substrate erwachsen dementsprechend nur kleine weissliche Knötchen (Taf. I Fig. 5), die in ihrer Gesammtheit einen dünnen Strang bilden.

Aber auch flüssige Nährmedien gewisser Zusammensetzung liefern den Pilz in einer Form, die nichts von Gallertbildung erkennen lässt, nämlich in Gestalt gewöhnlicher dünner, feiner Bodensätze (wie sie so viele Spaltpilze zeigen, die keine Gallerte erzeugen), so z. B. eine 1%ige Peptonlösung mit den üblichen Nährsalzen, schwacher Alkalität und Luftdurchleitung (andere Lösungen sind im physiologischen Abschnitt angeführt).

Mit Rücksicht auf diese Befunde drängt sich die Wahrscheinlichkeit auf, dass *L. mesenterioïdes* draussen in der freien Natur in ähnlichen Vegetationsformen auftreten wird, denn ein zuckerhaltiges alkalisches Substrat wird ihm nicht immer zu Gebote stehen.

Dem makroscopischen Bilde entspricht nun auch das mikroscopische: Die schleimigen Ueberzüge wie die Bodensätze bestehen aus meist kurzen, aus Zellpaaren zusammengesetzten Fäden, welche bei mechanischen Eingriffen mehr oder minder leicht zerfallen und keinerlei Gallerthüllen-Bildung aufweisen (Taf. I Fig. 7). Selbst bei Verwendung der besten optischen Hilfsmittel lässt sich nur ein zarter hyaliner Hof um die Zellen nachweisen, wie er bekanntermassen bei allen Spaltpilzen auftritt.

Bringt man nun von solchen Zuständen etwas Material in Tropfen sterilisirter Melasselösung oder entsprechend zusammengesetzter Rohrzuckerlösung auf sterilisirte Objectträger oder Deckgläser und mustert diese von Zeit zu Zeit mit starken Vergrösserungen, so kann man leicht feststellen, dass diese hüllenlosen Fäden und ihre Fragmente im Laufe von 12—24 Stunden einen Gallertmantel erhalten, dessen Dicke später-

hin sich noch steigert. Fig. 8 *a, b, c* stellt drei Stadien einer Entwickelungsreihe dar, wie sie in obigen Kulturen gewonnen wurden.

Es kann demnach als feststehend betrachtet werden, dass der sonst durch mächtige Gallertbildung ausgezeichnete *L. mesenterioïdes* sich unter ganz bestimmten Ernährungsverhältnissen (Abwesenheit von Trauben- oder Rohrzucker) in einer Form entwickelt, welche vollkommen hüllenlos (nackt) erscheint und dadurch zu der „Froschlaichform" makroscopisch wie mikroscopisch in ausgesprochenen Gegensatz tritt.[1]

Wer mit dieser Thatsache unbekannt ist, könnte eine solche hüllenfreie Form leicht einer ganz anderen Gattung, nämlich dem Genus *Streptococcus* anreihen, von dem sie thatsächlich nicht zu unterscheiden ist.

Angesichts des den Zuckertechnikern längst bekannten Factums, dass die Gallertmassen in den Rübensäften oft relativ plötzlich auftreten, hat man bisher keine genügende Erklärung gefunden. Vielleicht giebt die Auffindung der hüllenlosen Varietät einen Schlüssel hierzu. Es wäre nämlich nicht unmöglich, dass der Pilz in dieser Form in die Rübensäfte hineingelangte. Makroscopisch würde man natürlich gar nichts davon bemerken, auch wenn die Zellchen massenhaft vorhanden wären. Sobald aber günstige Verhältnisse die Entwickelung kräftiger Hüllenbildungen ermöglichen, würden die Massen als „Froschlaich" in die Erscheinung treten. Die Beobachtungen mancher Praktiker, dass der Froschlaich schon innerhalb einer Viertelstunde oder einer halben Stunde in Masse entstehen könne, sind übrigens in das Reich der Fabel zu verweisen.

Wie bei der gallertigen Varietät des Pilzes sind auch bei der gallertlosen die Zellchen etwa isodiametrisch und immer paarweise zusammenhängend (Diplococcus-Form), übrigens eben so wenig mit Schwärmfähigkeit ausgerüstet, wie die Zellen der Gallertform.

Eine besondere Aufmerksamkeit haben wir der Frage zugewendet, ob etwa in älteren Kulturen der hüllenlosen Varietät etwas von der Van Tieghem'schen Sporenform zu entdecken sei, sind jedoch stets zu negativen Resultaten gekommen. Das was man in alten Kulturen etwa als Sporen ansprechen könnte, sind Diplococcus-Formen, welche von den vegetativen Zuständen nach Grösse, Form und Bau keinerlei Abweichungen darbieten.

Des Weiteren wurde eine Entwickelungsform beobachtet, welche unter bestimmten Substratsverhältnissen gewonnen, gewissermassen die Mitte hält zwischen der völlig gallertlosen Form und derjenigen, welche durch die typischen, knorpeligen Gallertballen characterisirt ist. Es ist das eine Form, die man als Schleimform bezeichnen könnte. Man erhält dieselbe sehr schön, wenn man eine zuckerreiche Gelatine (Gelatine 6%, Rohrzucker 6%, Pepton 1%, Fleischextract 1—2%, schwach

1) Wahrscheinlich findet sich ein ähnlicher Gegensatz zwischen den makroscopischen Kolonieen der gallertlosen und der gallertigen Varietät bei dem fälschlich als *Pneumococcus* Friedländers bezeichneten *Bacterium pneumoniae crouposae* Zopf. Doch hat man die Gallertform dieses Pilzes bisher nicht in der Kultur zu erzeugen vermocht, obwohl im Körper von Menschen und Thieren dicke gallertige Membranen an den Zellen und Verbänden dieses Pilzes beobachtet wurden.

alcalisch durch kohlensaures Natron) an der schrägen Oberfläche mittelt Impfstrichs impft und bei einer Temperatur von 21—23° hält. Unter diesen Verhältnissen entwickelt sich in den ersten 10 Tagen die typische knorpelig-zähe Froschlaichform, nach einigen Wochen aber, wenn das Substrat durch die Wirkung des Pilzes bereits kräftig angesäuert ist, entsteht zu beiden Seiten der Kolonie eine breite Schleimmasse von sehr dickflüssiger Consistenz, die, wenn man das Reagirglas etwas schräg (mit dem Wattepfropf nach unten) legt, allmählich wie ein dicker Syrup herabfliesst. Wenn man diese auffällige Erscheinung zum ersten Male sieht, fühlt man sich versucht, an eine Verunreinigung durch einen fremden (schleimbildenden) Spaltpilz zu denken, allein die Schalenkultur, mit einem Pröbchen solchen Schleims angestellt, liefert stets die typischen Leuconostoc-Ballen. Auf Nährgelatine, welche bei obiger Zusammensetzung nur 2 % Rohrzucker enthielt, trat bei gewöhnlicher Zimmertemperatur solche Schleimbildung niemals auf. Vielleicht ist die in obigem Substrat reichlicher auftretende Säuerung für die genannte Erscheinung verantwortlich zu machen.

Jedenfalls lehren diese Erfahrungen, dass *L. mesenterioïdes* unter variirten Nährbedingungen habituell recht verschiedene, namentlich in Bezug auf Beschaffenheit der Gallert ganz differente Wuchsformen annehmen kann, und man wird bei der morphologischen Characteristik, wenn sie nicht einseitig werden soll, diesen wichtigen Punkt zu berücksichtigen haben.

Der javanische Leuconostoc.

Im Anschluss an die vorstehenden Ergebnisse bezüglich der Morphologie des europäischen Froschlaich-Pilzes wollen wir unsere Untersuchungen über den indischen *Leuconostoc* mittheilen.

Nach Veröffentlichungen und mündlichen Mittheilungen von Dr. H. Winter,[1] der längere Zeit als Chemiker in der Rohrzucker-Industrie Java's thätig war, werden die Säfte in Indien und speciell auf Java nicht selten von einer Krankheit befallen, welche ausserordentlich schädigend auftreten kann und in ihrer ganzen Erscheinung die grösste Aehnlichkeit zeigt mit der von *Leuconostoc mesenterioïdes* in unseren Rüben-Säften verursachten.

Dort wie hier werden grosse Zuckerquantitäten zur Bildung von mächtigen Gallertmassen verwandt, die im Wesentlichen aus den verdickten und vergallerteten Membranen eines *Leuconostoc* bestehen; dort wie hier bauen sich, wie neuerliche genaue chemische Untersuchungen Winters[2] gezeigt haben, die Membranen des Pilzes aus Scheiblers Dextran auf. Auch bezüglich der äusseren Gestalt der Gallertkolonieen besteht augenscheinlich keinerlei Unterschied, denn die getrockneten Materialien, die uns Herr Dr. Winter freundlichst überwies, sahen nach dem Aufquellen genau aus wie *Leuconostoc mesenterioïdes* aus Rübensaft- oder aus unseren grösseren Melasse-Culturen: sie stellten

1) Mededeelingen van het Proefstation „Midden Java“ Semarang 1890.
2) Dissertation Halle 1891: Untersuchungen über das Zuckerrohr.

Klümpchen dar, die wie gequollene Sagokörner erschienen. Dieser äusseren gestaltlichen Uebereinstimmung entsprach nun auch vollständige Gleichheit im Bau der Colonieen, sowie bezüglich der Grösse und Beschaffenheit ihrer Zellen.

Auf Grund dieser Befunde lag die Möglichkeit einer Identität beider Pilze nahe, und da eine solche vom practischen wie vom pflanzengeographischen Gesichtspunkte von Interesse wäre, so war unser Bestreben darauf gerichtet, den javanischen Spaltpilz gleichfalls reinzuzüchten und ihn nach der morphologischen wie nach der physiologischen Seite möglichst eingehend mit dem europäischen *Leuconostoc mesenterioïdes* zu vergleichen.

Infolge des glücklichen Zufalls, dass das getrocknete javanische Material, trotzdem es über 3 Jahre aufbewahrt und steinhart geworden war, seine Lebensfähigkeit noch nicht verloren hatte, gelang es uns mittelst der am europäischen Pilze gewonnenen Erfahrungen sehr bald, völlig reine Zuchten zu erlangen und zwar verfuhren wir in der Weise, dass wir das zuvor aufgeweichte und möglichst zerkleinerte Material in Wasser auf 80° C brachten (zur Abtödtung fremder beigemengter Spaltpilze) und nun mit einer sehr gut nährenden Gelatine[1] mischten, die sodann in Schalen ausgegossen wurde.

Schon nach 2 Tagen waren zahlreiche kleine Gallertklümpchen in der Gelatine entstanden, welche sich allmählich zu sagokorngrossen Ballen entwickelten. Dieselben waren äusserlich nicht zu unterscheiden von den zu gleicher Zeit und in gleicher Weise erzogenen Gallertballen des *Leuconostoc mesenterioïdes.*

Wir haben gesehen, dass auf einer ganz bestimmt zusammengesetzten, schwach alkalischen Zucker-Pepton-Fleischextract-Gelatine seitens des *L. mesenterioïdes* im oberflächlichen Impfstrich ganz characteristische, einer Krystallmasse nicht unähnliche Wucherungen und im Impfstrich Eiszapfen- oder Stalagmitenförmige Kolonieen gebildet werden. Ganz das Nämliche gilt auch für den indischen *Leuconostoc.* In gleich zusammengesetzten Rohrzuckerlösungen, in gleichen Melasselösungen, in demselben Rübendecoct bieten beide Spaltpilze genau die gleiche Vegetationsform, d. h. ganz gleiche Gallertbildungen dar.

Auch der allmähliche Wechsel der Consistenz der Kolonieen auf Zucker-Gelatine-Kulturen (s. oben) entspricht genau dem *L. mesenterioïdes.*

Auf Seite 9 wurde der Nachweis geliefert, dass der europäische *Leuconostoc mesenterioïdes* im Stande ist, auf bestimmten festen Nährboden oder in bestimmten Nährflüssigkeiten in einer völlig gallertlosen Kulturform aufzutreten, so z. B. auf im Dampftopf sterilisirten Kartoffeln, auf saurer Fischsuppen-Gelatine, auf zuckerfreier Nährgelatine, in Peptonlösungen etc. Wir haben nun nicht versäumt, den javanischen Pilz auf denselben Substraten zu züchten, und das Resultat war

1) Rohrzucker 6%, Traubenzucker 1%, Pepton 1%, Fleischextr. 1%, Kochsalz 0,1%, Gelatine 6%, das Ganze durch kohlensaures Natron alkalisch gemacht.

eine gleichfalls völlig hüllenlose Kultur-Varietät. Die Zuchten beider Pilze auf Kartoffeln zu gleicher Zeit und in sonst gleicher Weise angelegt treten dem blossen Auge in Form dünner weisslicher Schleimkolonieen entgegen, die so sehr mit einander übereinstimmen, dass man nach Entfernung des Etikettes die Zuchten leicht würde verwechseln können. Ganz die nämliche Uebereinstimmung zeigten genau parallele Kulturen beider Pilze auf saurer Fischsuppengelatine, gewöhnlicher Fleischpepton-Gelatine und anderen zuckerlosen Substraten.

Des Weiteren wurden genaue vergleichende Untersuchungen mittelst starker Vergrösserungen vorgenommen, welche sich auf ganz junge, sowie alte Kulturen nicht bloss der gallertigen Varietät, sondern auch der gallertlosen erstreckten. Hierbei hat sich nun wiederum eine völlige Gleichheit beider Pilze ergeben, nicht nur bezüglich der jungen noch rein vegetativen Zustände, sondern auch der Stadien, welche man in älteren Kulturen antrifft, und wir heben noch hervor, dass von einer Sporenbildung im Sinne Van Tieghem's auch bei dem javanischen Pilz nichts aufgefunden werden konnte. In Rücksicht auf diese völlige Uebereinstimmung haben wir es für überflüssig gehalten, noch besondere Abbildungen des javanischen Pilzes zu geben und verweisen auf die in Taf. I gegebenen Darstellungen der hüllenlosen und der behüllten Form des europäischen Pilzes.

Nach diesen Ergebnissen glauben wir berechtigt zu sein zu der Annahme, dass in morphologischer Beziehung zwischen dem *Leuconostoc* der europäischen Rübenzuckerfabriken und dem *Leuconostoc* der javanischen Rohrzuckerfabriken keinerlei Unterschiede bestehen.

Aus den negativen Thatsachen, welche die morphologische Untersuchung bezüglich der Unterscheidbarkeit der genannten beiden Spaltpilze ergab, darf selbstverständlich noch nicht die Folgerung einer Identität derselben gezogen werden, denn es ist auf Grund sonstiger bacteriologischer und mycologischer Erfahrungen sehr wohl denkbar, dass trotz der morphologischen Uebereinstimmung Differenzen in physiologischer Beziehung bestehen möchten, zumal der eine Spaltpilz ein Tropenbewohner ist.

Wir haben daher beide Schizomyceten einer vergleichenden physiologischen Untersuchung unterworfen.

Wenden wir uns zunächst den Erscheinungen zu, welche sich bei der Kultur in natürlichen Medien zeigen.

Um zu sehen, wie sich die genannten Objecte in Milch verhielten, wurden je 3 Reagirgläser, die mit je 10 ccm normaler Vollmilch beschickt waren, nach vorheriger Blaufärbung mit Lakmus und 6tägiger discontiuirlicher Sterilisation im Wasserbade, mit je einem der beiden Pilze geimpft und bei 20—21° gehalten. Schon 24 Stunden nach der Impfung war in allen 6 Gefässen eine deutliche Säuerung zu bemerken, die sich in deutlicher, an den nächsten Tagen an Intensität zunehmender Röthung dokumentirte, während die Kontrollmilch blau

blieb. Eine dem blossen Auge wahrnehmbare Gasentwickelung fand hierbei nicht statt, auch wurde selbst nach längerer Zeit keine Fällung des Kaseïns beobachtet. Zur Prüfung auf Reinheit schüttelten wir die Kulturen um und entnahmen jeder ein Tröpfchen, welches mit passender zuckerhaltiger Nährgelatine gemischt wurde, die man in Schalen goss. Es ergab sich für alle 6 Kulturen völlige Reinheit.

Es kömmt mithin den genannten beiden Spaltpilzen die Fähigkeit zu, in Milch eine saure Gährung zu erregen; die gebildete Säure entsteht offenbar auf Kosten des Milchzuckers.

Manche milchsäuernde Spaltpilze wandeln das Kaseïn der Milch theilweis oder ganz in Peptone um. Für die hier in Betracht kommenden gilt dies aber nicht. Zwar erhält man, wenn man etwa 8 Tage alte Kulturmilch nach vorheriger Entfettung mit Petroläther auf dem Wasserbade eindampft, den Rückstand mit Wasser auszieht und die filtrirte Flüssigkeit mit viel Kalilauge aber nur einem Tropfen schwefelsaurer Kupferlösung versetzt, eine äusserst schwache Violettfärbung (Biuretreaktion), allein in gleicher Weise behandelte Kontrollmilch lieferte dasselbe Resultat.

Bemerkenswerth für die Milchkulturen ist ferner der Umstand, dass beide Pilze hier keine Gallertklümpchen (Froschlaichform) bilden, vielmehr nur in der hüllenlosen Form auftreten, mit anderen Worten nicht im Stande sind, aus Milchzucker Dextran zu erzeugen.

Kultivirt man ferner die beiden Objecte in Zuckerrübensaft oder in 10procentiger Melasse, so bilden sie ebenfalls Säure und entwickeln sich im Gegensatz zur Milchkultur in Form der typischen Froschlaichklümpchen, zumal wenn man zur Abstumpfung der gebildeten Säure reinen kohlensauren Kalk beifügte und mittelst des Aspirators keimfreie Luft durchleitete. Man sieht daraus, dass aus Rohrzucker beide Pilze Dextran bilden können. In Kulturen, wo der Kalkzusatz fehlt, bilden sich schliesslich reichlich Zellverbände, welche nicht die dicken Membranen der ersten Vegetation erhalten und dadurch gewissermassen einen Uebergang zu der völlig dextranlosen Form bilden. Demnach scheint die Säure der Bildung von Dextranmembranen hinderlich zu sein.

Weiterhin wurden Kulturen der beiden Species mit bestimmt zusammengesetzten Nährlösungen angestellt. Zunächst prüften wir, ob die Pilze ihren Kohlenstoff- und Stickstoffbedarf zugleich decken können, wenn man ihnen Pepton oder Asparagin oder Ammoniaksalze darreicht. Bei diesen Versuchen kamen zur Verwendung

als Nährsalzlösung { KH_2PO_4 0,2 %
$MgSO_4$ 0,04 „
$CaCl_2$ 0,02 „

schwach alkalische Reaktion durch Natriumkarbonat.
Eine Temperatur von 20—22° C.

1. Pepton 1%. Schwache aber deutliche Entwickelung in Form eines weisslichen feinen Bodensatzes, der aus der hüllenlosen Varietät des Pilzes besteht; die gallertige Form wird in

diesem Substrat niemals erzielt. Beim Vermischen der Zellen mit zucker- und peptonhaltiger Nährgelatine erhält man wieder die Gallertform.

2. Asparagin $^1/_2$ %. Schwache aber deutliche Entwickelung in Form eines feinen weisslichen Bodensatzes, der aus der hüllenlosen Varietät des Pilzes besteht. Die Schalenkultur in zucker- und peptonhaltiger Nährgelatine ergiebt die Froschlaichform.
3. Weinsaures Ammoniak $^1/_2$ %. Keine Entwickelung.

Wie man sieht, liefern Pepton und Asparagin sowohl den Stickstoff als den Kohlenstoff, aber eine Dextranbildung findet bei dieser Ernährung nicht statt, es resultirt vielmehr die hüllenlose Form.

Aus Ammoniaksalzen und salpetersauren Salzen (zu $^1/_2$ bis 1 % verwandt, wobei als Kohlenstoffquelle 5 % Rohrzucker, als Nährsalzgemisch das obige dient), können die Pilze ihren Stickstoffbedarf nicht decken, wenigstens haben wir mit weinsaurem Ammoniak, salpetersaurem Ammoniak und salpetersaurem Kali durchaus negative Resultate erhalten.

Sodann prüften wir, aus welchen Verbindungen beide Pilze den Kohlenstoff entnehmen können. Bei den übrigens nur mit Kohlehydraten und mehrwerthigen Alkoholen angestellten Versuchen kamen zur Verwendung

als Nährsalzlösung { KH_2PO_4 0,2 %; $MgSO_4$ 0,04 „; $CaCl_2$ 0,02 „ }
als Stickstoffquelle Pepton 1 %.
schwach alkalische Reaction durch Natriumkarbonat:
mehrtägige Durchleitung von Luft durch die Lösung mittelst Aspirators.
Zimmertemperatur.

Es wurden benutzt: von Kohlehydraten: Traubenzucker, Rohrzucker, Maltose, Milchzucker, Dextrin, von mehrwertigen Alcoholen: Glycerin.

1. Traubenzucker 10 %. Ueppige Entwickelung in Form von Gallertklümpchen. Ausgesprochene Säurebildung, Gasentwickelung nicht in sichtbarer Form auftretend.

Ein Theil des Traubenzuckers dient den Pilzen offenbar als Nahrung und zum Aufbau der mächtigen Dextranmembranen, die Van Tieghem (l. c.) irrthümlich für Cellulosehäute erklärte. Ein anderer Theil aber wird vergohren unter Säurebildung. Man darf also wohl reden von einer sauren Gährung, nicht aber von einer Dextran-Gährung, wie es in vielen Lehrbüchern geschieht, denn es handelt sich bei der Bildung der Dextranmembranen aus Zucker um einen Assimilationsvorgang. Bekanntlich redet man ja doch gegenüber denjenigen Assimilationsvorgängen, bei welchen aus Zucker Plasma, Fett, Stärke, Cellulose etc. entstehen, ebenfalls nicht von einer Plasma-, Fett-, Cellulose-, Stärke-Gährung.

2. Rohrzucker 10 %. Ueppige Entwickelung in Form von Gallertklümpchen, ausgesprochene Säurebildung. Gasentwickelung ebenfalls für das blosse Auge nicht wahrnehmbar.

Der Rohrzucker wird nicht direct assimilirt und direct vergohren, sondern er erfährt zuvor Invertirung (siehe Fermentbildung).

3. Milchzucker 5 %. Hier entsteht stets nur die hüllenlose Varietät, in Form eines schwachen feinen weisslichen Bodensatzes, der sich offenbar allein auf Kosten des Peptons bildet. Denn gleichzeitig angestellte Controllkulturen mit obiger Peptonhaltiger Nährlösung ohne Milchzucker ergaben die gleiche geringe Menge der Pilze. Letztere sind also nicht im Stande Milchzucker zu assimiliren oder ein Milchzucker invertirendes Ferment abzuscheiden. Wohl aber vermögen sie Milchzucker unter Säurebildung zu vergähren.
4. Maltose 2 %. Auch hier tritt nur eine schwache Entwickelung in Gestalt der hüllenlosen Varietät ein, die wir nach den Controllversuchen mit Pepton auf Kosten des Letzteren setzen müssen. Maltose wird daher weder invertirt, noch direct assimilirt; dagegen wird sie unter schwacher Säurebildung vergohren.
5. Dextrin 5 %. Dasselbe Ergebniss wie bei Maltose und Milchzucker.
6. Glycerin 5 %. Dasselbe Ergebniss, aber keine Säurebildung.

Wir sehen also, dass die beiden *Leuconostoc*-Arten in Bezug auf Kohlehydrate sehr wählerisch sind, denn von genannten Stoffen werden nur Traubenzucker und Rohrzucker, Letzterer nach vorheriger Inversion assimilirt, nicht aber Milchzucker, Malzzucker und Dextrin. Auch das sonst so gut nährende Glycerin kann nicht assimilirt werden.

Vergohren werden unter Säurebildung: Traubenzucker, Rohrzucker, Milchzucker, Maltose und Dextrin. Dextranbildung findet nur statt bei Ernährung mit Traubenzucker (auch der Rohrzucker wird ja erst in Traubenzucker umgewandelt), nicht aber aus Milchzucker, Maltose und Dextrin (auch nicht aus Glycerin), weil diese Stoffe unter obigen Verhältnissen eben nicht assimilirt werden können.

Während in Bezug auf die eben dargelegten Verhältnisse zwischen dem *L. mesenterioïdes* und dem javanischen *Leuconostoc* vollkommene Uebereinstimmung herrscht, liessen die Versuche, welche wir mit gewissen Salzen angestellt haben, theilweise eine gewisse Differenz erkennen.

Zu diesen Versuchen wurde eine Lösung verwandt, welche enthielt: die Nährsalze in Form von 0,5 % Fleischextract, den Stickstoff in Form von 1 % Pepton, als Kohlehydrat 5 % Rohrzucker. Die Reaction war schwach alkalisch (durch kohlensaures Natron, in einem Falle durch Kali); zur Erkennung der Säuerung wurde Färbung mit Lacmustinctur verwandt. Geimpft ward mit möglichst gleichen Mengen von Reinmaterial, in etwa Linsensamen-Grösse, das jungen üppigen Kulturen entlehnt wurde. Die Temperatur betrug 20—23°C.[1] Zu jedem Versuch wurden 3 Reagirgläser mit 6—8 ccm der Nährlösung benutzt, sowie ein Controllglas.

---

1) Es ist schwer, die Impfmengen in genauer Gleichheit abzumessen, weil die gallertige Consistenz der Kolonieen dies verhindert. Die Lösungen wurden nicht filtrirt, weil der Niederschlag, der sich beim Sterilisiren bildet, nach unseren Erfahrungen nährend wirkt und daher aufgezehrt wird, und weil er fast alles Lacmus enthält, daher zur sofortigen Erkennung der eingetretenen Säuerung dient.

Chlorcalcium ($CaCl_2$), wasserfrei.

L. mesenterioïdes.

%	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 3 Tagen
1	schwache Säuerung, sehr schwache Vermehrung.	ausgesprochene Säuerung, ziemlich reiche Vermehrung in Gallertballen.	
3	schwache Säuerung, kaum deutliche Vermehrung.	üppige Entwickelung, kräftige Säuerung, schwache Gasbildung.	
5	weder Säuerung, noch deutliche Vermehrung.	deutliche Säuerung, reichliche Vermehrung.	kräftige Säuerung, massige Vermehrung. Gasbildung.
8	Zu keiner Zeit Vermehrung noch Säuerung.		

L. indicum.

%	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen
1	schwache Säuerung, sehr schwache Vermehrung.	ausgesprochene Säuerung, reichliche Vermehrung in Gallertballen.		
3	schwache Säuerung, kaum deutliche Vermehrung.	üppige Entwickelung, kräftige Säuerung, schwache Gasbildung.	wie früher, aber grössere Gasbläschen.	
5	weder Säuerung noch deutliche Vermehrung.	schwache Säuerung, kaum deutliche Vermehrung.	deutliche Säuerung, gute Vermehrung, keine Gasbildung.	kräftige Säuerung, üppige Entwickelung, deutliche Gasbläschen.
8	Zu keiner Zeit Vermehrung noch Säuerung.			

Bemerkenswertherweise übt das Chlorcalcium in relativ hohen Dosen wie 3—5 % einen ausserordentlich günstigen Einfluss auf die Entwickelung der Kolonieen sowie auf die Dextranhüllenbildung aus. Aber nicht bloss Entwickelung und Dextranbildung, sondern auch Säuerung und Gasbildung werden durch Chlorcalcium-Zusatz günstig beeinflusst. Letztere tritt, wie wir bereits bemerkten, in den früher angeführten Lösungen so schwach auf, dass sie dem blossen Auge völlig entgeht. In den Chlorcalcium-Lösungen dagegen entwickelt sich das Gas in Form von Bläschen, die sich zwischen den wurstartig geformten Theilen der Vegetationsmasse reichlich ansammeln, um schliesslich an die Oberfläche zu steigen. Wem es also darauf ankömmt, eine möglichst reiche Dextran-, Säure- oder Gasbildung zu erzielen, der wird am Besten eine Nährlösung verwenden, welche 3—5 % Chlorcalcium enthält.

Mit dem eben Gesagten stimmt unsere Erfahrung überein, wonach in einer sonst passenden Nährlösung, welche zwar schwach alcalisch gemacht, aber nicht mit Chlorcalcium (auch nicht einmal mit Calciumcarbonat) versetzt wurde, eine so reiche ausgesprochene Gallertbildung, wie sie in der Chlorcalcium-Lösung auftritt, niemals erzielt werden kann. Die Klümpchen bleiben vielmehr klein und isolirt, und später, wenn die Säuerung mehr und mehr zu Tage tritt, treten die Dextranhüllen nur noch in schwächster Form, schliesslich gar nicht mehr auf, sodass man in älteren Kulturen neben der behüllten Form in reicher Menge die hüllenlose vorfindet.

Beide Pilze stimmen nun zwar darin überein, dafs die Concentrationsgrenze für Chlorcalcium zwischen 5 und 8% liegt, sie unterscheiden sich aber insofern etwas, als *L. mesenterioïdes* bei 5% schneller und üppiger wächst als der indische *Leuconostoc*, d. h. schon in 3 Tagen so viel Gallertmasse bildet, als letzterer in 4 Tagen, und ebenso auch schon früher Gasblasen entwickelt. Wiederholung der Versuche lieferte uns dasselbe Resultat.

Um wenigstens ein Beispiel anzuführen, wie üppig die beiden Pilze in einer Nährflüssigkeit gedeihen, welche reichlich Chlorcalcium enthält, so sei erwähnt, dass in einer Lösung, welche enthielt 5% Rohrzucker, 1% Pepton, 0,5% Fleischextract und 4½% Chlorcalcium, im Ganzen 50 g Rohrzucker und 45 g Chlorcalcium bei ca. 20° C. schon nach 4 Tagen ein mächtiger Bodensatz von Gallertmasse durch den indischen Leuconostoc producirt worden war, dessen Frisch-Gewicht (nach vorherigem Auswaschen) 101,5 g betrug, trotzdem die Lösung vorher nicht neutralisirt oder schwach alcalisch gemacht worden war.

Beinahe eben so günstige Wirkung auf beide Pilze zeigten 1—3% Kochsalz, 1—3% Stassfurter Karnallit (Chlorkalium plus Chlormagnesium) sowie auch 1% Natronsalpeter.

Kochsalz (Na Cl).

L. indicum.

%	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen
1	sehr schwache Vermehrung und Säuerung, keine Gasbildung.	reiche Vermehrung, kräftige Säuerung, schwache Gasbildung.		
3	wie oben.	wie oben, aber keine Gasbildung.	reiche Vermehrung, kräftige Säuerung, Gasbildung.	
5	weder deutliche Vermehrung noch Säuerung.	weder Vermehrung noch Säuerung.	Vermehrung schwach, Säuerung sehr schwach,[1] keine Gasbildung.	Vermehrung eben so reich wie bei 3%, ausgesprochene Säuerung, schwache Gasbildung.
10	Zu keiner Zeit Entwickelung oder Säuerung.			

Nicht ganz so günstig wirkt phosphorsaures Kali, doch werden selbst noch 5% recht gut ertragen.

1) Der blaue Lakmusniederschlag ist an der Stelle, wo das eingeimpfte Gallertklümpchen liegt, deutlich roth geworden.

Saures phosphorsaures Kali ($K H_2 PO_4$).

(Lösung durch Kalilauge schwach alkalisch gemacht).

%	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 4 Tagen	nach 8 Tagen
1	sehr schwache Vermehrung und Säuerung, keine Gasbildung.	ziemlich reichliche Vermehrung, kräftige Säuerung, schwache Gasbildung.	wie vorher, aber keine Gasbildung mehr.	
3	kaum deutliche Vermehrung und Säuerung.	ziemlich reichliche Vermehrung, schwache Säuerung, keine Gasbildung.	wie früher, Säuerung ausgesprochener.	
5	kaum deutliche Vermehrung und Säuerung.	Entwickelung ziemlich reichlich, Säuerung schwach, keine Gasbildung.	Vermehrung ziemlich reichlich, Säuerung ausgesprochener, Gasbildung fehlend.	
10	weder Entwickelung noch Säuerung.	weder Entwickelung noch Säuerung.	weder Entwickelung noch Säuerung.	Entwickelung in der hüllenlosen Form, Trübung, höchst schwache Säuerung.
12	zu keiner Zeit Entwickelung oder Säuerung.			

Des weiteren stimmen beide Pilze in ihrem Verhalten zum Sauerstoff überein. Sie wachsen an der Oberfläche gut nährender Substrate recht üppig, nicht minder gut aber in der Tiefe eben dieser Substrate: Mischt man z. B. schwach alkalische Nährgelatine, welche Rohrzucker, Pepton und die üblichen Nährsalze enthält, mit wenigen Keimen eines der Pilze und lässt das Substrat schnell erstarren, so entwickeln sich Kolonieen auch an den tiefsten Stellen des Gefässes in derselben Grösse und Form, wie in den mehr an der Oberfläche gelegenen Schichten (Taf. I Fig. 3). Impft man ferner höhere Schichten jener Gelatine mittelst Impfstichs, so erhält man ebenfalls an allen Stellen desselben, auch an den tiefsten, üppige Entwickelung (Taf. I Fig. 2). Ebenso erfolgt gute Entwickelung in der Tiefe hoher Flüssigkeitsschichten, indessen fällt dieselbe ungleich lebhafter und reicher aus, wenn man (keimfreie) Luft durchleitet.

Um die Pilze bei möglichstem Abschluss von allem Sauerstoff zu züchten, haben wir alkalische Pyrogallussäure benutzt und uns dabei genau an das Buchner'sche Verfahren[1] gehalten. In 5procentiger mit 1% Kochsalz versetzter, sonst wie oben zusammengesetzter Rohrzuckerlösung entwickelten sich die Pilze bei diesen Versuchen vortrefflich und producirten so reichlich Gas, dass die Pilzmassen an die Oberfläche gehoben wurden, was in den entsprechenden Kulturen mit Sauerstoffzutritt nicht geschah. Es scheint hiernach Sauerstoffabschluss die Gährthätigkeit zu begünstigen.

1) Centralblatt für Bacteriologie, IV p. 149.

Mithin gehören beide *Leuconostoc*-Arten zu den Aërobiern, haben aber gleichzeitig die Fähigkeit der Anaërobie.

Fragen wir nun, inwieweit *L. mesenterioïdes* und der indische *Leuconostoc* befähigt sind, Fermente (Encyme) zu produciren, so ist zunächst hervorzuheben, dass beide ein Rohrzucker invertirendes Ferment abscheiden. Zwar behauptete dies auch schon Van Tieghem (l. c.), allein da es sich bei seinen, nur auf *L. mesenterioïdes* bezüglichen Versuchen bekanntermassen nicht um Reinzuchten handelte, so war die wirkliche Sicherstellung dieser Thatsache nicht überflüssig. Der gebildete Traubenzucker wurde mit Fehlings Lösung nachgewiesen. Milchzucker und Maltose dagegen werden weder von dem einen noch dem anderen Spaltpilze invertirt, daher vermögen die Pilze in den Lösungen dieser Stoffe, auch wenn sie sonst in günstigster Weise zusammengesetzt sind, keine Gallertklümpchen, also kein Dextran zu bilden. Cellulose, z. B. die Zellstoffmembranen im Dampftopf sterilisirter Kartoffelstücke zu lösen vermögen die Spaltpilze selbst bei lang dauernder Kultur nicht. Ebenso wird Pilzcellulose nicht gelöst, wovon wir uns dadurch überzeugten, dass wir zwischen die Kolonieen üppiger Schalenkulturen Pilzmycelien (von *Penicillium* und *Aspergillus*) wachsen liessen. Die Membranen derselben erfuhren keine Auflösung, obwohl die Fäden des Schimmels die Froschlaichklümpchen nach allen Richtungen hin durchsetzten. Um zu sehen, ob etwa ein diastatisches Ferment abgeschieden würde, züchteten wir beide Pilze ferner auf durch Erhitzen sterilisirten Kartoffelscheiben, zogen dann diese mit Wasser aus und prüften mit Fehling's Lösung auf Traubenzucker. Allein es ergab sich hier wie bei Versuchen mit stärkehaltiger Nährgelatine ein völlig negatives Resultat, was freilich schon von vornherein hätte erwartet werden können, da beide Pilze auf Kartoffeln niemals Dextranhüllen bilden.

Vermisst haben wir ferner das Vermögen Gelatine und Kaseïn zu peptonisiren. Gelatine wurde selbst dann nicht verflüssigt, wenn sie in schwacher Concentration (5%) angewandt wurde.

Was sodann das Verhalten gegen höhere Temperaturen betrifft, so fiel es den Zuckertechnikern von jeher auf, dass trotz der ziemlich starken, auf 85° C. und darüber steigenden Erwärmung, welcher die Rübensäfte ausgesetzt werden, der *Leuconostoc mesenterioïdes* gleichwohl zur Entwickelung gelangt, und sie vermuthen auf Grund dieser Erfahrung eine besonders starke Widerstandsfähigkeit des Pilzes gegen höhere Temperaturen.

Da diese Frage noch niemals genauer untersucht wurde, so mögen unsere Experimente hierüber mitgetheilt werden. Zunächst haben wir die hüllenlose Kulturform geprüft, wie sie auf Kartoffelscheiben gewonnen wird, und zwar wurde zuvörderst nur wenige Tage altes Material verwandt, weil dies Sicherheit bietet, dass man noch rein vegetative Zellen vor sich hat.

Versuchsanordnung: In ein Wasserbad wurde ein hohes Becherglas gestellt, dieses mit Wasser gefüllt und mit Kork verschlossen. Durch die Bohrung desselben hing ein Reagirglas, das eine Aufschwemmung der Spaltpilzmasse in 10 ccm sterilisirtem Wasser bis zur deutlichen Trübung enthielt, tief in das Wasser hinein. Ein

Thermometer war in das Reagirröhrchen so eingefügt, dass das Quecksilbergefäss ganz in die Flüssigkeit hineinragte. Hierauf wurde allmählich erwärmt. Die Prüfung auf Lebensfähigkeit geschah durch Schalenkultur mit einem Tropfen der Aufschwemmung.

Vers. 1. Binnen 18 Minuten auf 72° C. gebracht und nun 5 Minuten bei **72—73°** gehalten. Ergebniss: Sehr zahlreiche Kolonieen in der typischen Sagokörnerform.

Vers. 2. Binnen 22 Minuten auf 80½° gebracht und nun 5 Minuten bei **80½—81°** gehalten. Ergebniss: Sehr zahlreiche Kolonieen, wie oben beschaffen.

Vers. 3. Binnen 26 Minuten auf 83° gebracht und nun 5 Minuten lang auf **83** bis **83½°** gehalten. Ergebniss: Schon nach 48 Stunden sehr zahlreiche kleine Kolonieen von typischer Leuconostoc-Structur.

Vers. 4. Binnen 30 Minuten auf 85½° gebracht und nun 5 Minuten auf **85½—86°** gehalten. Ergebniss: Keine einzige Kolonie.

Wir haben sodann die Gallertform des Pilzes untersucht und zwar zunächst gleichfalls nur wenige Tage alte Kolonieen, die in üppiger Entwickelung begriffen sicherlich noch lauter vegetative Zellen aufwiesen. Die jungen sagokorngrofsen Gallertballen, wie man sie auf Rohrzucker-Pepton-Gelatine erhält, lassen sich leicht zerdrücken und ihre von Gallertmembran umhüllten Elemente im Wasser fein vertheilen. Im übrigen war die Versuchsanordnung genau wie die obige.

Vers. 1. Binnen 34 Minuten auf 85° gebracht und nun 5 Minuten auf **85—85½°** C. gehalten. Ergebniss: Zahlreiche typische Leuconostoc-Kolonieen schon nach 48 Stunden entstanden.

Vers. 2. Binnen 42 Minuten auf 86½° gebracht und nun 5 Minuten auf **86½—87°** gehalten. Ergebniss: Zahlreiche typische Leuconostoc-Kolonieen schon nach 48 Stunden.

Vers. 3. Binnen 43 Minuten auf 88° C. gebracht und nun 5 Minuten bei **88°** gehalten. Ergebniss: Keine Entwickelung.

Vorstehende Versuchsreihen lehren, dass unter den angeführten Bedingungen:

die gallertumhüllten Zellen der sogenannten Froschlaichform, nur wenige Tage alten, in üppigem Wachsthum befindlichen Kolonieen entnommen, zwischen 87 und 88° C,

die hüllenlosen Zellen der zweiten Kulturform, ebenfalls nur wenige Tage alten, in voller Vegetation befindlichen Kolonieen entnommen, zwischen 83½ und 86½° C abgetödtet werden.

Mithin erwiesen sich solche vegetativen Zustände, welche mit Gallertmembran umhüllt sind, widerstandsfähiger gegen feuchte Hitze, als solche, welche diese Hülle nicht besitzen.

Im Vergleich zu dem Gros der gewöhnlichen Spaltpilze, Hefe- und Schimmelpilze ist die Widerstandsfähigkeit der vegetativen Zellen gegen feuchte Hitze bedeutend zu nennen, denn die meisten dieser Pilze sterben schon bei zwischen 55 und 70° liegenden Temperaturen ab. So liegt, um ein paar Beispiele genauer untersuchter Vertreter zu geben, die obere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit vegetativer Zustände für:

Staphylococcus aureus (Rosenb.) bei 50° (halbstündige Dauer) nach Lübbert.

Bacterium Zopfii Kurth bei 54—59° (inconstante Wärme) nach Kurth.

Bacillus disciformis bei 55—60° (inconstante Wärme) nach Gräfenhan.

Saccharomyces ellipsoïdeus II Hansen bei 56° C (5 Minuten) nach E. Chr. Hansen.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen bei 54° C (5 Minuten) nach E. Chr. Hansen.

Von der genannten Eigenschaft kann man nun Nutzen ziehen, wenn es darauf ankommt, den Pilz von anderen Spaltpilzen, die seinen Gallertmembranen leicht ankleben, zu trennen. Wie eingangs hervorgehoben, haben wir zunächst besondere Mühe gehabt, einen fremden Spaltpilz von dem Ausgangsmaterial abzutrennen, bis wir endlich auf den Gedanken kamen, höhere Temperaturen für diesen Zweck zu verwenden. Das bis auf 75—80° in Wasser erhitzte Material gab bei der Gelatine-Schalenkultur sofort Reinkolonieen. Auch für den indischen Leuconostoc hat dieses Verfahren uns vortreffliche Dienste geleistet, voraussichtlich bewährt es sich bei der Isolirung anderer *Leuconostoc*-Species ebenfalls, wenn es auch vielleicht nicht immer unbedingt nöthig ist.

Im Vorstehenden handelt es sich um Erwärmung des Pilzes in Flüssigkeit, also um feuchte Hitze. Wir haben nun aber auch das Verhalten gegen trockne Hitze geprüft. Junge auf zuckerhaltiger Nährgelatine entstandene Gallertballen wurden in dünnster gleichmässiger Schicht auf Glimmerblättchen ausgestrichen und nach dem Antrocknen, das ziemlich schnell erfolgt, im Trockenschrank allmählich auf eine bestimmte Temperatur gebracht. Die Versuchsanordnung war dabei folgende: Das Glimmerblättchen wurde am Thermometer mittelst Fädchens so befestigt, dass es in gleicher Höhe mit dem Quecksilbergefäss hing, sodann wurde das Thermometer mittelst Wattenpfropfs in ein vollkommen trocknes Reagirglas eingefügt, welches gerade so weit war, dass es genau in eine der oberen Oeffnungen eines doppelwandigen, mit Asbest belegten Trockenschrankes passte. Der kleine Apparat hing also frei in den Trockenraum hinein. Zur Prüfung auf Lebensfähigkeit wurde Schalenkultur und hierbei eine vorzüglich nährende Zucker-Gelatine verwandt.

Vers. 1. Von Zimmertemp. auf **120°** in 26 Minuten. Keine Entwickelung.
Vers. 2. „ „ „ **115°** „ 18 „ „ „
Vers. 3. „ „ „ **114½°** „ 38 Minuten, sodann 5 Minuten bei **114½** bis **115°** gehalten. Keine Entwickelung.
Vers. 4. Von Zimmertemp. auf **100°** in 47 Minuten, sodann 5 Minuten auf ca. **100°** gehalten. Ergebniss: Zahllose Kolonieen in typischen Gallertballen.

Die Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit vegetativer Zustände liegt also bei Anwendung trockner Hitze auf angetrocknetes Material erheblich höher als bei Anwendung feuchter Hitze.

Es war uns nun von Interesse zu erfahren, wie die Zellen alter Kulturen sich verhalten würden, ob sie etwa höhere Temperaturen ertragen könnten oder nicht. Wir bedienten uns für die Versuche zunächst wieder der hüllenlosen Form des Pilzes und zwar einer 5 Monate alten Kultur auf einer schwach sauren Nährgelatine, im übrigen hielten wir uns genau an obige Versuchsweise.

Vers. 1. Binnen 34 Minuten auf 86° gebracht und nun 5 Minuten auf **86—86½°** gehalten. Ergebniss: Keine Entwickelung.

Vers. 2. Binnen 39 Minuten auf 83° gebracht und nun 5 Minuten auf **83—84°** gehalten. Ergebniss: Keine Entwickelung.
Vers. 3. Binnen 30 Minuten auf 83° gebracht und nun 5 Minuten auf **83—83½°** gehelten. Ergebniss: Keine Entwickelung.
Vers. 4. Binnen 30 Minuten auf 81° gebracht und nun 5 Minuten auf **81—81½°** gehalten. Ergebniss: Keine Entwickelung.
Vers. 5. Binnen 24 Minuten auf 75° gebracht und nun 5 Minuten auf **75—76°** gehalten. Ergebniss: Keine Entwickelung.

Wir haben endlich auch mit alten Kolonieen der gallertigen Form experimentirt und zwar mit Material aus einer 5 Monate alten Strichkultur, die auf der schrägen Oberfläche im Reagirglas gezüchtet war und seinerzeit besonders üppig gewuchert hatte. Versuchsanordnung genau die frühere.

Vers. 1. Binnen 37 Minuten auf 86½° gebracht und nun 5 Minuten auf **86½** bis **87°** gehalten: Keine Entwickelung.
Vers. 2. Binnen 33 Minuten auf 85° gebracht und nun 5 Minuten auf **85—85½°** gehalten: Keine Entwickelung.
Vers. 3. Binnen 30 Minuten auf 83° gebracht und nun 5 Minuten auf **83—83½°** gehalten: Keine Entwickelung.
Vers. 4. Binnen 31 Minuten auf 75° gebracht und nun 5 Minuten auf **75—76°** gehalten: Einige wenige Kolonieen, trotz reichlicher Aussaat.

Wir hatten nach Analogie mit verschiedenen anderen Spaltpilzen erwartet, dass die Zellen der alten Kulturen mindestens eben so grosse Widerstandsfähigkeit gegen Hitzegrade haben würden, wie die Zellen ganz junger Kulturen. Statt dessen bekommen wir in beiden Versuchsreihen das eigenthümliche Ergebniss, dass jene nicht einmal 76° ertragen können. Es lag hiernach nahe, eine gänzliche Keimungsunfähigkeit des alten Kulturmaterials zu vermuthen und darauf hin angestellte Versuche bestätigten dies in gewissem Grade: in Nährgelatine von ausgezeichneter Nährfähigkeit, wie sie auch zu obigen Versuchen verwendet worden war, gingen im günstigsten Falle von vielen tausend Keimen nur eine geringe Zahl (etwa 30) auf, die übrigen hatten offenbar ihre Lebensfähigkeit verloren.

Dieses Resultat ist insofern beachtenswerth, als es die von uns auf Grund rein morphologischer Untersuchung gewonnenen Ergebnisse bestätigt, nach welchen *Leuconostoc mesenterioïdes* keine besonderen derbwandigen „Dauersporen“, wie sie Van Tieghem gefunden haben will, producirt.

Wie dieses Absterben in alten Gelatine-Kulturen zu erklären ist, ob durch Einwirkung der von dem Pilze gebildeten Producte speciell der Säure oder durch den Einfluss des Sauerstoffs auf die von Anfang an hüllenlosen oder erst später aus den Hüllen heraustretenden Zellchen, oder aber durch andere Ursachen, muss dahin gestellt bleiben. Jedenfalls wird der Züchter mit der Thatsache, dass die auf festen Substraten gewachsenen Kolonieen im Alter steril werden, zu rechnen haben, sonst kann er leicht das Material ganz verlieren, wie es uns seinerzeit beinahe selbst ergangen wäre.

Wir haben ferner nicht unterlassen zu prüfen, wie alte mit Nährflüssigkeiten erhaltene Zuchten (in Rohrzuckerlösung mit Pepton und den nöthigen Nährsalzen) sich gegen feuchte Wärme verhielten; zumal

Van Tieghem seine Resultate auf Untersuchung erschöpfter Rohrzuckerlösungen stützte. (Er redet ausdrücklich l. c. p. 195 von einem „liquide épuisé"). Benutzt wurde eine 9 Wochen alte Kolben-Kultur (500 ccm einer 10procentigen Rohrzuckerlösung enthaltend), in welcher *Leuconostoc mesenterioïdes* sich reichlich entwickelt hatte. Die Versuchsanordnung war genau die oben eingehaltene.

Vers. 1. Binnen 31 Minuten auf 86° gebracht und nun 5 Minuten auf **86—86½°** gehalten: Innerhalb 8 Tagen keine einzige Kolonie.

Vers. 2. Binnen 26 Minuten auf 75° gebracht und nun 5 Minuten auf **75—76°** gehalten: Innerhalb 8 Tagen ebenfalls keine Entwickelung, trotzdem eine bedeutende Anzahl Keime zur Aussaat verwandt wurde und das Substrat das denkbar günstigste war.

Hieraus ersieht man, dass auch in Nährflüssigkeiten keine Zustände erzeugt werden, welche gegen feuchte Hitze widerstandsfähiger waren, als die vegetativen Zellen; im Gegentheil vermögen diese alten Zellen bei weitem nicht die Hitzegrade zu ertragen, welche die Zellen jugendlicher Kulturen auszuhalten im stande sind. Somit glauben wir behaupten zu dürfen, dass auch in Nährflüssigkeiten keine Dauersporen im Sinne Van Tieghems erzeugt werden.

Da die vorstehenden Experimente sich ausschliesslich auf *L. mesenterioïdes* beziehen, so erübrigte es noch, auch den javanischen Pilz auf sein Verhalten gegen feuchte Hitze zu prüfen. Hierbei kamen junge Kolonieen der mit Gallerthülle versehenen Form aus einer fünftägigen Schalenkultur zur Verwendung, im übrigen wurde die frühere Versuchsanordnung genau innegehalten und ebenso die frühere Prüfung auf Lebensfähigkeit.

Vers. 1. Binnen 34 Minuten auf 83° gebracht und nun 5 Minuten auf **83—83½°** gehalten. Ergebniss: Schon nach 2 Tagen zahlreiche Kolonieen.

Vers. 2. Binnen 38 Minuten auf 86° gebracht und nun 5 Minuten auf **86—86½°** gehalten. Ergebniss: Schon nach 2 Tagen zahlreiche Kolonieen.

Vers. 3. Binnen 51 Minuten auf 86½° gebracht und nun 5 Minuten auf **86½** bis **87½°** gehalten. Ergebniss: Trotz Aussaat sehr zahlreicher Keime nur wenige Kolonieen.

Mithin besitzen die vegetativen Zustände der gallertigen Form des javanischen *Leuconostoc* dieselbe Widerstandsfähigkeit gegen feuchte Hitze wie die entsprechenden Stadien von L. mesenterioïdes, mit anderen Worten: Die Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit der vegetativen Zustände mit Bezug auf feuchte Hitze liegt bei beiden Pilzen unter den angeführten Versuchsbedingungen gleich hoch, nämlich zwischen 87 und 88° C.

Was die Kardinalpunkte der Wachsthumstemperatur betrifft, so haben wir unter Benutzung mehrerer Nährlösungen (Rohrzucker 2%, Traubenzucker 1%, Fleischextract 1%, Kochsalz 0,1% oder Rohrzucker 5%, Pepton 1%, Fleischextract 0,5%, Chlorcalcium 1 bis 3%, überall schwach alcalische Reaction) und unter Verwendung junger in der Schalenkultur gewonnener Gallertkolonieen folgendes Resultat erhalten:

Beide Pilze wachsen und säuern nicht bei 9—11° C; bei 14—15° zeigt sich deutliche Entwickelung und Säuerung erst nach 4—5 Tagen. Das Maximum liegt bei 40—43° C. Das Optimum liegt für *L. mesen-*

terioïdes bei 30—35° C, für den indischen Pilz etwas breiter, nämlich von etwa 30—37° C gehend. Vergleichende mehrfach wiederholte Versuche ergaben bei der von uns gewählten Anordnung, dass der indische *Leuconostoc* bei 37° noch recht gut wuchs, der europäische dagegen sich bei dieser Temperatur nur noch sehr mässig und nicht in der typischsten Gallertform entwickelte, hier also eine Differenz zwischen beiden Spaltpilzen hervortrat. Auch schon bei 21—23° entwickeln sich beide Pilze recht gut, aber nicht so schnell, wie bei etwas höherer Temperatur.

Aus diesen Ergebnissen folgt, dass das Wachsthum der Pilze in den Säften verhindert wird, wenn man Temperaturen von nicht unter 43° C anwendet. Die Technik wird also dahin zu streben haben, bei der Diffusion diese Temperatur möglichst bald zu erreichen. Es darf aber vom Praktiker nicht vergessen werden, dass mit dieser Temperatur nur eine Entwickelungshemmung, nicht aber eine Abtödtung erreicht wird (die wie wir sahen in Flüssigkeiten erst zwischen 87 und 88° C erfolgt). Würde die Temperatur unter etwa 43° C herabsinken, so würde die Möglichkeit zu erneuter Entwickelung der Pilze gegeben sein.

Wenn wir noch nach der Bedeutung fragen, welche die Gallertbildung für die in Rede stehenden Leuconostoc-Formen haben kann, so wäre wohl zunächst zu vermuthen, dass man es hier mit einem Schutzmittel gegen das Austrocknen der Zellen zu thun hat. Mit dieser Meinung harmonirt aber zunächst durchaus nicht die von uns beobachtete Thatsache, nach welcher die Zellchen dieser Pilze im Alter der Kulturen aus den Hüllen herausbefördert werden, sodass sie völlig nackt neben und auf den letzteren daliegen (Taf. II Fig. 3). Diese Erscheinung tritt sowohl auf festen Substraten (z. B. rohrzuckerhaltiger Nährgelatine) als auch in Flüssigkeiten auf. Man kann an manchen Kulturen sehr deutlich sehen, wie die Zellchen allmählich nach der Peripherie der Gallerthüllen hingedrängt werden (Taf. I Fig. 9) und bemerkt oft ganze Klümpchen, die sich der zahlreichen Zellchen, die sie ehemals umschlossen, nahezu vollständig oder auch völlig entledigt haben.

Man könnte nun vielleicht einwenden, dass diese Erscheinungen auf präparativem Wege hervorgerufen sein möchten, die Zellchen etwa durch Druck oder Verschiebung des Deckglases herausgepresst seien, allein diese Verhältnisse zeigen sich auch bei behutsamster Präparation. Eine 4 Monate alte, ehemals üppige Kultur bietet von den schönen prallen Formen der Gallerthüllen, wie man sie in den ersten Wochen vorfindet, absolut nichts mehr: die Hüllen sind verschrumpft, haben statt der früheren Rundung rauhe bis zackige Contouren erhalten, glänzen nicht mehr und sind anscheinend völlig leer (Taf. II Fig. 3). Die frei gewordenen Zellchen liegen in Diplococcusform massenhaft um die Hüllen herum. Aehnlich sind die Verhältnisse in alten Zuckerlösung-Kulturen. Von einer Funktion der Gallert als Schutzmittel gegen das Austrocknen wird also hiernach keine Rede sein können, soweit es sich um oberflächliche Gelatinekulturen obiger Art handelt.

Anders verhält es sich mit der Gallertform der Froschlaichpilze, wenn man sie zur Zeit üppigster Entwickelung aus künstlichen

oder natürlichen Zuckerlösungen herausnimmt und allmählich eintrocknen lässt.

Im Juli 1888 wurden von Herrn Dr. H. Winter grössere Massen des javanischen *Leuconostoc* einer Rohrzuckerfabrik auf Java entnommen und soweit getrocknet, dass die Klümpchen hornartig fest waren. In diesem Zustande wurden sie von ihm mit nach Europa gebracht und hier näher auf Dextran untersucht. Das dem Kryptogamischen Laboratorium überwiesene Material ist jetzt (December 1891) $3^1/_2$ Jahr alt, stets lufttrocken gehalten und so fest, dass die einzelnen sagokornförmigen Ballen selbst mit dem Hammer schwer zu zerkleinern sind. Es wurde in Wasser aufgeweicht, durch Zerreiben zwischen Objectträgern möglichst zertheilt und mit einer Gelatine gemischt, welche enthielt: Rohrzucker 6 %, Traubenzucker 1 %, Fleischextract 1 %, Gelatine 6 %, Kochsalz 0,1 %. Schon nach zwei Tagen waren in der Schalenkultur sehr zahlreiche Kolonieen entstanden, welche den Bau typischer Leuconostoc-Ballen aufwiesen.

Der Pilz ist demnach im Stande, ein $3^1/_2$jähriges Austrocknen in gewöhnlicher Luft vollkommen zu vertragen. Man wird sicherlich nicht fehlgehen, wenn man diese Resistenz auf Rechnung der eintrocknenden Gallertmembranen setzt, die einen gegen zu starken Wasserverlust schützenden Mantel darstellen dürften.

Wir haben oben gezeigt, dass die gallertigen Hüllen selbst junger Kulturen auch gegen die Einwirkung höherer Temperaturen zu schützen im Stande sind. In der Natur freilich dürfte diese Function kaum eintreten, denn Temperaturen von 86—87°, die solche behüllten Zustände noch 5 Minuten lang ertragen, werden unter natürlichen Verhältnissen nicht erzeugt werden.

Ueber die Ursache des Zusammensinkens der vormals prallen Hüllen in älter werdenden Gelatinekulturen (oberflächlichen) fehlt uns noch jeder sichere Anhalt. Es wäre möglich, dass die aus dem Zucker gebildete Säure bei monatelanger Einwirkung das Dextran theilweis in ein anderes Kohlehydrat umwandelt, vielleicht in Zucker, da durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure in der That aus Dextran Zucker entsteht.

Fassen wir zum Schluss die morphologischen und physiologischen Ergebnisse vorliegender Untersuchungen zusammen, so stellen sich dieselben folgendermassen dar:

Was zunächst die Morphologie betrifft, so zeigen beide *Leuconostoc*-Arten einen ausgesprochenen Dimorphismus; derselbe documentirt sich darin, dass unter gewissen Ernährungsverhältnissen eine bisher unbekannte, vollkommen hüllenlose Kulturform entsteht vom habituellen und microscopischen Character eines *Streptococcus*, während unter gewissen anderen Nährbedingungen eine andere mit Gallerthüllen ausgestattete Kulturform erzielt wird, welche der längst bekannten Froschlaichform entspricht. (Ein Blick auf Taf. I Fig. 1 u. 4 zeigt die habituelle, ein Blick auf die Fig. 7 u. 8c die mikroscopische Verschiedenheit beider Kulturvarietäten).

In Bau und Entwickelung beider Leuconostoc-Arten prägen sich die typischen Charaktere der Familie der Coccaceen (Zopf) aus, zunächst insofern, als der Thallus sich in allen Entwickelungsstadien nur immer aus rundlichen, etwa isodiametrischen Zellen aufbaut, von denen zwei immer in engerem Verbande stehen (wie man sagt Diplococcus-Form zeigen). Wir sind daher nicht in der Lage, die Cienkowski'sche, übrigens nicht auf Reinzuchten basirte Angabe, laut welcher in den Entwickelungsgang von *L. mesenterioïdes* auch ausgesprochen-cylindrische Zellformen hinein gehören sollen, als richtig zu bestätigen.

Einer ganz besonderen Aufmerksamkeit haben wir ferner die Frage gewidmet, ob die genannten Pilze im Stande sind, als Endstadien der Entwickelung Zellen zu erzeugen, welche irgend welche Charaktere von „Sporen" aufweisen. Es ist uns indessen trotz vielseitiger Bemühung nicht möglich gewesen, irgend welche sporenartige Zustände, insbesondere die derbwandigen endogenen Sporen (Dauersporen) im Sinne Van Tieghem's aufzufinden.

Die Endstadien der Entwickelung, wie wir sie in oder auf verschiedenen Kultursubstraten (flüssigen wie festen) erhielten, wiesen nämlich gegenüber den vegetativen Zellen keinerlei Merkmale auf, welche zu der Bezeichnung „Dauerspore" berechtigen könnten, auch physiologische nicht, denn es zeigte sich z. B., dass diese Endstadien gegen höhere Temperaturen sogar weniger widerstandsfähig waren, als die vegetativen Zustände, und das ist sicherlich eine beachtenswerthe Thatsache.

Auf Grund dieser unserer Befunde glauben wir annehmen zu dürfen, dass die Van Tieghem'schen Dauersporen weder beim *L. mesenterioïdes* noch beim javanischen *Leuconostoc* existiren. Ob der genannte Forscher, der ebenfalls nicht mit wirklichem Reinmaterial arbeitete, durch Verunreinigungen oder durch eine vorgefasste Meinung irre geführt wurde, könnten wir füglich dahingestellt sein lassen.

Existirt aber keine Dauersporenbildung im Van Tieghem'schen Sinne bei *Leuconostoc*, so fällt auch die von Van Tieghem behauptete Analogie mit der Algengattung *Nostoc* hinweg, eine Analogie, die man gern ins Feld führte, wenn es bei speculativen Betrachtungen galt, die vollständige morphologische Analogie zwischen gewissen Spaltpilzen und gewissen Spaltalgen zu betonen, wie dies zuerst von seiten De Barys[1] geschah, der allerdings die Van Tieghem'schen Behauptungen nicht nachprüfte.

Bei den im physiologischen Abschnitt niedergelegten Untersuchungen stellte sich heraus, dass die beiden *Leuconostoc*-Arten im Stande sind, Traubenzucker, Rohrzucker (nach vorheriger Invertirung), Milchzucker (auch der Milch), Malzzucker und Dextrin zu vergähren unter Bildung von Gas und Säure.

Die von Scheibler für *L. mesenterioïdes*, von Winter für den javanischen Pilz nachgewiesene Dextranbildung findet nur bei Gegenwart von Traubenzucker statt, nicht in Lösungen von Milchzucker

1) Vorlesungen über Bacterien, II. Aufl. p. 30.

(incl. Milch), Maltose, Dextrin, weil diese Kohlehydrate, ebenso wie Glycerin, nicht assimilirt werden können. In kohlehydrat-freien Lösungen von Pepton oder Asparagin erfolgt zwar Entwickelung, aber natürlich keine Dextranbildung. Das Dextran ist ein Assimilationsprodukt, nicht aber ein Gährungsprodukt; man darf daher nicht von einer Dextrangährung reden.

Beide Pilze erzeugen ferner ein Rohrzucker invertirendes, aber kein diastatisches und kein Cellulose lösendes, auch kein Gelatine oder Kaseïn peptonisirendes Enzym. Sehr günstig auf Wachsthum, Säuerung und Gasbildung beider Pilze wirkt ein relativ beträchtlicher Chlorcalciumzusatz zu den Lösungen. Ferner stimmen sie überein in ihrem Verhalten zum Sauerstoff (facultative Anaërobie), sowie auch darin, dass die obere Tödtungsgrenze der vegetativen Zustände im Vergleich zu anderen Spaltpilzen sehr hoch und gleich hoch liegt, und die gallertige Form erheblich widerstandsfähiger gegen Hitze erscheint, als die hüllenlose.

Angesichts der so auffälligen Uebereinstimmung in allen ermittelten morphologischen Charakteren und in einer Reihe von wichtigen physiologischen Eigenschaften glauben wir beide Pilze mit einander identificiren zu sollen. Die kleinen Differenzen, welche sich in Bezug auf das Optimum der Wachsthumstemperatur und das Verhalten in 5procentiger Chlorcalciumlösung ergaben, dürften jedenfalls nur zur Unterscheidung einer var. *indica* berechtigen, nicht aber zur Abtrennung des indischen Pilzes als besondere Species ausreichen.

Tafel I.

Leuconostoc mesenterioïdes Cienk.

1. Eine 14 Tage alte Reinkultur der gallertigen Form des Pilzes, auf zucker- und peptonhaltiger Nährgelatine im oberflächlichen Impfstrich erwachsen. Natürliche Grösse.
2. Eine 14 Tage alte Reinkultur der Gallertform im Impfstich eben solcher Gelatine entstanden, von Gestalt eines Eiszapfens. Nat. Grösse.
3. Gallertige Form in ähnlicher Gelatine, aus einzelnen Keimen hervorgegangen; 11 Kolonieen von Gestalt gequollener Sagokörner, 14 Tage alt. Nat. Grösse.
4. Gallertfreie Varietät, 14 Tage alte Reinkultur auf besonders zusammengesetzter zuckerfreier Nährgelatine, im Impfstrich der schrägen Fläche entstanden, einen dünnen weisslichen Schleimüberzug darstellend, der zu der Gallertform der Fig. 1 in scharfem Gegensatze steht. Nat. Grösse.
5. Gallertfreie Varietät in eben solcher Nährgelatine, im Impfstich erwachsen. Nat. Grösse.
6. Gallertfreie Varietät auf im Dampftopf sterilisirter Kartoffelscheibe im kreuzweis gezogenen Impfstrich in Form dünner weisslicher Schleimüberzüge erwachsen. Nat. Grösse.
7. Zellverbände der hüllenlosen Varietät, von der in Fig. 5 abgebildeten Kartoffel-Kultur entnommen, vom Charakter eines *Streptococcus*. Zeiss. Apochr. $\frac{2\text{ mm}}{1{,}30}$ Ocul. 12.
8. Entwickelungsreihe, von ähnlichen Zellverbänden ausgehend, die der in Fig. 4 abgebildeten Gelatine-Kultur entstammten; a) hüllenlos; b) dieselben nach 24stündiger Kultur in Melasselösung, Hüllen bereits vorhanden, aber noch nicht stark

entwickelt (bei x ein Zellenpaar vom Scheitel gesehen); c) nach 48stündiger Kultur in Melasse; Hüllen stärker entwickelt, z. Th. in einander geschachtelt. Vergr. wie vorher.

9. Ein kleines Gallertklümpchen, aus welchem die Zellchen herausgedrängt sind. Vergr. wie früher.

Tafel II.

Fig. 1—3. Leuconostoc mesenterioïdes Cienk.

1. Stück einer Gelatineschalenkultur mit meist oberflächlichen, 10 Tage alten Gallertkolonieen, 2fach vergr.
2. Eine junge, rundliche, aus einzelnen Gallertklümpchen zusammengesetzte Kolonie aus dem Innern einer Gelatine-Schalenkultur, 150fach.
3. Gallertklümpchen aus einer 4 Monate alten Gelatinekultur. Die Hüllen sind zusammengesunken und haben ihre frühere Form ganz verloren; die Zellchen sind sämmtlich aus ihnen herausgedrängt; 690fach.

Zur Kenntniss der Färbungsursachen niederer Organismen.

Von

W. Zopf.

Im Laufe der letzten drei Jahre habe ich eine Reihe von Farbstoff-Untersuchungen ausgeführt, welche sich theils auf Kryptogamen aus den Gruppen der Algen, Pilze, Flechten, Spaltpilze, theils auf niedere Thiere (vorzugsweise Mycetozoen) beziehen. Sie sollen zumeist erst in den folgenden Heften dieser Beiträge mitgetheilt werden. In diesem Heft berichte ich

I. Ueber das Haematochrom.

Zur richtigen Beurtheilung der physiologischen Bedeutung eines Stoffwechselproduktes wird es immer nöthig sein, dasselbe vorerst seiner stofflichen Natur und seinen physikalischen Eigenschaften nach möglichst genau kennen zu lernen.

Das gilt natürlich auch für den rothen Farbstoff, welchen F. Cohn zuerst in seinen Nachträgen zur Naturgeschichte des *Protococcus pluvialis* unterschied, später auch für gewisse andere grüne Algen, nämlich „Volvocineen, Protococcaceen, Palmellaceen und Chroolepus, sowie für die Sporen mancher Chlorosporeae *(Sphaeroplea, Bulbochaete, Volvox)*“, ferner für einen den Protozoen zugehörigen Organismus, *Euglena sanguinea* konstatirte und mit dem Namen des Haematochroms belegte[1].

Aber gerade über die Natur dieses Körpers wissen wir zur Zeit nichts Sicheres, da alle die Forscher, die sich mit ihm beschäftigten, wie Cohn (l. c.), Caspary[2], Hildebrand[3], Rostafinski[4], Frank[5], G. Klebs[6], G. Karsten[7] dies nur gelegentlich anderer Untersuchungen

1) Beiträge zur Physiologie der Phycochromaceen und Florideen in M. Schultze's Archiv für mikroscop. Anatomie, Bd. III (1867) p. 44.

2) Die Zoosporeen von Chroolepus. Flora 1858.

3) Ueber ein Chroolepus mit Zoosporenbildung. Bot. Zeit 1861. p. 82.

4) Botanische Zeit. 1881. p. 461.

5) Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Bd. II p. 157. 160.

6) Ueber die Organisation einiger Flagellaten-Gruppen und ihre Beziehung zu Algen und Infusorien. Unters. aus dem bot. Inst. Tübingen, Bd. I p. 260.

7) Untersuchungen über die Familie der Chroolepideen. Ann. du Jardin bot. de Butienzorg, Bd. X (1890) p. 38.

thaten und sich nicht die specielle Aufgabe stellten, ihn möglichst rein darzustellen und näher zu prüfen.

Es wurden daher von den betreffenden Autoren entweder nur einige mikrochemische Reactionen gemacht oder man stellte im günstigsten Falle einen rohen Extract her, auf den man einige Reagentien einwirken liess. Jedenfalls handelte es sich bei diesen Untersuchungen stets um Gemische von Haematochrom, Chlorophyll, Fett und anderen Substanzen.

Cohn charakterisirte (l. c.) sein Haematochrom als „ein scharlachrothes, in Alkohol und Aether lösliches, durch Jod blau werdendes Oel" und hebt gleichzeitig hervor, dass „dieser Farbstoff vom Rhodophyll der Florideen wie von dem purpurnen Phycochrom vieler Oscillarineae durchaus verschieden" sei. Caspary und Hildebrandt beobachteten an *Chroolepus umbrinum* und *Chr. lageniferum* Hildebr. jene Jodreaction ebenfalls und Rostafinski fügte eine andere, schon früher von De Bary an den Oosporen von *Bulbochaete* beobachtete Reaction, nämlich die Blaufärbung mit Schwefelsäure hinzu, die freilich an und für sich nicht ausnehmend charakteristisch ist, da sie auch anderen Farbstoffen, wie dem Bacteriopurpurin und dem Chrysochinon (Liebermann) zukommt. Er untersuchte die Farbstofflösung von *Trentepohlia aurea* auch spectroscopisch, aber da sie nicht zuvor von Chlorophyll befreit war, erhielt er kein charakteristisches Absorptionsspectrum, sondern ein Mischspectrum.

Karsten sagt von dem Haematochrom gewisser Chroolepideen, dass es sich durch absoluten Alkohol, insbesondere aber durch Aether-Alkohol und Chloroform extrahiren lasse; man erhalte eine gelbe Flüssigkeit (es wurde *Trentepohlia maxima* verwandt), welche obige Reactionen (Blaufärbung mit Schwefelsäure, mit Jod und Chlorzinkjod) sowie Braunfärbung durch Osmiumsäure zeige. Nach Verdampfung des Extractionsmittels verbleibe ein gelber Rückstand, der den für *Trentepohlia Jolithus* insbesondere, aber auch für andere Formen charakteristischen Geruch zeige und im Dunkeln die Farbe behalte; am Licht verblasse dieselbe sehr bald, der Geruch aber bleibe. Neu in diesen Angaben Karsten's ist die Osmiumsäurereaction des rohen Extracts, sie könnte aber möglicherweise, da ein solcher Auszug aus Trentepohlia stets Fett enthalten muss, eine blosse Fettreaction bedeuten.

Karsten hat nun auch die physiologische Rolle erwogen, welche das Haematochrom, speciell bei den Trentepohlien spielt.

Er zieht zwei Möglichkeiten in Betracht: die Funktion als Reservestoff einerseits und die eines Schutzmittels für den Zellinhalt andererseits, um schliesslich zu der Ueberzeugung zu kommen, „dass das Haematochrom für die aus inneren oder äusseren Gründen nicht in voller Vegetation befindlichen Algenzellen ein Schutzmittel darstellt. Ob es nun, so fährt er fort, als schützender Mantel die im Innern verborgenen Chlorophyllkörper vor zu intensivem Lichte schützt — sei es durch Reflexion oder Absorption — von dem dieselben derzeit doch keinen Nutzen ziehen könnten aus anderen die Vegetation hindernden Gründen, oder ob es etwa durch irgend welche Eigenschaften dem

Plasma die Fähigkeit verleiht, das Austrocknen zu ertragen, das mag einstweilen dahingestellt bleiben."

Ich habe nun seit längerer Zeit darauf gefahndet, irgend eine Haematochrom bildende Alge in grösserer Menge in die Hand zu bekommen. Bei meinem diesjährigen Aufenthalt im Riesengebirge fiel mir so recht auf, in welcher Massenhaftigkeit *Trentepohlia Jolithus*, die vom Volksmunde als „Veilchenmoos" oder (mit der Unterlage) als „Veilchenstein" bezeichnete, dem Touristen vielfach zum Verkauf angebotene Alge aufzutreten vermag. Im feuchten Zustande bekanntlich durch intensiv ziegelrothes, im Alter zu mehr rothbraunen Tönen übergehendes Kolorit ausgezeichnet, wuchert sie in feuchteren Lagen so üppig, dass sie mit ihren zusammenfliessenden Räschen zahllose kleine und grössere Felsblöcke mehr oder minder continuirlich überkleidet und dadurch oft schon von weitem die Aufmerksamkeit auf sich lenkt.

Da sich hier eine günstige Gelegenheit bot, ausreichende Materialien für eine Haematochrom-Untersuchung zusammenzubringen, so nahm ich dieselbe alsbald wahr. Von den Felsblöcken lässt sich die Alge mit dem Messer unschwer abschneiden und abschaben, wenn man hierzu die Morgenstunden benutzt, wo die Räschen durch die Thaufeuchtigkeit noch eine gewisse Weichheit besitzen. Auf diese Weise habe ich im Laufe mehrerer Wochen relativ bedeutende Quantitäten eingeheimst.

Die abgehobene Algenmasse riecht bekanntlich, namentlich im feuchten Zustande, deutlich nach Mohrrüben, oder, wie andere sagen, nach Veilchen. Die Mehrzahl der Personen, denen ich die Massen zu riechen gab, erklärten den Geruch für mohrrübenartig. Da die Räschen bekanntlich nach längerer oder kürzerer Zeit ihre schön rothe Färbung verlieren, so zog ich vor, die gesammelten Mengen bald in Alcohol absolutus einzubringen und im Dunkeln zu halten.

Beim Hantiren mit der Alge, namentlich auch beim Zerreiben derselben, färben sich die Finger intensiv gelb, die Farbe hat etwas Fettiges und wird daher von Wasser nicht weggelöst.

Auf mikroscopischem Wege lässt sich leicht die längst bekannte Thatsache feststellen, dass der Sitz der Färbung im Inhalt der Zellen zu suchen ist und speciell die in reicher Menge vorhandenen, meist relativ sehr grossen Fetttröpfchen als Träger der die rothe Färbung bedingenden Substanz anzusprechen sind, denn diese erscheinen intensiv goldgelb bis orangeroth tingirt.

Alle die genannten Momente — die ziegelrothe Färbung der Algenmasse, ihr eigenthümlicher Mohrrübengeruch, die Lichtempfindlichkeit des rothen Farbstoffs, sein Gebundensein an Fett, seine charakteristische Blaufärbung mit Schwefelsäure — schienen mir darauf hinzudeuten, dass man es hier möglicherweise mit einem carotinartigen Pigment (einem Lipochrom im Sinne Krukenbergs) zu thun habe. Ich will nun zeigen, dass dies in der That der Fall ist.

Absoluter Alkohol färbt sich beim Einbringen der Alge sofort leuchtend gelb. Bleiben die Algenmassen längere Zeit mit einer mässigen Menge Alkohols in Berührung, so erhält man einen concentrirten Auszug von sehr dunkler, in dicker Schicht fast schwarzbrauner Färbung.

Ich füllte denselben nach vorherigem Filtriren in weite Reagirgläser und liess diese an einem dunklen Orte einige Tage lang ruhig und offen stehen.

Es krystallisirte innerhalb dieser Zeit ein Farbstoff aus, der den Boden und z. Th. auch die Seitenwände mit einem dichten Krystall-Ueberzuge von malven- oder ziegelrother bis blutrother Farbe bedeckte und beim Abgiessen der Flüssigkeit sitzen blieb. An der oberen Grenze dieser Krystallschicht hatte sich eine schmale Zone eines goldgelben fettartigen Stoffes ausgeschieden und über diesem eine schmale schmutzig-grüne Zone einer andern Substanz. Die abgegossene Flüssigkeit setzte, in andere Reagirgläser eingefüllt, wiederum eine rothe Krystallschicht, wenn auch in dünnerer Form ab.

Die so gewonnenen Massen sind es, welche das Haematochrom der Veilchenalge darstellen. Die Krystallschicht besteht aus Drusen kleinster nadel- oder blättchenförmiger, bei gekreuzten Nikols mit carmoisin-rother bis rothgelber Farbe leuchtender Kryställchen und zeigt in gewisser Lage zum Licht einen metallisch grünen Schimmer. (Auch die extrahirten Algentheile schimmern nach Abgiessen des Alkohols deutlich metallisch-grün, weil sich eine feinste Schicht der rothen Kryställchen auf ihnen abgesetzt hat).

In Wasser völlig unlöslich lösen sich die Krystalle ziemlich leicht und sehr reichlich in Alcohol absolutus, leichter noch in Aether, Chloroform, Petroläther, Benzol, Schwefelkohlenstoff, sehr leicht auch in fetten und ätherischen Oelen. Im concentrirten Zustande zeigen alkoholische Chloroform- und ätherische Lösungen blutrothe Färbungen, sonst orangerothe bis gelbe.

Die tinctoriale Kraft des Farbstoffs ist so bedeutend, dass schon die geringste Menge desselben eine ziemlich grosse Quantität jener Lösungsmittel noch gelb zu färben vermag. Aus der Chloroformlösung krystallisiren bei freiwilliger Verdunstung des Lösungsmittels unregelmässige rothe Aggregate winziger Nädelchen heraus.

Die Lösungen des Farbstoffs sind völlig frei von Fluorescenz. Im verdünnten Zustande bei Sonnenlicht untersucht (ich benutzte hierzu ein Zeiss'sches Spectralocular) bieten sie ein sehr charakteristisches Spectrum dar, denn in der blauen Hälfte traten zwei dunkle Absorptionsbänder auf, das eine bei F, das andere zwischen F und G gelegen (Taf. II, Spectrum IV).

Befeuchtet man die rothe Krystallmasse mit concentrirter Schwefelsäure, so nimmt sie eine ganz rein indigoblaue Farbe an, während mit concentrirter Salpetersäure ein schmutziges, bald verschwindendes Dunkelblau entsteht. Jodjodkalium bewirkt, dass das Roth in Dunkelgrün umgewandelt wird, Osmiumsäure färbt sie schwarz.

An der rothen concentrirten Lösung der Krystallmasse in Alkohol habe ich folgende Reactionen beobachtet. Mit tropfenweis zugesetzter concentrirter Schwefelsäure erhält man eine tiefgrüne Färbung, die bei weiterem Zusatz ins tief Blaugrüne, dann ins tief Indigoblaue übergeht (bei auffallendem Licht erscheint die Flüssigkeit schwarz). Fügt man hierzu ziemlich concentrirte Natronlauge, so geht

diese dunkelblaue Färbung wieder in Blaugrün, dann Olivengrün, dann mehr Gelb über.

Versetzt man jene alkoholische Lösung mit concentrirter Salpetersäure, so wird sie schön blaugrün, bei weiterem Zusatz dunkelblau, dann violett. Dieser Ton geht beim Stehen ins Rothbraune, schliesslich ins Gelbe über.

Jodjodkalium bewirkt eine rothbraune, bei weiterem Zusatz olivengrüne bis olivenbraune Färbung, Ueberosmiumsäure eine reiche Fällung, deren anfangs gelbe Farbe allmählich ins Olivengrüne übergeht, dann ins Olivenbraune, bis man schliesslich eine tintenschwarze Flüssigkeit vor sich hat.

Gegen gewöhnliches Tageslicht sind die rothen Krystalle so empfindlich, dass bereits binnen 24 Stunden völlige Entfärbung eintritt. Ein mit der alkoholischen Lösung getränkter Streifen schwedischen Filtrirpapiers verliert seine orangegelbe Farbe in noch kürzerer Zeit. Fügt man einer concentrirten Lösung so viel Wasser zu, dass man nach dem Umschütteln eine hellorangene Suspension hat, giesst dann diese in eine flache dem Tageslicht am Fenster ausgesetzte Schale aus, so tritt binnen 25 Minuten völlige Entfärbung ein, selbst wenn die Schicht 3—5 cm hoch war.

Nach diesen Erfahrungen ist es unbedingt nöthig, Krystalle und Lösungen frisch zu untersuchen und sie zum Zwecke der Aufbewahrung vor jedem Lichtzutritt vollständig zu schützen.

Der weisse Krystalle bildende Körper, in welchen der Farbstoff durch die Wirkung des Lichtes umgewandelt wird, zeigt Cholesterinähnliche Reaction (seine Chloroformlösung färbt sich bei Schwefelsäurezusatz blutroth)[1].

Die auf dem oben angegebenen einfachen Wege gewonnene Krystallmasse ist aber sicherlich noch nicht vollkommen rein (und hierauf deutet auch der schwache Schatten hin, der sich zwischen den beiden Bändern und der rechten Endabsorption zeigt), jedenfalls noch nicht ganz frei von Fett. Zur Abtrennung des Letzteren wurde die alkoholische Lösung der rothen Krystalle mit in geringem Ueberschuss verwandter 30procentiger Natronlauge verseift. Nach Hinzufügung von heisser concentrirter Kochsalzlösung scheidet sich die gebildete Seife in schön apfelsinengelben Flocken ab. Sie wurde auf dem Filter gesammelt, mit Wasser ausgewaschen, oberflächlich mit Fliesspapier getrocknet und endlich mit Aether ausgezogen[2], der den durch die Verseifung freigemachten Farbstoff sofort mit tiefgelber Farbe aufnimmt. Nachdem diese Lösung mit Wasser gewaschen und filtrirt war, zeigten sich im Spectroscop die beiden Bänder viel schärfer als früher, d. h. völlig frei von den früheren sie verbindenden Schatten. Das erste Band reichte etwa von λ 488 bis λ 473, das zweite von λ 455 bis λ 442.

---

1) Die Frank'sche Angabe (l. c. p. 157) von der „Flüchtigkeit" des Farbstoffes ist nach dem Gesagten nicht ganz zutreffend.

2) Alle diese Manipulationen wurden möglichst bei Lichtabschluss vorgenommen.

Um den so gereinigten Farbstoff zur Krystallisation zu bringen, thut man am besten, die ätherische Lösung einzudampfen, den Rückstand mit wenig Alcohol absolutus aufzunehmen und diese concentrirte Lösung einige Zeit im Dunkeln stehen zu lassen. Es setzen sich dann an den Glaswänden rothe Kryställchen des Pigments in Nadelform oder in Form von kleinen Drusen ab.

Dieselben zeigen alle die obigen für die noch nicht ganz reine Masse angegebenen Eigenschaften. Der durch Verseifung gereinigte Farbstoff ist nach meinen Versuchen eben so lichtempfindlich wie der nicht gereinigte, ja eine geringe Menge der ätherischen Lösung verliert beim Eindampfen auf dem Wasserbade ihre Farbe sofort und fast vollständig.

Aus dem Mitgetheilten wird man ersehen, dass das Haematochrom der *Trentepohlia Jolithus* den carotinartigen Farbstoffen (Lipochromen Krukenberg's) zugehört.

Gemeinsam sind allen diesen Pigmenten das Gebundensein an Fettsäureester oder an Chromoplasten (Schimper), die oben angeführten Löslichkeitsverhältnisse, die Gelb- bis Rothfärbung der Lösungen, die grosse tinctoriale Kraft, die Fähigkeit im festen oder halbfesten Zustande (oder auch in concentrirten Lösungen) mit conc. Schwefel- oder Salpetersäure blaue, mit Jodlösungen blaue oder grüne mit Osmiumsäure schwarzbraune Verbindungen zu bilden, ferner Fluorescenzmangel der Lösungen, die Fähigkeit blaue oder grüne Lichtstrahlen zu absorbiren (charakteristische Absorptionsbänder) Unbeständigkeit im Licht, leichte Umwandlung in Cholesterin.

Die Carotine sind aber unter sich nicht sämmtlich gleich. Es giebt solche, die ihrem spectroscopischen Verhalten nach mehr der rothen und solche, die der gelben Reihe angehören.

Carotine der ersteren Art sind dadurch ausgezeichnet, dass sie ein einziges breites Absorptionsband im Grün besitzen (Taf. II, Spectrum I bis III); sie sind bisher nur bei Spaltpilzen und zwar bei *Micrococcus rhodochrous* Z. und *M. Erythromyxa* Z. gefunden worden[1].

Unter den Carotinen der gelben Reihe sind zu unterscheiden diejenigen, welche vier Absorptionsbänder besitzen, ein sehr schmales im Grün, zwei etwas breitere im Blau und ein sehr schmales im Violett (Taf. II, Spectrum VII); und diejenigen, welche nur zwei Absorptionsbänder zeigen, beide im Blau (Taf. II, Spectrum IV—VI).

Zu der ersteren Kategorie gehört das von mir in *Lycogala*-Arten (Mycetozoen) gefundene Carotin[2], zu der letzteren das Carotin der Mohrrüben, der gelben Blüthen und Früchte, der grünen Blätter[3], gewisser

1) A. Overbeck, Zur Kenntniss der Fettfarbstoff-Produktion bei Spaltpilzen. Nova acta Leop. Carol. Acad. Bd. 55. Nr. 7 (1891) u. W. Zopf, Ueber Ausscheidung von Fettfarbstoffen (Lipochromen) seitens gewisser Spaltpilze. Ber. der deutsch. bot. Ges. 1891.

2) Vorkommen von Fettfarbstoffen bei Pilzthieren. Flora 1889.

3) Vergl. A. Hansen, die Farbstoffe des Chlorophylls. Darmstadt 1890. Daselbst auch die übrige Litteratur über Carotine.

Bacterien[1], gewisser Pilze[2] sowie auch das sog. Lutein in der Netzhaut, den Corpora lutea, dem Hühnerdotter etc.[3].

Nach dem nun, was ich zur Charakteristik des Haematochroms von *Trentepohlia Jolithus* mittheilte, hat man diesen Farbstoff den Carotinen der gelben Reihe mit 2 Absorptionsbändern anzugliedern und unmittelbar neben das Carotin der Mohrrübe zu stellen. Die Uebereinstimmung mit diesen ist in allen angeführten Punkten so gross, dass man sich versucht fühlen könnte, beide zu identificiren, wenn nicht genaue chemische Untersuchungen hierin das letzte Wort zu sprechen hätten.

Ausser *Trentepohlia Jolithus* habe ich noch ausführlich *Tr. umbrina* und *aurea* auf ihr Haematochrom untersucht und gefunden, dass dasselbe mit dem Jolithus-Carotin in allen Eigenschaften (Löslichkeitsverhältnissen, chemischen Reactionen, Absorptionsspectrum) völlig übereinstimmt. Auf Grund der Angaben Karsten's (l. c. p. 38) und Anderer dürfte mit Sicherheit anzunehmen sein, dass sämmtliche *Trentepohlien*, *Phycopeltis*- und *Cephaleurus*-Arten zu den Carotin-Erzeugern zu rechnen sind.

Ob alle die sonstigen, von F. Cohn als Haematochrom bildend bezeichneten (oben angeführten) Algen gleichfalls Carotin erzeugen oder aber einen andern Farbstoff, werden weitere Untersuchungen zu entscheiden haben.

Mit dem Nachweis der Carotin-artigen Natur des Veilchenalgen-Haematochroms dürfte eine gewisse Basis gewonnen sein für Erwägungen betreffs der physiologischen Rolle dieses Pigments. Freilich erfährt diese Basis von vornherein eine Einschränkung durch den Umstand, dass wir trotz neuerer Untersuchungen noch keine sichere Kenntniss von der Constitution der Carotine haben. Zwar wird von Arnaud[4] behauptet, dass das in den Mohrrüben und grünen Blättern vorkommende Carotin ein farbiger Kohlenwasserstoff sei, allein diese Ansicht stösst bei competenten Chemikern, die ich darüber befragte, auf entschiedenen Widerspruch.

Was den morphologischen Ort der Entstehung des *Trentepohlia*-Carotins anbetrifft, so muss ich hervorheben, dass es nicht etwa, wie das Carotin der Mohrrübe und gewisser Blüthen und Früchte nach Schimper[5], seitens sogenannter Chromoplasten producirt wird; der-

1) Ueber Pilzfarbstoffe. Bot. Zeit. 1889. p. 89.

2) E. Bachmann, Spectroscopische Untersuchung von Pilzfarbstoffen, Plauen 1886, u. W. Zopf, Die Pilze, Breslau 1890, p. 144 ff.

3) Um kurze Ausdrücke für diese verschiedenen, spectroscopisch so scharf charakterisirten Carotine zu haben, schlug ich l. c. vor, die der gelben Reihe angehörigen als Lipoxanthine zu bezeichnen (anknüpfend an die alten Namen Xanthin, Anthoxanthin, Phycoxanthin) und sie nach der Zahl der Absorptionsbänder als Di-Lipoxanthine und Tetra-Lipoxanthine zu unterscheiden, während ich die der rothen Reihe angehörigen als Liporhodine benannte. Allein da diese Farbstoffe doch unzweifelhaft Carotine im Sinne der neueren Forschungen darstellen, so empfiehlt es sich vielleicht, den Ausdruck „Carotine" für alle Fälle festzuhalten und nur noch von Tetra-, Di- und Monocarotinen zu sprechen.

4) Recherches sur la carotine. Compt. rend. CIX p. 911.

5) Ueber die Entwickelung der Chlorophyllkörper und Farbkörper. Bot. Zeit. 1883.

gleichen enthält die Alge bestimmt nicht; man trifft es vielmehr stets an Fetttröpfchen gebunden an, offenbar zunächst aus dem Grunde, weil das in meist so reichlicher Menge in den Zellen enthaltene fette Oel ein vorzügliches Lösungsmittel für Carotin darstellt. Ob es aber etwa aus einem Theile des Fettes erzeugt wird — Krukenberg[1] hält es für wahrscheinlich, dass die Carotine (seine Lipochrome) in den meisten Fällen aus fettartigen Substanzen hervorgehen — dafür haben wir zur Zeit gar keinen Anhalt. Es kann auch sehr wohl sein, dass das Carotin an anderer Stelle, nämlich in den Chlorophoren entsteht und erst nachträglich von dem Fett aufgenommen wird. In den Chloroplasten der höheren Pflanzen scheint ganz allgemein neben dem Chlorophyllgrün Carotin (Chlorophyllgelb der Autoren) gebildet zu werden[2], ja das Chlorophyllgrün kann augenscheinlich ganz in Carotin umgewandelt werden, wie es in gewissen roth werdenden Früchten, z. B. im Fruchtfleisch von *Rosa* geschieht (Schimper l. c.). Auch Cohn (l. c. p. 44) sagt schon: „Die Beobachtung zeigt, dass in gewissen Entwickelungsstadien jener Algen (er meint die eingangs angeführten) das rothe Haematochrom sich auf Kosten und vermuthlich auch direkt aus dem Chlorophyll umbildet".

Ueber diese Dinge werden wir aber jedenfalls nicht eher sichere Aufklärung erlangen, bis man das Chlorophyllgrün, dessen Darstellung A. Hansen (l. c.) neuerdings offenbar gelungen ist, sowie das Carotin, nach ihrer Constitution genau erkannt haben wird[3].

Andererseits ist wohl zu beachten, dass gewisse Carotine, die bezüglich ihrer chemischen und physikalischen Seite von dem *Trentepohlia*-Carotin auch in keinem einzigen Punkte Abweichungen zeigen, mit Chlorophyllbildung in keinerlei Zusammenhang stehen, weil sie in chlorophyllfreien niederen Organismen zur Bildung gelangen (Schleimpilzen, Bacterien, ächten Pilzen) oder in chlorophyllosen Organen höherer Pflanzen und Thiere, wie z. B. in der Mohrrübenwurzel, im Eidotter, der Retina u. s. w. entstehen.

Ob in solchen chlorophyllfreien Organismen oder Organen etwa Cholesterine, in welche sich die Carotine so leicht umwandeln, oder Fettsäuren, an deren Ester sie überall gebunden zu sein scheinen, oder irgend welche anderen Kohlenstoffverbindungen das Material für Carotinbildung darstellen, darüber haben wir zur Zeit nur Vermuthungen.

Ob die Erzeugung des Carotins von *Trentepohlia Jolithus* etwa vom Licht abhängig ist, habe ich nicht prüfen können, da ich zu der Zeit, wo mir der Gedanke an diese Frage kam, kein Material mehr zur

1) Vergleichend physiolog. Vorträge. III. Grundzüge einer vergleichenden Physiologie der Farbstoffe und Farben. Heidelberg 1884, p. 85.

2) Vergl. auch A. Zimmermann, Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle. Schenk's Handbuch, Bd. IIIb p. 555.

3) Die von Rostafinski (l. c.) gemachte Angabe, dass die Haematochromlösung aus *Trentepohlia Jolithus* am Lichte grün, zu Chlorophyll oxydirt werde, beruht sicherlich auf irgend einer Täuschung. Ich kann bestimmt versichern, dass irgend welche Lösung der Krystalle des Jolithus-Haematochroms am Licht stets binnen kurzer Zeit vollständig farblos wird, niemals aber grüne Farbe annimmt.

Verfügung hatte. Ich möchte jedoch daran erinnern, dass das sehr ähnliche Carotin von *Bacterium egregium* nach meinen Versuchen sowohl im Licht als bei Abschluss desselben gebildet wird, und das Gleiche gilt nach Overbeck (l. c.) für *Micrococcus rhodochrous* und *Erythromyxa*, wo es sich um ein anderes Carotin handelt.

Wenden wir uns nun der physiologischen Aufgabe des Carotins zu, so ist dieselbe bei den verschiedenen Pflanzen und Thieren eine sehr verschiedene: Vielfach stellt es ein Produkt dar, welches im Stoffwechsel keine Verwendung mehr findet. Als solches präsentirt es sich in vielen gelben oder orangerothen Blüthen und dient hier als Anlockungsmittel von Blumen besuchenden Insekten; in den Hüllen vieler beerenartiger Früchte, welche dann durch ihre leuchtenden Farben die Aufmerksamkeit von Vögeln und anderen Thieren auf sich ziehen; in der Chitinhaut mancher Insekten, z. B. in den Flügeldecken des Pappelblattkäfers (Lina populi), die nach meinen Beobachtungen durch ein Carotin schön roth werden; in den Paraphysen vieler Schlauchpilze, besonders der *Ascobolus*-artigen; ja ein der rothen Reihe angehöriges Carotin kann von gewissen Spaltpilzen zur Ausscheidung gebracht werden *(Micrococcus rhodochrous* und *Erythromyxa)* und krystallisirt hierauf aus[1].

Der rothe Saft, den *Lina populi* ausscheidet, ist nach meinen Untersuchungen sehr reich an Carotin.

Carotine können aber auch den Werth von Reservestoffen erlangen; so werden sie z. B. gespeichert in den Sporen der Uredineen (Aecidium-Uredo-Teleutosporen). Wie ich an anderer Stelle ausführen werde, produciren gewisse *Pilobolus*-Arten in ihrem Mycel ein Carotin, welches sowohl in den Gemmen als in den Endosporen und den Zygosporen gespeichert wird und bei der Bildung der Keimschläuche zur Verwendung gelangt, gerade so, wie bei den Uredineen.

Dagegen kommen die Carotine, welche ich so reichlich in dem Plasmodium gewisser Mycetozoen auffand[2] (bei *Stemonitis*- und *Lycogala*-Arten) nur zu einem kleinen Theile in die Sporen hinein. Die Hauptmasse dieser Farbstoffe erfährt vorher eine Umwandlung in andere Stoffe. Vielleicht ist das Carotin der Mohrrübe auch als Reservestoff zu deuten.

Was nun das Carotin von *Trentepohlia Jolithus* anbetrifft, so möchte ich ihm nicht den Werth eines Produktes zuschreiben, welches im Stoffwechsel keine Bedeutung mehr hat; man würde sonst nicht einsehen, warum es bei der Schwärmsporenbildung noch insofern Verwendung findet, als es nach den übereinstimmenden Angaben aller Beobachter in die Schwärmsporen selbst mit aufgenommen wird.

Vielmehr scheint es mir zunächst den Werth eines Reservestoffes zu haben. Zur Begründung dieser Ansicht will ich einiges über die äusseren Verhältnisse, unter denen die Alge auftritt, anführen.

---

1) Ueber Ausscheidung von Fettfarbstoffen bei Spaltpilzen. Berichte der deutsch. bot. Gesellschaft 1891.

2) l. c.

Im Riesengebirge, wo ich meine Beobachtungen anstellte, tritt sie entlang dem Bett der Bergbäche auf sonnigen meist glatten Granitblöcken auf und ist ebenso am Kegel der Schneekoppe überall auf Blöcken, die dem Licht und den Winden ausgesetzt sind, reichlich zu finden.

Unter dem Einfluss der Luft und der Besonnung trocknen die Räschen und Häute, die man des Morgens im thaufrischen Zustande noch ziemlich leicht ablösen kann, so stark ein, dass sich eine sehr dünne feste Kruste bildet, von der man mit dem Messer nur schwer etwas los bekömmt.

Der Wasserverlust, den die Zellen hierbei erleiden, wird natürlich auch ihre Ernährungs- und ihre Entwickelungsthätigkeit bis zu einem gewissen Grade einschränken.

Wenn Zellen anderer niederer Organismen öfterem oder continuirlichem Wasserverlust ausgesetzt sind, so pflegen sie in eine Art von Dauerzustand überzugehen, d. h. sie erhalten eine dickere Membran und speichern Reservestoffe, zumeist in Form von fettem Oel. Beispiele liefern Hefezellen, Pilzmycelien, Pilzsporen, Algensporen. Aehnlich verhält sich nun auch *Trentepohlia Jolithus* unter solchen Umständen; ihre Zellen verdicken ihre Membran und im Plasma entstehen reiche Mengen von Oel und gleichzeitig von Carotin. Wenn nun Perioden feuchter trüber Tage kommen, so treten Vegetation und Fructification wieder mehr hervor und die gespeicherten Fett- und Carotinmassen finden bei Neubildung von vegetativen Zellen und von Schwärmsporen Verwendung, gerade so wie das fette Oel und das Carotin bei der Bildung der Keimschläuche von *Gymnosporangium* oder *Pilobolus* oder bei der Bildung der Sporen dieser Pilze Verwendung finden.

Wenn nun Karsten (l. c. p. 40) sich gegen die Reservestoff-Natur des *Trentepohlia*-Haematochroms ausspricht, weil dasselbe nicht verschwindet, wenn man die Pflanzen einige Zeit dunkel hält, so muss man bedenken, dass von Reservestoffen zwar Stärke, nicht aber Carotin, Fett, Proteinkörper etc. bei Dunkelkultur zum Verschwinden gebracht werden können.

Ausser dem Werth eines Reservestoffes könnte das Carotin vielleicht noch andere Bedeutung haben. Sollte es z. B. ein Schutzmittel für das Chlorophyll darstellen? Diese Frage könnte müssig erscheinen, da ich soeben nachgewiesen habe, dass das *Jolithus*-Carotin in seinen alkoholischen Lösungen wie im festen krystallisirten Zustande wie jedes andere Carotin ausserordentlich unbeständig ist und zwar schon im gewöhnlichen Tageslicht, geschweige denn im Sonnenlicht.

Allein man darf eine solche Frage doch nicht so ohne weiteres von der Hand weisen, denn die Vorgänge innerhalb einer lebenden Zelle sind jedenfalls nicht bloss zu beurtheilen nach den Vorgängen im Reagirglase. Es wäre z. B. die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass schon die Lösung in fettem Oel den Farbstoff widerstandsfähiger gegen die Einwirkung des Lichtes machte, und der Versuch zeigt, dass dies in der That der Fall ist. Ich habe vor mir eine Lösung des Jolithus-Carotins in fast farblosem Rüböl im Reagirglase, welche 3 Wochen im diffusen Tageslicht gestanden hat und in dieser Zeit ihre orangegelbe

Farbe zwar in Goldgelb verwandelte, aber keineswegs verlor; zwei Wochen später freilich war sie ganz entfärbt.

Was mir aber gegen die chlorophyllschützende Wirkung des Carotins zu sprechen scheint, sind zwei andere Momente, nämlich einmal die räumliche Anordnung von Chlorophyll und carotinhaltigem Fett in der Algenzelle, andererseits die spectroscopischen Eigenschaften der Carotinlösungen. Was zunächst die Letzteren anbetrifft, so lassen die verdünnten Lösungen, wie wir sahen, die rothen und gelben Strahlen, vor denen die Chlorophoren doch gerade geschützt werden sollten, durch, sowohl in niederer wie in höherer Schicht. Dazu kommt noch, dass in jungen Zellen, z. B. von *Trentepohlia aurea*, deren Chlorophoren, wenn sie überhaupt eines Schutzes bedürften, erst recht geschützt werden müssten, die gelben carotinhaltigen Fetttröpfchen so wenig zahlreich und klein sind, dass das von ihnen durchgelassene, reflectirte oder absorbirte Licht wohl kaum eine ausreichende Wirkung auf jene Organe auszuüben im Stande wäre.

Aber auch die räumliche Anordnung von Chlorophoren und Carotinhaltigen Oeltröpfchen spricht vielfach gegen eine Schutzwirkung der Letzteren: häufig nämlich liegen sie ganz einseitig und in kleinen Gruppen in der Zelle und können daher die Lichtwirkung auf die an der andern Seite oder am andern Zellende befindlichen Chlorophyllkörper unmöglich beeinflussen.

Die reichen Fettmassen, welche sich in den Zellen derjenigen Trentepohlien ansammeln, die intensiver Beleuchtung und damit zusammenhängend starker Trockenheit ausgesetzt sind, mögen wohl im Verein mit der Dickwandigkeit der Membranen als ein Schutzmittel gegen Austrocknung dienen; ob etwa das Carotin hierbei mit in Betracht kömmt, wie Karsten (l. c.) fragweise andeutet, das wird sich kaum entscheiden lassen.

In Anknüpfung an die Beobachtungen Stahls[1], wonach Trentepohlia-Arten von Landschnecken verschont bleiben, könnte man endlich fragen, ob etwa das Carotin es sei, welches diese Algen vor dem Angriff dieser Thiere schützte. Ich möchte hierzu keine bejahende Antwort ertheilen, da das dem *Trentepohlia*-Carotin so nahe verwandte, vielleicht damit identische Mohrrüben-Carotin kein Schutzmittel gegen Mohrrübenfrass durch Schnecken bietet.

Spectrogramme durch Verseifung gereinigter Carotine, bei Sonnenlicht mit Zeiss' Spectralocular aufgenommen, auf Tafel II.

I. II. III. Carotin von Micrococcus rhodochrous Zopf, Petrolätherlösung in verschiedener Schichtenhöhe.
IV. Carotin von Trentepohlia Jolithus, ätherische Lösung.
V. Carotin von Bacterium egregium, Ligroinlösung.
VI. Carotin von Cladothrix (Sphaerotilus) rosea Z, Petrolätherlösung, sehr verdünnt.
VII. Carotin von Lycogala flavofuscum, Petrolätherlösung, sehr verdünnt.

Die rechts daneben stehenden Zahlen bezeichnen die Schichtenhöhe der betreffenden Lösung in Millimetern.

---

1) Pflanzen und Schnecken. Jena 1888, p. 115.

II. Ueber die Färbungsursachen einiger Flechten mit gelbem Kolorit.

Obwohl es eine grosse Anzahl von Flechten giebt, welche sich durch mehr oder minder intensive gelbe Färbung auszeichnen, so hat man doch bisher nur wenige auf die Ursache dieser Gelbfärbung untersucht. Dieser Umstand veranlasste mich, auf Exkursionen in die Umgebung von Halle, sowie auf einer Reise in den Alpen von gewissen Species grössere Mengen Materials zu sammeln und zu ermitteln, durch welche Substanzen die gelbe Farbe dieser Formen bedingt ist.

1. Cetraria pinastri (Scop.) Ach.

Der Thallus vorliegender Laubflechte verspricht von vornherein eine reiche Ausbeute an Farbstoff, da er ziemlich intensiv gelb tingirt ist, namentlich auf der Bauchseite, die eine schön citronen- bis goldgelbe Färbung aufweist, während die Rückenseite einen mehr graugrünen oder matt-grüngelben, seltener rein gelben Ton zeigt.

Auch die Ränder der Thalluslappen pflegen, soweit sie mit massiger Soredienbildung ausgestattet erscheinen, wie es in der Regel der Fall, intensiv citronen- bis goldgelbes Kolorit zu haben.

Die Materialien stammten von alten Fichtenstämmen und alten Lattenzäunen der Weiden-Einfriedigungen und Gärten von Kirchenthal und Lofer im Salzburgischen, wo die Flechte in grösserer Menge vorkam.

Zur Gewinnung der färbenden Stoffe empfiehlt sich Extraction der lufttrocknen ausgelesenen Thalli mit Ligroin oder Benzol.

Der Ligroïnauszug erscheint intensiv goldgelb mit einem Stich ins Grünliche. Er wurde mit sehr verdünnter Natronlauge geschüttelt, wobei aller Farbstoff aus dem Ligroin in die Natronlauge mit gelber Farbe hineinging. Letztere wurde im Scheidetrichter abgetrennt und unmittelbar in Salzsäure hineinfliessen gelassen.

Es entstand hierbei ein sehr reicher Niederschlag von schöngelber Farbe. Derselbe wurde abfiltrirt, gewaschen und getrocknet, sodann in Ligroin gelöst und dieses an der Luft verdunstet.

Ich erhielt auf diese Weise auf der Porzellanschale drei verschiedene farbige Körper: in dem unteren Theile der Schale eine Schicht feiner schwach grünlich-gelber Kryställchen, weiter oben eine Zone mit Gruppen von Kryställchen, die eine ganz andere, nämlich leuchtend goldgelbe Farbe zeigten und endlich am Rande der Schale, z. Th. über dieselbe hinausgehend die gelbgrüne Zone einer nicht krystallinischen Substanz.

Ein ganz ähnliches Resultat stellte sich heraus, als ich in die oben erwähnte Ligroinlösung Streifen schwedischen Filtrirpapiers hineinhing.

Es wurde nun zunächst die soeben erwähnte gelbgrüne Zone der nicht krystallisirenden Substanz zu entfernen gesucht, was dadurch gelang, dass jener Rückstand wiederholt gewaschen wurde mit Petroläther, welcher die beiden krystallisirenden Farbstoffe fast gar nicht löst. Die

Petrolätherlösung ward dann zur Entfernung von Resten der letzteren auf ein etwas geringeres Volumen eingeengt und filtrirt.

Der so gereinigte Körper giebt auf der Porzellanschale einen kanarien- oder gummiguttgelben, mit einem Stich ins Grüne versehenen festen Ueberzug. Erwärmt man ihn auf dem Wasserbade, so erweicht er, auf dem Platinbleche erhitzt verbrennt er mit leuchtender russender Flamme.

Er ist unlöslich in Wasser, ziemlich reichlich löslich in Methyl- und Aethylalkohol, Aether, Petroläther, Ligroïn, Benzol und Chloroform.

Von concentrirter Schwefelsäure wird er nach vorheriger intensiver Roth- resp. Rothbraunfärbung mit dunkelgelber Farbe gelöst, um bei starkem Wasserzusatz wieder ausgeschieden und beim Schütteln mit Aether von diesem aufgenommen zu werden. Conc. Salpetersäure ruft jene Rothfärbung (vor der Lösung) nicht hervor. Verdünnte ätzende sowie auch kohlensaure Alkalien lösen mit gelber Farbe und Säuren bringen in solchen Lösungen gelbe Fällungen hervor, eine Reaction, die darauf hindeutet, dass der Stoff säureartige Eigenschaften besitzt.

Die concentrirte alkoholische Lösung zeigt leuchtend bernsteingelbe Farbe. Lakmuspapier wird deutlich von ihr geröthet. Versetzt man sie mit geringen Mengen von Eisenchlorid oder Osmiumsäure, so wird sie dunkel olivenfarbig, was namentlich bei auffallendem Licht stark hervortritt. Stärkere Lösungen von Alkalien bringen in der alkoholischen Lösung gelbe, in Wasser lösliche, Baryt- und Kalkwasser gelbe, in Wasser unlösliche Niederschläge hervor. Essigsaures Blei bewirkte in der Lösung, auch vor der Neutralisation, eine Fällung von gelber, schwefelsaures Kupfer eine solche von grüner Farbe.

Nach allen diesen Eigenschaften kann es wohl nicht zweifelhaft sein, dass der vorliegende Farbstoff den Charakter eines Harzes, speciell einer Harzsäure besitzt.

Wir haben bereits gesehen, dass der Verdampfungsrückstand der ursprünglichen Lösung nach Entfernung der eben betrachteten Harzsäure auf dem mittleren Theile der Porzellanschale eine blass schwefelgelbe bis gelbgrüne, in der oberen Zone dagegen eine goldgelbe Krystallmasse zeigt. Betrachten wir zunächst die erstere.

Sie wurde abgenommen und zur Reinigung von etwaigen Resten der Harzsäure sowie des anderen, krystallisirenden Körpers aus Ligroïn und Aether umkrystallisirt. Hierbei erhält man stark glasglänzende Prismen (bei schnellerer Eindunstung auch Nadelgruppen) von hellschwefelgelber oder grünlich-gelber Farbe, deren Schmelzpunkt bei 200° C. lag.

In Wasser gar nicht, in Alkohol sehr schwer löslich, wird der Körper von Petroläther nur wenig, etwas mehr von Ligroïn, ziemlich reichlich von Benzol und Aether, sehr leicht von Chloroform gelöst.

In Aetzalkalien löst er sich mit gelber Farbe, in kohlensauren Alkalien ebenfalls, doch nicht so leicht.

Bringt man ihn mit sehr geringen Mengen von Ammoniak in Berührung durch Räuchern damit (unter der Glasglocke lässt man den Farbstoff einige Zeit auf dem Uhrschälchen über einem Gefäss mit

Ammoniak stehen), so wird der gelbgrünliche Körper in ein farbloses Salz verwandelt, das wasserlöslich ist und Lakmuspapier röthet.

Concentrirte Schwefelsäure löst, ohne vorherige Rothfärbung der Krystalle mit kanariengelber, Eisessig weniger leicht und mit hellgelber Farbe.

Durch Chlorkalklösung nehmen die Krystalle keine Rothfärbung an, sondern bleiben gelb. Die Kali-Chloroformreaction fällt negativ aus.

Im Hinblick auf alle diese Charaktere bleibt wohl kein Zweifel, dass es sich hier um diejenige Flechtensäure handelt, die in so vielen Lichenen vorkommend als Usninsäure bekannt ist.

Was nun die goldgelbe bis orangene Krystallmasse anlangt, so ist sie zunächst noch etwas mit der Harzsäure sowohl als namentlich mit Usninsäure verunreinigt. Zur Entfernung der ersteren genügt Auswaschen mit Petroläther; zur Beseitigung der letzteren kann man entweder Auflösen in heissem Alkohol, aus welchem beim Erkalten die Usninsäure zuerst ausfällt, wählen, oder aber man löst in verdünntem kohlensauren Natron (in welchem sich Usninsäure schwerer löst) und fällt mit Salzsäure. Der gewaschene und getrocknete Niederschlag wurde dann zur Vollendung der Reinigung aus Benzol und etwas Petroläther umkrystallisirt.

Im gereinigten Zustand besteht der Farbstoff aus glasglänzenden Blättchen und Prismen von orangegelber Farbe, die im Polarisationsmikroscop ein sehr schönes Farbenspiel zeigen, bei schneller Verdampfung der Lösungsmittel entstehen Aggregate mehr nadelförmiger Krystalle.

Bei etwa 178—180° (uncorr. C.) schmilzt die Substanz zu einer gelbbraunen Flüssigkeit, aus welcher beim Erkalten sofort wieder Krystalle hervorgehen. Erhitzt man etwas über den Schmelzpunkt hinaus, so entstehen gelbe Dämpfe, von eigenthümlichem durchdringenden Geruch, und es setzen sich an den kalten Stellen der Reagirglaswand goldgelbe Blättchen und Nadeln ab, die mit den ursprünglichen vollkommen übereinstimmen.

Besonders reichlich löslich in Chloroform und Benzol, lösen sich die Krystalle auch ziemlich leicht in Methylalkohol, Aether, Ligroïn, Eisessig, wenig in Alcohol absolutus und Petroläther, während sie in Wasser unlöslich sind.

Mit ätzenden sowie kohlensauren Alkalien erhält man gelbe bis gelbgrünliche Lösungen, aus welchen der Farbstoff durch Salzsäure als gelber Niederschlag gefällt wird, ein Zeichen, dass der Körper Säurenatur besitzt.

Durch concentrirte Schwefelsäure werden die Krystalle mit gelber Farbe und ohne vorherige Farbenänderung gelöst. Chlorkalklösung sowie Eisenchlorid bewirken keine Aenderung der Farbe.

Die alkoholische Lösung reagirt schwach aber deutlich sauer und zeigt keinen bitteren Geschmack.

Beim Erhitzen der Krystalle mit schwacher Kalilauge wird kein Orcin gebildet.

Ein Vergleich mit anderen bereits genau bekannten krystallisirenden gelben Flechtensäuren ergab in allen Fällen wesentliche Unterschiede:

Um Chrysophansäure kann es sich schon aus dem Grunde nicht handeln, weil diese durch Aetzalkalien mit purpurrother Farbe gelöst wird und ihre Krystalle durch Barythydrat purpurrothe Tinktion annehmen.

Physcinsäure hat einen Schmelzpunkt, der um 22° höher (bei 200°) liegt.

Usninsäure, β-Usninsäure, Barbatinsäure, Carbousninsäure haben anders gefärbte und geformte Krystalle von anderem Schmelzpunkt.

Calycin hat ganz abgesehen von der verschiedenen Farbe und Form der Krystalle einen um 60° höheren Schmelzpunkt. Aehnliches gilt für Emodin.

Dagegen würde es sich fragen, ob der in Rede stehende Körper nicht etwa mit Vulpinsäure identisch sei, da Th. Fries[1] direkt die Vermuthung ausspricht, dass die Gelbfärbung des Thallus von *Cetraria pinastri* durch Vulpinsäure bewirkt zu sein scheine und auch den Umstand hervorhebt, dass die Landleute in gewissen Gegenden Skandinaviens von der in Rede stehenden Flechte sagen, dass sie für Füchse schädlich sei[2].

Um nun einen sicheren Vergleich zwischen meiner Flechtensäure und der Vulpinsäure anstellen zu können, verschaffte ich mir *Evernia vulpina* und stellte aus derselben die Vulpinsäure rein dar[3]. Es zeigte sich nun, dass die letztere ganz anders gefärbte und geformte Krystalle bildet. Sie sehen mehr kanariengelb bis grünlichgelb aus, während die aus *Cetraria pinastri* gewonnenen goldgelb bis orangeroth erscheinen. Aus Eisessig umkrystallisirt zeigen die Vulpinsäurekrystalle die Form breiter Täfelchen, die Krystalle der *Cetraria* dagegen schmale dolchförmige Blättchen. Dazu kommen aber noch zwei andere durchgreifende Unterschiede, welche einerseits den Schmelzpunkt betreffen, der bei der Vulpinsäure um etwa 30° C. tiefer liegt (nach Spiegel bei 148°, nach Stein bei 140°) andererseits die Ablagerungsstätte in den Flechten. Während nämlich die Vulpinsäure ihren Sitz in der Rinde hat, erfolgte in *Cetraria pinastri* die Abscheidung der genannten Säure im Mark. Diese auffällige Differenz im anatomischen Verhalten würde wohl allein schon mit Bestimmtheit eine Verschiedenheit beider Flechtensäuren andeuten.

Auf Grund vorstehender Erörterungen glaube ich berechtigt zu sein, die aus der *Cetraria pinastri* dargestellte Säure als neu anzusprechen. Da die Namen „Cetrarsäure“ und „Cetrarin“ bereits vergeben sind, so möge sie „Pinastrinsäure“ heissen.

Aus ihrem Verhalten zu Chlorkalklösung sowie dem Fehlen der Kali-Chloroformreaction folgt offenbar, dass sie nicht zur Lecanor-

1) Lichenographia scandinavica p. 105: Color thalli luteus e vulpulino pendere videtur.

2) Vulpibus, non vero lupis canibusque, perniciosum hunc lichenem perhibent rusticolae Herjedalenses.

3) Das Material verdanke ich der Gefälligkeit des Arztes Herrn Aug. Schulz in Halle, der die Flechte in den Alpen gesammelt hatte.

säuregruppe, sondern mehr in die Verwandtschaft der Usninsäure gehört.

Ausser den genannten färbenden Substanzen enthält *Cetraria pinastri* auch noch ein gelbes Fett. Um dasselbe zu gewinnen, wird der ursprüngliche Ligroïnauszug eingedampft und mit Aether aufgenommen. Nach Abdestilliren dieses Lösungsmittels nimmt man mit Alkohol auf. Diese Lösung verseifte ich mit passenden Mengen von etwa 30procentiger Natronlauge. Aus dem mit Wasser verdünnten Seifengemisch nimmt Petroläther nichts auf (ein Zeichen, dass kein carotinartiger Farbstoff vorhanden) wohl aber Aether, der sich schwach grüngelb färbt. Beim Eindampfen erhält man nun eine schwach grüngelbe krystallinisch erstarrende Masse, die äusserst intensiven kampferartigen Geruch besitzt. Sie ist unlöslich in Petroläther, leicht löslich in Aether und Alkohol. Offenbar handelt es sich hierbei um ein ätherisches Oel von kampferartigen Eigenschaften. Nach Auswaschen mit wenig Benzol war die Masse schliesslich ganz farblos.

Wir haben gesehen, dass sich aus *Cetraria pinastri* drei verschiedene Farbstoffe isoliren lassen, welche sämmtlich Säurecharakter besitzen: die Pinastrinsäure, Usninsäure und ein grünlichgelbes Harz.

Von diesen drei Pigmenten ist die Pinastrinsäure an Menge bedeutend überwiegend und nimmt daher an der Färbung des Thallus einen sehr wentlichen Antheil. (Ausserdem konnte noch ein gelbes Fett und ein ätherisches Oel von kampferartigem Charakter nachgewiesen werden).

Was nun den anatomischen Sitz der genannten 3 Farbstoffe anbetrifft, so lässt sich zunächst leicht feststellen, dass die so intensiv gelbe Färbung des Markes im wesentlichen auf der Anwesenheit von Pinastrinsäure und Usninsäure beruht, denn man sieht hier die relativ dicken Hyphen meist in ihrer ganzen Ausdehnung von den kleinen gelben Kryställchen inkrustirt. Entsprechend der makrochemischen Reaction umgeben sich beim Zubringen von conc. Schwefelsäure sowohl wie von ätzenden Alkalien die (natürlich bald verquellenden) Schnitte mit einem intensiv gelben Hofe der augenblicklich sich lösenden Pinastrin- und Usninsäure-Krystalle.

In Bezug auf den Sitz der Harzsäure ist zu bemerken, dass derselbe theils in der Rinde, theils im Marke zu suchen ist. Dies ergiebt sich aus der Behandlung der Schnitte mit Eisenchlorid, wodurch dieselben (entsprechend der makrochemischen Eisenchloridreaction der Säure) etwas bräunlich werden, wie man deutlich sieht, wenn das Präparat eine weisse Unterlage erhält. Ob das Harz zur Ausscheidung kömmt, wie es an manchen Stellen des Markes der Fall zu sein scheint, lässt sich wohl kaum sicher beurtheilen wegen der reichen Menge der Kryställchen obengenannter Stoffe.

Auffällig ist die Aehnlichkeit, welche bezüglich der äusseren Thallusfärbung zwischen Cetraria juniperina (L.) Ach. und C. pinastri herrscht. Und auf dem Thallusquerschnitt wird man das Mark eben

so lebhaft gelb tingirt und seine Hyphen in eben so reicher Weise mit gelben Kryställchen überzogen finden, die sich in conc. Schwefelsäure und in Alkalien ebenfalls leicht und mit gelber Farbe lösen. Hiernach ist zu vermuthen, dass die färbenden Stoffe dieselben sein werden, wie im Mark von C. pinastri. Es fehlten mir leider die nöthigen grösseren Materialmengen, um dies sicher zu stellen, doch habe ich wenigstens die Krystalle der Pinastrinsäure dargestellt.

Der Umstand, dass *Sticta aurata* Ach. eben so schön gelbe Randsoredien besitzt wie *Cetraria pinastri* und *juniperina* und durch eine eben so intensive Gelbfärbung des Markes ausgezeichnet ist, veranlasste mich, auch diese Flechte auf etwaigen Gehalt an Pinastrinsäure zu prüfen.

Die die Gelbfärbung des Markes bedingenden Stoffe kann man der zerkleinerten Flechte leicht mittelst Benzol entziehen, das sich augenblicklich intensiv goldgelb färbt. Beim Eindampfen des filtrirten Extracts bleibt ein orange- oder goldgelb gefärbter Ueberzug, welchen man von einem ziemlich reichlich beigemengten rothen harzartigen Körper sowie von Fett durch Auswaschen mit Methylalkohol befreit, worauf man aus Benzol umkrystallisirt. Bei langsamem Auskrystallisiren entstehen Täfelchen und Prismen von sattgelber Farbe, bei schnellem rosettenförmig gruppirte Nadeln. Sie schmelzen bei 208—210° C. und sublimiren bei etwas höher gehender Temperatur unverändert.

Reichlich löslich in Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff, weniger reichlich in Aether, Alkohol und Eisessig sind sie vollkommen unlöslich in Wasser, in concentrirten Mineral-Säuren (Schwefelsäure, Salpetersäure, Salzsäure) in verdünnten und concentrirten Lösungen der Aetzalkalien (auch beim Erwärmen) sowie in Barytwasser.

Danach handelt es sich um einen Körper, der mit Pinastrinsäure durchaus nichts zu thun hat, ja nicht einmal den Charakter einer Säure besitzt. Da ich in der Litteratur der Flechtenfarbstoffe nichts über diese Substanz angegeben finde, so dürfte sie wohl neu sein; ich will sie daher als Stictaurin bezeichnen.

Zu denjenigen Flechten, welche gefärbte Stoffe im Markgewebe zur Ausscheidung bringen, gehört, wie bereits durch Körber und Th. Fries bekannt ist, auch *Physcia endococcina* (Körb.). Die Ursache der hier übrigens rothgelben bis zinnoberrothen Markfärbung beruht nach Th. Fries (Lichenographia scandinavica p. 150) auf der Anwesenheit von Chrysophansäure.

In der Meinung, dass dieser, übrigens nur gelegentlich gemachten Aeusserung möglicherweise eine blosse Vermuthung zu Grunde liege, habe ich mir eine Nachprüfung erlaubt[1], und bin dabei zu dem Resultate gekommen, dass zwei krystallisirende Farbstoffe vorhanden sind, welche zwar mit Chrysophansäure die Roth- resp. Violett-

---

1) Sie wurde möglich durch die Freundlichkeit des Herrn A. Schulz hier, der mir schöne von Lojka in Ungarn gesammelte Exemplare dieser seltenen Species zur Verfügung stellte.

färbung durch Kali gemeinsam haben, sonst aber von derselben durchaus verschieden sind.

Ich gewann diese beiden Farbstoffe, indem ich die Flechte mit Chloroform auszog. Lässt man diesen intensiv bernsteingelben, kaum ins Röthliche hineinspielenden Auszug auf dem Uhrglase allmählich eindampfen, so erhält man auf der Mitte des Schälchens eine etwa ziegelrothe Masse, während die Randzonen mehr rothgelbe Färbung zeigen. Es stellte sich nun heraus, dass der erstere Theil des Ueberzuges in verdünntem kohlensaurem Ammoniak löslich ist, der letztere dagegen nicht, und dass man auf diese Weise eine Trennung des Gemisches bewirken kann.

A. Der in kohlensaurem Ammoniak lösliche Antheil. Die Lösung sieht dunkel-himbeerroth bis violettroth aus. Versetzt man sie mit einem Ueberschuss verdünnter Säure, so nimmt sie gelbe Farbe an, der Farbstoff fällt aus und wird beim Schütteln mit Aether von diesem mit leuchtend gelber Farbe aufgenommen. Es handelt sich demnach um ein säureartiges Pigment. Beim Eindampfen der filtrirten ätherischen Lösung erhält man einen rothgelben, in dicker Schicht fast ziegelröthlichen Rückstand, der unlöslich ist in Wasser und Petroläther (letzteren benutzte ich, um ein anhängendes gelbes Fett auszuwaschen) leicht löslich in Benzol, Aether, Chloroform und Alkohol und zwar mit gelber Farbe. Er besteht aus feinen Kryställchen und zeigt in dünner Schicht deutlichen Dichroïsmus (erscheint auf hellem Grunde rothgelb bis ziegelröthlich, auf dunklem grünlich). Concentrirte Schwefelsäure färbt erst purpurviolett, dann sepiabraun und löst mit olivengrüner Farbe. Bei starkem Wasserzusatz scheidet sich der Farbstoff wieder aus und wird von darübergegossenem Aether mit gelber Farbe aufgenommen. In der gelben alkoholischen Lösung giebt essigsaures Blei eine schwachröthliche, Barythydrat eine mehr violette Fällung.

B. Der in kohlensaurem Ammoniak unlösliche Antheil. Er ist leicht löslich in Natronlauge und zwar mit violettblauer Farbe und wird aus dieser Lösung durch eine im Ueberschuss verwandte Säure ausgefällt, zeigt also ebenfalls Säurecharakter. Die filtrirte Lösung giebt beim Eindampfen einen krystallinischen Rückstand, welcher dem oben genannten in seinem Aussehen, wie nach den Lösungsverhältnissen sehr ähnlich ist. In der gelben alkoholischen Lösung erzeugt Barythydrat eine mehr rothviolette Fällung.

Die Untersuchung weiter auszudehnen gestattete leider die beschränkte Menge dieser seltenen Flechte nicht. Es geht aber jedenfalls so viel aus dem Gesagten hervor, dass die rothe Färbung des Markes auf der Gegenwart von zwei krystallisirenden Pigmenten beruht, die beide Säurecharakter zeigen und ferner, dass diese Stoffe von Chrysophansäure wesentlich verschieden sind, wenn sie auch eine gewisse Aehnlichkeit in einigen Reactionen aufzuweisen haben. Schon in der mehr rothen Färbung der Krystallmasse, in der Form der sehr kleinen Kryställchen sowie in der olivengrünen Farbe ihrer Lösungen in concentrirter Schwefelsäure geben sich diese Verschiedenheiten kund. Bezüglich dieser Punkte liegt zugleich auch ein

Unterschied gegenüber dem Emodin gegeben, das Bachmann[1] neuerdings bei *Nephroma lusitanicum* auffand, wo es ebenfalls seinen Sitz im Mark hat. Auch mit keiner anderen Flechtensäure stimmen die in Rede stehenden Physciafarbstoffe überein; ich erlaube mir daher, den in kohlensaurem Ammoniak löslichen als Rhodophyscin, den andern als Endococcin zu bezeichnen.

Bemerkenswerth ist der Umstand, dass beide Stoffe mit Aetzkali eine ähnliche purpurrothe bis violette Färbung geben wie Chrysophansäure und Emodin, und dass sie wie diese letzteren, auch mit Baryt- oder Kalkhydrat unlösliche purpurne oder violette Verbindungen liefern. Ueberdies stimmt das Rhodophyscin auch darin mit Emodin überein, dass es sich in kohlensaurem Ammoniak löst.

Man möge also bei Beurtheilung der mikrochemischen Reactionen nicht vergessen, dass die sogenannte Chrysophansäure-Reaction (Purpur- oder Violettfärbung durch KHO oder durch Barythydrat resp. Kalkhydrat) nicht immer Chrysophansäure andeutet, wie viele Lichenologen zu glauben scheinen.

2. Callopisma vitellinum (Ehrh.).

(= Candellaria vitellina Mass.).

Sie stellt bekanntlich eine kleine, in grünlichgelben, dottergelben bis orangenen Tönen gefärbte kleine Krustenflechte dar, die an Felsen, Sandsteinmauern, Baumrinden und alten Bretterzäunen überall zu finden ist. Da sie um Halle an Porphyrfelsen und auf Rothliegendem stellenweis in grösserer Menge auftritt, Gestein und Moose oft förmlich überkleidend, so gelang es, hinreichende Quantitäten für eine Prüfung ihrer Färbungsursachen zusammen zu bringen.

Die Untersuchung ergab, dass die Färbung dieser Flechte im wesentlichen vom (Chlorophyll abgesehen) auf der Produktion zweier krystallisirender Körper von gelber resp. rothgelber Farbe beruht.

Nach verschiedenen Isolirungsversuchen schien mir folgendes Verfahren am geeignetsten zu sein: Man extrahirt die lufttrocknen Flechtenmassen wiederholt mit Ligroïn (oder Benzol), vereinigt die filtrirten Auszüge und schüttelt sie im Scheidetrichter wiederholt mit sehr verdünnter Kalilauge, bis sie merklich schwächer in der Farbe geworden sind. Hierauf trennt man beide Flüssigkeiten.

Die gelbgrüne Ligroïnlösung enthält den einen Farbstoff. Derselbe krystallisirt beim Verdunsten des Lösungsmittels an der Luft in schwefel- bis citronengelben Massen aus.

In der anderen Flüssigkeit hat man die alkalische Lösung des anderen Farbstoffes. Beim Uebersättigen derselben mit verdünnter Salzsäure fällt Letzterer nach längerem Stehen reichlich aus in Form einer goldgelben bis orangenen Masse, welche man mit Wasser auswäscht und trocknet.

---

1) Berichte der deutsch. bot. Gesellschaft, 1887, p. 192.

Der citronengelbe krystallisirende Körper.

Zum Zweck der Reinigung wurde er wiederholt aus Benzol und schliesslich noch aus Eisessig umkrystallisirt. Man erhält auf diese Weise rein und intensiv citronengelbe Krystalle von starkem, glasartigen Glanze. Eine Quantität derselben übergab ich Herrn Kollegen O. Luedecke, der die Güte hatte sie krystallographisch zu untersuchen und mir als Ergebniss Folgendes mitzutheilen: „Doppeltbrechende Krystalle, welche dem monoclinen oder triclinen System angehören. In den tafelförmigen liegt die Auslöschung unter ca. 30 — 33° gegen die Haupterstreckung geneigt; einzelne zeigen säulige Formen, am Ende sind dieselben von Domen begrenzt, vielfach erscheinen dieselben gerundet." (Für eine weitere Charakteristik war die Kleinheit der Krystalle nicht geeignet).

Wie wiederholte Prüfung zeigte, schmilzt die Substanz bei 220° zu einer gelben bis gelbbräunlichen Flüssigkeit, krystallisirt aber bei geringer Abkühlung sofort wieder aus. Bei etwas über jene Grenze hinausgehender Erhitzung im Röhrchen zersetzt sich der Körper unter Entwickelung eines schwefelgelben eigenartig riechenden Dampfes, welcher an die kalten Theile des Glases citronengelbe Kryställchen obiger Form ansetzt. Bei diesen Sublimationsversuchen verblieb übrigens kein besonderer Rückstand.

Die gelben Krystalle sind in Chloroform, Benzol und Eisessig, zumal in der Wärme, ziemlich leicht, in Methylalkohol und Ligroïn nur wenig, in Aether sowie absolutem Alkohol in der Kälte sehr wenig, in der Wärme etwas mehr löslich und werden von Wasser weder gelöst noch benetzt.

Concentrirte Schwefelsäure löst mit gelber Farbe, nach reichlichem Wasserzusatz fällt der Körper anscheinend unverändert wieder aus.

Beim Räuchern mit Ammoniak behalten sie ihre gelbe Farbe. In verdünnten kaustischen Alkalien lösen sie sich ziemlich schwer und mit gelber Farbe, in kohlensaurem Alkali findet nur dann etwas Lösung statt, wenn dasselbe kochend angewandt wird. In den kalischen Lösungen bewirkt Salzsäure einen Niederschlag, ein Zeichen, dass der Farbstoff Säurecharakter besitzt.

Beim Erhitzen mit Kalilauge entsteht, wie die negative Kali-Chloroformreaction zeigt, kein Orcin. Versetzt man die gelbe alkoholische Lösung mit Eisenchlorid, so nimmt sie nur etwas dunkler gelbe Farbe an, mit Chlorkalk erleidet sie keine Farbenänderung. Die alkoholische Lösung reagirt schwach aber deutlich sauer. Durch Metalloxydsalze wie z. B. essigsaures Blei oder Kupfersulfat erhält man keinen Niederschlag, höchstens schwache Trübung.

In spectroscopischer Beziehung bietet der Farbstoff nichts Charakteristisches. Die mit dem Zeiss'schen Spectralocular bei Anwendung von Sonnenlicht vorgenommene Prüfung ergab in verschiedener Schichtenhöhe der Lösungen immer nur eine breite Endabsorption im blauen Theile des Spectrums. Fluorescenz geht den Lösungen ab.

Von den bisher bekannten gelben krystallisirenden Flechtenfarbstoffen unterscheidet sich die gelbe Substanz in allen Fällen aufs deut-

lichste, und zwar von Usninsäure, Vulpinsäure, Pinastrinsäure, Physcinsäure, Barbatinsäure, Carbousninsäure, Chrysophansäure und Emodin schon durch Farbe, Form und Schmelzpunkt der Krystalle. Sie dürfte daher als neu anzusprechen sein und könnte mit Rücksicht auf ihren Säurecharakter „Callopisminsäure" heissen.

Calycin.

Die auf obengenanntem Wege erhaltene orangerothe Krystallmasse wurde in der Weise gereinigt, dass ich sie wiederholt aus Chloroform unter Petroläther zusatz und schliesslich noch aus heissem Eisessig umkrystallisirte. Man erhält auf diesem Wege eine lockere Masse feiner sich leicht zusammenballender Nädelchen, die in dichter Zusammenhäufung eine dem Kaliumbichromat ähnliche rothe Farbe zeigen. Ihren Schmelzpunkt bestimmte ich zu 240° C. Erhitzt man die Substanz noch weiter, so sublimirt sie in Nadeln und Prismen von ebenfalls rother Farbe und unter Zurücklassung eines kleinen Rückstandes von kohliger Beschaffenheit.

Die Krystalle sind unlöslich in Wasser, wenig löslich in Alcohol absolutus und Methylalkohol, etwas mehr in Aether, reichlich und leicht löslich in Ligroïn, Benzol und Schwefelkohlenstoff, ganz besonders auch in Chloroform und Eisessig. Mit letzteren Mitteln hergestellte Lösungen zeigen leuchtend gelbe Färbung, die alkoholischen mehr röthlichgelbe. In Aetzammoniak, sowie verdünntem Aetzkali und Aetznatron sind die Krystalle wenig löslich, mit gelber bis gelbröthlicher Farbe. Concentrirte Schwefelsäure löst gleichfalls wenig und mit gelblicher Farbe. Durch Barythydrat erfolgt weder Lösung noch Verfärbung.

Versetzt man eine ziemlich concentrirte gelbe Chloroformlösung mit Natronlauge, so wird sie intensiv roth (bei auffallendem Lichte kirsch- bis blutroth, bei durchfallendem mit einem Stich ins Rothgelbe). Eine ähnliche, aber minder intensive Färbung erhält man mit Kalilauge, nur blasst in diesem wie in jenem Falle die Farbe bald ab. Schwächer erscheint die genannte Farbenreaction, die an Chrysophansäure erinnert, mit Ammoniak und kohlensauren Alkalien, wogegen man wieder mit wenig Barythydrat ausgesprochene Rothfärbung erhält. Jedenfalls ist die Natronreaction in der Chloroformlösung sehr charakteristisch. In der alkoholischen und methylalkoholischen Lösung bleibt sie merkwürdigerweise aus, es tritt eine ganz hellgelbe Färbung auf, die schon nach kurzer Zeit ausbleicht.

Es ist nun hervorzuheben, dass der vorliegende Körper in allen Punkten völlig übereinstimmt mit dem von Hesse[1] entdeckten, aus einer *Calycium*-artigen Flechte isolirten Calycin, das nach diesem Forscher ein Anhydrid darstellt; nur die so charakteristische Alkalireaction (Rothfärbung) findet man bei Hesse nicht angeführt, offenbar hat er gar keine Prüfung in dieser Hinsicht vorgenommen.

Ich glaube somit constatiren zu können, dass das bisher nur aus der Familie der Calycieen bekannte Calycin auch in der Familie der

1) Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft. Jahrgang 13. p. 1816.

Lecanoreen vorkömmt. Nur möchte ich nochmals hervorheben, dass Hesse's Angabe, das von ihm untersuchte *Calycium* sei *C. chrysocephalum* gewesen, unmöglich richtig sein kann, denn authentisches Material, entnommen aus Rabenhorst's Lichenes europ. Nr. 211 enthält nach meiner nach Hesse's Angaben vorgenommenen Untersuchung auch keine Spur von Calycin, sondern einen andern gelben Farbstoff, der nach Form, Farbe und Reactionen der Krystalle total von Calycin verschieden ist.

Was das quantitative Verhältniss der Callopisminsäure zum Calycin betrifft, so wiegt das letztere entschieden vor und bedingt daher auch im wesentlichen die Färbung der Flechte und besonders auch der Früchte. Neben beiden Stoffen ist in geringer Menge ein grüngelber fettartiger Körper vorhanden, den man beim Reinigen des Calycins mit Petroläther erhält. Auf dem Wege der Verseifung konnte ich daraus eine grünlichgelbe Fettsäure frei machen, die aber, da ich zu geringe Mengen zur Verfügung hatte, nicht weiter geprüft wurde.

3. Acolium tigillare (Ach.).

Nach dem citirten Befunde Hesse's an einem Calycium liegt die Möglichkeit nicht fern, dass das „Calycin" auch seitens anderer Calycieen producirt wird, speciell solcher Vertreter dieser Familie, welche einen intensiv gelben Thallus aufweisen. Ich bemühte mich daher, ausreichende Materialien von solchen Formen zusammenzubringen. Dies glückte zunächst für *Acolium tigillare*, welches ich bei Lofer im Salzburgischen an Sennhütten und Heuschobern in solcher Menge vorfand, dass die Balken solcher Hütten an der Wetterseite oft ganz in Gelb gekleidet erschienen.

Die sorgfältig abgeschabten und an der Luft getrockneten gelben Thallusmassen wurden mit Ligroïn ausgezogen, das sich sofort intensiv gelbgrün färbte. In den Scheidetrichter gebracht ward diese Lösung mit sehr verdünnter Natronlauge so lange geschüttelt, bis sie merklich blasser geworden war, worauf mit Salzsäure neutralisirt wurde. Hierbei trat eine deutliche gelbe Trübung auf. Die getrübte Flüssigkeit ward nun von der darüber stehenden gelbgrünen Ligroïnlösung abgetrennt, und der gelbe Niederschlag, der nach Zusatz von noch etwas Salzsäure reichlicher ausfiel, abfiltrirt, sorgfältig gewaschen und getrocknet, worauf er schliesslich wiederholt aus heissem Chloroform und Aether umkrystallisirt wurde und nun eine wie Kaliumbichromat gefärbte, aus feinen Nadeln zusammengewebte Masse darstellte.

Es konnte in Bezug auf dieselbe festgestellt werden, dass sie nicht nur rücksichtlich aller oben angeführten Reactionen, sondern auch bezüglich des Schmelzpunktes mit „Calycin" völlig übereinstimmte.

Uebrigens ist das Calycin in *Acolium tigillare* in grösserer Menge vorhanden, als in *Callopisma vitellinum.*

Bei dem wie oben angeführten Reinigen der Krystallmasse mit Aether oder Petroläther wird ein gelber Körper entfernt, der zu den

trocknenden Fetten gehört. Wegen seiner geringen Menge ward er nicht weiter berücksichtigt.

4. Placodium fulgens (Sw.).

(= Psoroma fulgens Mass.).

Die schwefelgelbe bis citronengelbe Färbung des Thallus dieser schönen Flechte im Verein mit dem orangenen, ziegelrothen bis rothbraunen Kolorit ihrer meist zahlreich entwickelten Früchtchen lud ebenfalls zur Untersuchung auf Calycingehalt ein.

Auf den Kalkbergen bei Bennstedt unweit Halle fand ich die im Ganzen seltene Flechte an einer Stelle in solchen Massen, dass es möglich wurde, etwa 1 Kilo zusammenzubringen.

In meiner Erwartung Calycin zu finden, wurde ich freilich sehr getäuscht, denn bei demselben Verfahren, wie ich es zur Gewinnung dieses Stoffes rücksichtlich der bereits besprochenen Lichenen (*Callopisma vitellinum* und *Acolium tigillare*) einschlug, erhielt ich statt des Calycins zwei andere krystallisirende Farbstoffe. Im übrigen producirt die Flechte relativ reichlich ein schön gelb gefärbtes Fett.

Die lufttrocknen Flechtenmassen wurden mit Benzol wiederholt extrahirt, die Auszüge nach Filtration auf dem Wasserbade eingedampft und der Rückstand wiederholt mit Petroläther gewaschen zur möglichsten Entfernung der gelben Fettmasse. Was zurückbleibt, ist durch kleine Fettmengen verunreinigte Chrysophansäure.

Zu ihrer Reinigung löst man sie in sehr verdünnter Natronlauge auf und fügt der intensiv purpurrothen Lösung Salzsäure bis zur Uebersättigung zu. Es entsteht eine reiche gelbe Fällung, die man abfiltrirt, wäscht und trocknet, worauf man den Farbstoff aus heissem Benzol und Petroläther umkrystallisirt.

Die auf diesem Wege gewonnene gold- bis orangegelbe Krystallmasse ist sehr reichlich löslich in Benzol und Chloroform, ziemlich reichlich in Aether, weniger reichlich in Alkohol, mehr in heissem, noch weniger in Petroläther und Ligroïn, fast unlöslich in Wasser, mit purpurrother Farbe leicht löslich in Aetzalkalien, unlöslich in kohlensaurem Ammoniak, in Eisessig mit gelber, in conc. Schwefelsäure mit hochrother Farbe löslich und aus der Lösung durch Wasserzusatz wieder auszuscheiden. Ausserdem werden die gelben Kryställchen durch Kalk- oder Barythydrat purpurroth gefärbt.

Alle diese Reactionen weisen in übereinstimmendster Weise auf Chrysophansäure hin, ebenso die Krystallform, nur den Schmelzpunkt fand ich, auch nach öfters wiederholtem Umkrystallisiren, immer um etwa 20° höher liegend (er beträgt sonst 162° C). Der Grund hierfür sollte sich bei mikroscopischer Untersuchung der Krystallmasse herausstellen, denn hier zeigte sich, dass in geringer Menge noch ein anderer, gelbe Krystalle bildender Farbstoff beigemengt war. Leider konnte ich Denselben nicht völlig entfernen, da er von denselben Lösungsmitteln aufgenommen wird, wie die Chrysophansäure.

Was sodann das gelbe Fett anbetrifft, so wurde dasselbe in roher Form, wie wir sahen, durch Behandlung des Rückstandes vom ursprüng-

lichen Flechtenextract mit Petroläther gewonnen. Zum Zweck der Reinigung (Befreiung von Chrysophansäure) ward der Petroläther verdunstet, der Rückstand wieder mit diesem Lösungsmittel aufgenommen (wobei auskrystallisirte Chrysophansäure zurückbleibt) und der Prozess mehrmals wiederholt. Ist die Abtrennung genannter Säure ganz vollständig geworden, so darf die Petrolätherlösung beim Verdunsten auf dem Uhrschälchen keine Kryställchen mehr geben, was man mittelst schwacher mikroscopischer Vergrösserung prüft.

Um zu sehen, ob das gelbe Fett etwa einen Carotin-artigen Farbstoff enthalte, verseifte ich die alcoholische Lösung mit 30 proc. Natronlauge. Beim Aussalzen mit heisser concentrirter Kochsalzlösung schied sich die Seife in schön purpurrothen bis rothvioletten Flocken ab. Petroläther nahm aber nichts von Farbstoff aus der Seife auf; erst als eine Säure (Weinsäure) hinzugefügt wurde, färbte sich dieses Lösungsmittel gelb. Mithin handelt es sich um eine Säure, die bei der Verseifung eine Verbindung mit dem Alkali einging. Beim Erwärmen zeigte der Körper deutlichen Fettsäuregeruch, mit Aetzalkalien giebt er eine schäumende Seife und bei der trocknen Destillation den ausgesprochensten Acroleingeruch. Hiernach handelt es sich wohl um eine Fettsäure. Durch conc. Schwefelsäure sowie durch Aetzalkalien wird der Verdampfungsrückstand ihrer Lösung mit purpurrother Farbe gelöst, durch kohlensaures Ammoniak weder gefärbt noch gelöst, durch Barythydrat und Kalkhydrat purpurroth, aber nicht gelöst. Diese Reactionen erinnern also sehr an Chrysophansäure. Dementsprechend wird auch die gelbe alcoholische Lösung durch Aetzalkalien purpurroth, durch kohlensaures Ammoniak nicht verfärbt, durch Chlorkalklösung roth.

Bemerkenswerth ist der Umstand, dass die Fettsäure, die ich als Placodinsäure bezeichnen will, wenn sie in dünner Schicht der Luft ausgesetzt wird, ihre gelbe Farbe verliert und zwar ins Rothe bis Rothbraune umwandelt. Man sieht das sowohl an dem Verdampfungsrückstand der Lösung auf der Porzellanschale als an dem Filterrand: nach 24 Stunden sind die Ränder etwa orangeroth und diese Färbung geht später allmählich bis zum Rothbraun über, ja bis zum Purpurbräunlichen. Vielleicht beruht diese Erscheinung auf einem Oxydationsvorgange.

Schliesslich habe ich noch versucht, den Sitz der eben nachgewiesenen gefärbten Säuren zu ermitteln.

Was zunächst den Thallus anlangt, so sieht man auf dem Querschnitt, dass nur die der Oberseite entsprechende Rindenschicht gefärbt (und zwar gelb) erscheint. Bei Anwendung von Barythydrat tritt purpurne Färbung dieser Schicht auf, eine Reaction, die an und für sich sowohl Chrysophansäure als auch wie wir sahen Placodinsäure andeuten kann. Es sind nun in der That beide Stoffe vorhanden. Dass die Chrysophansäure den Rindenhyphen in Form von Kryställchen aufgelagert ist (ähnlich wie bei *Xanthoria parietina*), davon kann man sich mit Hülfe des Polarisationsmikroscops leicht überzeugen, wenn man zuvor die massenhaft vorhandenen Kalkoxalat-Krystalle durch verdünnte Salzsäure entfernt hat. Man sieht dann die Kryställchen bei

gekreuzten Nikols mit gelber Farbe leuchten. Die Fettsäure (Placodinsäure) in der Rinde direct nachzuweisen wird durch die Anwesenheit der Chrysophansäure schwierig, wenn nicht unmöglich gemacht. Dass jene Säure nicht etwa (wie die Roccellsäure nach Schwartz) in den Algenzellen vorhanden, lehrt die Barythydrat-Reaction, bei welcher diese Zellen, anstatt roth zu werden, grün bleiben.

Was sodann die Schlauchfrüchtchen anbetrifft, so zeigen diese dem Thallus gegenüber eine ganz andere Färbung, insofern die Fruchtscheibe heller oder dunkler rothbraun tingirt ist.

Durch Extraction vom Thallus abgetrennter Früchtchen kann man sowohl Chrysophansäure als auch Placodinsäure gewinnen. Die goldgelben Krystallgruppen der ersteren lassen sich auch direct unter dem Mikroscop nachweisen, als Auflagerung der Schlauchschicht. Aber weder die Chrysophansäure- noch die Placodinsäure-Gegenwart erklären die rothbraune Färbung der Apothecien, denn beide Säuren zeigen in Schichten, die viel dicker sind, als ein Apothecium der Flechte, stets rein gelbe bezw. gelbgrüne Färbung.

Vielmehr scheint mir eine passende Erklärung dieser Färbungserscheinung in der oben angeführten Thatsache zu liegen, dass die Placodinsäure in dünner Schicht der Luft ausgesetzt eine mit Rothfärbung verbundene Veränderung erleidet, welche auf Oxydationsvorgängen zu beruhen scheint. An der Oberfläche der Schlauchschicht dürften ja auch die Bedingungen für solche Vorgänge in günstiger Weise gegeben sein.

Um noch einmal auf das Colorit des Thallus zurückzukommen, so dürfte dasselbe sicher einen lebhafter gelben Ton darbieten, wenn nicht grosse Mengen von Kalkoxalat, das in grossen z. Th. octaedrischen Krystallen an die Oberfläche tritt, in der Rinde (wie auch in den übrigen Theilen des Thallus) vorhanden wären. Sie sind es, welche die Oberfläche des Letzteren matt, wie schwach bereift, erscheinen lassen. Entfernt man sie durch verdünnte Salzsäure, so tritt nach dem Auswaschen mit Wasser und nach dem Trocknen das Colorit in der That lebhafter hervor.

Auf Grund der vorstehend mitgetheilten Thatsachen glaube ich annehmen zu dürfen, dass die Färbung des Thallus und der Früchte bei *Placodium fulgens* im Wesentlichen auf Combination von Chrysophansäure und einem gelben Fette beruht, welches die als Placodinsäure bezeichnete Fettsäure enthält.

Bemerkenswertherweise besitzt, wie ich gleich zeigen werde, der Repräsentant einer ganz anderen Flechtenfamilie, nämlich *Calycium chlorinum* (*Lepraria chlorina* Ach.) die nämlichen färbenden Substanzen.

Da beiderlei Stoffe mit Aetzalkalien, Barythydrat, Chlorkalklösung und concentrirter Schwefelsäure die nämlichen Farbenreactionen (Rothfärbungen) geben, so liegt die Vermuthung nahe, dass sie in irgend welchem genetischen Zusammenhange stehen.

5. Calycium chlorinum (Ach.) Körber.

(Lepraria chlorina Ach.).

Diese den Touristen unter dem Namen „Schwefelmoos" bekannte Flechte pflegt in den Gebirgen feuchte schattige Felsflächen mit ihrem grüngelben, schwefel- bis citronengelben, leprösen, meist sterilen Thallus oft auf weite Strecken zu überziehen und sich hierdurch dem Auge des Wanderers leicht kenntlich zu machen. Namentlich an Sandstein und Urgebirgsfelsen häufig, z. B. im Riesengebirge und der sächsischen Schweiz, wird sie in den Alpen hie und da auch an Kalkfelsen angetroffen.

Nach ihrer Färbung und mit Rücksicht auf die nahe Verwandtschaft zu anderen Calycien und *Acolium tigillare* liess sich auch bei ihr Calycin-Gehalt vermuthen, und so brachte ich für eine diesbezügliche Untersuchung ausreichendes Material zusammen, wie es sich mir an feuchten Jurakalkfelsen der Mayerbergklamm bei Lofer im Salzburgischen im Sommer 1890 darbot.

Allein es stellte sich bei der Untersuchung wider Erwarten heraus, dass die Flechte zwar reiche Mengen einer gelben Flechtensäure, nicht aber irgend welche Spuren von Calycin enthält.

Um die vorhandenen färbenden Substanzen, vom Chlorophyll abgesehen, zu erhalten, kann man die Flechte mit Ligroïn ausziehen, das sich fast augenblicklich intensiv gelbgrün färbt. Dieser Extract enthält zwei gefärbte Körper, die man dadurch trennt, dass man die Lösung im Scheidetrichter mehrmals mit sehr verdünnter Natron- (oder Kali-)lauge schüttelt. Letztere färbt sich intensiv purpurroth, während das darüber stehende Ligroïn an Intensität seiner gelbgrünen Farbe verliert.

Jene schöne Farbenreaction deutet bereits auf die Anwesenheit von Chrysophansäure hin, und die weitere Untersuchung bestätigt dies. Lässt man die purpurrothe Lösung in Salzsäure laufen, so erhält man einen reichen gelben Niederschlag, den man abfiltrirt, wäscht, trocknet und zur weiteren Reinigung wiederholt aus heissem Chloroform umkrystallisirt, sowie öfters mit Petroläther behandelt, zur Entfernung von Resten eines anhängenden Fettes.

Die so gereinigten gelben Krystalle sind unlöslich in Wasser, sehr wenig oder gar nicht löslich in Petroläther, ziemlich reichlich in Aether, Alcohol, Ligroïn und Eisessig, besonders reichlich aber in Chloroform und Benzol. Von Aetzkali- und Natronlauge werden sie mit schön purpurrother Farbe gelöst, durch Einwirkung von Kalk- oder Barytwasser ohne Aenderung ihrer Gestalt purpurroth.

Es kann sich hiernach nur um Chrysophansäure oder um Emodin handeln. Da aber die Krystalle sich in concentrirter Schwefelsäure nicht mit gelber sondern intensiv rother Farbe lösen, überdies durch kohlensaures Ammoniak keine Lösung erfahren, so kann nur Chrysophansäure in Betracht kommen, denn Emodin löst sich in kohlensaurem Ammoniak mit purpurrother Farbe, in concentrirter Schwefelsäure mit gelber. Doch muss ich bemerken, dass ich den

Schmelzpunkt, den Rochleder und Held für die aus *Xanthoria parietina* hergestellte Chrysophansäure auf 162 ° C. angeben, in meinem Falle stets bei 200 ° C. liegend fand (Emodin schmilzt bei 250 ° C.). Doch werden auch für Vulpinsäure, je nachdem sie aus verschiedenen Flechten hergestellt wurde, verschiedene Schmelzpunkte angegeben (110 ° u. 140 ° C.). Jedenfalls stimmen die chemischen Reactionen vollständig mit Chrysophansäure überein, und ich glaube daher berechtigt zu sein, den in Rede stehenden Stoff hierfür anzusprechen.

Wie bereits bemerkt, lässt sich durch Behandlung der Krystalle mit Petroläther ein fettartiger Körper von intensiv gelber bis gelbgrüner Farbe hinwegnehmen. Auf der Porzellanschale wird sein Ueberzug ganz fest und nimmt dabei eigenthümlicherweise rosenrothe bis ziegelrothe Färbung an. In Petroläther und Aether löst er sich mit gelber, einen Stich ins Röthliche zeigender Farbe. Fügt man zu diesen Lösungen wässriges Aetznatron, Aetzkali oder Ammoniak, so färbt sich dieses schwach himbeer- oder purpurroth violett, während der Petroläther farblos wird (also eine ähnliche Reaction wie bei Chrysophansäure). Auch mit kohlensaurem Natron bekömmt man jene Rothfärbung, nicht aber mit kohlensaurem Ammoniak. Mit Eisenchloridlösung (alcoholisch) bleibt die Lösung gelb, mit Chlorkalk nimmt sie rothe Farbe an. Durch Verseifung mit Natronlauge habe ich aus dem gelben Fett eine gelbe Fettsäure erhalten, welche mit der bei *Placodium fulgens* characterisirten Placodinsäure vollständig übereinstimmte.

Zur Kenntniss der Organismen des amerikanischen Baumwollsaatmehls.

(Erste Mittheilung.)

Von

W. Zopf.

Seit Verwendung des amerikanischen Baumwollsaatmehles als Kraftfuttermittel sind in den Wirthschaften mehrfach eigenthümliche, tödtlich verlaufende Krankheitserscheinungen zu Tage getreten, welche die Viehbestände mehr oder minder stark decimirten.

Da seiner Zeit auch in unserer Provinz Fälle dieser Art kurze Zeit hinter einander beobachtet wurden, und die Befürchtung nahe lag, dass ihre Zahl sich vermehren könne, regte der Vorsitzende des landwirthschaftlichen Centralvereins der Provinz Sachsen, Herr Landesöconomierath W. von Nathusius-Königsborn die Frage der Anstellung von Untersuchungen über etwaige bacterielle Ursachen jener Erscheinung an, wobei es demselben wünschenswerth erschien, dass dieselben in der Provinz und zwar an der Universität Halle ausgeführt würden.

Seine Excellenz der Herr Landwirthschafts-Minister ordnete in der Folge solche Untersuchungen an und bestimmte, dass sie von einem Botaniker und einem Vertreter des Veterinärfachs ausgeführt werden sollten. Hierauf verfügte Seine Excellenz der Herr Unterrichtsminister dahin, dass der Herausgeber dieser Beiträge die bacteriologische Arbeit, Herr Prof. Pütz die Ausführung der Infectionen übernehmen sollte. Zugleich bewilligte der Herr Minister für Landwirthschaft die nöthigsten Mittel zur Anschaffung von Apparaten, Versuchsthieren etc., und auch der landwirthschaftliche Centralverein der Provinz Sachsen betheiligte sich durch Stellung einiger Versuchsschafe.

Den Ausführungen der bacteriologischen Untersuchung stellten sich zunächst insofern Schwierigkeiten entgegen, als Räume für dieselben in hiesigen Universitäts-Instituten nicht verfügbar waren, oder solche von den betreffenden Directoren in Rücksicht auf eine eventuelle Infectionsgefahr begreiflicherweise nicht hergegeben wurden. Schliesslich hatte Herr Professor Dr. Grenacher, der Director des zoologischen Institutes, nach vollendetem Ausbau dieses Gebäudes die grosse Güte, mir zu gedachtem Zweck ein geräumiges Zimmer mit gutem Licht zu überlassen. Als späterhin das Kryptogamische Laboratorium an hiesiger Universität gegründet und durch abermaliges freundliches Entgegenkommen

des Herrn Prof. Grenacher provisorisch in das Zoologische Institut aufgenommen worden war, wurden die Arbeiten daselbst weiter geführt.

Es dauerte ferner längere Zeit, bis durch einen glücklichen Zufall Material von einem amerikanischen Baumwollsaatmehl erhalten werden konnte, bei dessen Verfütterung sich tödtliche Folgen gezeigt hatten. Dasselbe entstammte einem Gute des verstorbenen Fabrikbesitzers Herrn Kuntze in Halle. Später sandte auch Herr von Nathusius-Hundisburg ein solches Mehl ein.

Bei einer Untersuchung, die Herr W. von Nathusius-Königsborn an nach Baumwollsaatmehl-Fütterung verendeten Schafen ausführte, fanden sich unmittelbar post mortem im Blute zahlreiche Spaltpilzzellen vor, die, wie es nach einem mir gütigst übersandten Präparat den Anschein hatte, einer einheitlichen Species angehörten. Hiernach war es bis zu einem gewissen Grade wahrscheinlich, dass die Ursache der Krankheit bacterieller Natur sei und hieraus nahm ich Veranlassung, die Untersuchung auf Spaltpilze zu beschränken.

Wie nach sonstigen Erfahrungen im Voraus zu erwarten, zeigten jene beiden Baumwollsaatmehle bei näherer Untersuchung einen gewissen Reichthum an Keimen niederer Organismen, besonders aber an Spaltpilzen. Von Letzteren allein konnten aus dem Kuntze'schen Mehle mehr als drei Dutzend isolirt werden. Angesichts dieser beträchtlichen Anzahl entstand die grosse Schwierigkeit, denjenigen Organismus herauszufinden, welcher etwa für die hervorgetretenen Krankheitserscheinungen verantwortlich zu machen sei.

Um diese Aufgabe mit Sicherheit zu lösen, oder aber nachzuweisen, dass in den betreffenden Mehlen überhaupt kein infectiöser Spaltpilz vorkomme, hätte zunächst von jener grossen Anzahl von Arten jede für sich eingehend untersucht und ebenso jede einzelne Infectionsfähigkeit geprüft werden müssen, eine Aufgabe, die, wie jeder auf dem Gebiet Bewanderte zugestehen wird, einem Einzelnen selbst in Jahrzehnten zu lösen unmöglich sein würde.

Es blieb demnach nichts Anderes übrig, als eine Auswahl unter jenen Bacterien zu treffen. Wie aber sollte eine solche Auswahl erfolgen, ohne ganz willkürlich zu sein. Es gab zunächst nur einen einzigen Anhalt für diese Frage, nämlich den bereits erwähnten Befund des Herrn von Nathusius. Indem ich mich auf diesen stützte, suchte ich unter den von mir isolirten Spaltpilzen eine Species herauszufinden, welche mit der von genanntem Herrn im gefärbten Präparat mir zugänglich gemachten nach Gestaltungsweise und Form die meiste Uebereinstimmung erkennen liesse. In der That war eine Art darunter (sie ist in Folgendem als Bacterium vernicosum characterisirt), welche mikroscopisch mit obiger so vollkommen übereinstimmte, dass die Identität Beider sehr wahrscheinlich zu sein schien. Dieser Spaltpilz wurde nun zunächst nach der morphologischen und physiologischen Seite hin studirt und schliesslich in Reinkultur durch Herrn Prof. Pütz an Schafe verimpft wie verfüttert. Allein trotz Verwendung grosser Mengen dieses Organismus fiel das Thierexperiment völlig negativ aus.

Wir versuchten sodann Schafe durch Verfütterung eines grösseren Quantums amerikanischen Baumwollsaatmehls krank zu machen, das mir seitens des Herrn v. Nathusius-Hundisburg zugesandt worden war, mit der brieflichen Nachricht, es habe an Schafen seiner Besitzung sehr schädliche Wirkungen geäussert. Indessen blieben die Versuche ohne den gewünschten Erfolg.

Schon früher waren mit einigen anderen Spaltpilzen des Kuntze-sches Mehles, die ihrem ganzen physiologischen Verhalten nach den Verdacht einer Infectiosität erwecken konnten, ebenfalls Impfungen von Schafen vorgenommen worden, doch auch diese ergaben kein positives Resultat.[1]

In Rücksicht auf diese Ergebnisse, namentlich aber den unerwarteten Ausfall der Fütterungsversuche mit einem Baumwollsaatmehl, das entschieden schädliche Wirkungen gezeigt haben sollte, schien Herrn Prof. Pütz wie mir selbst ein weiterer Verfolg der Frage vor der Hand aussichtslos, und wurde in diesem Sinne an den Herrn Minister berichtet.

Neuere Untersuchungen des Herrn Geheimrath Märcker haben übrigens zu dem Resultate geführt, dass gewisse Krankheitserscheinungen, welche nach Verfütterung von Baumwollsaatmehl an Lämmern und namentlich Hammeln häufig beobachtet werden, nicht auf bacterielle, sondern auf chemisch-physiologische Ursachen zurückzuführen sind. Er fand nämlich, dass jene Mehle relativ grosse Mengen von Phosphorsäure enthalten (über 3 %), welche in den Harnorganen zur Ausscheidung kommend zur Bildung von Blasensteinen (phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia) und damit zu vielfach tödtlich verlaufenden Blasenleiden Veranlassung giebt. Bei Schafen ist die Gefahr weniger gross, als bei Hammeln, weil aus dem weiteren Harn-Ausführungsgange der ersteren jene Concretionen immer noch eher herausbefördert werden können. Man ist daher neuerdings von der Verfütterung jener Mehle an Hammel gänzlich abgekommen.

Die botanische Erforschung der rein gezüchteten Organismen ist in den letzten Jahren stetig weiter geführt worden und zwar in der Weise, dass eine Reihe von Bacterien und Hefearten in morphologischer wie physiologischer Hinsicht möglichst eingehendem Studium unterworfen wurde. Die hierbei gewonnenen Ergebnisse sollen in einer Reihe von Mittheilungen zur Veröffentlichung gelangen, deren erste ich hier vorlege.

Schliesslich verfehle ich nicht, Sr. Excellenz dem Herrn Landwirthschaftsminister, sowie Sr. Excellenz dem Herrn Kultusminister für die Uebertragung der Arbeit und die Bewilligung der bacteriologischen Einrichtung meinen unterthänigsten Dank abzustatten.

Auch den Herren Geheimer Ober-Regierungsrath Dr. H. Thiel, vortragendem Rath im Landwirthschafts-Ministerium, Landesökonomie-

1) Ueber alle diese Infectionsversuche hat Herr Prof. Pütz bereits berichtet in der österreichischen Vierteljahrsschrift für wissenschaftliche Veterinärkunde, Wien 1889: Ueber die nach der Verfütterung von Baumwollsaatmehl bei Kälbern und Schafen beobachteten Krankheitszustände.

rath W. von Nathusius-Halle, Vorsitzenden des landwirthschaftlichen Centralvereins der Provinz Sachsen, Professor Dr. H. Grenacher, Director des zoologischen Instituts, Geheimrath Professor Dr. Märcker und Professor Dr. Fleischer fühle ich mich für ihre gütige Unterstützung zu lebhaftem Dank verpflichtet.

I. Keimgehalt amerikanischer Baumwollsaatmehle.

Derselbe wurde in herkömmlicher Weise mittelst Gelatineplatten-Cultur und Anwendung des üblichen Zählapparates bestimmt.

Im Speciellen bin ich so verfahren, dass ich immer $^1/_{10}$ g des Mehles abwog, dieses in einem bestimmten Quantum (50—500 ccm) sterilisirten Wassers durch Schütteln ganz gleichmässig vertheilte und hiervon $^1/_2$ bis 1 ccm auf ein Gelatinegläschen nahm.

Da die Höhe der zu gewinnenden Keimzahl sehr wesentlich abhängt von der Zusammensetzung des Cultursubstrats, so durfte nur eine Nährgelatine verwandt werden, welche so gut nährt, dass sie möglichst hohe Keimzahlen giebt. Nach vorheriger Ausprobung wählte ich eine solche, die 2 % Fleischextract, 1 % Pepton, 2—3 % Traubenzucker, 1 % Glycerin und etwas Kochsalz enthielt (Reaction neutral oder schwach alkalisch).

Mittelst einer solchen erhält man nun zwar ein gutes Resultat bezüglich der Spaltpilze, nicht aber betreffs der Schimmelpilze. Um die Zahl der letzteren genauer zu bestimmen hat man besondere Culturen mit einer sauren Gelatine zu wählen und dabei etwas über Zimmertemperatur hinauszugehen, was sich bezüglich der Spaltpilze insofern nicht empfiehlt, als die Verflüssigung der Gelatine durch peptonisirende Arten leicht zu rapid vorschreitet und die ganze Zählung unter Umständen bekanntlich in Frage stellen kann.

Keimgehalt zweier schädlicher amerikanischer Baumwollsaatmehle.

A. Vom Gute des Herrn Kuntze.

Versuch I. $^1/_{10}$ g in 50 ccm Wasser sorgfältig vertheilt, davon 1 ccm mit Gelatine gemischt.

Es entstanden auf der Platte	806	Spaltpilzkolonien
im Gläschen blieben	3	„ „
also in 1 ccm vorhanden	809	Keime
in 50 „ „	40,450	Keime
mithin in $^1/_{10}$ g	40,450	Keime
„ **1** „	**404,500**	„

Versuch II. $^1/_{10}$ g mit 30 ccm saurer Gelatine gemischt, bei 22° C. cult.

Es ergaben sich	15	Schimmelmycelien
also in $^1/_{10}$ g	15	Schimmelkeime
in **1** „ **150**	„	„

Mehrere andere Versuche ergaben annähernd dieselbe Bacterien- und Schimmelpilzzahl.

B. Ein von Herrn von Nathusius eingesandtes schädliches Baumwollsaatmehl gab folgende Keimzahl:

$^1/_{10}$ g in 100 ccm Wasser sorgfältig vertheilt, davon 1 ccm mit Gelatine gemischt.

Es entstanden auf der Platte 130 Spaltpilzkolonieen, kein Schimmel.
im Gläschen blieben 2 „ „
also in 1 ccm 132 Keime
„ 100 „ 13,200 Keime
mithin in $^1/_{10}$ g 13,200 Keime
„ **1** „ **132,000** „

Mehrere andere Versuche ergaben annähernd dieselbe Spaltpilzzahl. Bei Verwendung von saurer Nährgelatine wurden 90 Schimmel im Gramm erhalten.

Bemerkenswerth ist, dass $5^1/_2$ jährige Aufbewahrung des Mehles in einem trocknen Schranke die Keimzahl nicht merklich verringert hat.

Keimgehalt verschiedener unschädlicher amerikanischer Baumwollsaatmehle.

A. Probe von der Versuchsstation des landwirthschaftlichen Centralvereins der Provinz Sachsen, durch Herrn Geheimrath Märcker erhalten:

Versuch I. $^1/_{10}$ g in 500 ccm Wasser sorgfältig vertheilt, davon 1 ccm mit Gelatine gemischt.

Es sind nach 3 Tagen auf der Platte entstanden 515 Kolonieen.
also in $^1/_{10}$ g $515 \times 500 = 257{,}500$ Keime
in **1** „ **2,575,000** „

Versuch II. $^1/_{10}$ g in 500 ccm Wasser vertheilt, davon $^1/_2$ ccm mit Gelatine gemischt.

Es sind nach 5 Tagen auf der Platte entstanden 258 Kolonieen (darunter 3 Schimmel).

also in 1 ccm 516 Keime
„ 500 „ 258,000 Keime
mithin in $^1/_{10}$ g 258,000 Keime
in **1** „ **2,580,000** „

Mittel aus beiden Versuchen: **2,527,500** Keime.

Ausserdem wurden zahlreiche andere Proben von unschädlichem amerikanischen Baumwollsaatmehl untersucht (zumeist aus obiger Versuchsstation stammend). Dieselben ergaben einen sehr schwankenden Keimgehalt und zwar bewegten sich die Zahlen zwischen 70,000 und 1 Million pro Gramm.

Man schien früher der Meinung zu sein, dass ein schädliches Baumwollsaatmehl mehr Spaltpilzkeime enthalten müsse, als ein unschädliches. Wenn wir aber obige Ergebnisse noch einmal vergleichend nebeneinander halten:

Schädliches amerikanisches Baumwollsaatmehl (Kuntze) 404,500 Keime
„ „ „ (Nathusius) 132,000 „
Unschädliches „ „ 2,575,000 „

so zeigt sich, dass ein unschädliches Mehl um ca. 20mal reicher an Keimen sein kann, als ein schädliches.

Daraus folgt aber, dass man aus der Anzahl der Keime keinen Schluss auf die Schädlichkeit oder Unschädlichkeit der betreffenden Mehle ziehen kann, mit anderen Worten, dass es nutzlos sein würde, wenn die Landwirthe für die Ermittelung des Keimgehalts der zu verfütternden Baumwollsaatmehle künftig noch Geld ausgeben wollten.

Aber auch die Ermittelung der Qualität der Keime, wie sie etwa dem Landwirth wünschenswerth sein könnte, hat keinen Sinn, da sie innerhalb der kurzen Frist, in welcher der Landwirth das Resultat nothgedrungener Weise haben müsste, ganz unmöglich ist. Denn um die Bacterien einer eingesandten Mehlprobe soweit zu studiren, dass sich bestimmt sagen liesse, es sind diese und diese Arten darin, würde ein geübter Bacteriologe mindestens ein paar Jahre gebrauchen. Die Schwierigkeiten sind besonders deshalb so grosse, weil die Species in den verschiedenen Mehlsorten nach meinen Erfahrungen nicht bloss sehr zahlreich sind, sondern auch einem starken Wechsel unterliegen, überdies bis jetzt der Mehrzahl nach noch gänzlich unbekannt waren.

Zum Vergleich führe ich noch die Keimzahlen von zwei anderen Mehlen bei:

1. Feinstes Weizenmehl aus einer Halle'schen Mehlhandlung:
   $^1/_{10}$ g in 15 ccm Wasser aufgeschwemmt, davon $^1/_2$ ccm.

Es sind auf der Platte entstanden 134 Spaltpilzkolonieen, 2 Schimmelsp.
also in $^1/_{300}$ g 134 „ „ 2 Schimmelsp.
„ **1** „ **40,200** „ „ 600 „

2. Erdnussmehl, von Herrn Geheimrath Märcker erhalten:
   a) $^1/_{10}$ g in 100 ccm Wasser sorgfältig vertheilt, davon 1 ccm mit Gelatine gemischt.

Es sind auf der Platte entstanden 151 Spaltpilzkolonieen, 1 Schimmel.
im Gläschen verblieben 2 „

also in 1 ccm	153 Spaltpilzkeime,	1	Schimmelsp.
in 100 „	15,300 „	100	„
mithin in $^1/_{10}$ g	15,300 Spaltpilzkeime,	100	Schimmelsp.
in **1** „	**153,000** Spaltpilzkeime,	1000	„

   b) $^1/_{10}$ g in 100 ccm Wasser vertheilt, davon 1 ccm mit Gelatine gemischt.

Es sind auf der Platte entstanden 139 Spaltpilzkolonieen, 1 Schimmel.
im Gläschen verblieben 3 „

also in 1 ccm	142 Spaltpilzkeime,	1	Schimmelsp.
in 100 „	14,200 „	100	„
mithin in $^1/_{10}$ g	14,200 Spaltpilzkeime,	100	Schimmelsp.
in **1** „	**142,000** Spaltpilzkeime,	1000	„

II. Bacterium vernicosum Zopf.

Auf Gelatineplatten, welche mit dem von dem Kuntze'sche Gute stammenden schädlichen Baumwollsaatmehle angestellt worden waren, traten unter Anderem immer eine Anzahl von Kolonieen auf, welche makro- und mikroscopisch unter einander völlig übereinstimmten und offenbar ein und demselben Spaltpilze zugehörten. Da nun derselbe nach Form und Dimensionen nicht zu unterscheiden war von einem Bacterium, welches sich reichlich im frischen Blute von Schafen vorgefunden hatte, die nach Verfütterung von amerikanischen Baumwollsaatmehl zu Grunde gegangen waren, und welches mir durch die Güte des Herrn Landesökonomieraths W. von Nathusius in Präparaten zugänglich gemacht worden war, so schien es angezeigt, gerade diesen Spaltpilz zuerst in Reinkultur und Untersuchung zu nehmen.

Bevor Infectionsversuche mit demselben angestellt werden konnten, musste er natürlich erst einem genaueren morphologischen und physiologischen Studium unterworfen werden, damit man ihn von anderen ähnlichen Bacteriaceen mit Sicherheit unterscheiden könne.

Abschnitt I. Morphologische Eigenschaften.

Was zunächst den äusseren Character der Colonieen anbetrifft, so schwankt derselbe je nachdem man verschiedene Substrate verwendet und diese in verschiedener Weise mit den Keimen des Pilzes beschickt.

Mischt man die durch Schütteln mit Wasser möglichst getrennten Zellen des Spaltpilzes mit Nährgelatine und giesst dieselbe auf Objectträger, so erhält man auf der Oberfläche der Gelatine bei Zimmertemperatur nach ein paar Tagen flache oder nur schwachgewölbte weissliche irisirende Schleimtröpfchen von kreisförmigem Umriss und 1—2 mm Durchmesser (Taf. III, Fig. 2), während die in der Gelatine eingebetteten Keime sich zu kleineren, linsenförmigen (von oben betrachtet kreisförmigen, im Profil ellipsoïdischen bis spindeligen Umriss zeigenden) Kolonieen entwickeln (Taf. III, Fig. 3. 4), die bei dichterer Lagerung in Folge gegenseitigen Druckes sich abplatten (Taf. III, Fig. 5).

Etwas characteristischer erscheinen die auf der schrägen Oberfläche der üblichen Nährgelatinen im Reagirglas vom oberflächlichen Impfstrich ausgehenden Kolonieen, die innerhalb 8—14 Tagen zu ansehnlichen Flächen heranwachsen unter Bildung schmaler concentrischer Zonen und eines scharf begrenzten, crenulirten Randes (Taf. III, Fig. 1). Ihre feuchte Masse zeigt schleimige etwas zähe Consistenz und firnissartigen Glanz. Streicht man diese weissliche Masse in dünner Schicht auf einer Glasplatte aus, so trocknet sie nach wenigen Minuten zu einem weisslichen, auf dunklem Grunde graubläulich aussehendem Ueberzuge ein, der wie Lack oder Oelfarbe glänzt und auch so fest wie diese am Glase haftet. In Rücksicht auf diese Eigenschaften habe ich dem Pilze den Speciesnamen *„vernicosum“* beigelegt (von *vernix*, Firniss).

Aehnlich sind die Colonieen, welche man auf der schrägen Agarfläche im Probirglas erhält. Dagegen tragen die auf der schrägen Blutserumfläche erzogenen insofern andern Character, als sie nicht concentrischen Bau und scharfe Begrenzung zeigen.

Was sodann die mikroscopische Structur der Kolonieen anlangt, so ist zu betonen, dass diejenigen, welche auf der Oberfläche der obengenannten Objectträgerculturen sich aus je einem Keim entwickelt hatten (also Taf. III, Fig. 2. 3 entsprechen), schon bei schwacher (etwa 30 facher) Vergrösserung (ohne Deckglas) vom Centrum ausgehende, im Allgemeinen radiär verlaufende, aber streckenweis Biegungen machende, undeutliche Linien zeigten (Taf. III, Fig. 8). Dieselben deuten bereits eine Fadenbildung an. Unter Anwendung stärkerer Vergrösserungen wird es nun leicht, sich zu überzeugen, dass in der That deutliche lange Fäden vorhanden sind, welche aus kurz-cylindrischen Zellen bestehen (Taf. III, Fig. 9). Am schärfsten prägt sich diese Structur an der Peripherie solcher oberflächlicher Kolonieen aus, denn hier ist im Gegensatz zu den mehr centrumwärts gelegenen Partieen nur eine einzige Schicht von Fäden vorhanden (Taf. III, Fig. 9).

Im Vergleich zu manchen andern Bacterium-Arten, beispielsweise zu Kurth's *B. Zopfii*, die ziemlich lange persistirende Fäden bilden, stehen die Zellen von *B. vernicosum* nur in losem Faden-Verband, der sofort gelockert resp. gänzlich gelöst wird, wenn man einen Tropfen Wasser zufügt. Daher lassen sich denn jene Verhältnisse auch nur beobachten, wenn man das Deckglas unmittelbar und vorsichtig auf die Kolonie auflegt und jeden Wasserzusatz vermeidet, oder wenn man die Kolonieen ohne Deckglas mit Objectiven von weitem Abstand betrachtet.

An den in die Gelatine eingebetteten Kolonieen dagegen liess sich trotz schärfster Vergrösserungen niemals mit Sicherheit Fadenbildung nachweisen, weder bei Einstellung auf den optischen Durchschnitt noch bei Betrachtung der oberflächlichen Theile. Vielmehr liegen die Zellen derart über und neben einander gehäuft, dass man fast glaubt, eine Kolonie von rundlichen Zellen vor sich zu haben, wie sie der Gattung *Micrococcus* entspricht (Taf. III, Fig. 6).

Offenbar ist das Unterbleiben exquisiter Fadenbildung auf den Widerstand resp. Druck zurückzuführen, den die Gelatine auf entstehende Fadenverbände ausübt.

Kahmhautbildung tritt in mehr oder minder ausgesprochener Form auf allen möglichen für die Vegetation des Pilzes geeigneten flüssigen Nährsubstraten ein, aber in besonders schöner Weise auf solchen Nährflüssigkeiten, in denen keine Gasentwicklung statt hat, die Oberfläche also in stetem Zustand der Ruhe sich befindet.

Sehr geeignet zur Erzielung einer schönen Kahmhaut ist z. B. Glycerin-Lösung (Glycerin 10 %, Fleischextract 0,5 %, Pepton 1 %, schwach alcalisch durch kohlensaures Natron), die man zu etwa 200 g in Kolben so auffüllt, dass eine möglichst grosse Oberfläche entsteht, und nach der Sterilisation mit ziemlich grossen Mengen (ein paar Platinösen voll) Reinmaterial impft, worauf man das Ganze bei ca. 32° C. stehen lässt. Nach 40 Stunden ist eine ganz continuirliche, schleimige Decke von grosser Gleichmässigkeit entstanden, die beim Schütteln in Fetzen zu Boden fällt. Ausgesprochene Fadenbildung vermisst man in solchen Decken.

Bemerkenswerth ist ferner, dass der Spaltpilz weder auf noch in festen Substraten oder Flüssigkeiten jemals schraubenförmige Fadenzustände bildet.

Alle noch im vegetativen Zustande befindlichen Zellen des Pilzes zeigen ausgesprochenste Schwärmfähigkeit, die sich in den schnellsten Jagbewegungen äussert.

Nach der Vegetationsperiode, deren längere oder kürzere Dauer von der Güte des Substrats beziehungsweise von der später oder früher auftretenden Erschöpfung desselben abhängig ist, geht der Spaltpilz in den fructificativen Zustand über.

Der Eintritt desselben macht sich zunächst dadurch kenntlich, dass die Zellen ihre Schwärmfähigkeit verlieren, sodann ihre Theilungen einstellen, also in eine Periode der Ruhe eintreten. Besondere äussere Charactere dieses Zustandes, wie etwa eine Verdickung oder stärkere Vergallertung der Zellmembran oder eine reichere Speicherung von Plasma, welche sich durch stärkeres Lichtbrechungsvermögen documentiren würde, konnten nicht constatirt werden. Auch bezüglich der Länge und Dicke stehen diese Ruhezustände den kürzeren Formen der vegetativen Zellen nicht nach. Ebensowenig findet in diesen Zuständen Bildung endogener Sporen statt. Wir haben es also hier mit einer Arthrosporen bildenden Bacteriacee, mit einem Vertreter der Gattung Bacterium zu thun.

Für die Richtigkeit der Auffassung der genannten Endstadien der Entwickelung als „Sporen“ sprechen namentlich auch zwei physiologische Momente, nämlich ausgesprochen grössere Widerstandsfähigkeit gegen höhere Temperaturen und gegen Austrocknung im Vergleich zu den vegetativen Zuständen. Näheres hierüber ist im physiologischen Abschnitt mitgetheilt.

Die Arthrosporenbildung schreitet in den Kolonieen in centrifugaler Folge vor, indem sie zunächst die mittleren Partien ergreift und von hieraus nach dem Rande zu geht. Das allmähliche Austrocknen der Substrate begünstigt die Arthrosporenformation.

Wie so viele andere Spaltpilze bildet auch *Bacterium vernicosum* unter gewissen Ernährungsverhältnissen Involutionsformen. Besonders auffällige Gestalt nehmen dieselben in zuckerhaltigen Nährlösungen (Zucker 5%, Pepton 1%, Fleischextract ½%) an, wenn diesen 8% Chlormagnesium zugesetzt sind. Sie erscheinen dann als mächtige kugelförmige oder tonnenartige Gebilde (Taf. III, Fig. 10). Auch bei starkem Zusatz gewisser anderer Salze traten sie auf, sodass man ihre Erzeugung stets sicher bewirken kann. (Vgl. hierüber den physiologischen Abschnitt.)

Abschnitt II. Physiologie.

I. Die Grenzen des Schwärmvermögens.

Gegenüber einem bezüglich seiner Agilität so äusserst günstigen Object wollte ich nicht unterlassen, die Grenzen der Schwärmfähigkeit zu studiren, wenigstens nach einigen Gesichtspunkten hin, und

zwar mit Bezug auf Temperatur und Wasserentziehung (Austrocknung), zumal Untersuchungen über solche Fragen nicht vorzuliegen scheinen.

A. Die Temperaturgrenzen des Schwärmvermögens.

1. Untere Temperaturgrenze.

Als Versuchsmaterial verwandte ich zunächst ganze Objectträgerculturen (Impfstrichkolonieen) von Nähr-Gelatine oder Agar, die nur 1—4 Tage alt und noch in allen Theilen schwärmfähig waren.

Vers. 1. Einwirkung mehrstündiger natürlicher Kälte von ca. 10° C. (kalte Märznacht 1886). Die Gelatine sammt der Spaltpilzkolonie gefror schon nach einigen Sekunden. Nach dem Einbringen ins warme Zimmer schnell mit destillirtem Wasser aufgethaut zeigten alle Zellen sofort energischste Schwärmbewegung.

Vers. 2. Einstündige Einwirkung einer Kälte von ca. 20° C. (Kältemischung, 1 Thl. Schnee, 1 Thl. verd. Schwefelsäure). Ergebniss wie oben.

Da bei voriger Versuchsordnung möglicherweise die Kälte nicht alle Theile gleich stark getroffen, änderte ich die Versuche dahin, dass ich den Objecträger mit der Gelatine durch ein feinstes Glimmerblättchen ersetzte, mit welchem ein Abdruck der Spaltpilzmasse genommen wurde.

Vers. 1. Fünfstündige Einwirkung einer Kälte von 7 bis 13° C. Ergebniss wie oben.

Vers. 2. Zweistündige Einwirkung einer Kälte von 7 bis ca. 20° C. Ergebniss wie oben.

Hierauf wandte ich gleich sehr tief liegende Kältegrade an, wie man sie durch Verwendung fester Kohlensäure erzielt.[1]

Die Versuchsanorduung war folgende: Nachdem ein enges Becherglas zur Hälfte mit Kohlensäure-Schnee angefüllt war, wurden zwei enge dünnwandige Reagirröhrchen in denselben eingefügt und in jedes ein Glimmerblättchen geworfen, mit welchem ein Abdruck von einer jungen nur 24 Stunden alten Gelatine-Objectträger-Strichkultur genommen war. Hierauf wurden die Gläschen mit Wattepfropf verschlossen. Ein ähnliches mit Chloroform beschicktes Gläschen fügte ich zur Prüfung des Kältegrades hinzu. Hierauf wurde zur gleichmässigeren Vertheilung der Kälte Aether absol. der Kohlensäure zugefügt und von Zeit zu Zeit neue Kohlensäure eingeschüttet. Da das Chloroform bald gefror und während der ganzen Versuchszeit fest blieb, so durfte angenommen werden, dass mindestens eine Temperatur von —83° C. (Gefrierpunkt des Chloroforms) erreicht blieb, wahrscheinlich aber sank die Temperatur noch tiefer.

Vers. 1. 3stündige Erkältung auf mindestens —83° C. Sofort in destillirtes Wasser gebracht zeigten die Zellen wildeste Jagbewegung.

Vers. 2. 3stündige Erkältung auf mindestens —83° C. Dasselbe Ergebniss.

Somit sind die Zellen von *Bacterium vernicosum* im Stande, eine 3stündige Einwirkung von mindestens —83° C. unter obigen Bedingungen auszuhalten, ohne dass ihr Schwärmvermögen aufgehoben würde.

Um zu sehen, ob etwa auch andere lebhaft schwärmende Spaltpilze ein ähnliches Verhalten zeigen, habe ich *Bacillus subtilis* (Cohn)

---

1) Herr Prof. J. Volhard hatte die Güte, mir dieselbe zur Verfügung zu stellen, wofür ich ihm auch hierdurch meinen ergebensten Dank sage.

und *Bacterium prodigiosum* (Ehrenb.) genau der gleichen Behandlung unterworfen.

1. *Bacterium prodigiosum*, auf Glycerin-Agar 18 Stunden gezüchtet; schwärmende Zellen ziemlich zahlreich. Glimmerblättchen-Abdruck.

Vers. 1. $2^1/_2$ stündige Einwirkung einer Kälte von mindestens —83° C. Nach Befeuchtung mit Wasser Alles noch schwärmfähig.

Vers. 2. $3^3/_4$ stündige Einwirkung. Die Zahl der Schwärmer etwas zurückgegangen, doch schwärmt immer noch eine grosse Anzahl und zwar mit vor- und rückwärts schiessender Bewegung.

2. *Bacillus subtilis*,[1] auf Glycerin-Agar $1^3/_4$ Tag gezüchtet, die meisten Zellen sehr lebhaft schwärmend. Glimmerblättchen-Abdruck.

Vers. 1. 1stündige Einwirkung obiger Kälte. Noch eben so zahlreich und lebhaft schwärmend.

Vers. 2. $2^1/_2$ stündige Einwirkung. Die Zahl der Schwärmer entschieden etwas verringert (wie das sofort zum Vergleich herangezogene Ausgangsmaterial zeigte), doch sind die Bewegungen noch recht energisch.

Vers. 3. $3^3/_4$ stündige Einwirkung. Die Zahl der Schwärmer gegen früher entschieden noch etwas mehr zurückgegangen, aber diejenigen Zellen, welche noch schwärmen, führen zumeist sehr energische Bewegungen aus, energische Drehbewegung ist vorherrschend.

Diese Versuche zeigen, dass *Bacterium prodigiosum* sich ohngefähr dem *Bact. vernicosum* ähnlich verhält, *Bacillus subtilis* ein wenig empfindlicher zu sein scheint. Bei noch länger anhaltender Kältewirkung werden wohl beide Species, vielleicht auch *B. vernicosum* ihr Schwärmvermögen einbüssen. Doch verhinderte die Kostspieligkeit der Versuche ihre weitere Ausdehnung.

Die Thatsache, dass Spaltpilzzellen bei so niederen Temperaturen, wie die von mir angewandten, nicht einmal ihre Schwärmfähigkeit einbüssen, ist jedenfalls sehr bemerkenswerth.

2. Obere Temperaturgrenze.

Zunächst wurde geprüft, welches die obere Temperaturgrenze bei Anwendung feuchter Wärme sei.

I. Versuche mit schwärmfähigem Pilzmaterial, welches auf festem Substrat reingezüchtet und von diesem rein abgehoben war, um dann in einem Reagirglase in 10 ccm sterilisirtem Wasser aufgeschwemmt zu werden, sodass dasselbe getrübt erschien. Das Gläschen wurde durch einen Kork verschlossen, durch dessen Bohrung ein Thermometer in das Wasser hineinragte, das Ganze darauf in ein hohes Becherglas mit Wasser hineingesaugt und dieses auf dem Wasserbade langsam erwärmt.

Versuchsreihe 1. Material von einer 43 Stunden alten Strichkultur auf Agar. Es zeigte lauter schwärmfähige Zellen.

Vers. 1. Auf 50° C. An allen Zellen deutliche Schwärmbewegung, meist drehende, z. Th. jagende.

Vers. 2. Auf 55° C. Nichts von Schwärmbewegung, nur lebhafte Brown'sche Bewegung.

1) Das Ausgangs-Material stammt aus dem hygienischen Institut zu Breslau und wurde mir durch die Güte des Herrn Geheimrath C. Flügge zugänglich, dem ich hierdurch meinen besten Dank ausspreche.

Versuchsreihe 2. Material einer 48 Stunden alten Gelatinekultur, lauter lebhaft jagende Zellen.

Vers. 1. Auf 50° C. Alles in jagender und drehender Schwärmbewegung.
Vers. 2. Auf 52° C. Nur noch ein geringer Procentsatz schwärmend.
Vers. 3. Auf 54° C. Keine Zelle mehr schwärmthätig.

II. Versuche mit Pilzmaterial, welches durch Kultur in Nährflüssigkeiten gewonnen war.

a) Reichliche Mengen von Keimen einer Gelatine-Reinkultur in sterilisirtem $^1/_2$% Fleischextract (50 ccm) im Kölbchen kultivirt 12 Stunden lang. Es waren jetzt lauter Schwärmzustände vorhanden. Nun wurde das Thermometer eingeführt und das Ganze in ein hohes mit Wasser gefülltes Becherglas gehängt, das auf dem Wasserbad allmählich erwärmt wurde. Sobald die gewünschte Temperatur erlangt war, wurde das Kölbchen herausgenommen und untersucht:

Vers. 1. Auf 50° C. Noch alle Zellen schwärmend.
Vers. 2. Auf 55° C. Keine Schwärmthätigkeit mehr.

b) Anordnung der Versuche wie oben, ähnliches Material:

Vers. 1. Auf 51° C. Alles noch lebhaft schwärmend.
Vers. 2. Auf 52° C. Schwärmthätigkeit bei der Mehrzahl der Zellen schwächer geworden.
Vers. 3. Auf 54° C. Ebenso.
Vers. 4. Auf 55° C. Keine Schwärmbewegungen mehr.

c) Versuche mit Kulturen in Urin. In ein sterilisirtes Probirglas wurden 10 ccm frischer Urin schnell eingebracht und dann mit einer relativ grossen Menge einer Gelatinekultur schnell geimpft, worauf das Ganze 24 Stunden bei 20—25° C. gehalten wurde. Die Flüssigkeit war jetzt stark getrübt und zeigte lauter schwärmende Zellen des Pilzes. Nach Einfügung des Thermometers wurde das Gefäss im Wasserbade allmählich erwärmt.

Vers. 1. Auf 50° C. Alles noch schwärmfähig.
Vers. 2. Auf 55° C. Nur noch Tanzbewegung.

Aus allen diesen Versuchsreihen ergiebt sich, dass die obere Temperaturgrenze der Schwärmfähigkeit des *B. vernicosum* bei Anwendung von Flüssigkeiten (Wasser, Fleischextract, Urin) und unter den sonstigen angegebenen Versuchsverhältnissen mit 50° C. noch nicht erreicht ist, sondern erst zwischen 50 und 55° C. liegt.

Da Wärme, wenn sie mit Feuchtigkeit gepaart ist, bekanntlich im allgemeinen schnellere und stärkere Wirkungen auf niedere Organismen äussert, als trockne Wärme, so durfte nicht versäumt werden, die obere Temperaturgrenze der Schwärmfähigkeit des *B. vernicosum* noch besonders mit Bezug auf trockne Wärme zu ermitteln.

Die Versuchsanordnung war folgende: Von 2 wenige Tage alten Agarkulturen, die, wie ich mich durch mikroscopische Untersuchung zuvor überzeugte, massenhaft schwärmfähige Zellen enthielt, wurde wenig Material auf dünne Glimmerblättchen ausgestrichen zu einer sehr dünnen und möglichst gleichmässigen Schicht, die sofort antrocknet. Als trocknen Warmraum verwandte ich eine trockne weithalsige, durch einen zweilöchrigen Gummipfropf dicht verschliessbare Flasche. Durch

das eine Loch wurde das dicht anliegende Thermometer gesteckt und an dasselbe das durchbohrte Glimmerblättchen durch ein Fädchen so befestigt, dass es dem Quecksilbergefäss des Thermometers dicht anlag, also dessen Temperatur erhalten musste; die andere Oeffnung wurde durch ein Wattepfröpfchen verschlossen. Das Ganze kam darauf in ein mit Wasser beschicktes Becherglas und dieses auf ein Wasserbad. Die Temperatur wurde allmählich gesteigert bis zu dem gewünschten Grad. In dem Moment, wo derselbe erreicht war, nahm ich das Gefäss heraus und untersuchte den Ueberzug des Glimmerblättchens auf Schwärmvermögen durch Zusatz von destillirtem sterilisirtem Wasser.

Versuchsreihe I.

Vers. 1. Von 20° auf 65° C. erwärmt. Zellen noch massenhaft und in lebhaftester Form schwärmend.
Vers. 2. Von 20° auf 67° C. Nicht mehr so massenhaft schwärmfähig, aber doch noch eine nicht unbedeutende Schwärmerzahl.
Vers. 3. Von 20° auf 68° C. Immer noch eine Anzahl schwärmfähig.
Vers. 4. Von 20° auf 70° C. Nur noch lebhafte Tanzbewegung, deutliche Schwärmbewegung nicht mehr vorhanden.

Versuchsreihe II.

Vers. 1. Von 20° auf 65½° C. Lebhafte Schwärmbewegung. Viele Zellen quer übers Gesichtsfeld jagend, andere in heftig drehender Bewegung.
Vers. 2. Von 20° auf 67° C. Nur noch eine geringe Zahl in Bewegung und zwar in lebhaft drehender.
Vers. 3. Von 20°—68° C. Relativ wenig Zellen noch in typischer und zwar lebhaft drehender Schwärmbewegung. Die meisten zeigen schon lebhafte Tanzbewegung.
Vers. 4. Von 20° auf 69° C. Noch eine ganze Anzahl in lebhaft drehender Schwärmbewegung.
Vers. 5. Von 30°—71° C. Immer noch einzelne wenige Zellen in lebhaft drehender Bewegung.
Vers. 6. 30°—71½° C. Nur noch Brown'sche Bewegung.

Versuchsreihe III. Material 43 Stunden alt.

Vers. 1. Von 18° auf 65° C. Alle Zellen noch schwärmfähig, und zwar ist die Bewegung theils eine jagende, theils und vorherrschend eine sehr lebhaft drehende.
Vers. 2. Von 18° auf 71° C. Sehr vereinzelte Zellen noch in lebhaft drehender Schwärmbewegung, alle übrigen nur Brown'sche Bewegung zeigend.
Vers. 3. Von 18° auf 73° C. Nur noch Brown'sche Bewegung[1].

Aus diesen Versuchsreihen geht hervor, dass die obere Temperaturgrenze der Schwärmfähigkeit bei Anwendung trockner Wärme auf angetrocknetes Material unter den angegebenen Bedingungen etwa zwischen 67 und 73° C. liegt.

Wir sahen früher, dass die obere Temperaturgrenze der Schwärmfähigkeit bei Anwendung von feuchter Wärme (Flüssigkeiten) zwischen 50 und 55° C. belegen ist.

---

1) Nach etwa ¾ Stunden jedoch zeigten viele Zellen bereits wieder lebhaft drehende Schwärmbewegungen; einzelne schwärmten sogar quer übers Gesichtsfeld. Wahrscheinlich sind dies während jener Frist durch Zweitheilung entstandene Tochterzellen. Es wäre aber auch denkbar, dass die ursprünglichen Zellen sich wieder so weit erholt hätten, dass sie die Schwärmthätigkeit wieder aufnehmen konnten.

Mithin liegt die obere Temperaturgrenze der Schwärmfähigkeit bei Anwendung trockner Wärme auf angetrocknetes Material etwa um 17—18° höher, als die obere Temperaturgrenze der Schwärmfähigkeit bei Anwendung feuchter Wärme (Flüssigkeiten).

Bei meinen Versuchen habe ich die Beobachtung gemacht, dass, wenn die Schwärmthätigkeit sich der oberen Temperaturgrenze nähert, ein Bewegungszustand eintritt, der die Mitte hält zwischen lebhafter „Jagbewegung" und der blossen Brown'schen oder „Tanzbewegung". Es ist dies die „Drehbewegung", welche sich darin äussert, dass die Spaltpilzzelle sich in energischer Weise um ihre Querachse dreht, wobei sie entweder auf derselben Stelle bleibt, oder auch den Ort wechselt. (Dieses Uebergangsstadium zwischen Schwärm- und Tanzbewegung wurde auch beobachtet bei Anwendung von Reagentien in allmählich sich steigernder Concentration).

Fassen wir die Resultate aller vorstehenden Versuche über die Temperaturgrenzen des Schwärmvermögens zusammen, so ergiebt sich folgendes:

1. Die obere Temperaturgrenze des Schwärmvermögens liegt bei Anwendung feuchter Wärme (Flüssigkeiten) unter den angegebenen Versuchsverhältnissen zwischen 50 und 55° C.
2. Die obere Temperaturgrenze des Schwärmvermögens liegt bei Anwendung von trockner Wärme etwa zwischen 67 und 73°, also um 17—18° höher als bei 1.
3. Die untere Temperaturgrenze des Schwärmvermögens liegt bemerkenswertherweise ausserordentlich tief. Sie konnte nicht genau bestimmt werden, weil sie unter den angegebenen Versuchsverhältnissen bei —83° (während dreier Stunden) noch nicht erreicht war, und Mittel zur Erzeugung noch grösserer Kältegrade nicht in Anwendung gebracht werden konnten.

Das Schwärmvermögen des *B. vernicosum* scheint sich demnach in sehr weiten Temperaturgrenzen zu bewegen, nämlich unter obigen Bedingungen innerhalb mehr als 133 resp. 156 Graden C.

Es würde von Interesse sein, *Bacterium vernicosum* bezüglich der oberen und unteren Temperaturgrenzen der Schwärmfähigkeit genau vergleichen zu können mit anderen Spaltpilzen; allein es liegen, soweit mir bekannt, keine speciellen Untersuchungen über diesen Punkt vor. Die wenigen gelegentlichen Experimente beziehen sich entweder nur auf die obere oder nur auf die untere Temperaturgrenze der Schwärmfähigkeit und sind z. Th. an nicht näher charakterisirten Spaltpilzen gemacht, sodass man sie nicht einmal auf ihre Richtigkeit controlliren kann. Brauchbar ist zunächst nur eine Angabe Kurth's[1], die sich auf die obere Temperaturgrenze der Schwärmfähigkeit von *Bacterium Zopfii* in Flüssigkeiten bezieht. K. bestimmte diese Grenze auf 33—37° C. Da die Bestimmung nach demselben Verfahren erfolgte,

1) Bacterium Zopfii. Botan. Zeitung. 1883, p. 416.

wie ich es anwandte, so ist K.'s Resultat mit dem meinigen vergleichbar: Während die obere Temperaturgrenze der Schwärmfähigkeit des *Bacterium Zopfii* bei Anwendung von Flüssigkeiten bei 33—37° liegt, ist sie, wie wir sahen, bei *B. vernicosum* bei etwa 55°, also 18 bis 22° höher gelegen. Mithin sind die Schwärmzustände von *B. Zopfii* gegen höhere Temperaturen wesentlich empfindlicher, als die von *B. vernicosum*.

P. Gräfenhan, der im Kryptogamischen Laboratorium Versuche über *Bacillus disciformis* anstellte und dabei im wesentlichen dieselbe Versuchsanordnung wählte, wie ich selbst, fand, dass die obere Temperaturgrenze der Schwärmfähigkeit in Flüssigkeiten zwischen 55 und 60° C. lag, also um einige Grade höher, als bei *B. vernicosum*[1].

B. Die Grenzen des Schwärmvermögens in Bezug auf Wasserentziehung (Austrocknung).

1. Austrocknung bei Zimmertemperatur. Auf Nährgelatine erzogene, erst wenige alte Kolonieen wurden vorsichtig vom Substrat abgenommen und kleine Portionen der zähschleimigen Masse auf einer grösseren Anzahl von Objectträgern in dünnster und möglichst gleichmässiger Schicht ausgestrichen und in Zimmerluft (bei ca. 20° C.) vor Staub geschützt getrocknet. An je einem der folgenden Tage wurde je ein Objectträger in der Weise geprüft, dass ein paar Tropfen destillirten Wassers auf die Trockenschicht gebracht, nach ein paar Secunden das Deckglas aufgelegt und sofort beobachtet wurde. Diese Prüfung ergab:

nach 24 Stunden: ein grosser Theil der Zellen höchst lebhaft schwärmend,
„ 48 „ : „ „ „ „ „ „ „ „
„ 4 Tagen : „ „ „ „ „ „ „ „
„ 10 „ : ebenso, doch schien mir der Procentsatz der Schwärmer geringer geworden zu sein,
„ 17 „ : die überwiegende Masse der Zellen in Ruhezustand, eine relativ geringe Zahl noch lebhaftestes Schwärmvermögen,
„ 20 „ : nur noch lebhafte Molecularbewegung, keine typischen, in deutlichem Hin- und Herjagen sich documentirenden Schwärmbewegungen mehr.

Die vorstehenden Versuche wurden im Frühjahr gemacht. Im October habe ich dann die Versuche wiederholt und zwar mit $2^1/_2$ Tage altem Material, welches in der obigen Weise ausgestrichen war. Es zeigte sich, dass bei diesen letzteren Versuchen die Schwärmfähigkeit schon am 13. Tage aufgehoben war, also etwas früher, als bei den ersten Versuchen; ferner mit 3 Tage altem Material, das in der gleichen Weise behandelt, aber in höchst dünnen Schichten ausgestrichen, schon nach 2 Tagen nicht mehr schwärmfähig war.

2. Austrocknung im Exsiccator (über conc. Schwefelsäure). Material von ein und derselben 48 Stunden alten Gelatine-Objectträgercultur mit massenhaften Schwärmzuständen. Es wurde in zwiefacher Weise präparirt: einmal so, dass auf 10 Objectträger je ein grosser

1) Bacillus disciformis. Ein Beitrag zur Kenntniss der Wasserbacterien. Dissertation Halle 1891.

Tropfen sterilisirten destillirten Wassers gegeben und in diesen eine kleine Menge der Spaltpilzmasse sehr fein vertheilt ward, worauf ich den Tropfen eintrocknen liess; zweitens so, dass auf 10 Objectträger je eine kleine Menge der Spaltpilzmasse mittelst eines Deckgläschens in dünner Schicht ausgestrichen wurde, worauf diese schnell trocknete. Beide Serien kamen dann gleichzeitig in den Exsiccator. Ich muss bemerken, dass bei der ersten Serie die Vertheilung der Zellen naturgemäss feiner und gleichmässiger ausfallen musste. Die Prüfung auf Schwärmfähigkeit geschah wiederum durch Zusatz von aq. dest.

	Tropfenschicht	ausgestrichene Schicht
nach 14 Stunden	noch viele Zellen schwärmfähig	noch viele Zellen schwärmfähig
„ 24 „	keine Zelle mit deutlicher Schwärmbewegung	nur sehr vereinzelte Zellen mit drehender Schwärmbewegung
„ 38 „	Schwärmfähigkeit erloschen.	Schwärmfähigkeit erloschen.

Austrocknung über Schwefelsäure hebt also die Schwärmfähigkeit schon nach etwa 24 Stunden auf.

II. Die Grenzen der Lebensfähigkeit.

Nach Feststellung der Grenzen der Schwärmfähigkeit erübrigt es noch die Grenzen der Lebensfähigkeit zu ermitteln und zwar wollen wir auch hier wieder berücksichtigen einerseits die Temperatur, andererseits Wasserentziehung (Austrocknung). Uebrigens hat sich diese Prüfung sowohl auf vegetative, als auf nicht mehr vegetative Zustände (Sporen) zu erstrecken.

1. Die Temperaturgrenzen der Lebensfähigkeit.

A. Die obere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit.

a) Der vegetativen Zustände.

Ich habe mich zunächst trockner Wärme bedient. Als Material wurden nur ganz junge (nicht über 24 Stunden alte) Kulturen auf Nährgelatine verwandt, weil diese Sicherheit bieten, dass man noch lauter vegetative Zustände vor sich hat, was man leicht feststellen kann, da bei Wasserzusatz sämmtliche Zellen in lebhafteste Schwärmthätigkeit gerathen. Solches Material strich ich in dünnster Schicht auf dünnste Glimmerblättchen aus, trocknete und erhitzte dieselben in trockner Luft in der Weise, wie es oben angegeben wurde. Zur Prüfung auf Lebensfähigkeit wurden Schalenkulturen mit Nährgelatine verwandt:

1. Von Zimmertemp. auf 93° in 20 Minuten: Zahlreiche Kolonieen
2. „ „ „ 95° „ 35 „ „ „ „
3. „ „ „ 101° „ 35 „ „ „ „
4. „ „ „ 106° „ 35 „ „ „ „
5. „ „ „ 110° „ 30 „ „ „ „
6. „ „ „ 115° „ 30 „ „ „ „
7. „ „ „ 120° „ 30 „ Nichts aufgegangen.

In der zweiten Versuchsreihe wurde 48 Stunden altes, durch und durch schwärmfähiges Material von Nährgelatine verwandt, sehr dünn ausgestrichen auf Glimmerblättchen. Je eines derselben befestigte ich so am Thermometer, dass es mit dem Quecksilbergefäss in gleicher Höhe war, sodann wurde das Thermometer mittelst Wattepfropf in ein vollkommen trocknes Reagirglas eingefügt, das gerade so weit war, dass es genau in eine der oberen Oeffnungen des doppelwandigen mit Asbest belegten Trockenschrankes passte. Der kleine Apparat hing also frei in den Trockenraum hinein. Hierauf wurde auf eine bestimmte Temperatur erwärmt. Zur Prüfung auf Lebensfähigkeit diente Gelatine-Schalenkultur.

1. auf 125 ° in 44 Minuten: Nichts aufgegangen.
2. „ 120 ° „ 26 „ „ „
3. „ 115 ° „ 18 „ Zahlreiche Kolonieen.

Die obere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit der vegetativen Zustände bei Anwendung trockner Wärme auf trocknes in dünnster Schicht ausgebreitetes Material liegt mithin unter den angegebenen Bedingungen zwischen 115 und 120 ° C.

Sodann wurde feuchte Wärme auf die vegetativen Zustände in Anwendung gebracht.

Versuchsreihe 1. Fleischextractlösung (1 proc.) mit Material aus einer Gelatinecultur beschickt und 12 Stunden bei Zimmertemperatur cultivirt. Es sind jetzt massenhaft schwärmfähige Zellen vorhanden. Nach Einfügung des Thermometers Erwärmung wie früher.

1. auf 70 ° C. Auf der Gelatineplatte schon nach 22 Stunden aus jedem Keime eine Kolonie.
2. „ 75 ° „ Keine Entwickelung.

Versuchsreihe 2. Eine ca. 20 Stunden alte Kolonie auf Gelatine wird in $^1/_2$ proc. Fleischextractlösung vertheilt. Erwärmungsweise wie früher.

1. auf 70 ° C. Auf der Gelatine zahlreiche Kolonieen.
2. „ 72 ° „ Ebenso.
3. „ 73 ° „ Ebenso.

Versuchsreihe 3. In frischen Urin eingebrachtes Reinmaterial 24 Stunden cultivirt, Flüssigkeit jetzt von schwärmenden Zuständen stark getrübt. Erwärmung wie oben.

1. auf 70 ° C. Auf der Gelatineplatte zahlreiche Kolonieen.
2. „ 75 ° „ Keine Entwickelung.

Die obere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit der vegetativen Zustände liegt mithin bei Anwendung feuchter Wärme unter den angegebenen Bedingungen zwischen 73 und 75 ° C.

b) Der Arthrosporen.

Material aus einer fast $2^1/_2$ Monat alten Gelatinecultur im Probirglas, überall in den Dauerzustand übergegangen, nicht mehr schwärmfähig. Es wurde auf dünnste Glimmerblättchen gestrichen, getrocknet und in der früher angegebenen Weise erwärmt.

1. Von Zimmertemp. auf 115 ° C. in 34 Min. Vermischen der Keime mit Nährgelatine; zahlr. Kolonieen.
2. „ „ „ 120 ° „ „ 15 „ „ „ „
3. „ „ „ 125 ° „ „ 20 „ „ „ „
4. „ „ „ 130 ° „ „ 15 „ „ „ „
5. „ „ „ 135 ° „ „ 35 „ „ Keine Kolonie.

Die obere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit der Arthrosporen liegt also bei Anwendung trockner Wärme unter obigen Bedingungen zwischen 130 und 135 ° C.

Um auch den Einfluss feuchter Wärme zu prüfen, brachte ich Arthrosporen einer alten Serumkultur in ein Probirröhrchen mit destillirtem Wasser, fügte das Thermometer ein und erwärmte:

1. Von 20 ° auf 80 ° C.
2. „ „ „ 86 „ } zahlreiche Kolonieen auf der Platte,
3. „ „ „ 87 „
4. „ „ „ 91 „ nichts mehr aufgegangen.

Die obere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit der Arthrosporen liegt also bei Anwendung feuchter Wärme unter obigen Bedingungen etwa zwischen 87 und 91 ° C.

B. Die untere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit.

Ich habe sowohl Arthrosporen als auch vegetative Zustände einer 4stündigen Einwirkung einer mit fester Kohlensäure erzielten Kälte von — 83 ° C. ausgesetzt, ohne dass sich irgend welche schädlichen Einwirkungen gezeigt hätten, was freilich auch kaum anders zu erwarten war, da ja die Schwärmfähigkeit nicht einmal bei 3stündiger Wirkung dieses so niederen Kältegrades erlosch.

Zu besserem Vergleich lasse ich hier folgen eine

Uebersicht über die Temperaturgrenzen des Schwärmvermögens sowie der Lebensfähigkeit.

		bei Anwendung feuchter Wärme	bei Anwendung trockner Wärme
Obere Temperaturgrenze	der Schwärmfähigkeit	zwischen 50 und 55 ° C.	zwischen 67 und 73 ° C.
	der Lebensfähigkeit der vegetativen Zellen	„ 73 und 75 ° „	„ 115 und 120 ° „
	der Sporen	„ 87 und 91 ° „	„ 130 und 135 ° „
Untere Temperaturgrenze	der Schwärmfähigkeit	bei — 83 ° (dreistündige Dauer) noch nicht erreicht.	
	der Lebensfähig der vegetativen Zustände und Sporen	„ „ „ (vierstündige Dauer)	„ „ „

Diese Uebersicht lehrt, dass das, was ich als Sporen anspreche, Entwickelungszustände sind, welche erheblich grössere Widerstandsfähigkeit gegen feuchte wie trockne Hitze aufweisen, als die vegetativen

Zustände. Sie entsprechen hierin in der That der Anforderung, die man an „Sporen“ stellen kann.

2. Die Grenzen der Lebensfähigkeit mit Bezug auf Austrocknung.

Da man nicht mit Sicherheit sagen kann, ob bei der allmählichen Austrocknung (bei gewöhnlicher Temperatur) die vegetativen Zustände, die man für die Versuche verwendet, nicht etwa, wie es wahrscheinlich ist, in Arthrosporen übergehen, so habe ich die Frage nach der Austrocknungsgrenze der Lebensfähigkeit für die vegetativen Zustände gänzlich beiseite gelassen, um nicht eventuell zweifelhafte Resultate zu bekommen. Es ist indessen immer angegeben worden, ob als Ausgangsmaterial vegetative Zellen oder Arthrosporen verwandt wurden. Die Präparationsmethode war die frühere (Ausstreichen in dünnster Schicht auf Objectträger oder Glimmerblättchen oder Suspendirung der Zellen in einem grossen Tropfen destillirten Wassers, den ich dann eintrocknen liess). Doch habe ich auch ganze Objectträgerculturen eintrocknen lassen.

1. Austrocknung über conc. Schwefelsäure.

Versuchsreihe 1. Material von einer 48 Stunden alten Gelatinecultur, noch sehr reich an Schwärmzuständen. Es wird auf 10 Objectträger je 1 Tropfen Wasser gegeben, mit einer kleinen Menge des Spaltpilzes beschickt und eintrocknen gelassen.

Vers. 1. 7 Tage getrocknet. Zahlreiche Kolonieen auf der Platte.
Vers. 2. 14 „ „ Keine einzige Kolonie.

Versuchreihe 2. Material wie oben, aber auf die Objectträger in dünnster Schicht ausgestrichen.

Vers. 1. 7 Tage getrocknet. Zahlreiche Kolonieen auf der Platte.
Vers. 2. 14 „ „ Keine einzige Kolonie.

Versuchsreihe 3. Material aus einer $2^1/_2$ Tage alten, nur vegetative Zellen enthaltenden Gelatinecultur, auf Glimmerblättchen ausgestrichen.

Vers. 1. 156 Tage getrocknet. Auf der Platte aus jedem der zahllosen Keime eine Kolonie.
Vers. 2. 176 „ „ ebenso.

Versuchsreihe 4. Material aus einer $1^1/_2$ Monat alten Serumcultur, die nur noch Dauerzustände zu enthalten schien, auf Glimmerblättchen ausgestrichen.

Vers. 1. 35 Tage getrocknet
Vers. 2. 103 „ „ } zahllose Kolonieen auf der Platte.
Vers. 3. 162 „ „
Vers. 4. 238 „ „ Keine einzige Kolonie.

2. Austrocknung in Zimmerluft.

Versuchsreihe 1. Material aus wenige Tage alten Gelatineculturen, auf Glimmerblättchen ausgestrichen.

Vers. 1. 123 Tage getrocknet
Vers. 2. 174 „ „ } zahlreiche Kolonieen auf der Platte.
Vers. 3. 362 „ „ nichts aufgegangen.

Versuchsreihe 2. Material in der Weise gewonnen, dass auf Gelatinetropfen mehrerer Objectträger der Pilz in mehreren Impfstrichen mehrere Wochen lang wachsen gelassen wurde, worauf diese Culturen in ein Doppelschälchen kamen, um hier allmählich auszutrocknen, was innerhalb eines Monats geschah. Es schienen jetzt nur noch Arthrosporen vorhanden zu sein.

Vers. 1. Vom 19. Juni 1888 bis 1. Febr. 1890, also 19½ Monat getrocknet. Ergebniss: Zahlreiche Kolonieen auf der Platte.

Vers. 2. Vom Juni 1887 bis Januar 1891, also ca. 1290 Tage getrocknet. Nichts gewachsen.

Der Spaltpilz hat also in meinen obigen Versuchen ein 176 tägiges Austrocknen über Schwefelsäure, sowie ein ca. 1180 tägiges Austrocknen in Zimmerluft ertragen.

In den eben mitgetheilten thatsächlichen Befunden finden sich scheinbare Widersprüche. Denn in Versuchsreihe 3 mit Schwefelsäure giebt Material einer nur 2½ Tage alten Gelatine-Kultur, die sicher nur vegetative Zustände enthielt, dasselbe Ergebniss, wie Material aus einer 1½ Monate alten Serum-Kultur, die doch gewiss keine vegetativen Zustände mehr enthielt. Allein ich glaube, dieser Widerspruch lässt sich dadurch erklären, dass die Zustände der jungen Gelatine-Kultur beim Eintrocknen erst in Sporen übergegangen sind und darum so widerstandsfähig blieben. In Versuchsreihe 1 und 2 konnte dieser Umstand nicht eintreten, weil das Material auf andere Weise präparirt und dabei aufs Feinste vertheilt war, sodass die Schwefelsäure binnen kurzer Zeit tödtlich austrocknend wirken konnte.

3. Die Dauer der Lebensfähigkeit unter sonstigen besonderen Bedingungen.

Von einer erst wenige Tage alten üppigen Gelatine-Impfstrich-Kultur wurde eine kleine Menge der feuchten Spaltpilzmasse mittelst eines Glasfadens abgehoben und in einseitig zugeschmolzene Glasröhrchen, deren lichte Weite ca. 4 mm, die Länge ca. 1 dcm betrug, eingebracht, worauf das andere Ende ebenfalls zugeschmolzen wurde. Hier blieb die Spaltpilzmasse vom 30. April 1886 bis zum 30. Oct. 1890, also 54 Monate.

Ergebniss: Keine lebensfähige Zelle mehr vorhanden.

III. Die Grenzen der Wachsthumsthätigkeit.

Hier kommen nur die auf die Temperatur bezüglichen in Betracht. Es ergab sich, dass das Minimum der Wachsthumstemperatur bei etwa 10° C., das Maximum bei etwa 45—46° C., das Optimum bei 35—42° C. liegt, gleichviel ob man flüssige oder feste Nährböden verwendet.

Auf Agar bei 35—39° C. cultivirt entwickelt sich der Pilz so schnell, dass er die schräge Agarfläche im Reagirglas von einem einzigen medianen Impfstrich aus binnen 22 Stunden in ihrer ganzen Breite überzogen hat.

Ziemlich gute Entwickelung findet auch noch bei 20—21° C. statt; die Kolonieen werden schliesslich ebenso gross wie beim vorigen Versuche, brauchen aber dazu etwa 6—8 Tage.

Recht gutes Gedeihen findet man auf Agar selbst noch bei 42 bis 44° C., denn innerhalb 22 Stunden ist der Impfstrich so breit geworden, dass er wenigstens im mittleren und unteren Theile die Nährfläche fast vollständig überdeckt.

IV. Gährtüchtigkeit.

A. Vergährung von Kohlehydraten und mehrwerthigen Alkoholen.

Zu den Versuchen wurden Nährflüssigkeiten verwandt, welche enthielten:

a) als Stickstoffquelle 1 % Pepton;
b) als Nährsalze 0,5 % Fleischextract.

Sie waren schwach alkalisch gemacht durch Natriumcarbonat und mit Lakmus blau gefärbt, um jede etwaige Änderung in der Reaktion ohne Weiteres zu erkennen. Für jeden Versuch wurden 5 Reagirröhren mit je 10 ccm Nährlösung und 2 Controllröhren verwandt, hie und da auch grössere Flüssigkeitsmengen in Kolben. Temperatur ca. 30° C. Prüfung auf Reinheit durch Gelatine-Schalenkultur.

Rohrzucker 10 %. Nach 16 Stunden trüb, deutlich roth, Gasentwickelung (Schaumring); nach 48 Stunden stärker trüb, entfärbt, Schaumbildung, nach mehreren Tagen hört die Gasentwickelung auf und es bildet sich ein Kahmhäutchen. Zwei Kolben mit je 200 ccm. Nach 24 Stunden roth stark getrübt, Gasentwickelung so reich, dass die Oberfläche mit Schaumdecke überzogen, nach einigen Tagen hört sie auf, um bei Zusatz von sterilisirtem kohlens. Kalk wieder in kräftiger Form aufzutreten.

Milchzucker 5 %. Nach 16 Stunden weinroth, lebhafte Gasentwickelung und Trübung, nach 3 Tagen hellroth, sonst wie vorher. Die nach 6 Tagen zurückgetretene Gasbildung bei Zusatz von kohlens. Kalk wieder lebhaft.

Maltose 5 %. Nach 24 Stunden deutlich sauer, trüb. Schaumbildung; nach 48 Stunden Säuerung und Gasentwickelung noch stärker; nach 7 Tagen Gasbildung sistirt an der Oberfläche ein Kahmhäutchen.

Traubenzucker 10 %. Nach 16 Stunden deutlich saure Reaction und Trübung, Schaumbildung; nach 3 Tagen stärker sauer, Schaumbildung; nach 6 Tagen weingelb, keine Gasentwickelung mehr, Beginn von Kahmhautbildung.

Galactose 2 %. Nach 20 Stunden roth, trüb, Schaumbildung; nach 2 Tagen entfärbt, trüb, keine Gasentwickelung mehr.

Dextrin 10 %. Nach 24 Stunden roth, trüb, Schaumbildung; nach 48 Stunden blassroth, Gasbildung schwächer; nach 4 Tagen gelblich, Gasbildung sistirt, Kahmhautbildung.

Gummi arabicum 5 %. Innerhalb 4 Tagen und später weder Säuerung noch Gasbildung, schwache Vegetation.

Inulin 5 %. Nach 24 Stunden trüb, Verfärbung ins Graue, keine Gasentwickelung, Beginn von Kahmhautbildung. Nach 48 Stunden ebenso.

Glycerin 10 %. Nach 2 Tagen noch blau, schöne Kahmhautbildung, weil jede Gasentwickelung fehlte, nach 5 Tagen entfärbt, Hautbildung wie früher. Versuche mit grösseren Flüssigkeitsmengen im Kolben ergaben sehr reiche Entwickelung und Kahmhautbildung, aber keine Spur von Säuerung oder Gasbildung.

Erythrit $2^1/_2$ %. Nach 48 Stunden stark getrübt, Beginn von Kahmhautbildung. An den folgenden Tagen Kahmhaut gebildet, z. Th. schleimiger Bodensatz. Zu keiner Zeit Säuerung oder Gasbildung.

Mannit $2^1/_2$ %. Nach 16 Stunden deutlich sauer, trüb, Schaumbildung; an den nächsten Tagen ablassend, Schaumbildung wie früher; nach 5 Tagen Gasentwickelung schwächer, Beginn von Kahmhautbildung.

Dulcit 2 %. Innerhalb 5 Tagen weder Säuerung noch Gasbildung, kaum irgend welche Entwickelung.

Ausserdem wurden noch geprüft:

Bierwürze: Nach 16 Stunden Trübung, sehr reiche Schaumbildung. Nach mehreren Tagen hört die Schaumbildung auf und es tritt die Bildung einer oberflächlichen Kahmhaut ein. Reaction der Flüssigkeit stark sauer.

Sterilisirte Milch: Nach 48 Stunden in allen Gefässen Fällung des Kaseïns. Reaction des darüberstehenden Serums deutlich sauer. Nach 4 Tagen hat sich das Kaseïn zu einer einheitlichen, gelatinösen Masse zusammengesetzt. Bei ruhigem Stehen der Gefässe bilden sich unter der Fettdecke deutliche Gasansammlungen, welche Letztere stark emporwölben.

Bacterium vernicosum besitzt also die Fähigkeit, in Lösungen von Rohrzucker, Malzzucker, Milchzucker, Traubenzucker, Galactose, Dextrin und Mannit (sowie auch in Bierwürze und Milch) sehr energische, in reicher Gasentwickelung und kräftiger Säurebildung sich äussernde Gährwirkungen hervorzubringen.

Dagegen werden Inosit, Glycerin, Erythrit, Dulcit, Gummi, Inulin nicht vergohren.

Es kam nun darauf an, die Natur der Säure sowie des Gases festzustellen. Schon die Erscheinungen in der Milch, nämlich die Zusammenhäufung des gefällten Kaseïns zu einer compacten Masse, die Abscheidung von klarem Molken in den Spalten derselben und die wie es scheint völlig mangelnde Peptonisirung des gefällten Kaseïns schienen darauf hinzuweisen, dass es sich hier um einen Milchsäurebildner handele. Diese Vermuthung hat sich bestätigt. Ich selbst konnte von der in Milchzuckerlösung entstandenen Säure ein Zinksalz darstellen, welches mit dem Zinksalz der Milchsäure übereinstimmte; ausserdem aber hatte ein Chemiker, mein verehrter Kollege Baumert die Gefällig-

keit, eine durch den Pilz vergohrene Rohrzuckerlösung, deren Reinheit zuvor von mir mittelst Plattenkultur festgestellt war, auf die gebildete Säure genau zu untersuchen, wobei er zu demselben Resultate kam[1], auf Grund der Darstellung des Kalksalzes und Zinksalzes[2].

Was nun das bei der Gährung von Rohrzucker und Traubenzucker in so auffälliger Menge frei werdende Gas anlangt, so erwies sich dasselbe beim Einleiten in Barytwasser oder Kalkwasser als Kohlensäure. (Ob bei der Vergährung des Mannits, wie zu vermuthen, Wasserstoff entsteht, habe ich zu prüfen unterlassen).

B. Verhältniss zwischen Gährthätigkeit und Temperatur.

Um die Kardinalpunkte der Temperatur mit Bezug auf die Gährthätigkeit möglichst sicher bestimmen zu können, thut man am besten, solche Nährflüssigkeiten zu wählen, in welchen sich der Gährungsprozess schon äusserlich leicht bemerkbar macht durch reichliche Bildung von Glasbläschen, ausserdem aber die Lösungen schwach alkalisch zu machen und sie mit Lakmus blau zu färben, damit der Eintritt der Säuerung (und annähernd vielleicht auch der Säuerungsgrad) ohne Weiteres erkannt wird. *B. vernicosum* ist für Versuche vorliegender Art wegen seines energischen Gährvermögens mehr geeignet, als alle anderen mir bekannten Milchsäurebildner.

Als Nährlösungen wurden verwandt:

1. Traubenzucker 10%, Pepton 1%, Fleichextract 0,5%,
2. Bierwürze (enthaltend Malzzucker + Dextrin),
3. Rohrzucker 10%, Pepton 1%, Extract 0,5%,
4. Mannit 2½%, Pepton 0,5%, Extract 0,25%,
5. Dextrin 10%, Pepton 1%, Extract 0,5%,

} und für jeden Versuch mehrere Reagirgläser mit je 10 ccm Nährlösung.

Versuchsreihe I. Bei 8—9° C. Mindestens 6 Tage. Keine Gas- oder Säurebildung, keine merkliche Entwickelung.

„ II. Bei 11—13° C. Sehr schwache Gasbildung innerhalb mehrerer Tage, schwache Entwickelung.

„ III. Bei 14° C. Gasentwickelung und Säuerung, aber nur langsam vor sich gehend.

„ IV. Bei 30—32° C. Gasbildung und Säuerung schon nach 16—24 Stunden lebhaft.

„ V. Bei 35° C. Gasbildung und Säuerung schon nach 16 Stunden lebhaft.

„ VI. Bei 40—41° C. Gasbildung und Säuerung schon nach 6 Stunden sehr lebhaft, Erstere in Bierwürze sogar stürmisch, mit Bildung hoher Schaumdecke und daher nach 24 Stunden schon beendet.

„ VII. Bei 44—46° C. Sichtbare Gasentwickelung selbst nach 24 Stunden gänzlich fehlend; dagegen deutliche Säurebildung. Trübung mässig (auf 35° gebracht tritt bald Gasbildung ein).

---

1) Ich sage auch an dieser Stelle Herrn Kollegen Baumert meinen besten Dank.

2) Nach Dr. Baumert kömmt in geringster Menge auch eine andere Säure zur Production, die ihm nach der Beschaffenheit des Kalksalzes Oxalsäure zu sein schien.

Das Optimum der Gährungstemperatur liegt also etwa bei **40— 41°**. Man kann aber dasselbe auch eventuell breiter annehmen und zwar, da schon bei 35°, ja schon bei 30° die Gährung schnell und intensiv eintritt, von **35—41°** C. rechnen.

Das Minimum der Gärungstemperatur liegt etwa zwischen **11** und **13°** C.

Das Temperatur-Maximum der sichtbaren Gasbildung liegt zwischen 42 und 44° C., das der Säureproduction bei etwa 44—46° C.

Wir sahen in einem früheren Abschnitt, dass das Minimum der Wachsthums-Temperatur bei etwa 10° C., das Maximum bei etwa 45—46° C., das Optimum bei 35—42° befunden wurde. Es stimmen hiernach Wachsthum und Gährung in Bezug auf die Kardinalpunkte der Temperatur im Wesentlichen überein, d. h. überall wo Wachsthum in den von mir benutzten Substraten erfolgt, ist auch Gährung vorhanden, vorausgesetzt natürlich, dass überhaupt vergährbare Stoffe verfügbar sind.

C. Gährthätigkeit (und Wachsthum) in ihrem Verhältniss zur Concentration der Nährlösungen.

Planmässige Untersuchungen zur Ermittelung der Beziehung zwischen Spaltpilz-Gährung und Wachsthum einerseits und Concentration der Nährstoffe andererseits fehlten zur Zeit, wo ich den Pilz physiologisch untersuchte. Ich nahm daher die Gelegenheit wahr, auch diese Frage zu prüfen, was nach mehreren Richtungen hin geschehen kann. Ich beschränkte mich auf folgende Gesichtspunkte:

Versuchsreihe I.

Gleiche Mengen von Nährsalzen (in Form von 0,5% Fleischextract), gleiche Mengen von Stickstoffverbindungen (1% Pepton), ungleiche Mengen einer bestimmten Kohlenstoffverbindung in procentischer Steigerung. (Es sind immer Gewichtsprocente verstanden).

Gleiche Flüssigkeitsmengen in gleichen Gefässen (10 ccm in Reagirröhren); gleiche Temperatur (32—35° C.) Reaction schwach alkalisch; Zusatz von Lakmus, um etwaige Reactionsänderungen und Reductions-Erscheinungen sogleich zu bemerken, für jeden Versuch 2—6 Kulturen. Impfung mit möglichst gleichen Mengen Reinmaterials.

Rohrzucker.

%	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 4 Tagen
10	intensive Gasentwickelung, ausgesprochene Säuerung (roth).	intensive Gasentwickelung, bereits entfärbt.	
20	intensive Gasentwickelung, ausgesprochene Säuerung, entfärbt.		

%	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 4 Tagen
30	höchst intensive Gasentwickelung, ausgesprochene Säuerung, vollständig entfärbt.		
40	lebhafte Gasbildung, ausgesprochene Säuerung, völlig entfärbt.		
50	noch keine Gasbildung, keine Säuerung.	lebhafte Gasbildung, deutliche Säuerung, z. Th. schon entfärbt.	
60	ebenso.	Gasentwickelung im Beginn, noch schwach, Säuerung deutlich.	Gasbildung schwach, völlige Entfärbung.
70	ebenso.	Gasbildung und Säuerung noch sehr schwach.	Gasbildung schwach, noch keine Entfärbung.
80	innerhalb 10 Tagen keine Lebensäusserung irgend welcher Art.		

Hiernach scheint das Optimum der Concentration 30% zu entsprechen. Man darf es aber vielleicht breiter annehmen, da auch bei 20 und 40% lebhafte Gährung erfolgt. Bei 50% tritt Gasbildung, Säuerung und Reduction später, bei 60% noch später, bei 70% noch später und schwächer auf, bei 80% fehlt jede Entwickelung und Lebensäusserung.

Milchzucker.

%	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 4 Tagen
30	deutliche Gasbildung und Säuerung.	ziemlich lebhafte Gasbildung und Säuerung.	schwächere Gasbildung, z. Th. entfärbt.
40	deutliche Gasbildung und Säuerung.	ziemlich lebhafte Gasbildung und Säuerung.	schwächere Gasentwickelung, noch nicht entfärbt.
50	keine Gasbildung und Säuerung.	keine Gasbildung und Säuerung.	schwache Gasbildung und Säuerung.
60	zu keiner Zeit Gasbildung noch Säuerung.		

Dextrin.

%	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 4 Tagen
10	lebhafte Gasbildung, ausgesprochene Säuerung.	Gasbildung schwächer, blasser roth.	Gasbildung sistirt, entfärbt.
40	lebhafte Gasbildung, ausgesprochene Säuerung.	lebhafte Gasbildung, bereits völlig entfärbt.	schwächere Gasbildung, längst entfärbt.
60	ziemlich lebhafte Gährung.	ziemlich lebhafte Gasbildung, deutliche Säuerung (keine Entfärbung).	schwächere Gasbildung, entfärbt.
70	ziemlich lebhafte Gasbildung, deutliche Säuerung.	noch etwas lebhaftere Gasbildung, ausgesprochene Säuerung.	schwächere Gasbildung, entfärbt.
80	innerhalb 10 Tagen keinerlei Entwickelung noch Gährung.		

Glycerin.

%	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 4 Tagen	nach 8 Tagen
10	blau, trüb.	blau, schöne Hautbildung.	entfärbt, schöne Kahmhaut.	
30	blau, schwach trüb.	blau, trüb, schwache Kahmhaut.	entfärbt, schwache Kahmhaut.	
40	keine Veränderung.	keine Veränderung.	geringe Entwickelung, keine Entfärbung.	
50	keine Veränderung innerhalb 8 Tagen.			
60	zu keiner Zeit Entwickelung.			

Aus diesen Versuchsreihen geht hervor, dass *B. vernicosum* ausserordentlich hohe Concentrationen von Kohlehydrat-Lösungen vertragen kann: Es wächst und gährt noch in Lösungen, welche enthalten 70% Rohrzucker, resp. 70% Dextrin und in 50% Milchzucker, es wächst auch in 40procentigem Glycerin noch.

Bis jetzt kennt man weder Spaltpilze noch Schimmelpilze, die in dieser Beziehung mit *B. vernicosum* concurriren könnten, allerdings liegen über diese Frage auch nur erst einige wenige Untersuchungen vor. Nach A. Lübbert[1] gedeiht der *Staphylococcus aureus* noch in Nährgelatinen, welche 42 bis 48% Rohrzucker enthalten. P. Gräfenhan, der einen von mir aus Wasser isolirten und *B. disciformis* genannten Spaltpilz neuerdings in meinem Laboratorium untersuchte und ihn ebenfalls in hochconcentrirten Lösungen kultivirte, fand, dass Derselbe auf 60% Rohrzucker noch eine schöne Kahmhaut bildet und selbst bei 70% noch schwache Entwickelung zeigte, auch auf 70procentiger Dextrinlösung bildete er nach drei Tagen noch eine Kahmhaut[2]. Neuerdings habe ich selbst diesen Pilz nochmals auf diesen Punkt geprüft und gefunden, dass er sogar noch in 80procentigem Dextrin gedeiht, indem er bei 35° C. binnen 4 Tagen eine deutliche Kahmhaut erzeugt, die dann in Sporenbildung übergeht. In 50% Glycerin dagegen zeigt, wie wie wir sahen, *B. vernicosum* keinerlei Entwickelung mehr, auch bei günstigster Temperatur (35 – 37°) nicht.

Für einige Schimmelpilze hat in neuerer Zeit F. Eschenhagen[3] die Concentrations-Grenzen des Wachsthums bestimmt und folgendes Ergebniss erhalten:

	Traubenzucker	Glycerin
Aspergillus niger	53%	43%
Penicillium glaucum	55%	43%
Botrytis cinerea	51%	37%.

1) Biologische Spaltpilzuntersuchung über den Staphylococcus pyogenes aureus. Würzburg 1886, p. 26.

2) Bacillus disciformis. Ein Beitrag zur Kenntniss der Wasserbacterien. Dissertation. Halle 1891.

3) Ueber den Einfluss von Lösungen verschiedener Concentration auf das Wachsthum von Schimmelpilzen. Stolp 1889.

Versuchsreihe II.

Ungleiche Mengen einer Kohlenstoffverbindung, keine Nährsalze, keine Stickstoffquelle. Die sonstigen Bedingungen wie unter Versuchsreihe I.

Traubenzucker (chemisch rein, von Trommsdorf bezogen).

%	nach 16 Stunden	nach 24 Stunden	nach 4 Tagen
10	Ausgesprochene Säuerung, Gasentwickelung kaum mit Lupe wahrzunehmen. Trübung durch Schwärmer.	wie früher.	Gasbildung sistirt, keine Entfärbung.
20	Wie oben, geringe Gasbildung ohne Lupe wahrzunehmen.	„ „	„ „
30	Wie oben, aber keine sichtbare Gasbildung.	„ „	wie früher.

Obwohl völlig reine Gefässe und chemisch reines Kohlehydrat verwandt wurde, so ist doch anzunehmen, dass die Lösung irgend welche Spuren von anorganischer Substanz enthielt, die vielleicht schon in dem destillirten Wasser und der Lakmuslösung vorhanden waren, z. Th. aus den Wänden des Glases stammen mögen. Auch mit dem wenn auch in geringer Menge verwandten Impfmaterial werden unvermeidlich Spuren von Nährsalzen in die Flüssigkeit hineingelangt sein. Immerhin ist es bemerkenswerth, dass bei so geringen Mengen anorganischer Substanz noch ausgesprochene Wachsthums- und Gährungserscheinungen zu Tage treten.

Versuchsreihe III.

Gleiche Mengen einer Kohlenstoffverbindung (5 % Rohrzucker), gleiche Mengen von Stickstoffverbindungen (Pepton 1 %) gleiche Mengen von Nährsalzen (0,5 % Fleischextract) ungleiche Mengen eines bestimmten anorganischen Salzes in procentischer Steigerung.

Gleiche Flüssigkeitsmengen in gleichen Gefässen (10 ccm in Reagirröhren), gleiche Temperatur (32—35 °C.), Reaction schwach alkalisch durch kohlensaures Natron, Fällung nicht abfiltrirt, Zusatz von Lakmus, um die Säuerung oder Reductionserscheinungen sofort zu erkennen. Für jeden Versuch 2 6 Kulturen; Impfung mit möglichst gleichen, etwa stecknadelkopfgrossen Mengen Reinmaterials. Controllgefässe.[1]

1) Es empfiehlt sich, die beim Sterilisiren der Lösungen entstehende Fällung nicht abzufiltriren, da dieselbe gelöst wird, daher nährend wirkt und ausserdem das gefällte Lakmus einen Anhaltspunkt für den Eintritt der Säuerung bietet.

1. Chloride der alkalischen Erden.

Chlorcalcium $CaCl_2$ (wasserfreies).

%	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 4 Tagen	nach 6 Tagen
1	intensive Gasentwickelung, kräftige Säuerung, vollständige Entfärbung, starke Trübung durch Schwärmzustände.	Gasentwickelung geringer, sonst wie früher.	wie früher, aber Gasentwickelung noch schwächer.	
3	ausgesprochene Gasbildung, Säuerung, Entfärbung, Trübung durch Schwärmzustände.	wie früher, aber Gasentwickelung sehr zurückgetreten.	wie früher, aber Gasentwickelung fast sistirt.	
5	weder Gährung noch Entwickelung.	schwache aber deutliche Gasentwickelung und Säuerung, Entwickelung nur am Boden, keine Trübung durch Schwärmer.	Gasentwickelung schwächer geworden, sonst wie früher.	Gasbildung sistirt, sonst wie früher.
8	weder Gährung noch Wachsthum.	keine Gährung, keine deutliche Vermehrung.	wie früher.	wie früher.

Chlormagnesium $MgCl_2$.

%	nach 16 Stunden	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 4—6 Tagen
1	starke Trübung, kräftige Gasentwickelung und Säuerung.	wie früher, aber schon in Entfärbung begriffen.	Gasentwickelung fast beendet, völlig entfärbt.	Gasbildung beendet, Kahmhaut.
5	weniger starke Trübung, Gasentwickelung und Säuerung schwach.	starke Trübung, kräftige Gasentwickelung und Säuerung.	Gasentwickelung sehr schwach geworden, fast völlige Entfärbung.	wie oben.
8	weder Entwickelung noch Gährung.	ziemlich starke Trübung, schwache Gährung.	schwache Entwickelung und Gährung, schwache Trübung.	Gährung beendet.
10	weder Entwickelung noch Gährung.	weder Entwickelung noch Gährung.	weder Entwickelung noch Gährung.	weder Entwickelung noch Gährung.

Chlorbaryum $BaCl_2$.

%	nach 16 Stunden	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 4—6 Tagen
1	starke Trübung, schwache Gasentwickelung, deutliche Säuerung, Entfärbung.	wie früher, aber Gasbildung etwas reichlicher.	wie früher.	Gährung sistirt, Kahmhautbildung.
5	wie oben	„ „ „	starke Trübung, Gasbildung fast sistirt, Entfärbung.	Gasbildung sistirt, Kahmhaut in Bildung begriffen.
8	weder Entwickelung noch Gährung.			

2. Chloride der Alkalien und des Ammonium.

Kochsalz NaCl.

%	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 4 Tagen
0	Intensive Gasbildung, ausgesprochene Säuerung, entfärbt, starke Trübung durch Schwärmstadien.		
1	Intensive Gasbildung, ausgesprochene Säuerung, fast völlige Entfärbung, starke Trübung durch Schwärmstadien.	Gasentwickelung schwach geworden, Entfärbung vollständig, Trübung wie früher.	wie früher.
3	Weniger intensive Gasbildung, ausgesprochene Säuerung, noch keine Entfärbung, starke Trübung.	Schwache Gasbildung, völlige Entfärbung sonst wie früher.	Sehr schwache Gasbildung sonst wie früher.
5	Schwache Gasbildung, deutliche Säuerung, keine Entfärbung, schwache Trübung.	Schwache Gasbildung, fast völlige Entfärbung, starke Trübung.	Sehr schwache Gasbildung (erst mit Lupe deutlich), völlige Entfärbung, starke Trübung.
10	Keine Gasbildung, schwache aber deutliche Säuerung, schwache Trübung durch Schwärmstadien.	Keine Gasbildung, schwache Säuerung, Trübung etwas stärker.	
15	Keine Gasbildung, keine Säuerung, schwache Trübung durch Schwärmzustände.[1]	wie früher.[1]	wie früher.
18	Keine Gasbildung, keine Säuerung, aber schwache Trübung durch Schwärmer.[1]	wie früher, aber keine Schwärmzustände mehr.	wie früher.
20	Keine Gasbildung, keine Säuerung, keine Trübung.	wie früher.	wie früher.

1) Es sei ausdrücklich hervorgehoben, dass typische Schwärmthätigkeit, nicht etwa bloss lebhafte Tanzbewegung vorhanden war.

Chlorkalium KCl.

%	nach 16 Stunden	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 3 Tagen
1	ziemlich reiche Gasbildung, fast völlige Entfärbung, starke Trübung.	wie vorher, aber völlig entfärbt.	Gasbildung sistirt, Beginn von Kahmhautbildung.	
5	Gasbildung sehr schwach, deutliche Säuerung, keine Entfärbung, mässig starke Trübung.	wie vorher, aber beginnende Entfärbung.	wie vorher, aber entfärbt, Beginn von Kahmhautbildung.	
8				mässige Trübung, sehr schwache Gasbildung, Säuerung.
10	weder Vermehrung noch Gährung.	weder Vermehrung noch Gährung.	keine Gährung, schwache Trübung, Beginn von Kahmhautbildung	mässig starke Trübung, schwache, aber deutliche Säuerung, keine Gasentwickelung.
12	„ „	„ „	weder Vermehrung noch Gährung.	

Salmiak NH_4Cl.

%	nach 16 Stunden	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 4 Tagen
1	weder Entwickelung noch Gährung.	weder Entwickelung noch Gährung.	starke Trübung, ziemlich reiche Gasbildung, fast völlige Entfärbung.	Gasbildung sistirt, schwache Kahmhaut.
5	ebenso.	„ „	schwache Trübung und Säuerung, keine Gasbildung.	starke Trübung, Säuerung ausgesprochen, Gasbildung sehr schwach.
8	ebenso.	„ „	sehr schwache Trübung, schwache Säuerung, keine Gasbildung.	
10	weder deutliche Entwickelung, noch Gährung.	wie früher.	noch keine deutliche Vermehrung, keine Gährung.	weder Vermehrung noch Gährung.

4. Sulfate der alkalischen Erdmetalle.

Schwefelsaure Magnesia $MgSO_4$.

%	nach 16 Stunden	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 4—6 Tagen
1	lebhafte Gasentwickelung, starke Trübung, theilweise Entfärbung.	Schaumdecke, sonst wie früher.	Schaumdecke, starke Trübung, völlige Entfärbung.	
5	Gasentwickelung etwas weniger lebhaft, mässig starke Trübung, theilweis entfärbt.	mässig lebhafte Gasbildung, starke Trübung, theilweise Entfärbung.	Gasbildung sistirt, Beginn der Kahmhautbildung.	
10	ebenso.	ebenso.	Gasbildung fast beendet, Entfärbung, sehr starke Trübung.	
15	ebenso, aber noch keine Entfärbung (noch deutlich roth).	wie früher.	Gasbildung fast beendet, Entfärbung.	
18	schwache Trübung, weder Gas- noch Säurebildung.	etwas stärkere Trübung, weder Gas- noch Säurebildung.	wie früher.	
20	ebenso.	etwas stärker getrübt, keine Gas- oder Säurebildung.	wie früher.	schöne Kahmhaut.
22	ebenso.	ebenso.	wie früher.	schwache Kahmhaut.
25	ebenso.	schwache Trübung, weder Gas- noch Säurebildung.	wie früher.	sehr schwache Kahmhaut.

In der 20procentigen Lösung zeigte der Pilz nach 48stündiger Kultur vielfach noch Zellen mit lebhafter Jagbewegung.

5. Sulfate der Alkalimetalle.

Neutrales Schwefelsaures Kali K_2SO_4.

%	nach 16 Stunden	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 4 Tagen
1	ziemlich lebhafte Gasentwickelung, starke Trübung, fast völlige Entfärbung.	Gasbildung schwächer, sehr starke Trübung, völlige Entfärbung.	Gasbildung sehr schwach, sonst wie vorher.	
5	Gasbildung recht schwach, starke Trübung, theilweise Entfärbung.	wie früher.	Gasbildung recht schwach, Trübung stark, Entfärbung vollständig, Beginn der Kahmhaut.	

%	nach 16 Stunden	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 4 Tagen
10	Gasbildung äusserst schwach (mit Lupe eben noch wahrnehmbar), mässig starke Trübung, noch keine Entfärbung (deutlich roth).	wie früher.	Gasbildung sehr schwach, starke Trübung, theilweise Entfärbung.	
12	schwache Trübung, keine Gasbildung oder Säuerung.	schwache Trübung, keine Gasbildung, keine Säuerung.	Trübung stärker, keine Gasbildung, keine Säuerung, keine Entfärbung.	Kahmhautbildung, sonst wie früher.
15	weder Vermehrung noch Gährung.			

Neutrales schwefelsaures Natron $Na_2 SO_4$.

%	nach 16 Stunden	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 4—6 Tagen
10	Gasbildung wenig lebhaft, Trübung ziemlich stark, Entfärbung noch nicht vorhanden (noch röthlich).	wie früher.	Gasbildung fast beendet, Entfärbung.	
12	Gasbildung und Säuerung fehlend, schwache Trübung.	wie früher, aber Trübung etwas stärker.	wie früher, schwache Kahmhaut.	Kahmhaut.
15	Keine Gasbildung, keine Säuerung, aber schwache Trübung.	keine Gasbildung, keine Säuerung, schwache Trübung.	wie früher.	wie früher, schwache Kahmhaut, später schön entwickelt.
18	Weder Entwickelung noch Gährung.			

4. Phosphate.

Neutrales phosphorsaures Natron $Na_2 HPO_4$.

%	nach 16 Stunden	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 4 Tagen
5	schwache Trübung, keine Gasbildung, keine Säuerung.	wie vorher.	wie früher, Beginn von Kahmhautbildung.	fertige Kahmhaut.
10	sehr schwache Trübung, keine Gasbildung, keine Säuerung.	wie früher.	wie früher.	Beginn von Kahmhautbildung
12	keine Trübung, keinerlei Gährungserscheinungen.	wie früher.	wie früher.	keine Kahmhautbildung.
15	keine Trübung, keine Gasbildung, keine Säuerung.	wie früher.	wie früher.	auch jetzt noch keine Vermehrung.

Saures Phosphorsaures Kali $K_2 H PO_4$.[1]

%	nach 16 Stunden	nach 24 Stunden	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen
1	intensive Gasbildung (Schaumdecke), fast vollständige Entfärbung, starke Trübung.	wie früher, Entfärbung vollständig.	wie früher, aber Gasbildung schwächer.	Gasbildung sistirt, Kahmhautbildung.
3	Gasbildung weniger intensiv, Entfärbung noch nicht eingetreten, starke Trübung.	Gasbildung lebhafter (Schaumdecke), sonst wie früher.	ebenso.	ebenso.
5	ebenso.	Gasbildung ziemlich lebhaft, theilweise Entfärbung, sonst wie früher.	Gasbildung schwächer, Entfärbung.	ebenso.
10	Gasbildung noch schwach, Säuerung kaum deutlich, mässige Trübung.	Gasbildung ziemlich lebhaft, schwache Säuerung, starke Trübung.	Gasbildung lebhaft, Entfärbung, starke Trübung.	Gasbildung schwächer, sonst wie früher.
15	Gasbildung schwach, Säuerung schwach, Trübung mässig.	wie früher, theilweis entfärbt, Trübung stark.	Gasbildung reichlich (Schaumdecke), völlige Entfärbung, starke Trübung.	ebenso.
20	weder Vermehrung noch Gährung.	schwache Trübung, keine Gährung.	starke Trübung, Gasbildung nur mit Lupe wahrnehmbar.	wie früher.
22	zu keiner Zeit Entwickelung oder Gährung.			

5. Salpetersaure Alkalien.

Natronsalpeter $Na NO_3$.

%	nach 24 Stunden	nach 48 Stunden	nach 4 Tagen
0	kräftige Gasentwickelung und Säuerung, Trübung, fast entfärbt.	Gasentwickelung geringer, entfärbt, trüb.	
1	schwache Gasentwickelung (nur mit Lupe zu sehen), deutliche Säuerung, starke Trübung.	wie früher.	
3	Gasbildung recht schwach, Säuerung deutlich, starke Trübung.	Gasbildung sistirt, Säuerung und Trübung wie früher.	
5	wie bei 3%.	wie früher.	wie früher.
10	Gasbildung, Säuerung und Trübung fehlend.	Gasbildung fehlend, Säuerung schwach, Trübung mässig.	wie früher.
12	Gasbildung, Säuerung, Trübung fehlend.	weder Entwickelung noch Gährung.	weder Entwickelung noch Gährung.

1) Die Lösung, durch das Salz stark sauer, wurde mit Kali neutralisirt.

Die vorstehenden Tabellen gelten selbstverständlich nur in Rücksicht auf die gewählte Versuchsanordnung. Würde zur Verimpfung eine weit grössere Menge des Spaltpilzes, etwa dem Volumen einer Erbse entsprechend verwandt oder eine viel niedrigere Temperatur gewählt, so würde möglicherweise das Concentrationsmaximum für Gasbildung, Säuerung und Vermehrung etwas höher gerückt werden resp. etwas niedriger ausfallen, oder es würden wenigstens diese Thätigkeiten früher und energischer resp. später und schwächer auftreten. Immerhin werden die für die einzelnen Salze gegebenen Tabellen die allmähliche Abnahme von Gasbildung, Säuerung und Vermehrung mit zunehmender Concentration veranschaulichen.

Zur besseren Uebersicht mögen die Ergebnisse in folgenden Tabellen zusammengestellt werden:

		1%	3%	5%	8%	10%	12%	15%	18%	20%	22%	25%	
Chloride	$CaCl_2$	+	+	+	—	·	·	·	·	·	·	·	Sichtbare Gasbildung
		+	+	+	—	·	·	·	·	·	·	·	Säuerung
		+	+	+	—	·	·	·	·	·	·	·	Vermehrung.
	$BaCl_2$	+	+	+	—	·	·	·	·	·	·	·	Sichtbare Gasbildung
		+	+	+	—	·	·	·	·	·	·	·	Säuerung
		+	+	+	—	·	·	·	·	·	·	·	Vermehrung.
	$MgCl_2$	+	+	+	+	—	·	·	·	·	·	·	Sichtbare Gasbildung
		+	+	+	+	—	·	·	·	·	·	·	Säuerung
		+	+	+	+	—	·	·	·	·	·	·	Vermehrung.
	KCl	+	+	+	+	—	·	·	·	·	·	·	Sichtbare Gasbildung
		+	+	+	+	+	—	·	·	·	·	·	Säuerung
		+	+	+	+	+	—	·	·	·	·	·	Vermehrung.
	NH_4Cl	+	+	+	—	·	·	·	·	·	·	·	Sichtbare Gasbildung
		+	+	+	+	—	·	·	·	·	·	·	Säuerung
		+	+	+	+	—	·	·	·	·	·	·	Vermehrung.
	NaCl	+	+	+	—	·	·	·	·	·	·	·	Sichtbare Gasbildung
		+	+	+	+	+	—	·	·	·	·	·	Säuerung
		+	+	+	+	+	+	+	+	—	·	·	Vermehrung.
Sulfate	$MgSO_4$	+	+	+	+	+	+	+	—	·	·	·	Sichtbare Gasbildung
		+	+	+	+	+	+	+	—	·	·	·	Säuerung
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Vermehrung.
	K_2SO_4	+	+	+	+	+	—	·	·	·	·	·	Sichtbare Gasbildung
		+	+	+	+	+	—	·	·	·	·	·	Säuerung
		+	+	+	+	+	+	—	·	·	·	·	Vermehrung.
	Na_2SO_4	+	+	+	+	+	—	·	·	·	·	·	Sichtbare Gasbildung
		+	+	+	+	+	—	·	·	·	·	·	Säuerung
		+	+	+	+	+	+	+	—	·	·	·	Vermehrung.
Phosphate	K_2HPO_4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	·	Sichtbare Gasbildung
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	·	Säuerung
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	·	Vermehrung.
	Na_2HPO_4	+	+	—	·	·	·	·	·	·	·	·	Sichtbare Gasbildung
		+	+	—	·	·	·	·	·	·	·	·	Säuerung
		+	+	+	+	+	—	·	·	·	·	·	Vermehrung.
Nitrate	$NaNO_3$	+	+	+	—	·	·	·	·	·	·	·	Sichtbare Gasbildung
		+	+	+	+	+	—	·	·	·	·	·	Säuerung
		+	+	+	+	+	—	·	·	·	·	·	Vermehrung.

	1%	3%	5%	8%	10%	12%	15%	18%	20%	22%	25%	
Na_2HPO_4	+	+	−									
$CaCl_2$	+	+	+	−								
$BaCl_2$	+	+	+	−								
$NaNO_3$	+	+	+	−								
NaCl	+	+	+	−								
NH_4Cl	+	+	+	−								Sichtbare Gasbildung.
$MgCl_2$	+	+	+	+	−							
KCl	+	+	+	+	−							
K_2SO_4	+	+	+	+	+	−						
Na_2SO_4	+	+	+	+	+	−						
$MgSO_4$	+	+	+	+	+	+	+	−				
K_2HPO_4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−		
Na_2HPO_4	+	+	−									
$CaCl_2$	+	+	+	−								
$BaCl_2$	+	+	+	−								
$MgCl_2$	+	+	+	+	−							
NH_4Cl	+	+	+	+	−							
KCl	+	+	+	+	+	−						
NaCl	+	+	+	+	+	−						Säuerung.
$NaNO_3$	+	+	+	+	+	−						
Na_2SO_4	+	+	+	+	+	−						
K_2SO_4	+	+	+	+	+	−						
$MgSO_4$	+	+	+	+	+	+	+	−				
K_2HPO_4	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
$CaCl_2$	+	+	+	−								
$BaCl_2$	+	+	+	−								
$MgCl_2$	+	+	+	+	−							
NH_4Cl	+	+	+	+	−							
KCl	+	+	+	+	+	−						
$NaNO_3$	+	+	+	+	+	−						
Na_2HPO_4	+	+	+	+	+	−						Vermehrung.
K_2SO_4	+	+	+	+	+	+	−					
Na_2SO_4	+	+	+	+	+	+	+	−				
NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	−			
K_2HPO_4	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
$MgSO_4$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

Demnach liegt das Concentrationsmaximum hinsichtlich

		a) der sichtbaren Gasentwickelung	b) der Säuerung	c) der Vermehrung
für	Na_2HPO_4 zwischen	3 u. 5%	3 u. 5%	10 u. 12%
„	$CaCl_2$ „	5 u. 8 „	5 u. 8 „	5 u. 8 „
„	$BaCl_2$ „	5 u. 8 „	5 u. 8 „	5 u. 8 „
„	$NaNO_3$ „	5 u. 8 „	10 u. 12 „	10 u. 12 „
„	NaCl „	5 u. 8 „	10 u. 12 „	**18** u. **20** „
„	NH_4Cl „	5 u. 8 „	8 u. 10 „	8 u. 10 „
„	$MgCl_2$ „	8 u. 10 „	8 u. 10 „	8 u. 10 „
„	KCl „	8 u. 10 „	10 u. 12 „	10 u. 12 „
„	K_2SO_4 „	10 u. 12 „	10 u. 12 „	12 u. 15 „
„	Na_2SO_4 „	10 u. 12 „	10 u. 12 „	15 u. 18 „
„	$MgSO_4$ „	15 u. 18 „	15 u. 18 „	**25** u. **28** „
„	K_2HPO_4 [1] „	20 u. 22 „	20 u. 22 „	**20** u. **22** „

1) Lösung neutralisirt.

Aus dieser Uebersicht lässt sich Folgendes ersehen:

1. Die Concentrationsgrenzen für sichtbare Gasentwickelung, Säuerung und Vermehrung fallen nur bei wenigen der angewandten Salze zusammen, nämlich bei Chlorbaryum, Chlorcalcium, Chlormagnesium und phosphorsaurem Kali (K_2HPO_4).
2. Die Concentrationsgrenzen für sichtbare Gasbildung, Säuerung und Vermehrung differiren am erheblichsten beim Kochsalz (5—8%, 10—12%, 18—20%).
3. Die Concentrationsmaxima der Vermehrung liegen für einige Salze auffallend hoch, nämlich für Na_2SO_4 zwischen 15 und 18%, für NaCl zwischen 18 und 20%, für K_2HPO_4 (Lösung durch Kali neutralisirt) zwischen 20 und 22%, für $MgSO_4$ zwischen 25 und 28%.
4. Die Concentrationsmaxima der Säuerung und Gasbildung liegen auffallend hoch für $MgSO_4$ (zwischen 15 und 18%), für K_2HPO_4 (zwischen 20 und 22%).

Ein Vergleich mit anderen Spaltpilzen lässt sich leider nicht anstellen, da Untersuchungen in dieser Richtung fehlen.

Dagegen liegt in Bezug auf Schimmelpilze eine Untersuchung von Eschenhagen (l. c.) vor, in welcher dargelegt wurde, dass die Concentrationsgrenzen der Entwickelung liegen:

		NaCl	$CaCl_2$	$NaNO_3$
für *Aspergillus niger*	bei	17%	18%	21%
„ *Penicillium glaucum*	„	19 „	17 „	21 „
„ *Botrytis cinerea*	„	12 „	16 „	16 „

Mithin vertragen die genannten Schimmel eine viel höhere Concentration von Chlorcalcium und Natriumsalpeter, als der genannte Spaltpilz, während dies vom Kochsalz nicht gilt.

Es lag nahe zu untersuchen, ob die Erhöhung der Salz-Concentration etwa irgend welchen Einfluss auf die Gestaltung der Zellen und Zellverbände des *B. vernicosum* ausüben möchte.

Die Ergebnisse lauteten bejahend, und zwar lassen sich dieselben dahin zusammenfassen, dass diejenigen Concentrationen, bei welchen die Vermehrungsfähigkeit und besonders auch die Gährfähigkeit eine mehr oder minder starke Schwächung erleidet, zur Bildung von vergrösserten und abnorm gestalteten Zellen führen (Involutionsformen im Sinne Nägeli's), welche neben normal gestalteten meist in überwiegender Menge auftreten.

Besonders auffallend sind diese Gebilde auf obigen Lösungen von 8% Chlormagnesium, wo sie wahre Riesenzellen von meist kugeliger, ellipsoïdischer oder birnförmiger Form darstellen (Taf. III, Fig. 10). Auf 5proc. Chlormagnesium-Lösung scheinen sie nicht mehr so gross zu werden, entstehen aber auch hier massenhaft. Auf 1 proc. Lösung trifft man Involutionsformen überhaupt nicht mehr oder doch nur spärlich und dann niemals in den bauchigen riesigen Kugel- oder Ellipsoïdformen, sondern mit geringem Querdurchmesser an.

Auf 10 proc. Lösung von saurem phosphorsaurem Kali (K_2HPO_4) kamen die Kugeln zwar auch in grosser Zahl und relativ riesiger Grösse zur Bildung, traten jedoch gegen andere minder stark aufgetriebene Involutionszellen an Menge etwas zurück; auf 5 proc. Lösung war nichts von diesen Kugeln und wenig von Involutionsformen überhaupt zu bemerken.

D. Gährthätigkeit, Vermehrung und Sauerstoffbedürfniss.

Wie aus den früher mitgetheilten Versuchen hervorgeht, gedeiht und gährt das *B. vernicosum* auf festen wie in flüssigen Nährsubstraten bei Luftzutritt so üppig, dass man dasselbe als einen Aerobier wird bezeichnen müssen. Auf der anderen Seite aber kann es mit sehr geringen Sauerstoffmengen auskommen, und bei Ernährung mit Zucker gedeiht und gährt es üppig auch bei gänzlichem Sauerstoffmangel.

So war in Versuchen, bei denen zur Absorption des Sauerstoffs alkalische Pyrogallussäure genau nach dem von Buchner angegebenen Verfahren verwandt wurde, in einer Lösung, welche enthielt 5 % Rohrzucker, 1 % Pepton, 0,5 % Fleischextract, ½ % Chlorcalcium, bei 36 bis 39° C., nach 24 Stunden höchst lebhafte Gasentwickelung vorhanden und nach 36 Stunden die Gährung bereits fast völlig beendet.

Auch in einem Apparat, der der Geissler'schen Kammer ähnlich gebaut und durch den zur Verdrängung der atmosphärischen Luft längere Zeit ein Kohlensäurestrom hindurch geleitet worden war, worauf die beiden Enden abgeschmolzen wurden, trat eine starke Trübung der zuckerhaltigen, mit Pepton und den nöthigen Nährsalzen versetzten Nährflüssigkeit durch das Bacterium auf.

V. Fermentbildung.

Bis vor einigen Jahren hegte man allgemein die Ansicht, dass alle diejenigen Organismen, welche Rohrzucker zu vergähren vermögen, auch die Fähigkeit hätten, den Rohrzucker zu invertiren. Da zeigte E. Chr. Hansen[1] für einen hefeartig sprossenden Schimmelpilz *(Monilia candida)*, der Rohrzucker zur Alkohol und Kohlensäure vergährt, dass derselbe den Rohrzucker direct, also ohne vorherige Inversion, zu spalten vermag.

Obwohl eine weitere Verbreitung dieser bemerkenswerthen Eigenschaft im Bereiche der Gährungserreger vermuthen lässt, so steht doch der Hansen'sche Befund bisher, soweit ich die Literatur kenne, vereinzelt da.

Es dürfte daher wohl von Interesse sein, wenn ich anführe, dass auch unter den Spaltpilzen sich Vertreter finden, welchen die Fähigkeit einer directen Vergährung des Rohrzuckers zugesprochen werden muss, und speciell das *B. vernicosum* in diese Kategorie gehört. In einer Rohrzuckerlösung, welche in der günstigsten Weise zusammengesetzt ist (Pepton und die nöthigen Nährsalze enthält und durch kohlen-

1) Neue Untersuchungen über Alkoholgährungspilze. Berichte der deutsch. bot. Gesellsch. Bd. II (1884) p. XXXIV.

saures Natron neutralisirt oder schwach alkalisch gemacht worden ist), lässt sich weder zu der Zeit, wo die Gährung eben erst anhebt, noch auch in späteren Stadien der Kultur, mittelst der Fehling'schen Lösung auch nur eine Spur von Invertzucker nachweisen. Dasselbe ist der Fall, wenn man den Nährsalzgehalt der Flüssigkeit durch Zusatz von 1—2 % Kochsalz oder Magnesiumsulfat, phosphorsaurem Kali etc. erhöht und damit die Vegetation des Pilzes, wie wir sahen, befördert; oder wenn man den Spaltpilz bei Abwesenheit von Sauerstoff (Versuche mit alkalischer Pyrogallussäure) züchtet. Die gewöhnlichen, den Rohrzucker vergährenden Spaltpilze bilden unter diesen Verhältnissen stets Invertzucker, wie die starke Kupferreduction der Lösungen sofort erkennen lässt.

Zu diesem Ergebnisse stimmte nun auch das Resultat der Polarisationsversuche: die mehr oder minder vergohrene Rohrzuckerlösung zeigte niemals eine Linksdrehung der Polarisationsebene, vielmehr stimmte die Drehung der inficirten Rohrzuckerlösung mit der der nicht inficirten vollständig überein.

Neuerdings habe ich noch mehrere andere Spaltpilze gefunden, welchen die Eigenschaft, Rohrzucker direct zu vergähren, ebenfalls zukommt. Unter ihnen befindet sich auch ein Bacterium, das sich von *B. vernicosum* schon durch beträchtlichere Länge seiner Zellen unterscheidet. Der Nachweis der Inversionsuntüchtigkeit für Rohrzucker wurde gleichfalls durch die chemische und optische Untersuchung der erst theilweise vergohrenen Rohrzuckerlösungen geführt. Nach diesen Befunden liegt die Vermuthung nahe, dass noch manche anderen Spaltpilze die gleiche Fähigkeit besitzen werden.

Ein diastatisches Enzym vermag *B. vernicosum* eben so wenig zu erzeugen wie Invertin. In Stärkelösungen mit 1 % Pepton und den nöthigen Nährsalzen, mögen dieselben nun schwach sauer, neutral oder schwach alkalisch reagiren, tritt nämlich niemals Zuckerbildung auf, und dementsprechend fehlen auch Gährungserscheinungen vollständig.

Was peptische Fermente anbetrifft, so vermag *B. vernicosum* Gelatine zu peptonisiren. Allerdings ist diese Fähigkeit in nur schwachem Maasse vorhanden, denn dieser Process geht selbst in 5 proc. Gelatine nur langsam vor sich, mögen die sonstigen Zusätze (Pepton, Nährsalze, Zucker) auch noch so günstig gehalten sein; und selbst bei 20—22° C. braucht der reichlich aufgeimpfte Pilz mindestens 1 — 1½ Monate, um eine Gelatinemasse von 10 ccm im Reagirglas zu verflüssigen.

Der Pilz ist ferner im Stande, das Musculus'sche Harnferment zu erzeugen. Von Leube[1] war allerdings die Existenz eines solchen in Abrede gestellt worden, allein die neueren Untersuchungen Miquels[2] lassen keinen Zweifel, dass Spaltpilze aus verschiedenen Gruppen ein Ferment produciren, welches den Harnstoff in kohlensaures Ammoniak

1) Virchows Archiv Bd. 100 (1885): Ueber die ammonikalische Harngährung.

2) Etude sur la fermentation ammoniacale et sur les ferments de l'urée. Ann. de micrographie I (1889) p. 414. 470. 506. 522; II (1889) p. 53. 122. 145. 367. 488. — Derselbe, Sur le ferment soluble de l'urée. Compt. rend. CXI (1890) p. 397.

umwandelt. Dieser Prozess darf also nicht mehr, wie bisher als eine Gährung (Ammoniak- oder Harngährung) bezeichnet werden. Ich verfuhr zunächst in der Weise, dass in 3 weite Reagirgläser, in die zuvor mittelst Platinnadel ein Nadelkopf-grosse Menge reiner Spaltpilzmasse von unten her eingebracht war, je 15—20 ccm frischer, normaler Harn schnell eingelassen und schneller Verschluss mittelst Wattepfropfs bewirkt wurde. Das Bacterium entwickelte sich in wenigen Tagen so reichlich, dass starke Trübung entstand, und sich ein weissliches Sediment bildete. In der ersten Zeit blieb das Substrat sauer, später zeigte es ziemlich stark alkalische Reaction, und es entstand in allen drei Gefässen eine reichliche Abscheidung der bekannten charakteristischen Krystalle von phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia. Die Prüfung zweier der Gefässe mittelst Schalenkultur ergab völlige Reinheit des Pilzmaterials. Ferner brachte ich in sterilisirte Lakmuslösung, welche mit einer noch grösseren Menge von Reinmaterial beschickt worden war, frischen normalen Harn schnell ein, bewirkte schnellen Verschluss und liess die weinrothe Flüssigkeit diesmal bei 30—32° C. 36 Stunden stehen. Nach Ablauf dieser Frist war bereits deutliche Bläuung eingetreten und in das Gefäss hineingehängtes rothes Lakmuspapier färbte sich deutlich blau. Nach Ausweis der Schalenkultur war die Vegetation vollkommen rein geblieben.

Wir sehen also, das ein Spaltpilz, der in Zuckerlösungen intensive Milchsäuregährung erregt, den Harnstoff des Urins durch Abscheidung eines Harnferments in kohlensaures Ammoniak überführen kann.

VI. Pathogene Eigenschaften.

In Rücksicht auf die Thatsache, dass *B. vernicosum* bezüglich der Form und Grösse seiner vegetativen Zustände völlig übereinstimmte mit einer Bacteriacee, die Herr Landesökonomierath W. von Nathusius reichlich vorfand im frischen Blut von Schafen, welche nach Verfütterung eines amerikanischen Baumwollsaatmehls erkrankten und verendeten; sowie in Erwägung des Umstandes, dass der Pilz bei Körpertemperatur zu gedeihen vermag (sein Optimum beträgt, wie wir sahen, 35—42° C.) und überdies das Vermögen besitzt, peptonisirend zu wirken, durfte man vermuthen, dass er im Thierkörper irgend welche pathogenen Wirkungen äussern würde.

Es wurden daher von Herrn Prof. Pütz und mir Impf- und Fütterungs-Versuche mit dem Pilze an Schafen vorgenommen. Zu diesem Zweck erzog ich üppige Kolonieen auf Nährgelatine und schwemmte dieselben massig in sterilisirtem Wasser auf (für die Injectionen) oder hob sie mit sterilisirtem Skalpel ab und brachte die Schleimmasse in mit geglühtem Messer ausgehöhlte Rübenstücke (für die Fütterungsversuche). Dass die Pravaz'schen Spritzen etc. vorher sterilisirt waren, ist selbstverständlich.

Trotzdem die verimpften resp. verfütterten Spaltpilz-Mengen beträchtliche waren, ist das Ergebniss ein negatives gewesen.

Herr Prof. Pütz berichtete hierüber in der Oestreichischen Vierteljahrsschrift für wissenschaftliche Veterinärkunde, Wien 1889, in der

p. 132—146 gemachten Mittheilung: „Ueber die nach Verfütterung von Baumwollsaatmehl bei Kälbern und Schafen beobachteten Krankheitszustände“ Folgendes:

„Versuch II. Am 5. Januar 1888 wurden einem Schafe A circa 5 ccm einer Flüssigkeit, welche Zopf aus einem aus derselben Baumwollsaatmehlprobe gezüchteten Pilze, *Bacterium vernicosum* benannt, bereitet hatte, rechterseits seitlich der Lendenwirbel mittelst einer Pravaz'schen Spritze direkt in die Bauchhöhle einverleibt.

Einem anderen Versuchsschafe B wurde gleichzeitig ein Rübenstück verfüttert, das im Innern ausgehöhlt und mit einer Reinkultur desselben Pilzes versehen worden war.

Am folgenden Morgen (6. Januar) war Versuchsschaf A nicht munter, hatte Durchfall, keinen Appetit, 40,3° C. Mastdarmtemperatur und lag beständig; gegen 2 Uhr Nachmittags, etwa 26 Stunden nach der intraperitonealen Impfung trat der Tod dieses Versuchsschafes ein. Bei der sofort vorgenommenen Obduction fand sich im Wesentlichen folgender pathologische Befund: starke Injection der Blutgefässe des Hüftdarmes ungefähr vom Blinddarme bis zum Leerdarme; im Dünndarme und Dickdarme fand sich ein dünnflüssiger, im Labmagen ein breiiger Inhalt in mässiger Menge. Die Contenta der drei Vormagen, sowie diese selbst erschienen normal, die Lungen waren blutreich und ödematös, der rechte Ventrikel und das linke Atrium des Herzens mässig mit dunkelrothem Blute erfüllt, die beiden anderen Herzhöhlen blutleer. Sämmtliche parenchymatöse Organe der Bauchhöhle erschienen, abgesehen von einer leichten Trübung ihres serösen Ueberzuges, makroscopisch nicht wahrnehmbar verändert, wurden indess nebst Herz und Lungen, sowie Magen und Darmkanal, letztere nach ihrer Entleerung, in absoluten Alkohol gelegt, um allenfalls später mikroscopisch untersucht werden zu können. Flüssigkeit aus Magen und Darm, aus den Lungen und etwas Serum aus dem Peritonealsacke wurde unverzüglich in reine Gläser gefüllt und Zopf zur Untersuchung auf das etwaige Vorhandensein von *Bacterium vernicosum* übersandt. Diese Untersuchung hat nach den von Zopf mir gemachten mündlichen Mittheilungen ein positives Resultat nicht ergeben, wesshalb an die Möglichkeit der Einwirkung irgend eines unbekannten schädlichen Faktors gedacht werden musste. Da das Versuchsschaf B gesund blieb, so erschien eine weitere Controle um so nothwendiger. Diesem Thiere wurden desshalb am 14. desselben Monats, also neun Tage nach Einverleibung der in Rede stehenden Kultur per os, circa 4 ccm einer durch Zopf aus *B. vernicosum* in der angegebenen Weise bereiteten Impfflüssigkeit mittelst einer Pravaz'schen Spritze ebenfalls von der rechten Hungergrube aus direkt in die Bauchhöhle injicirt. Fragliches Versuchsthier blieb auch darnach stets munter und gesund, sodass die täglichen Untersuchungen desselben (Temperaturaufnahme etc.) mit dem 26. Januar eingestellt wurden.

Dem nämlichen Schafe B wurden dann am 13. Februar, also dreissig Tage nach vorhin erwähnter Impfung, 2 ccm einer das *B. ver-*

nicosum sehr reichlich enthaltenden, von Zopf bereiteten Flüssigkeit in der früher angegebenen Weise direkt in die Lunge injicirt. Auch hiernach blieb fraglicher Impfling ganz gesund."

Tafel III.

Bacterium vernicosum Zopf.

1. Zwei Kolonieen auf 10procentiger Fleischpeptongelatine, 12 Tage alt, bei durchfallendem Licht gezeichnet, mit deutlicher Zonenbildung zu beiden Seiten des Impfstrichs; in natürlicher Grösse.
2. Vier Tage alte Gelatine-Objectträgerkultur in natürlicher Grösse. Die mit der Gelatine vermischten Keime sind zu zahlreichen Kolonieen ausgewachsen, von denen die in der Tiefe der Gelatine liegenden klein, linsenförmig oder ellipsoïdisch erscheinen, die an der Oberfläche gelegenen dagegen bei 0 relativ grosse, 1 bis 2 Millimeter im Durchmesser haltende flache Schleimtröpfchen darstellen.
3. 200/1. Kolonieen aus dem Innern der Gelatine einer 8 Tage alten Objectträgerkultur. Dieselben sind in der Ansicht von oben dargestellt, in der sie kreisförmigen Umriss zeigen.
4. 200/1. Drei dieser Kolonieen im Profil gesehen von elliptischem bis breit spindelförmigem Umriss.
5. 200/1. Eine Gruppe von Kolonieen aus derselben Kultur. Sie sind dicht gedrängt und durch gegenseitigen Druck mehr oder minder stark abgeplattet.
6. Eine der Kolonieen von Fig. 3 stärker vergrössert. Die Stäbchen sind so dicht gelagert und so orientirt, dass das Ganze wie aus Kokken bestehend erscheint.
7. Nährgelatine-Objectträgerkultur, 3 Tage alt, in natürlicher Grösse. Es waren auf der Gelatine 5 Impfstriche gezogen. In dem einen derselben ist nur ein einziger Keim, in den übrigen sind 3 bis mehrere zur Entwickelung gelangt, kreisrunde flach-erhabene Kolonieen bildend.
8. Eine dieser Kolonieen schwach (30fach) vergrössert. Man sieht die Fädenverbände des Bacteriums angedeutet durch zarte unregelmässig hin- und hergebogene, vom Centrum nach der Peripherie verlaufende Linien angedeutet.
9. 1000/1. Stückchen von der Peripherie einer solchen etwas älter gewordenen Kolonie. a) Randpartie, b) mehr nach innen gelegene Partie. Die Zellen der Randpartie mehr gestreckt und noch zumeist im Fadenverbande, die der inneren Partie kürzer und aus dem Fadenverbande verschoben.
10. 700/1. Zellverbände aus einer Nährlösung (bestehend aus 5% Rohrzucker, 0,5% Fleischextract, 1% Pepton und durch kohlensaures Natron alkalisch gemacht), welche mit 8% Chlormagnesium versetzt war. Einzelne Glieder der kurzen Zellverbände sind mehr oder minder stark aufgeschwollen, mitunter relativ riesige Kugeln bildend und meist eine Vacuole im Innern zeigend (Involutionsformen im Sinne Nägeli's).

Verlag von **Arthur Felix** in **Leipzig.**

Studien über Protoplasmamechanik

von **Dr. G. Berthold,**

a. o. Professor der Botanik und Direktor des pflanzenphysiologischen Institutes der Universität Göttingen.

Mit 7 Tafeln.

In gr. 8. XII, 336 Seiten. 1886. brosch. Preis 14 Mark.

Physiologische und Algologische Studien

von

Prof. Dr. Anton Hansgirg.

Mit 4 lithogr. Tafeln, theilweise in Farbendruck.

In gr. 4. IV, 188 Seiten. 1887. brosch. Preis 25 Mark.

Die Entwicklung der Sporogone

von

Andreaea und Sphagnum.

Von **Dr. Martin Waldner**

in Innsbruck.

Mit vier lithographirten Tafeln.

In gr. 8. 25 Seiten. 1887. brosch. Preis 2,60 Mark.

Die

mikroskopischen Thiere des Süsswasser-Aquariums.

Für Freunde des Mikroskopes und der Naturwissenschaften systematisch dargestellt von

Dr. Gustav Schoch.

I. Buch: **Die Urthiere.**

Mit 8 lithograph. Tafeln.

In gr. 8. 1868. VI, 60 Seiten. brosch. Preis 2,25 Mark.

II. Buch: **Die Räderthiere.**

Mit 8 lithogr. Tafeln.

In gr. 8. 1868. IV, 34 Seiten. brosch. Preis 2,25 Mark.

Einleitung in die Paläophytologie

vom botanischen Standpunkte aus bearbeitet von

H. Grafen zu Solms-Laubach,

Professor an der Universität Göttingen.

Mit 49 Holzschnitten.

In gr. 8. VIII, 416 Seiten. 1887. brosch. Preis 17 Mark.

Taf. I.

Fig. 6



Fig 8a



Fig 7.



Fig 8b.



Fig 8c.



Fig 9.

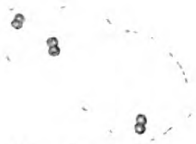


Fig 1.

Fig 4.

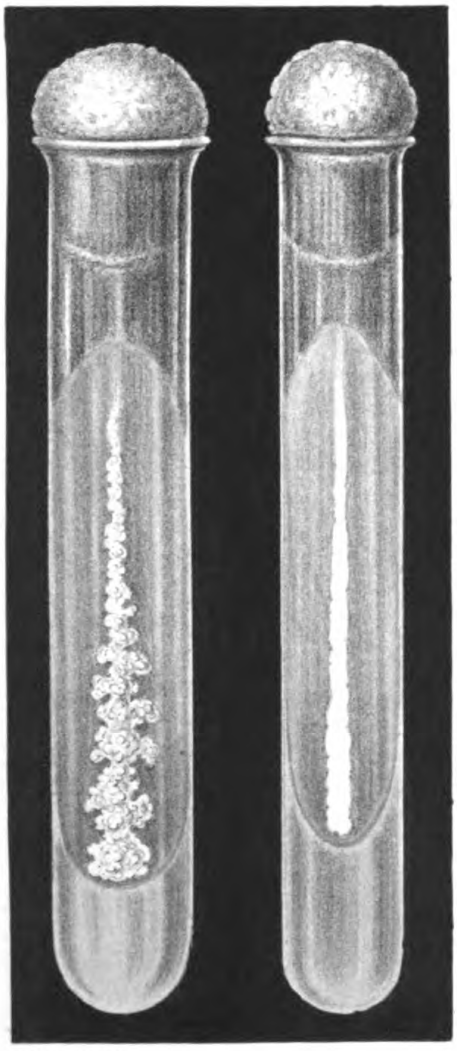


Fig 2.



Fig 5



Fig. 3.



W. Zopf del

E. Laue lith. Berlin

Fig. 2.



Fig. 1.

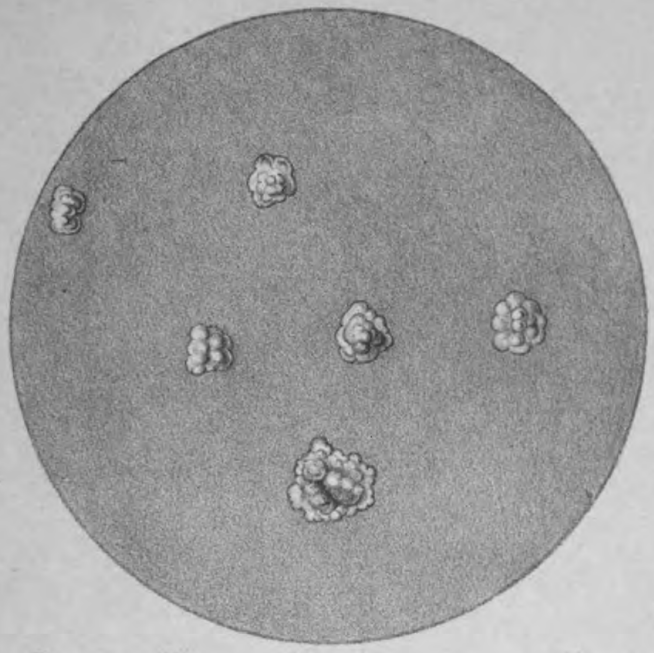
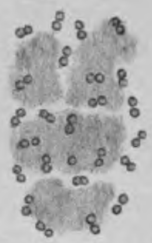
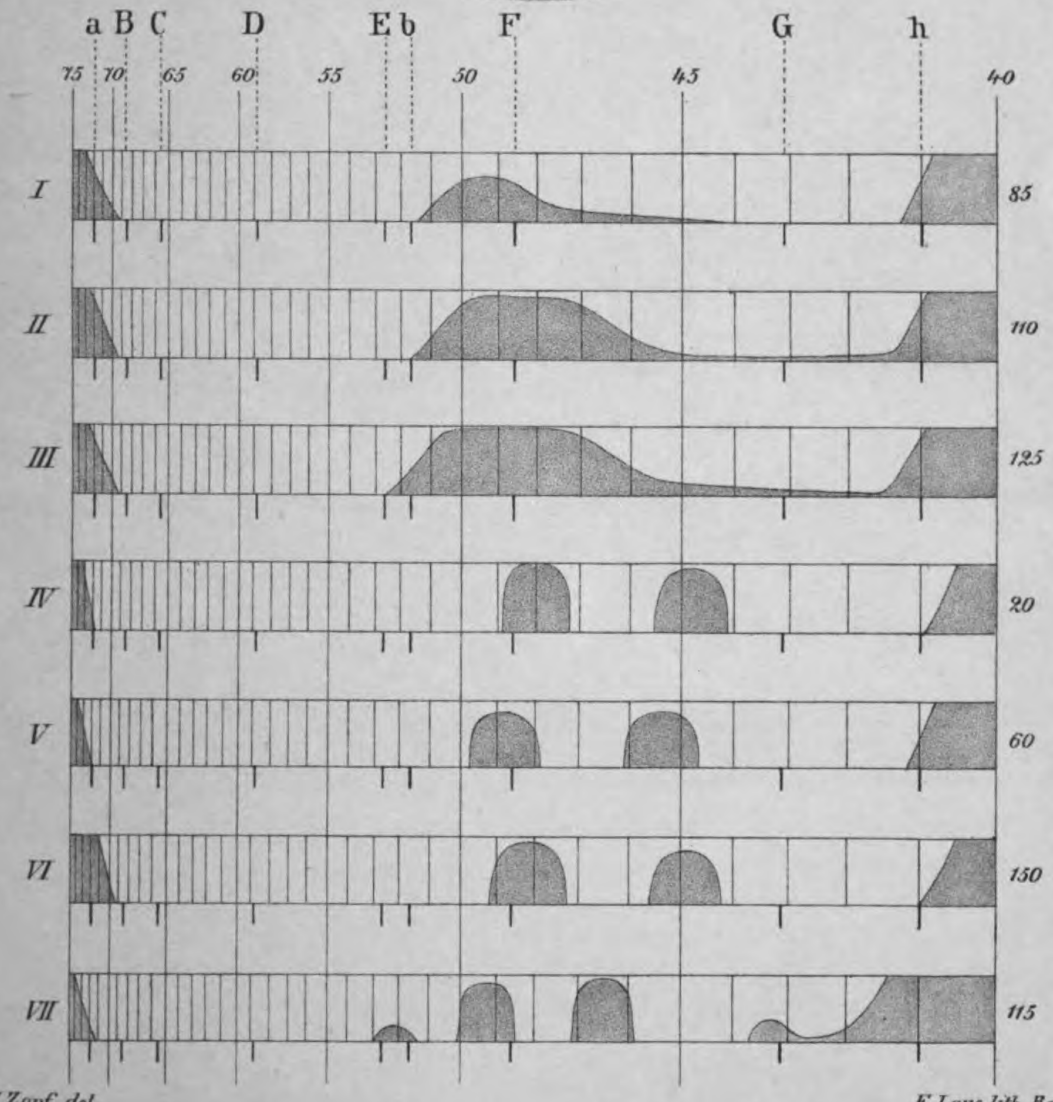


Fig. 3.





W. Zopf del.

E. Laue lith. Berlin.

Taf III



Fig. 3

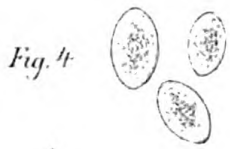


Fig. 4



Fig. 5

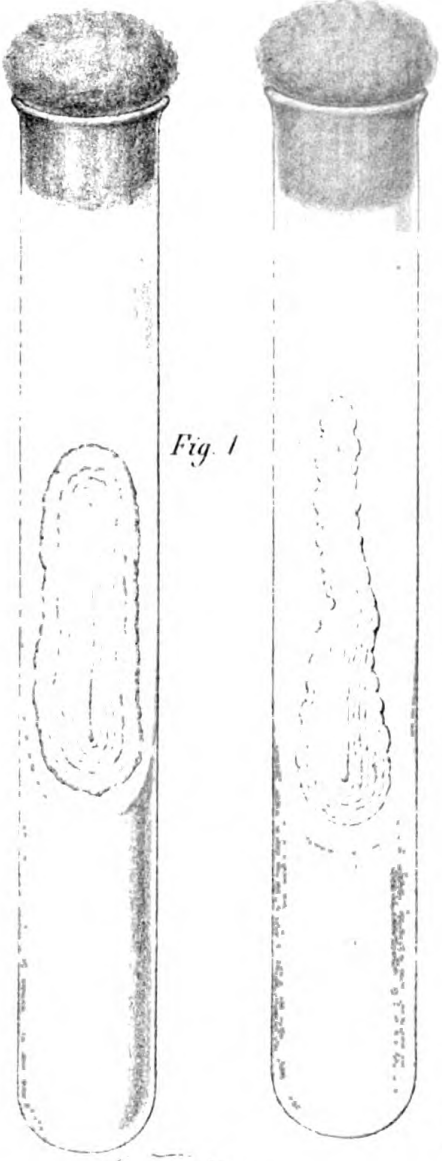


Fig. 1

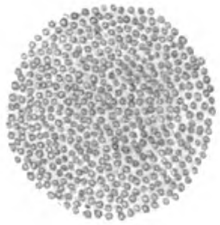


Fig. 6



Fig 10.



Fig. 9



Fig 2

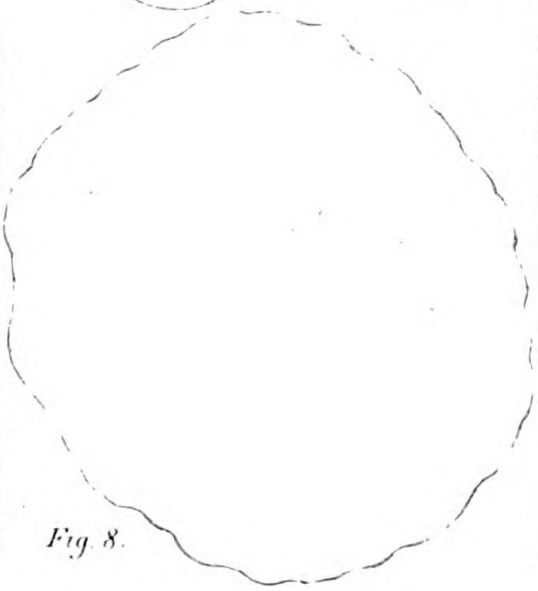


Fig. 8.

Fig 7



W Zopf del

E Laue lith Berlin

Beiträge

zur

Physiologie und Morphologie

niederer Organismen.

Aus dem Kryptogamischen Laboratorium der Universität Halle a. S.

Herausgegeben

von

Professor **Dr. W. Zopf,**
Vorstand des Kryptogamischen Laboratoriums der Universität Halle.



Zweites Heft.

Leipzig.
Verlag von Arthur Felix.
1892.

Inhaltsverzeichniss zum zweiten Heft.

Seite

Nachtrag zu der Abhandlung: Ueber den sogenannten Froschlaichpilz (Leuconostoc) der europäischen Rübenzucker- und der javanischen Rohrzuckerfabriken von C. Liesenberg und W. Zopf 1

Zur Kenntniss der Färbungsursachen niederer Organismen (Zweite Mittheilung) von W. Zopf.

III. Phycomyceten-Färbungen (Hierzu Taf. I u. II) 3

IV. Carotin-Bildung und Carotin-Ausscheidung bei gewissen Käfern (Chrysomeliden und Coccinellen) 12

V. Ueber den Farbstoffgehalt der Becherfrüchte von *Bulgaria inquinans* Fries. (Hierzu Taf. III) 17

VI. Zur Kenntniss der Mycetozoen-Farbstoffe 25

1. *Arcyria punicea* Pers. 26

2. *Arcyria nutans* Bull. 31

VII. Ueber die Ursache der Rothfärbung eines neuen Wasserspaltpilzes aus der Familie der Cladothricheen (*Sphaerotilus roseus* Zopf) . . 32

Zur Kenntniss der Labyrinthuleen, einer Familie der Mycetozoen von W. Zopf. Erklärung der Abbildungen von Tafel IV u. V 36

Ueber die Ursache der Unbeständigkeit carotinartiger Farbstoffe von Dr. M. Gerlach 49

Nachtrag zu der Abhandlung: Ueber den sogenannten Froschlaichpilz (Leuconostoc) der europäischen Rübenzucker- und der javanischen Rohrzuckerfabriken

von

C. Liesenberg und **W. Zopf.**

In genannter Arbeit (Heft I dieser Beiträge) wurde unter Anderen die Thatsache mitgetheilt, dass sowohl die europäische als auch die javanische Varietät des *Leuconostoc mesenterioïdes* im Stande ist, Traubenzucker, Rohrzucker, Maltose und Milchzucker zu vergähren unter Bildung von Säure und Gas.

Da es wohl nicht ohne Interesse ist (speciell auch vom practischen Standpunkte aus) die Natur der aus dem Zucker gebildeten Säure festgestellt zu sehen, so wurden Anfangs dieses Jahres Prüfungen in dieser Hinsicht vorgenommen. Es stellte sich dabei heraus, dass das Hauptproduct Milchsäure ist. Dieses Resultat konnte nun leider nicht mehr in die obigen Mittheilungen aufgenommen werden, und so lassen wir dasselbe hier nachträglich folgen.

Zunächst kam zur Untersuchung eine Zuckerlösung, welche durch den europäischen *Leuconostoc* vergohren war und welche ursprünglich enthielt: 10 % Rohrzucker, 1 % Pepton, 0,2 % schwefelsaure Magnesia, 0,04 sauren phosphorsauren Kalk, 0,02 Chlorcalcium und 1 % Kochsalz; vorher übrigens durch kohlensaures Natron schwach alkalisch und zur Bindung der Säure mit etwas reinem kohlensauren Kalk versetzt war. Bevor die Flüssigkeit (ca. 1 Liter) in Untersuchung genommen wurde, stellten wir durch Gelatine-Schalenkultur die Reinheit der Pilzmasse fest.

Die Prüfung auf Milchsäure hatte Herr Privatdocent Dr. G. Baumert die Güte zu übernehmen, was um so angenehmer war, als derselbe in dieser Richtung vielfache Erfahrungen gesammelt hat. Wir lassen sein Verfahren mit seinen eigenen Worten hier folgen: „Zur Prüfung auf die Säure wurde die syrupöse schwachsaure Masse, nachdem sie mit etwas Wasser verdünnt war, mit Kalkmilch alkalisch gemacht und mit dem gleichen Volum Alcohol vermischt. Nach etwa 24 Stunden wurde die Flüssigkeit von dem viel Calciumcarbonat enthaltenden Bodensatze getrennt, mit soviel Schwefelsäure versetzt, bis kein Nieder-

schlag von Gyps mehr erfolgte und nach dessen Absetzen wieder filtrirt. Das durch Eindampfen vom Alcohol befreite und wieder mit Wasser verdünnte Filtrat wurde dann im sauren Zustande mit Aether und Letzterer nach dem Abheben von der wässrigen Schicht mit Kalkwasser ausgeschüttelt, bis die sauere Reaction der ätherischen Flüssigkeit verschwunden war. Schliesslich wurden die vereinigten Kalkwasser-Auszüge concentrirt, mit Alcohol versetzt, nach einigen Stunden filtrirt und das Filtrat zur Krystallisation über Schwefelsäure aufgestellt. Dabei hinterblieb ein anfänglich syrupöser Rückstand, welcher allmählich krystallinische Structur annahm und nach wiederholter Behandlung mit warmem Alcohol — Auflösen, Filtriren, Verdunsten — die charakteristischen Formen des milchsauren Calciums — büschelförmig-angeordnete feine Nadeln — bildete."

Wir selbst haben dann schliesslich das nicht minder charakteristische Zinksalz erhalten, indem wir das von Dr. Baumert dargestellte milchsaure Calcium in wenig Wasser lösten und diese Lösung mit Chlorzink kochten. Schon nach einigen Tagen waren die charakteristischen Krystalle des milchsauren Zinks gebildet, während das hygroscopische Chlorcalcium unter diesen Verhältnissen noch nicht auskrystallisirt sein konnte.

Nach dem obigen Baumert'schen Verfahren ist es uns nun auch gelungen, aus einer durch den javanischen *Leuconostoc* vergohrenen, wie oben zusammengesetzten Rohrzuckerlösung gleichfalls Milchsäure in Form des Kalk- und Zinksalzes zu gewinnen.

Mithin kömmt zu den schon früher (l. c.) von uns gefundenen Uebereinstimmungs-Merkmalen beider Pilze noch hinzu die Vergährung von Rohr- resp. Traubenzucker zu Milchsäure. Es darf wohl auch ohne besondere Prüfung angenommen werden, dass die in Milchzucker- und Maltose-Lösungen von uns constatirte Säuerung ebenfalls auf Milchsäure-Bildung beruht.

Im Vergleich zu manchen anderen Milchsäurebildnern (z. B. *Bacterium vernicosum* Zopf)[1] ist die Vergährung jener Zuckerarten eine wenig energische zu nennen, doch kann sie, wie wir zeigten, durch Zusätze von 1—5 % Chlorcalcium oder 1—5 % Chlornatrium soweit gesteigert werden, dass die Gasentwickelung (Kohlensäurebildung) dem blossen Auge sichtbar wird und dementsprechend auch die Säuerung schneller und kräftiger vorschreitet.

1) Diese Beiträge Heft I.

Zur Kenntniss der Färbungsursachen niederer Organismen.

(Zweite Mittheilung.)

Von

W. Zopf.

III. Phycomyceten-Färbungen.

Während man den Färbungsursachen der Scheitelzellpilze (Mycomyceten) schon vielfach nachgegangen ist,[1] hat man die Algenpilze (Phycomyceten) bisher vernachlässigt. Die wenigen dürftigen Angaben, die sich in der Literatur hinsichtlich der Pigmentbildung in dieser Gruppe vorfinden, beschränken sich meist nur auf den Hinweis, dass bei dieser oder jener Form überhaupt Färbungen vorhanden sind, nur selten wird eine Notiz betreffs einer mikrochemischen Reaction der betreffenden Stoffe gegeben,[2] zu einer Isolirung der färbenden Substanzen ist man aber meines Wissens nie vorgeschritten.

Ich habe nun etwas zur Ausfüllung dieser Lücke beizutragen versucht und insbesondere den Gelbfärbungen meine Aufmerksamkeit zugewandt. Es lag nahe, die Kopfschimmel (Mucorineen i. w. S.) zum Ausgangspunkte der Untersuchung zu nehmen, denn hier bietet sich am ehesten die Möglichkeit, durch Massen-Reinkulturen die nöthigen Materialmengen zu gewinnen. Meine Wahl fiel zunächst auf die *Piloboli* (jene kleinen mistbewohnenden Schimmelpilze, deren höchst sinnreiche mechanische Einrichtungen zur Abschleuderung der Sporangien von jeher das Interesse erregt haben), weil deren gewöhnlichste Arten ziemlich intensive gelbe oder orangerothe Färbung aufweisen, was ja seit Cohns, Coemans, J. Kleins, Brefelds u. A. Untersuchungen allbekannt ist. Da sich Gelegenheit fand, den bisher zu den Chytridiaceen gestellten *Pleotrachelus fulgens* in *Pilobolus*-Kulturen wieder zu erhalten, so wurde auch für dieses Object die Ursache der orangenen Färbung festgestellt. Zunächst ward *Pilobolus Kleinii* Van Tieghem (Taf. I Fig. 1—7, 11—14) in Untersuchung genommen, eine Species, die hier um Halle auf Schaf- und Pferde-Excrementen ziemlich häufig auftritt und sich in den mit diesen Substraten angestellten Massenkul-

1) Die Literatur hierüber findet man bei W. Zopf, die Pilze (Eumyceten) Breslau 1890, speciell in dem Abschnitt über Pilzfarbstoffe p. 143—162.

2) Ich werde gelegentlich solche Angaben anführen.

turen (an denen sich Herr Dr. Kunze betheiligte) so üppig entwickelte, dass ausreichende Materialien für eine Farbstoffuntersuchung gewonnen werden konnten.

Mit den meisten andern Vertretern seiner Gattung kömmt dieser Pilz darin überein, dass er relativ grosse, schon dem blossen Auge leicht bemerkbare Sporangienanlagen von Knöllchenform producirt, welche intensiv orangerothe Färbung annehmen (Taf. I Fig. 1). Diese Bildungen entstehen auf festgedrücktem Mist in grosser Menge und können ziemlich leicht abgehoben werden.[1]

Während der Farbstoff sich durch kaltes oder heisses Wasser nicht extrahiren lässt, geht er schnell in Alcohol absolutus, zumal heissen, hinein, und man erhält eine leuchtend gelbe bis orangerothe Lösung. Auch Chloroform zieht den Farbstoff leicht aus und färbt sich tief orangeroth, ebenso Schwefelkohlenstoff, der mehr roth wird.

Das ganze Verhalten erinnerte mich so lebhaft an gewisse carotinartige Farbstoffe (Lipochrome), dass ich alsbald hierauf prüfte: Die alcoholische Lösung wurde mit einer passenden Menge von etwa 30procentiger Natronlauge verseift. Nach Hinzufügung heisser concentrirter Kochsalzlösung schied sich ein schön orangerothes Seifengemenge ab, dem man mit Petroläther leicht einen intensiv gelben Farbstoff entziehen konnte. Die gelbe Lösung wurde dann zur Entfernung von anhängenden Seifenresten im Scheidetrichter sorgfältig mit Wasser ausgeschüttelt und nach erfolgter Abtrennung filtrirt.

Bei der spectroscopischen Untersuchung, die bei Sonnenlicht mit dem Zeiss'schen Spectralocular ausgeführt wurde, ergab sich nun, dass bei 50 mm Schichtenhöhe der verdünnten Petrolätherlösung zwei dunkle Absorptions-Bänder auftraten, eins bei F, etwa von λ 484—469 reichend, das andere zwischen F u. G, etwa von 452—439 gehend. Man erhält also ein ganz ähnliches Spectrum, wie es der Farbstoff von *Trentepohlia Jolithus* oder der von *Bacterium egregium* zeigt und wie es auf Tafel II Heft I dieser Beiträge dargestellt wurde.

Schon aus diesem Befunde lässt sich mit Sicherheit schliessen, dass die Sporangien-Anlagen des *Pilobolus Kleinii* einen carotinartigen Farbstoff enthalten und zwar einen solchen, der den Di-Carotinen[2] zugehört, für welche die beiden oben bezeichneten Absorptionsbänder charakteristisch sind.

Aber nicht bloss die optischen, sondern auch die chemischen Reactionen sprechen für die Carotin-Natur. Verdampft man nämlich das Lösungsmittel auf der Porzellanschale und trocknet hierauf den erhaltenen Rückstand, so giebt derselbe mit conc. Schwefelsäure, wie auch mit conc. Salpetersäure tiefblaue Färbung, mit Jodjodkalium grüne, mit Osmiumsäure dunkle. Auch mikroscopisch erhält

---

1) Man kann ruhig hierbei Mistpartikelchen mitnehmen, da diese für die Reindarstellung des Farbstoffes kein Hinderniss bilden, sobald man das von mir befolgte Verfahren innehält.

2) Vergl. Heft I dieser Beiträge p. 36 Anm. 3.

man mit conc. Schwefelsäure die Carotinreaction, nämlich indigoblaue Kryställchen.[1]

Der Farbstoff ist an Fetttröpfchen gebunden, die in Menge in den Sporangien-Anlagen vorhanden sind, und ihre orangegelbe Farbe eben durch diesen Farbstoff erhalten.

Weitere Untersuchungen waren nun darauf gerichtet zu sehen, wie das gelbe, als Carotin-artig anzusprechende Pigment sich bei der weiteren Entwickelung der Sporangien-Anlage verhalten möchte.

An dem bauchigen Körper der Letzteren tritt bekanntlich eine schlauchförmige Ausstülpung (Taf. I Fig. 1) auf, welche den jungen Sporangienträger darstellt. In diesen wandert nun das durch den carotinartigen Farbstoff rothgelb tingirte Fett zugleich mit dem Plasma ein, um sich besonders an der Spitze anzuhäufen, die hierdurch rothgelbe Farbe erhält.

Hat der Träger eine gewisse Länge erreicht, so baucht sich sein Ende kopfförmig aus (Taf. I Fig. 2) und bildet hier das Sporangium (Taf. I Fig. 3 sp). In dieses wandert die rothgelbe Fettmasse ebenfalls hinein. Später wird der Inhalt des Sporangiums gegen den Träger durch eine Querwand (Columella) abgegrenzt, und das Plasma gruppirt sich um die zahlreichen Kerne in bekannter Weise zu kleinen Partieen, die zu eben so vielen Sporen werden. Jede Partie erhält einen Theil des carotinhaltigen rothgelben Fettes als Mitgift, wie man sich unter dem Mikroscop leicht überzeugen kann, denn die Sporen enthalten sämmtlich orangerothe Fetttröpfchen. (Schon vorher hat sich das Wasserreservoir unter dem Sporangium gebildet.)

Das in den Sporen an das Fett gebundene Carotin dient zugleich mit dem Fett als Reservestoff, denn bei der Keimung, die z. B. in zuckerhaltiger Fleischextractlösung leicht erfolgt, wandern die orangerothen Tröpfchen nach vorheriger Zertheilung mit in den Keimschlauch hinein.

In der Folge wurden auch *Pilobolus oedipus* und *crystallinus* näher geprüft und hierbei gefunden, dass eine ganz ähnliche Wanderung und Speicherung von Fett und Carotin erfolgt.

Des Weiteren liess sich feststellen, dass das Lipochrom oder Carotin zugleich mit den Fettmassen auch in den Zygosporen des *P. Kleinii* gespeichert wird. Bisher waren diese in Taf. I Fig. 4—7 dargestellten Apparate unbekannt.[2] Ich erhielt sie unter den weiter unten anzuführenden Bedingungen. Hier interessirt zunächst nur die Thatsache, dass diese relativ grossen Gebilde einen oder mehrere mächtige Fetttropfen von leuchtend-orangegelber Farbe führen. Macht man solche Fettmassen durch Zerdrücken der Sporen frei, und behandelt sie dann vorsichtig mit concentrirter Schwefelsäure, so färben sie sich blau, und es tritt nun auch hier nach längerer Einwirkung die Bildung von Lipocyankryställchen ein, also Carotin-Reaction.

---

1) Die Sporangien-Anlagen werden am Besten vorher zerdrückt.

2) Vergl. auch A. Fischer's Bearbeitung der Phycomyceten in Rabenh. Krypt. Flora p. 263.

Endlich ist der Fettfarbstoff auch in den Gemmen in reichlicher Menge vorhanden, wie schon die intensiv rothgelbe Färbung derselben (bei Cultur in Fleischextract-Zucker-Gelatine) andeutet (Taf. I Fig. 8—10) und die Lipocyan-Reaction (die man auch hier sicher nur an herausgedrücktem Fett erhält) sicher stellt. In diesen Organen fungirt er ebenfalls als Reservestoff.

Es kann nun gefragt werden, wo der Fettfarbstoff, den man in den genannten 3 Fructificationsorganen nachweist, entsteht; ob er in diesen Organen selbst erzeugt wird, oder ob er im Inhalt der Mycelfäden producirt und von hier aus mit dem Plasma in die Anlagen der Fructificationen hineingeführt wird.

An der Hand des Entwickelungsganges von der Spore aus lässt sich diese Frage leicht lösen. Ich benutzte hierzu die Endosporen von *P. oedipus;* Fleischextract-Zucker-Peptongelatine ward mit diesen gemischt und in flache Culturschälchen gegossen, die man durch übergreifenden Deckel schloss und in die feuchte Kammer brachte. Schon nach 24 Stunden waren die Sporen ausgekeimt und hatten nach 48 Stunden bereits ein kleines Mycelsystem gebildet. Hie und da war im Inhalt der Fäden schon ein kleines gelbes Tröpfchen bemerkbar. Nach weiteren 24 Stunden hatte sich die Zahl dieser Tröpfchen bereits deutlich vermehrt, manche waren auch grösser geworden und deutlicher gefärbt. Im weiteren Verlaufe der Cultur traten diese Verhältnisse noch ausgesprochener hervor, sodass ältere Fadentheile bereits mit Orangefärbung versehen waren (Taf. I Fig. 9). Gleichzeitig waren an kürzeren oder längeren Seitenästchen terminale oder intercalare Ausbauchungen entstanden, in denen sich die orangerothen Tröpfchen anhäuften (Taf. I Fig. 8, 10). Nachdem die Ausbauchungen eine gewisse Grösse erlangt, gliederten sie sich durch eine oder zwei Querwände gegen die Fadentheile ab, Gemmen darstellend (Taf. I Fig. 9). Wir sehen also, dass die rothgelben Fettmassen der Gemmen in den Mycelfäden gebildet werden und von hier aus sich nach den Stellen hinziehen, wo die Gemmenbildung stattfinden soll. Aehnlich ist es nun auch bei der Bildung der Sporangien-Anlagen. Vor der Entstehung derselben ist der Inhalt der Mycelfäden sehr reich an gelben bis gelbrothen carotinhaltigen Fetttröpfchen, später wird er ärmer, weil die Fettmassen nach den Orten, wo diese Fructification stattfindet, hinwandern, und endlich ist alles gelbe Fett aus der weiteren Umgebung der Sporangienfructification verschwunden und in dieser angehäuft.

Ausser dem Carotin producirt *Pilobolus Kleinii* van Tieghem noch einen andern Farbstoff. Derselbe ist ebenfalls nicht wasserlöslich, aber da er mit Schwefelsäure nicht die Lipocyan-Kryställchen giebt, kein Carotin. Wenn das rothgelbe Plasma in die Sporangien einwandert, bleibt er als dünner etwa ziegelrother Beleg an der Innenwand des Wasserreservoirs zurück und zwar gewöhnlich nur im unteren, seltener auch im mittleren Theile.[1] Da keine Aussicht vorhanden war, dieses Pigment in zu einer spectroscopischen Untersuchung und einigen

1) Vergl. auch A. Fischers citirte Arbeit p. 262.

Reactionen ausreichenden Menge abzutrennen, so habe ich gar keine weiteren Versuche in dieser Richtung machen zu sollen geglaubt.

Allen *Pilobolus*-Züchtern ist wohlbekannt, dass wenn die Production von Sporangienträgern einmal im Gange ist, sie sich längere Zeit, meist durch Wochen hindurch, fortsetzt. In einer meiner Culturen von *Pilobolus Kleinii* auf Schafkoth hörte nun die Bildung dieser Fructification ziemlich plötzlich auf. Diese Erscheinung war so auffällig, dass ich veranlasst wurde, der Ursache nachzugehen.

Hierbei ergab sich, dass zwar noch massenhaft Frucht-Anlagen vorhanden, dass dieselben aber fast sämmtlich in Gallen umgewandelt worden waren, die oft bis über Mohnsamengrösse erreicht hatten, sodass sie schon dem blossen Auge als stattliche gelbe Knöllchen auffielen.

In diesen Gallen, aber auch in nicht hypertrophirten Myceltheilen fanden sich nun eigenthümliche kleine Parasiten in kleinerer oder grösserer Anzahl — ich zählte in einer grösseren Galle bis 80 — in Gestalt einfacher kugeliger Zellen, die sich in der Folge zu Schwärmsporangien entwickelten (Taf. II Fig. 1 u. 2). Dieselben erlangten oft relativ riesige Grösse (bis $^1/_4$ mm), während auf der anderen Seite auch kleinere, sogar sehr kleine Formen von nur 6,5 mikr. Durchmesser vorkamen, die dann meist in den Mycelfäden lagen (Taf. I Fig. 13—14).

In diesen Sporangien werden winzige Schwärmer (Taf. II Fig. 2a. 3. 4) erzeugt, welche eine einzige Cilie, starke Metabolie und einen Durchmesser von 2,2—3 mikr. im gerundeten, etwa 3,6 mikr. im gestreckten Zustande messen. Sie enthalten ein oder zwei stark lichtbrechende winzige Körnchen und führen ausserordentlich lebhafte Bewegungen aus, wobei die Cilie nachgeschleppt wird.

Ihren Ausweg nehmen die Schwärmer durch lange cylindrische Mündungshälse (Taf. II Fig. 1. 2), welche als radiäre Ausstülpungen der cellulosehaltigen Sporangienhaut entstehen, selbst aber keine Cellulose-Reaction zeigen. Bis zur Reife des Sporangiums sind diese Bildungen von einer schwach lichtbrechenden homogenen Masse ausgefüllt, die schleimartigen Character zu haben scheint, wahrscheinlich ein Quellungsproduct der Membran ist und bei der Reife aufgelöst wird. Diese Entleerungsschläuche sind oft sehr regelmässig über die ganze Sporangienoberfläche vertheilt, mitunter aber auch ganz unregelmässig gruppirt. Das Erstere ist der Fall, wenn die Parasiten genügend Spielraum in der Sporangienanlage des *Pilobolus* haben (Taf. II Fig. 1. 2), das Letztere, wenn sie sich gegenseitig drängen, oder das Wirthsorgan nur beschränkten Raum bietet, wie es z. B. bei nicht sehr dicken Mycelfäden der Fall ist (Taf. I Fig. 13. 14).

Jedenfalls kann es schon nach dem eben Gesagten keinem Zweifel unterliegen, dass die in Rede stehende Sporangienform demselben Schmarotzer zugehört, den ich schon früher in den Fruchtträger-Anlagen eines anderen *Pilobolus (P. crystallinus)* auffand und als *Pleotrachelus fulgens* beschrieb.[1] Das Vorstehende und Nachfolgende mag die frühere Darstellung in einigen Punkten ergänzen.

1) Zur Kenntniss der Phycomyceten. I. Zur Morphologie und Biologie der Ancylisteen und Chytridiaceen. Nova Acta Bd. 47. Nr. 4.

Wie in der angeführten Abhandlung nachgewiesen wurde, rief der Parasit in Gemeinschaft mit einem anderen Schmarotzer *(Syncephalis spec.)* infolge der Unterdrückung der Sporangienbildung des *Pilobolus crystallinus* die Erzeugung von Zygosporen hervor.

Interessant ist nun die Thatsache, dass in der Schafmistcultur des *Pilobolus Kleinii*, wo der *Pleotrachelus* alle Sporangienanlagen ebenfalls zerstörte, gleichfalls Zygosporenbildung auftrat, während in einer Pferdemistcultur desselben *Pilobolus*, wo *Pleotrachelus* fehlte und die Sporangienträger fort und fort erzeugt wurden, keine einzige Zygospore zur Bildung kam. Hiernach glaube ich annehmen zu dürfen, dass wie in dem früheren Falle so auch in dem hier behandelten, die Unterdrückung der Sporangienproduction durch *Pleotrachelus* die Ursache für die Zygosporenbildung wurde.

Was nun den Zygosporenapparat selbst anbetrifft, so zeigt er ein wesentlich anderes Ansehen, als der, den ich für *P. crystallinus* nachwies. Denn erstens sind die Suspensoren weniger stattlich, und zwar kürzer, als bei Letzterem, zweitens nehmen die Zygosporen meist ganz andere, nämlich birn- oder eiförmige Gestalt an (Taf. I Fig. 4—6) und drittens ist auch der Bau ein anderer. Man kann nämlich an der Membran, die übrigens farblos ist, drei Schichten unterscheiden: eine äussere sehr dünne, glasartig spröde und daher beim Zerdrücken in eckige Stücke zerspringende, meist unregelmässig wellige Schicht, eine mittlere derbe und eine innere weichere Haut (Taf. I Fig. 6); und der schwach gelblich-röthliche, von blassen Fetttröpfchen durchsetzte Inhalt zeigt eine (oder auch mehrere) mächtige, höchst intensiv orangegelb gefärbte Fettmassen (Taf. I Fig. 4—7). Häufig trifft man ganz sonderbar gestaltete, patronenartig verlängerte oder auch etwas gekrümmte Zygosporen an. Sie lösen sich bei der Reife übrigens leicht von den Suspensoren ab, welche Letzteren überhaupt sehr zart und vergänglich sind und daher bei der Präparation schnell collabiren, sodass man sie nur selten intact zu Gesicht bekömmt.

Vom *Pleotrachelus* bleiben die Zygosporen, wohl wegen ihrer dicken Haut, stets verschont, doch habe ich ein einziges Mal den Parasiten in einem Suspensor beobachtet.

Die jungen Sporangien von *Pleotrachelus fulgens* weisen ein leuchtend gelbes oder orangenes Colorit auf (Taf. II Fig. 1). Zerdrückt man sie und lässt vorsichtig concentrirte Schwefelsäure auf den gelbrothen Inhalt einwirken, so erhält man die Lipocyanreaction. Hiernach kann es nicht zweifelhaft sein, dass der Schmarotzer mit dem Plasma des Wirthsorganes zugleich das an das Fett gebundene Lipochrom aufnimmt. Wir haben hier also ein Carotin-Vorkommen bei einer Chytridiacee (denn zu dieser Familie muss *Pleotrachelus* vorläufig gestellt werden).[1]

---

1) Ich muss allerdings bemerken, dass ich kurz nach Publikation meiner ersten Mittheilung über *Pleotrachelus* Gelegenheit gehabt habe, den Parasiten in seinem vegetativen Zustande zu beobachten und hierbei sicher festzustellen, dass dieser Zu-

Trotzdem mir der Schmarotzer in unzähligen Gallen vorlag, konnte ich ihn doch niemals in seinen ersten Entwickelungsstadien bekommen, da die Cultur trotz alles Suchens keinen solchen Zustand mehr enthielt. Später machte ich dann, um diese Lücke auszufüllen, Infectionsversuche an normalen Culturen von *Pilobolus Kleinii*. Sonderbarerweise aber blieben diese wiederholt erfolglos, während frühere Versuche (l. c.), in gleichem Sinne an *P. crystallinus* gemacht, befriedigende Resultate geliefert hatten. Der Grund für diesen negativen Ausfall wäre mir jedenfalls unbekannt geblieben, wenn ich nicht später das bereits beiseite gestellte Ausgangsmaterial nochmals der Zygosporen wegen durchmustert hätte. Hierbei fiel mir auf, dass sämmtliche noch nicht entleerte Sporangien des *Pleotrachelus* einem äusserst winzigen Organismus zum Opfer gefallen waren, der meist in einer Unzahl von Individuen die Sporangien erfüllte und ihren sonst schön orangerothen Inhalt ins Rothbräunliche bis Schmutzigbräunliche umgefärbt hatte (Taf. II Fig. 5. 7. 8). Es liessen sich zwei Entwickelungszustände desselben ausfindig machen, ein Schwärmstadium und eine Dauersporenform. Die Zoosporen unterschieden sich von denen des *Pleotrachelus* nicht bloss durch ihren grösseren, etwa 6—8 mikr. betragenden Durchmesser, sondern auch durch ihre zwei dicken Cilien (Taf. II Fig. 6), mit denen sie sich nur träge bewegten. Die Dauersporen stellten kugelige, etwa 9,5—10,5 mikr. im Durchmesser haltende farblose Zellen dar (Taf. II Fig. 8—10). Beiderlei Zustände kamen hie und da auch in den Sporangien-Anlagen und Myceltheilen des *Pilobolus* einzeln oder vergesellschaftet vor. Bemerkenswerth ist, dass man weder in den übrigens sehr schwach metabolischen Schwärmern noch auch in den Dauersporen etwas von dem Fettfarbstoff des Wirthssporangiums aufgenommen findet. Den Uebergang der Schwärmer in jene Dauersporenform kann man direct verfolgen, wenn man ein *Pleotrachelus*-Sporangium, das jene fremden Zoosporen enthält, mehrere Tage unter dem Deckglas hält. In seiner Einfachheit der Entwickelung schliesst sich der kleine Parasit der in Chara und Nitella schmarotzenden *Endobiella Bambekii* de Bruyne's[1] einigermassen an, nur besitzt er zwei Cilien und ermangelt des Amoeben-artigen Zustandes, wenigstens soweit meine Beobachtungen reichen. Ich werde ihn jedoch vorläufig zu dieser Gattung stellen und als *E. destruens* bezeichnen.

In Rücksicht auf sein massenhaftes Auftreten — er verschonte kein *Pleotrachelus*-Sporangium — war es nun wohl erklärlich, dass meine Infectionsversuche mit *Pleotrachelus*-Material an *Pilobolus Kleinii* so völlig fehlschlugen.

---

stand einen hautlosen Körper darstellt, der Pseudopodien-artige Fortsätze aussendet und einzieht, also Amoeben-Character zeigt und die Inhaltstheile der Wirthszelle, unter Anderen auch das mit Carotin gefärbte Fett in sein Plasma aufnimmt.

1) Ch. De Bruyne, Ueber eine neue Monadine, Endobiella Bambekii. Centralbl. für Bacteriol. und Parasitenkunde. Bd. IV. 1888.

Die Ergebnisse vorstehender Untersuchung lassen sich folgendermassen zusammenfassen:

1. Wie bei manchen Mycomyceten, so kommen auch bei Phycomyceten Carotin-artige Farbstoffe vor, und zwar sowohl bei Zygomyceten als bei Chytridiaceen. Unter den Zygomyceten sind die mit gelben oder orangeroth gefärbten Sporangienanlagen versehenen *Pilobolus*-Arten *(P. Kleinii, oedipus, crystallinus)* als Carotinbildner anzusprechen, unter den Chytridiaceen *Pleotrachelus fulgens.*
2. Das *Pilobolus*-Carotin gehört seinen spectroscopischen Eigenschaften nach zu den Di-Carotinen, denn es besitzt zwei Absorptionsbänder.
3. Dem *Pilobolus*-Carotin kömmt die Bedeutung eines Reservestoffs zu, der in den Endosporen sowie in den Gemmen und auch in den Zygosporen gespeichert wird und sich hier an Fett gebunden vorfindet. Bei der Auskeimung wird das Carotin zugleich mit dem Fett verbraucht.
4. Als Entstehungsort des *Pilobolus*-Carotins ist das myceliale System in allen seinen Theilen anzusprechen; von hier aus wandert es nach den genannten 3 Fructifications-Organen hin.
5. Von *Pilobolus Kleinii* wurden die bisher unbekannten Zygosporen aufgefunden. Sie entstanden, als ein Parasit *(Pleotrachelus fulgens)* die Sporangienbildung hemmte resp. unterdrückte (die Zygosporen von *Pilobolus crystallinus* sind früher von mir unter ähnlichen Verhältnissen aufgefunden worden).
6. *Pleotrachelus fulgens* kann selbst wieder von einem noch winzigeren Schmarotzer vernichtet werden *(Endobiella destruens* nov. spec.)

Erklärung der Abbildungen.

Tafel I.

Fig. 1—7, 11—14 *Pilobolus Kleinii;* Fig. 8—10 *P. oedipus.*

Fig. 1 (60fach). Fruchtträger des *P. Kleinii* in jugendlichem Stadium, am Ende reichlich mit carotinhaltigem und daher orangerothem Fett ausgestattet.

Fig. 2 (60fach). Etwas weiter entwickelter Fruchtträger derselben Species, bereits am Ende die kopfförmige Anschwellung zeigend, in welche das orangene Fett reichlich mit eingewandert ist.

Fig. 3 (60fach). Ausgebildeter Sporangienträger; *sp.* Sporangium, *r* Wasserreservoir. Das rothe Fett ist in den von der schwarzen Kappe bedeckten Sporen eingeschlossen. (Die gelbröthliche Farbe im unteren Theile der Membran des Reservoirs rührt von einem anderen Farbstoff her.)

Fig. 4 (172fach). Zwei Zygosporen-Apparate des *P. Kleinii* mit kleineren Zygosporen. *a b*; *s* die Suspensoren. In den Zygosporen je ein mächtiger, mit Fettfarbstoff beladener Tropfen von Fett.

Fig. 5 (172fach). Aehnlicher Zygosporen-Apparat mit etwas grösserer Zygospore.

Fig. 6 (172fach). Zygospore im optischen Durchschnitt mit ihren 3 Hautschichten *a b* und *c*.

Fig. 7 (172fach). Sehr grosse Zygospore vom Scheitel gesehen mit 4 grossen gelben Fetttropfen, die Suspensoren sind collabirt.

Fig. 8 (90fach). Stück eines kleinen, in Fleischextract-Gelatine erzogenen Mycels von *P. oedipus* mit Gemmen, in die schon reichlich Fettfarbstoff eingewandert ist; *sp.* die ursprüngliche Spore.

Fig. 9 (172fach). Fragment eines solchen etwas älteren Mycels mit nahezu ausgebildeten Gemmen, die reichlich das orangerothe carotinhaltige Fett gespeichert haben.

Fig. 10 (172fach). Fragment eines ähnlichen Mycels, dessen Gemmen erst in Ausbildung begriffen sind und daher noch nicht so reichlich Fettfarbstoff enthalten.

Fig. 11 (60fach). Mycelfragment von *P. Kleinii* mit einer Sporangienträger-Anlage, welche besetzt ist von einem grossen, bereits entleerten *Pleotrachelus*-Sporangium.

Fig. 12 (172fach). Sporangienträger-Anlage von *P. Kleinii,* mit 3 Sporangien des *Pleotrachelus,* von denen jedes zahlreiche Entleerungshälse getrieben.

Fig. 13 u. 14 (172fach). Mycelenden des *Pilobolus Kleinii,* vollgestopft mit Sporangien des *Pleotrachelus* von ziemlicher Kleinheit.

Tafel II.

Gallenartig hypertrophirte Anlagen der Sporangienträger des *Pilobolus Kleinii* mit ihren Parasiten.

Fig. 1 (172fach). Mächtige Galle mit vier mittelgrossen Sporangien des *Pleotrachelus fulgens.* Der schön orangegelbe Inhalt derselben ist noch nicht in Schwärmsporen zerklüftet. Jedes Sporangium zeigt eine Anzahl von Fortsätzen, durch welche die Schwärmsporen ihren Weg nehmen werden.

Fig. 2 (172fach). Eine ähnliche mächtige Galle mit einem sehr grossen Sporangium *(a)* des *Pleotrachelus fulgens,* dessen Inhalt bereits in zahllose Schwärmsporen umgewandelt ist; neben demselben liegen 4 minder grosse Sporangien, von denen 3 bereits entleert erscheinen. Auch der an die Fruchtanlage angrenzende Theil *b* des *Pilobolus*-Schlauches zeigt sich gallenartig aufgeschwollen und mit 5 zumeist entleerten *Pleotrachelus*-Sporangien von verschiedenen Dimensionen besetzt.

Fig. 3 (690fach). Schwärmer, aus einem der Sporangien der vorigen Figur stammend, in lebhafter Schwärmbewegung.

Fig. 4 (690fach). Eben solche Schwärmer in minder lebhaften Stadien der Schwärmbewegung.

Fig. 5 (172fach). Eine Galle des *Pilobolus* mit einem einzigen mächtigen *Pleotrachelus*-Sporangium besetzt, das übrigens nur wenige kurze Mundungshälse aufweist. Dieses Sporangium ist, bevor es zur Schwärmerbildung gelangte, befallen von der parasitischen *Endobiella,* welche den ganzen Raum des mächtigen Behälters mit ihren zahllosen Schwärmern angefüllt hat, die bereits in ziemlich lebhafter Bewegung begriffen sind.

Fig. 6 (690fach). Einzelne dieser Schwärmer, durch stärkeren Druck auf eben dieses riesige Sporangium isolirt, bei *a* und *b* mit ihren zwei relativ dicken Cilien, noch schwärmend. Man sieht aus dem Vergleich mit Fig. 3, dass sie sich ausser durch die Zweiziligkeit auch durch ihre Grösse vor den *Pleotrachelus*-Schwärmern auszeichnen.

Fig. 7 (172fach). Eine *Pilobolus*-Galle mit 2 Sporangien-Exemplaren des *Pleotrachelus fulgens.* Das eine ist bereits entleert, das andere von der *Endobiella* befallen, die man in Form von kugeligen Dauer-Zellen im Inhalt vertheilt sieht. Letzterer ist rothbraun geworden.

Fig. 8 (172fach). Eine kleinere *Pilobolus*-Galle mit nur einem Schwärmsporangium des *Pleotrachelus.* Auch dieses ist befallen von zahlreichen Individuen der *Endobiella,* die bereits zu Sporen umgewandelt sind. Der ursprüngliche Inhalt des *Pleotrachelus* ist aufgezehrt bis auf ins schmutzig Rothbräunliche verfärbte Reste.

Fig. 9 (690fach). Eine Gruppe der bereits abgerundeten und mit zarter Haut umgebenen Zellen der *Endobiella*, junge Cystenzustände repräsentirend, aus einem Sporangium, wie in Fig. 8, durch Druck herausbefördert.

Fig. 10 (690fach). Ein solcher Cystenzustand mit dickerer bereits doppelt contourirter Membran.

IV. Carotin-Bildung und Carotin-Ausscheidung bei gewissen Käfern (Chrysomeliden und Coccinellen).

Bis vor Kurzem schien man allgemein die Ansicht zu theilen, dass Carotin-artige Farbstoffe (Lipochrome oder Fettfarbstoffe im Sinne Krukenberg's) stets an den Inhalt pflanzlicher und thierischer Zellen gebunden vorkämen. Jedenfalls kannte man bis dahin keinen Fall, in welchem solche Pigmente zur Ausscheidung gebracht werden.

Ich zeigte nun damals, dass dies in der That vorkömmt und zwar bei gewissen rothgefärbten Spaltpilzen (z. B. *Micrococcus rhodochrous* Zopf).[1] Der ausgeschiedene Farbstoff krystallisirt hier nach der Ausscheidung in schön rothen Aggregaten kleiner Kryställchen.

Durch einen glücklichen Zufall habe ich nun thierische Objecte in die Hand bekommen, welche ebenfalls einen Carotin-artigen Stoff ausscheiden, und zwar handelt es sich zunächst um die Pappelblattkäfer *Lina populi* und *L. tremulae*.[2]

Reizt man die Thiere, indem man sie einige Zeit zwischen den Fingern hält, oder ängstigt man sie durch schwache Chloroformirung, so geben sie den bekannten rothen Saft ab, der in Form eines klaren rothen Tropfens aus dem Munde hervorquillt. Ich hielt anfänglich die Möglichkeit nicht für ausgeschlossen, dass dieser Tropfen aus dem Verdauungstractus stammen und etwa durch eine Art von Erbrechen zu Tage gefördert sein möchte. Allein hiergegen sprach die Thatsache, dass der Tropfen krystallklar war und bei mikroscopischer Prüfung keine Spur von irgend welchen Nahrungstheilen aufwies. Auf Befragen des Herrn Prof. O. Taschenberg, dem ich z. Th. auch das Material und die Bestimmung der Käfer verdanke, erhielt ich die Antwort, dass jene klaren rothen Tropfen sicherlich ein Drüsen-Sekret darstellen, das wahrscheinlich den Speicheldrüsen entstamme.

Wenn man die ausgeschiedenen Tröpfchen auf Objectträgern etliche Tage im Dunkeln hält, so trocknet das Sekret völlig zu einem festen glänzenden rothen Ueberzuge ein, und man findet nunmehr den rothen Farbstoff hie und da zu kleinen Gruppen von winzigen Kryställchen aus krystallisirt, die im Polarisationsmikroscope bei gekreuzten Nikols mit scharlach-rother Farbe leuchten. Diese Kryställchen zeigten nun Carotin-Reaction. Mit concentrirter Schwefelsäure betupft färben sie sich nämlich indigoblau, später dunkelblau und auch der übrige Theil des eingetrockneten Tropfens nimmt hierbei Bläuung an. Ferner tritt

---

1) Ueber Ausscheidung von Lipochromen bei Spaltpilzen. Berichte der deutsch. bot. Gesellsch. 1891.

2) Der botanische Leser möge diesen zoologischen Excurs damit entschuldigen, dass es sich hier um eine Frage handelt, die auch ihn interessiren wird.

beim Benetzen mit concentrirter Salpetersäure ebenfalls deutlich blaue Färbung auf, die aber sehr schnell vorübergeht, weil die Salpetersäure auf den Farbstoff alsbald oxydirend einwirkt.

Wie diese Reactionen, so weisen auch die Löslichkeitsverhältnisse (das Pigment ist unlöslich in Wasser, löslich in Alcohol, Aether, Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff, fettem und ätherischem Oel) auf Carotin-Natur hin, ebenso die Empfindlichkeit des Farbstoffes gegen den Sauerstoff der Luft,[1] und endlich die Möglichkeit seiner Abtrennung durch Verseifung der alcoholischen Lösung, wobei natürlich nur mit kleinen Mengen operirt werden konnte, weil das Sekret sich erklärlicherweise nur in sehr geringer Menge gewinnen liess.

Mit dem in obigem Sekret enthaltenen Carotin stimmt nun in den genannten Punkten vollständig überein ein rother Farbstoff, welcher in den scharlach- bis blutrothen, bei *L. tremulae* meist einen kleinen Stich ins Bräunliche versehenen Flügeldecken vorhanden ist. Ich habe denselben aus den Flügeldecken einer grossen Anzahl dieser Käfer gewonnen und etwas näher untersucht. Dabei bin ich folgendermassen verfahren: Die Flügeldecken wurden nach ihrer Abtrennung vom Körper mehrere Tage mit Alcohol absolutus ausgezogen, bis sie fast entfärbt waren. Dieser rohe Extract sieht in sehr verdünntem Zustande mehr gelb, in concentrirterem mehr roth aus. Auf dem üblichen Wege der Verseifung mit überschüssiger, etwa 30prozentiger Natronlauge lässt sich von dem vorhandenen Fettsäuresterne ein Farbstoff abtrennen, der in Aether oder Petroläther, den man über das Seifengemisch geschichtet hat, sofort mit gelber bis orangener Farbe hineingeht. Diese Lösung wurde im Scheidetrichter abgetrennt, zur Entfernung von etwaigen Seifenresten und überschüssigem Alkali mit Wasser gewaschen und schliesslich filtrirt.

Mit dem Zeiss'schen Spectralocular bei Sonnenlicht untersucht zeigte die ätherische Lösung des auf diese Weise abgetrennten Farbstoffs in gewisser Schichtenhöhe ein einziges breites Absorptionsband im Grün und Blau, das etwa von λ 515 bis 480 reichte, mit schwacher Abschattung nach rechts, und dessen Absorptionsmaximum nach Schätzung mit dem Auge etwa bei λ 490 lag.

Beim Eindampfen erhält man auf der Porzellanschale einen schön rosen- oder mohrrübenrothen bis ziegelrothen Ueberzug, der in Alcohol, Aether, Chloroform, Petroläther, Benzol, Schwefelkohlenstoff, fetten und ätherischen Oelen löslich, in Wasser aber unlöslich ist.

Mit concentrirter Schwefelsäure färbt er sich schön indigoblau, desgleichen beim Betupfen mit concentrirter Salpetersäure, doch geht die Farbe alsbald in andere Töne über. Durch wässrige verdünnte Jodlösung wird der Ueberzug schmutzig blaugrün resp. olivengrün, in dicker Schicht ganz dunkel, durch 1%ige Osmiumsäure zuerst rothbraun, dann sepiabraun, endlich schwarzbraun.

Fluorescenz geht den Lösungen ab. Auf hineingehängtem Filtrirpapier bilden sich rothe Zonen, die bei Zutritt von Luft schon nach

1) Man vergleiche die folgende Mittheilung von Dr. Gerlach.

1—2 Tagen vollständig verschwunden sind. (Man vergleiche die folgende Mittheilung von Dr. Gerlach.)

Legt man die Flügeldecken in concentrirte Schwefelsäure, so verschwindet die schön rothe Färbung derselben, indem sie sich ins schmutzig Blaugrüne bis Olivengrüne umwandelt. Bei stärkerer Vergrösserung lassen sich jetzt in den Flügeldecken massenhaft Gruppen von schön indigoblauen Partikelchen nachweisen, welche bei gekreuzten Nikols als Gruppen von tiefblauen Kryställchen erscheinen. Es sind dies Lipocyankrystalle, wie sie beim Zusammenbringen irgend eines Carotins mit conc. Schwefelsäure immer entstehen.

Die Art der Gewinnung des in den Flügeln vorhandenen Farbstoffs, die Löslichkeitsverhältnisse, der Fluorescenzmangel der Lösungen, die Empfindlichkeit gegen Luft, die Reactionen, welche man mit conc. Schwefelsäure, conc. Salzsäure und wässriger Jodlösung an der festen Farbstoffmasse erhält, weisen übereinstimmend auf die Carotin-Natur des Pigmentes hin. Aus dem spectroscopischen Befunde ergiebt sich des Weiteren, dass man es hier mit einem Monocarotin (mit einem Carotin, dessen Spectrum nur ein Absorptionsband aufweist) zu thun hat. Bisher ist ein solches nur bei Spaltpilzen (*Micrococcus rhodochrous* Zopf) nachgewiesen worden. Merkwürdigerweise stimmt nun nach meinen vergleichenden Untersuchungen das Spectrum des *Lina*-Carotins mit dem des *Micrococcus*-Carotins aufs Genaueste überein, sodass ich einfach auf das in Heft 1 Taf. 2 dieser Beiträge gegebene Spectrogramm verweisen darf.

Ausser in den Flügeldecken kömmt das genannte Carotin noch an den seitlichen Rändern sowie am Ende des Hinterleibes vor. Die betreffenden Stellen zeigen die nämliche rothe Färbung wie die Flügeldecken und heben sich dadurch gegen die übrigen stahlblau gefärbten Theile des Abdomens stark ab. Durch Extraction des Abdomens einer grossen Anzahl der Käfer mit Alcohol absolutus habe ich das Pigment ebenfalls in grösserer Menge gewonnen und durch Verseifung abgetrennt. Es stimmte bei der näheren Untersuchung mit dem Flügeldecken-Carotin in allen angeführten Eigenschaften völlig überein. Auch die rothen Eier enthalten einen rothen Farbstoff. Es war mir zwar nicht möglich, grössere Mengen von Eiern zu sammeln, aber das zusammengebrachte Material reichte völlig hin, um festzustellen, dass das mit Alcohol extrahirte und darauf durch Verseifung abgetrennte Pigment mit jenem Carotin identisch ist, sowohl in seinem spectroscopischen Verhalten, als auch nach den Löslichkeitsverhältnissen, den Reactionen und der leichten Zersetzbarkeit. Es ist in den Eiern an reiche Fettmassen gebunden, die unter dem Mikroscop intensiv orangegelb erscheinen.

Herr Prof. O. Taschenberg machte mich darauf aufmerksam, dass gewisse Coccinellen eine ganz ähnliche und ebenfalls vergängliche Färbung der Flügeldecken besitzen, wie die obigen *Lina*-Arten, auch wie diese ein rothes Sekret ausscheiden und zwar an den Gelenken der Beine. Ich nahm daher Veranlassung zu prüfen, ob die Färbung der Flügeldecken etwa auch von einem Carotin herrühre, ferner ob jenes Sekret ebenfalls carotinhaltig sei.

Diese Prüfung, an *Coccinella septempunctata* und *C. quinquepunctata* vorgenommen, hat ergeben, dass Flügeldecken wie Sekret in der That ein Carotin enthalten, und dieses mit dem Monocarotin von *Lina* in allen Punkten völlig übereinstimmt. Da das specielle Verfahren zum Nachweis dieses Farbstoffes von dem für die Darstellung und den Nachweis des *Lina*-Carotins angegebenen in keinem Punkte verschieden ist, so brauche ich nur auf das oben Gesagte zu verweisen.

Wie weitere Untersuchung lehrte, verdanken auch die schön orange- bis mennigrothen Flügeldecken der *Clythra quadripunctata*, eines von Weidenblättern sich nährenden Käfers, ihre Färbung einem Carotin-artigen Farbstoffe. Doch weicht derselbe von dem der *Lina*-Arten und jener *Coccinella* darin ab, dass er nicht den Character eines Monocarotins besitzt.

Zur Gewinnung des Pigments trennte ich von etwa 100 Käfern die Flügeldecken ab und zog sie mit heissem Alcohol absolutus wiederholt aus. Die vereinigten rohen Extracte, welche leuchtend orangegelbe Tinction zeigten, verseifte ich mit überschüssiger Natronlauge, verjagte den Alcohol und übergoss das Seifengemisch wiederholt mit Petroläther, der innerhalb kurzer Zeit intensiv orangerothe Färbung annahm. Diese Lösung wurde im Scheidetrichter abgetrennt, zur Entfernung von Seifenresten und etwa überschüssigem Alkali wiederholt mit destillirtem Wasser gewaschen und sodann filtrirt.

Bei der mit Hülfe des Zeiss'schen Spectraloculars unter Benutzung von Sonnenlicht vorgenommenen spectroscopischen Untersuchung zeigte die Lösung die beiden Absorptionsbänder, welche für Dicarotine characteristisch sind, nämlich eins bei F und eins zwischen F und G. Jenes reichte etwa von λ 496 bis λ 480, dieses von λ 460 bis λ 448. Die Petroläther-Lösung wie auch andere Lösungen lassen selbst im Lichtkegel der Sammellinse keinerlei Fluorescenzerscheinungen erkennen. Lässt man die Lösung in schwedischem Filtrirpapier aufsteigen, so erhält man eine gelbe Zone, die bei Luftzutritt schon nach wenigen Stunden vollständig verschwunden ist, ein Zeichen, dass sich der Farbstoff leicht zersetzt.

Nach dem Verjagen des Lösungsmittels bleibt auf der Porzellanschale ein Ueberzug, der nicht ziegelroth wie beim *Lina*- und *Coccinella*-Carotin, sondern orangegelb erscheint. Derselbe ist unlöslich in Wasser, löslich in Alcohol, Aether, Chloroform, Petroläther, Schwefelkohlenstoff, fetten und ätherischen Oelen. Mit conc. Schwefelsäure oder conc. Salpetersäure betupft wird er blau, mit verdünnter Jodlösung grün, mit Osmiumsäure behandelt nimmt er bräunliche bis schwärzliche Färbung an.

Nach allen diesen Eigenschaften handelt es sich ohne Zweifel um ein Dicarotin. Die dottergelbe Farbe der Eier ist auf dasselbe Carotin zurückzuführen, das hier dem Inhalt angehört, an Fetttropfen gebunden. Schon die spectroscopische Untersuchung des alcoholischen Extracts der Eier und die Blaufärbung des Verdampfungsrückstandes eines solchen Auszuges deuten bestimmt den Dicarotin-Character an.

Fassen wir schliesslich die Resultate obiger Untersuchung zusammen, so stellen sich folgende Thatsachen heraus:

Die Chrysomeliden *Lina populi*, *L. tremulae* und *Clythra quadripunctata* sowie gewisse rothe *Coccinella*-Arten, speciell *C. septempunctata* und *C. quinque-punctata* führen carotinartige Farbstoffe (Lipochrome im Sinne Krukenbergs).

Diese Pigmente sind bei den verschiedenen Gattungen verschieden: bei *Lina* und *Coccinella* tragen sie den Character eines Monocarotins (d. h. eines rothen Carotins mit nur einem breiten Absorptionsbande); *Clythra* dagegen besitzt ein Dicarotin (d. h. ein gelbes Carotin mit zwei Absorptionsbändern, von denen das eine bei F, das andere zwischen F und G. liegt).

Das Carotin kann seitens gewisser lebender Zellen zur Ausscheidung gebracht werden, eine Thatsache, welche insofern Beachtung verdient, als sie, wie es scheint, für das Thierreich bisher nicht nachgewiesen wurde; für das Pflanzenreich ist sie bereits durch meine oben citirten Untersuchungen an Bacterien bekannt.

Die die Ausscheidung übernehmenden Zellen gehören drüsigen Organen an, welche bei *Coccinella* in den Gelenken, bei *Lina* im Munde liegen.

Monocarotin und Dicarotin werden in den Flügeldecken genannter Käfer in so grosser Menge abgelagert, dass dieselben intensiv rothgelb oder roth erscheinen. Da diese Carotinmassen augenscheinlich im Stoffwechsel keine Verwendung mehr finden, so müssen sie als Excrete aufgefasst werden.

Die in den Eiern jener Käfer auftretenden, an Fetttropfen gebundenen Carotine haben den Werth von Reservestoffen (dass Carotine auch bei Pflanzen, speciell bei Pilzen, als Reservestoffe auftreten können ist für die Rostpilze durch Bachmann, und für die Piloboli [in der vorausgehenden Mittheilung] von mir nachgewiesen worden).

Mithin können die Carotine bei genannten Käfern auftreten: erstens als Sekrete, zweitens als Excrete, drittens als Reservestoffe.

Die Ausscheidung carotinhaltiger Tropfen aus den Drüsen der Beingelenke resp. aus dem Munde dient jedenfalls als Schutz- resp. Vertheidigungsmittel; die Ablagerung reicher Carotinmassen und die dadurch bedingte intensive Färbung in den Flügeldecken ermöglicht wahrscheinlich ein leichteres Sichauffinden von Individuen beiderlei Geschlechts.

Die Art der Nahrung scheint keinen Einfluss auf die Art des gebildeten Carotins zu haben, denn *Lina populi* erzeugt, auch wenn sie sich von Weidenblättern nährt, stets das Monocarotin, *Clythra quadripunctata*, die ebenfalls Weidenblätter frisst, stets das Dicarotin und die rothen Coccinellen, die anstatt von grünen Blättern von Blattläusen sich nähren, enthalten immer das Monocarotin.

Das Ausbleichen der Carotinfärbung der Flügeldecken beruht nicht, wie man bisher allgemein glaubte, auf Lichtwirkung, sondern wie von Gerlach gezeigt wurde,[1] auf der Einwirkung des Sauerstoffs der Luft.

---

1) Man vergleiche die folgende Mittheilung.

V. Ueber den Farbstoffgehalt der Becherfrüchte von Bulgaria inquinans Fries.

Die auch dem Laien bekannten, relativ grossen, im reifen Zustande etwa $1-2^1/_2$ cm im Durchmesser haltenden, kreiselförmigen, fleischigen Schlauchfrüchte dieses Pilzes, die man zur Sommer- und Herbstzeit so ausserordentlich häufig aus der Rinde aufgeschichteter Buchen- und Eichenscheite hervorbrechen sieht, weisen zwar ein höchst unscheinbares, in der Jugend hellbraunes, im Alter tief neutraltintenartiges, an der Scheibe sogar schwarzes Colorit auf; aber diese triste Färbung hat, wie ich zeigen werde, gerade darin ihren Grund, dass die in Rede stehenden Gebilde ein Gemisch sehr lebhaft gefärbter, nämlich gelber, rother und blauer Substanzen enthalten.

Schon vor ein paar Jahren wurden Versuche gemacht, sie zu isoliren und zu characterisiren, allein aus Mangel an grösseren Fruchtmengen blieben dieselben sehr unvollständig. Im vorigen Jahre endlich glückte es mir, so viel Material zusammenzubringen,[1] dass es sich zu verlohnen schien, die Prüfungen nochmals vorzunehmen.

Hierbei ergab sich, dass der in Rede stehende Schlauchpilz in Bezug auf Zahl der zur Production kommenden färbenden Stoffe alle andern, näher untersuchten Pilzspecies übertrifft. Ich habe 6 dieser Stoffe abtrennen können, nämlich:

einen wasserlöslichen gelben amorphen Farbstoff,
einen wasserlöslichen rothen amorphen Farbstoff,
einen wasserunlöslichen rothen krystallisirenden Farbstoff,
einen wasserunlöslichen kupfersulfatblauen amorphen Farbstoff,
eine rothgelbe bis rothbraune Harzsäure,
ein gelb gefärbtes Fett.

Zur gleichzeitigen Gewinnung aller dieser Substanzen dürfte sich die Extraction der lufttrocknen und womöglich zerkleinerten Becher mit Chloroform am Besten eignen. Dasselbe nimmt unmittelbar nach dem Aufgiessen intensiv gelbe Farbe an, um allmählich tief cherryfarben zu werden. Nachdem die Extraction mehrere Tage hindurch wiederholt ist, vereinigt und filtrirt man die Auszüge, worauf sie im Scheidetrichter mit destillirtem Wasser mehrmals kräftig durchgeschüttelt werden.

Hierdurch wird bereits eine vorläufige Trennung der gefärbten Substanzen erreicht: es geht nämlich in die darüberstehende Wasserschicht ein gelber und ein röthlicher Farbstoff hinein, sodann sammelt sich auf der Grenze von Chloroform und Wasser eine schmutzig-blaugrün gefärbte Masse in ziemlich dicker Schicht an, und drittens hat man jetzt eine reiner gelbbraun aussehende Chloroformschicht. Man trennt nun diese 3 Schichten mittelst des Scheidetrichters und durch Filtration. Der wasserlösliche gelbe und rothe sowie der blaugrüne Körper werden einstweilen zurückgestellt, während man die gelbbraune Chloroformlösung auf der Porzellanschale an der Luft eindunsten lässt.

1) Bei Lofer im Salzburgischen an Buchenscheiten gesammelt.

Es bleibt ein schön rothbrauner, in dünner Schicht gelbbrauner Rückstand, aus welchem man mittelst Petroläther ein gelbes Fett, dann mittelst Aether das gelbe Harz, hierauf mit Methylalcohol den blauen Farbstoff entfernen kann, während der rothe krystallisirende zurückbleibt, den man mit Chloroform aufnimmt.

1. Der rothe krystallisirende Farbstoff (Bulgariin).

Er ward in der Weise gereinigt, dass der Verdampfungsrückstand auf der Porzellanschale zuerst wiederholt mit Petroläther ausgewaschen wurde zur Entfernung des etwa noch vorhandenen gelben Fettes, sodann mit Wasser und 60procentigem Alcohol, um etwaige Spuren des wasserlöslichen gelben Körpers und einer weisslichen Substanz (Mannit) sowie den blaugrünen Körper zu beseitigen, zu welch letzterem Zwecke besonders auch noch Methylalcohol verwandt wurde, bis derselbe vollkommen farblos ablief. Ferner wurde zum Auswaschen Aether verwandt, der nur wenig von dem Farbstoff aufnimmt, und endlich aus kochendem Chloroform umkrystallisirt.

Man erhält auf diese Weise eine Krystallmasse, welche auf der Porzellanschale in dünner Schicht rein kupferroth erscheint und kupferartigen Glanz besitzt, in dickerer Schicht dagegen schmutzig rothbraun bis dunkelbraun aussieht.

Dieselbe ist unlöslich in Wasser, Methylalcohol, Aethylalcohol, Ligroin, Petroläther, wenig löslich in Aether, Benzol und Eisessig, ziemlich reichlich in Chloroform, zumal erwärmtem.

Die Farbe der Lösungen ist etwa schwächer oder stärker malvenroth bis sehr diluirt weinroth, wenig intensiv, im Uebrigen kaum recht in Worte zu fassen. Im Sonnenlichtkegel fluorescirt die ätherische sowie die Chloroformlösung ausgesprochen orange bis goldbraun, bei Tageslicht sind nur Andeutungen dieser Fluorescenz vorhanden.

Bezüglich seiner spectroscopischen Eigenschaften kann der Farbstoff als sehr charakteristisch bezeichnet werden; denn seine nahezu concentrirte ätherische Lösung lässt in mittlerer Schichtenhöhe (etwa 60 mm) drei Absorptionsbänder sehen, von denen zwei im Grün liegen, das dritte etwa auf der Grenze von Blau und Violett steht, mit der Endabsorption durch einen schwachen Schatten verbunden (Vergleiche das Spectogramm auf Taf. III). Das erste Band im Grün, etwa bei λ 550 das Maximum der Absorption zeigend, erscheint dunkler als das zweite, dessen Absorptions-Maximum etwa bei λ 528 liegt, und das mit jenem durch einen schwachen Schatten verbunden ist, während es nach rechts ziemlich breite Abschattung zeigt. Das dritte Band endlich ist viel dunkler als I und II, sein Absorptionsmaximum liegt etwa bei 436. Das Ergebniss der Beobachtung der 85 mm und der 40 mm hohen Schicht ist in dem Spectogramm dargestellt (Taf. III Bulgariin).

Jene drei Absorptionsbänder zeigt nun auch die mässig concentrirte Chloroformlösung in etwa 60 mm Schichtenhöhe, nur sind die

Bänder mehr nach dem Roth zu verschoben. In 50 mm Schichtenhöhe tritt ferner noch ein viertes Band auf von λ 420—410 reichend. Das Verhalten der Chloroformlösung in verschiedener Schichtenhöhe habe ich ebenfalls auf Taf. III dargestellt.

Versetzt man die ätherische oder die Chloroformlösung mit einer Spur von Ammoniak, so wird sie blau und liefert nun ein einziges Absorptionsband, das etwa von λ 570—551 reicht und etwa bei 560 am dunkelsten erscheint.

Dampft man die Chloroformlösung auf dem Uhrglas ein und untersucht den Rückstand mit dem Polarisationsmikroscop, so sieht man bei gekreuzten Nicols, dass er winzige, kupferroth glänzende Kryställchen bildet.

Bei Prüfung der kupferrothen Krystallmasse mit Säuren und Alkalien ergab sich Folgendes:

Concentrirte Mineralsäuren bringen keine irgendwie auffälligen Farbenänderungen hervor, höchstens wird der Farbstoff etwas mehr roth. Schwefelsäure, Salpetersäure und Eisessig lösen mit röthlicher Farbe. Aetzkali und Aetznatron färben schön blau bis blaugrün, kohlensaure Alkalien und Ammoniak färben weder blau noch lösen sie. Barythydrat und Kalkwasser rufen blaugrüne Färbung hervor.

In den röthlichen Lösungen bewirken Barytwasser und Kalkwasser sowie Aetzkali schmutzig bläulich-grünliche Fällungen, was auf den Säurecharacter des Farbstoffes hindeutet.

Es frägt sich schliesslich, ob das vorliegende Pigment etwa mit irgend einem anderen rothen Pilzfarbstoffe identisch ist. Der Vergleich hat gelehrt, dass dies nicht der Fall ist.

Vom rothen Farbstoff der Thelephoren (Thelephorsäure) ist er schon durch seine Löslichkeit in Aether und Chloroform, sowie durch das Spectrum;

vom rothen Farbstoff des *Paxillus atrotomentosus* durch Löslichkeit in Chloroform, Form und Farbe der Krystalle und das Spectrum;

vom Russularoth durch Unlöslichkeit in Wasser, Fluorescenzfarbe und Spectrum;

vom rothen Farbstoff der *Gomphidius*-Arten durch die Krystallisationsfähigkeit und das Spectrum;

von der Rhizopogonsäure durch Farbe und Form der Krystalle;

vom Nectria-Roth durch Löslichkeit in Aether, sowie das Spectrum;

vom Mycoporphyrin durch Farbe und Form der Krystalle und das Spectrum;

von der Xylerythrinsäure durch sein Verhalten zu Ammoniak und sein Spectrum;

vom rothen Pigment der *Peziza echinospora* durch Löslichkeit in Aether und das Spectrum;

vom rothen Pigment der Uredineen durch Form und Farbe der Krystalle;

vom rothen Farbstoff der *Cladonia coccifera* durch die Krystalle und das Spectrum;

vom rothen Farbstoff des *Bacterium prodigiosum* durch Krystallisationsvermögen und Spectrum verschieden.

Ich glaube ihn daher als neu auffassen zu dürfen und werde ihn Bulgariin nennen.

2. Der blaue Farbstoff (Bulgarcoeruleïn).

Da er in kaltem Wasser, Aether, Petroläther, Chloroform, Benzol ganz unlöslich, in Alcohol absolutus schwer löslich erscheint, so benutzte ich jene Mittel, den Farbstoff von etwa noch vorhandenen Resten des Fettes, des Harzes, sowie des Bulgariins und des wasserlöslichen gelben Farbstoffs zu befreien, und zwar wurde das Waschen so oft wiederholt, bis die Lösungsmittel völlig farblos verliefen.

Der auf diese Weise möglichst gereinigte Farbstoff löst sich mässig leicht in Methylalcohol und zwar mit prächtig blauer Farbe, die in ihrem Tone genau mit Kupfersulfatlösung übereinstimmt. Beim Eindampfen dieser Lösung auf der Porzellanschale erhält man einen rein blaugrün aussehenden Rückstand.

Derselbe wird von concentrirter Schwefelsäure mit intensiv spangrüner oder lauchgrüner Farbe gelöst, die Lösung aber bei Wasserzusatz malvenroth, und gleichzeitig tritt eine kupferrothe Fällung auf. Durch concentrirte Salpetersäure wird die blaue Farbstoffmasse mit rother Farbe gelöst. Räuchert man sie mit Spuren salpetriger Säure, so nimmt sie malvenrothe Färbung an, die durch Räuchern mit Spuren freien Ammoniaks sofort wieder ins ursprüngliche Grünblau umschlägt.

Durch concentrirte Mineralsäuren (Schwefelsäure, Salpetersäure und Salzsäure), desgleichen durch organische Säuren (Essigsäure, Weinsäure) wird die blaue Lösung des Farbstoffes ausgesprochen roth (etwa malvenroth) gefärbt, während verdünnte ätzende sowie kohlensaure Alkalien keinerlei Farbenänderung hervorrufen.

Die Lösung scheint neutral oder spurenhaft sauer zu reagiren. Mit concentrirter Kalilauge, wie mit Barythydrat, Kalkwasser, essigsaurem Blei, Kupfersulfat erhält man in der Lösung des Farbstoffs reichliche Fällungen, welche auf dem Filter mit schmutzig spangrüner Farbe zurückbleiben. Hiernach dürfte der Farbstoff den Werth einer Säure haben.

Was ferner das optische Verhalten der blauen Lösung anbetrifft, so zeigt sie selbst im Lichtkegel der Sammellinse keine Spur von Fluorescenz, vorausgesetzt, dass der Farbstoff gehörig gereinigt war.

Auch bezüglich der spectroscopischen Eigenschaften liess sich nichts Bemerkenswerthes auffinden: die mässig concentrirte methylalcoholische Lösung in verschiedener Höhe der Schicht bei Sonnenlicht untersucht zeigte keinerlei Absorptionsbänder, wie aus dem Spectogramm auf Taf. III hervorgeht, welches zugleich zeigt, dass die Endabsorption in der linken Spectrumhälfte auch bei niederer Schicht immer ziemlich breit ist, wie man es von einem blauen Farbstoffe allerdings erwarten kann.

Blaue Farbstoffe treten im Bereiche der niederen Kryptogamen und der Mycetozoen nur selten auf, isolirt wurden dieselben aber, soweit mir bekannt, noch in keinem einzigen Falle. Es ist daher auch kein genauer Vergleich möglich mit dem blauen Farbstoffe der Früchte von *Bulgaria inquinans;* vorläufig möge derselbe als Bulgarcoeruleïn bezeichnet werden. Er ist in etwa eben so geringer Menge vorhanden, wie das Bulgariin, und ich habe etwa 2 Kilo Fruchtbecher dieses Pilzes extrahiren müssen, um für die obige Untersuchung gerade ausreichendes Material zu erhalten. Uebrigens besitzt der Farbstoff viel stärkere tinctoriale Kraft, als das rothe Bulgariin. Zum Krystallisiren habe ich ihn nicht zu bringen vermocht.

3. Gelbes Harz (Bulgarsäure).

Um den, wie oben angegeben, gewonnenen Körper zunächst von noch anhaftendem Fett zu reinigen, wurde er nach dem Eindampfen so lange mit Petroläther gewaschen, bis dieser sich nicht mehr gelblich färbte. Hierauf wurde Behandlung mit destillirtem Wasser angewandt, um Reste des gelben wasserlöslichen Farbstoffes zu entfernen.

Der so gereinigte Körper sieht auf der Porzellanschale in dünner Schicht prächtig gummiguttgelb, in dickerer mehr rothgelb bis rothbraun aus. Er schmilzt beim Erwärmen auf dem Wasserbade und verbrennt auf dem Platinblech mit leuchtender russender Flamme.

Unlöslich in Wasser, Ligroin, Benzol, löst er sich sehr leicht in Alcohol, Methylalcohol, Aether und Chloroform. In verdünnter Form zeigen die Lösungen schön gummiguttgelbe, in stärkerer Concentration rothgelbe bis rothbraune Farbe.

Von concentrirter Schwefelsäure wird die feste gelbe Masse violett gefärbt und dann mit etwa violettbrauner bis burgunderrother Farbe gelöst, während Salpetersäure nur einen Augenblick violett färbt, um sofort mit gelber Farbe zu lösen. Durch concentrirte Salzsäure wird der gelbe Körper mit burgunderrother, allmählich mehr ins Gelbe gehender, durch Eisessig mit gelber Farbe gelöst. Nach Zufügung von Wasser fällt er anscheinend unverändert mit der ursprünglichen Farbe wieder aus.

Verdünntes kohlensaures Ammoniak färbt malvenroth bis rothviolett und löst nur schwer, mit rothgelber Farbe; verdünntes Ammoniak färbt violettroth und löst leichter mit bald dunkelgelber, etwas gerötheter Farbe. Verdünntes Aetzkali und Aetznatron färben ausgesprochen violett und lösen sofort mit burgunderrother Farbe.

Mit Barytwasser oder Kalkwasser nimmt die gelbe Masse violette bis violettrothe Farbe an, ohne in Lösung zu gehen, während weingeistiges Eisenchlorid braune Färbung hervorruft.

Reactionen an der alcoholischen Lösung. Dieselbe wurde in nur wenig concentrirter Form verwandt, weil dann die Farbenreactionen noch schöner ausfallen und auch sicherer zu beurtheilen sind, als an der völlig concentrirten Lösung:

durch Aetzkali prächtig violett,
„ Aetznatron prächtig violett,

durch Aetzammoniak prächtig rothviolett,
„ kohlensaures Ammoniak prächtig rothviolett,
„ Eisenchlorid tief rothbraun,
(bei auffallendem Licht sieht die Lösung fast schwarz aus)
durch conc. Schwefelsäure burgunderroth, dann rothgelb,
„ Salpetersäure rothgelb.

Reactionen an der mit Ammoniak möglichst neutralisirten Lösung:

Mit Kalkwasser	rothbraune Fällung,
„ Barythydrat	„ „
„ essigsaurem Blei	„ „
„ Baryumchlorid	„ „
„ Quecksilberchlorid	rosen- oder malvenrothe Fällung,
„ Silbernitrat	braunrothe Fällung,
„ Alaun	etwa schmutzig ziegelrothe Fällung,
„ Kupfersulfat	etwa rothbräunliche Fällung,
„ Chlorkalklösung	gelbbräunliche Fällung.

Die Salze der alcalischen Erden und Metalloxyde sind in Wasser nicht löslich, die der Alkalien löslich.

Aus den alcalischen Lösungen nimmt Aether erst nach Neutralisation mit einer Säure etwas auf.

Aus allen den angegebenen Eigenschaften geht mit Sicherheit hervor, dass eine Harzsäure vorliegt. Durch ihre höchst characteristischen Farbreactionen ist sie von den beiden andern etwas näher untersuchten Pilz-Harzsäuren ziemlich leicht zu unterscheiden, was aus folgender Uebersicht hervorgeht:

Harzsäure von Polyporus hispidus (Pilzgutti)	Harzsäure von Bulgaria inquinans (Bulgarsäure)	Harzsäure von Lenzites saepiaria
in Alcohol und Aether leicht löslich,	in Alcohol, Aether u. Chloroform leicht löslich,	in Chloroform u. Aether leicht, in Alcohol schwer löslich,
die Lösung durch Aetzkali rothgelb,	durch Aetzkali violett,	
durch Ammoniak gelb,	durch Ammoniak rothviolett,	
durch Eisenchlorid olivengrün bis olivenbraun,	durch Eisenchlorid rothbraun,	durch Eisenchlorid olivengrün bis olivenbraun,
mit Barythydrat gelbbraune Fällung,	durch Barythydrat rothbraune Fällung,	durch Barythydrat gelbe Fällung.
mit Quecksilberchlorid zimmtbraune Fällung.	durch Quecksilberchlorid rothe Fällung.	

4. Der gelbe wasserlösliche amorphe Farbstoff.

Er wurde in der Weise gereinigt, dass sein Rückstand nach einander mit Benzol, Aether und Chloroform gewaschen wurde, welche Mittel ihn nicht lösen. Auf der Porzellanschale sieht der Farbstoff gelbbräunlich aus. Er löst sich sehr leicht in Methylalkohol, ziemlich leicht auch in Aethylalcohol absolutus sowie in Wasser. Die alcoholische Lösung erscheint goldgelb. Mit Aetzkali wird sie mehr rothgelb, durch Säuren in ihrer Färbung nicht verändert. Im Spectroscop bei Sonnenlicht untersucht ergiebt sich nur eine breite Absorption des

blauen Endes. Gegen das Harz tritt der gelbe Farbstoff an Menge sehr zurück. Ich habe ihn nur in sehr kleinen Quantitäten erhalten, daher die Mangelhaftigkeit seiner Characteristik.

5. Der rothe wasserlösliche amorphe Farbstoff (Bulgarerythrin).

Um ihn in etwas grösserer Menge zu gewinnen, verfährt man am Besten so, dass man die bereits wie oben extrahirten Früchte nachträglich mit Alcohol absolutus auszieht, die Lösung eindampft und aus dem dunkelbraunen bis schwärzlichen Rückstande zunächst durch Petroläther das Fett, sodann mit Aether das Harz entfernt und hierauf mit destillirtem Wasser auswäscht, das den Farbstoff leicht mit rother bis rothbrauner Farbe aufnimmt. Zur weiteren Reinigung wurde dann die Lösung im Scheidetrichter wiederholt mit Aether ausgeschüttelt, bis dieser sich nicht mehr gelb färbte.

Hierauf wurde die Lösung eingedampft, der Rückstand getrocknet und ihm der Farbstoff mit wenig kaltem Alcohol entzogen, welches ganze Verfahren mehrfach wiederholt ward. Das Ausziehen mit wenig kaltem Alcohol ist nöthig, damit reichlich beigemengter Mannit möglichst nicht mit in Lösung geht. Um Letzteren ganz vollständig zu entfernen, habe ich dann die Lösung etwa 4 Wochen lang im geschlossenen Gefässe stehen lassen, wobei die geringen Mannitreste an den Wänden auskrystallisirten. Hierauf wurde die rothe Lösung abgegossen und filtrirt.

Der Verdampfungsrückstand des so gereinigten Farbstoffs zeigt rothe (etwa ziegelrothe) Färbung. Er ist unlöslich in Benzol, Petroläther, Aether, Chloroform; leicht löslich in Alcohol, Methylalcohol und Wasser. Die alcoholische Lösung hat rothgelbes bis weinrothes Colorit.

Während bei Tageslicht nur schwache Fluorescenz wahrzunehmen ist, tritt dieselbe bei Anwendung der Sammellinse sehr deutlich hervor und zwar ist die Fluorescenzfarbe gelb bis gelbgrünlich.

Bei der spectroscopischen Untersuchung der alcoholischen Lösung, die auch hier mit dem Zeiss'chen Spectralocular bei Sonnenlicht vorgenommen wurde, zeigte sich in gewisser Schichtenhöhe ein breites Absorptionsband im Blau, das etwa bei λ 463 sein Absorptionsmaximum hatte.

Reactionen an dem festen Farbstoff. Concentrirte Salpetersäure löst ihn mit schön rosenrother Farbe, Schwefelsäure und Salzsäure verfärben ihn ins Bräunliche, um ihn mit gleicher Farbe zu lösen. Viel Aetzammoniak färbt gelb und löst mit gelber Farbe, kohlensaures Ammoniak dagegen mit rosenrother, verdünntes Aetzkali mit gelbem, einen Stich ins Röthliche zeigenden Tone. Aus einer solchen Lösung wurde der Farbstoff durch Zusatz von Salzsäure ausgefällt, ein Zeichen, dass er Säurecharakter besitzt.

Reactionen an der alcoholischen rothgelben Lösung. Durch ein wenig wässriges Ammoniak wird sie entschieden um einen Ton röther, durch Aetzkalilösung um einen Ton gelber.

Lakmuspapier röthet sie schwach, aber ausgesprochen. Mit alcalischen Erden und Salzen der Metalloxyde erhält man in der möglichst neutralen Lösung gefärbte Fällungen, mit Kalkwasser sowie mit Chlorbaryumlösung lehmartig gefärbte, mit essigsaurem Blei fleischröthliche, mit Quecksilberchlorid schmutzig gelbliche bis gelbröthliche.

Diese Reactionen weisen offenbar ebenfalls auf die Säurenatur des Farbstoffes hin. Da er mit keiner der andern bekannten wasserlöslichen rothen Säuren übereinstimmt, will ich ihn als Bulgarerythrin bezeichnen.

6. Das gelbe Fett.

Da in den Becherfrüchten gewisser anderer Becherpilze *(Spathulea flavida, Leotia lubrica, Peziza aurantia, Ascobolus*-Arten) fettfarbstoffhaltige gelbe Fette gefunden worden sind, so lag es nahe, zu prüfen, ob das gelbe Fett von *Bulgaria inquinans* nicht etwa gleichfalls ein Lipochrom enthalte.

Ich verseifte daher dieses Fett in der üblichen Weise mit Natronlauge, salzte die gelbe Seife mit heisser concentrirter Kochsalzlösung aus, fügte Wasser hinzu und schichtete Petroläther über die Seife, konnte aber kein Hineingehen eines gelben Farbstoffs in dieses Lösungsmittel beobachten und glaube hiernach, dass das Fett kein Lipochrom enthielt.

Die Hauptmasse der Becherfrüchte, aus welchen vorstehende gefärbte Substanzen gewonnen wurden, besteht, wie jedem Mycologen bekannt ist, aus einem mächtigen elastischen Gallertgewebe von fleischiger Konsistenz, das bei trockner Witterung starke Schrumpfung erleidet, um bei feuchtem Wetter wiederum zu dem ursprünglichen Umfange aufzuquellen. Untersucht man dasselbe mikroscopisch, so findet man, dass es aus feinen Fäden zusammengewebt ist, welche bedeutend verdickte, gallertige Membranen aufweisen. Zwischen letzteren finden sich, beiläufig bemerkt, mehr oder minder zahlreich relativ grosse unregelmässig-sphäroïdartige Drusen von Kalkoxalat.

Die starke Quellungsfähigkeit der Membranen gab einen Hinweis, dass es sich hier nicht um gewöhnliche Pilzcellulose handeln könne, sondern wahrscheinlich ein gummi- oder schleimartiges Kohlehydrat am Aufbau der Zellhäute wesentlich betheiligt sein werde.

In der That geben die Fruchtkörper bei gewisser Behandlung relativ grosse Mengen einer Substanz ab, welcher die Eigenschaften eines gummiartigen Körpers zuzusprechen sein dürften.

Zu seiner Gewinnung scheint sich ein ähnliches Verfahren am besten zu eignen, wie man es zur Gewinnung des als Dextran bekannten, zuerst in den Gallertmassen des Froschlaichpilzes *(Leuconostoc mesenterioïdes)* und neuerdings auch in den Membranen einer Hefe *(Saccharomyces)* nachgewiesenen Gummis benutzt: Man weicht die beim Trocknen stark zusammengeschrumpften und hornartig hart gewordenen Früchte mit Wasser auf, bis sie ihr ursprüngliches Volumen und ihre ursprüngliche Weichheit angenommen haben und kocht sie mehrere

Stunden lang stark und wiederholt mit starkem Barytwasser aus. Hierbei erreicht man nicht nur, dass die zu erlangende Substanz in Lösung geht, sondern es werden hierbei auch die in reicher Menge vorhandenen gleichzeitig mit ausgezogenen harzigen und farbigen Stoffe bis auf geringe Reste vollständig ausgefällt. Die vereinigten Auszüge werden heiss filtrirt, der Baryt durch Einleiten von Kohlensäure ausgefällt und das gebildete Baryumkarbonat abfiltrirt.

Die klare, nur wenig gelblich gefärbte Lösung engt man demnächst auf dem Wasserbade ein, fügt nach dem Erkalten etwas Salzsäure zu und fällt nunmehr mit Alcohol absolutus aus. Hierbei erhält man jenen Körper in Form eines äusserst voluminösen weisslichen flockigen Niederschlages, der auf dem Filter einen massigen Kleister bildet. Derselbe wurde in der Weise gereinigt, dass ich ihn in Wasser auflöste, dann abermals mit Alcohol fällte und diesen Prozess wiederholte. Während hierdurch die letzten Spuren eines gelben wasserlöslichen Farbstoffes entfernt werden, nimmt man Spuren eines fett- oder harzartigen Körpers, der sich am Filterrand bemerkbar macht, durch Auswaschen des zuletzt erhaltenen Niederschlags mit Aether und Chloroform hinweg.

Die auf diese Weise gereinigte Masse erscheint völlig farblos, etwa wie ein reiner Stärkekleister aussehend. Sie löst sich im feuchten Zustande leicht in Wasser und diese Lösung filtrirt ziemlich rasch. Beim Eindampfen derselben auf dem Wasserbade erhält man einen amorphen Rückstand von weisser Farbe.

Derselbe ist unlöslich in Aethylalcohol, Methylalcohol, Aether und kann daher aus der wässrigen Lösung leicht ausgefällt werden, schwer löslich in kaltem, leichter in heissem Wasser, in Kali oder Natronlauge und Barytwasser, unlöslich in Kupferoxyd-Ammoniak, löslich in Chlorzinkjodlösung. Aus der wässrigen Lösung wird er weder durch Bleizucker, noch durch Bleiessig gefällt. Fehling'sche Lösung wird auch in der Hitze nicht reducirt. Wie die Versuche mit verdünnten wie concentrirteren Lösungen ergaben, besitzt die Substanz kein Drehungsvermögen. Durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure wird sie in reducirenden Zucker übergeführt. Durch Jodlösung sowie durch Jod und Schwefelsäure wird keine Blaufärbung bewirkt.

Die angeführten Eigenschaften lassen wohl keinen Zweifel, dass hier ein Gummi- oder Schleim-artiger Körper vorliegt.

VI. Zur Kenntniss der Mycetozoen-Farbstoffe.

Wie die Stoffwechselproducte überhaupt, so sind speciell auch die Pigmente der Mycetozoen (Pilzthiere) noch wenig zum Gegenstande des Studiums gemacht worden. Es liegen meines Wissens nur drei Untersuchungen vor, die eine von Reinke und Rodewald,[1] betreffend

1) Studien über das Protoplasma. I. Die chemische Zusammensetzung des Protoplasma von *Aethalium septicum* p. 43. Farbstoffe. — Vergl. auch Krukenberg, Vergleichend physiologische Studien. II. Reihe, Abth. III: Die Pigmente, ihre Genese und Metamorphose bei den wirbellosen Thieren p. 51—53.

die Ursache der Gelbfärbung von *Aethalium septicum*, eine von J. Schröter[1] über die Pigmentirung von *Arcyria punicea* und eine von mir,[2] welche die färbenden Substanzen von *Stemonitis fusca* und *ferruginea*, sowie von *Lycogala epidendron* und *flavo-fuscum* behandelt.

Die genannten Forscher kamen zu dem Ergebniss, dass die Färbung jener Objecte bedingt sei von nur je einem Farbstoff. Für die anderen eben bezeichneten Mycetozoen zeigte ich, dass je 2 oder mehrere Pigmente an der Färbung betheiligt sind, und zwar wies ich bei allen 4 Arten ausser Carotin-artigen Körpern (von Krukenberg Lipochrome oder Fettfarbstoffe genannt) noch 1 oder 2 andere Farbstoffe nach, darunter je einen wasserlöslichen.

Dass die Untersuchungen über die Pigmentbildung der Mycetozoen nur in so spärlicher Zahl vorliegen, hat seinen Grund zum wesentlichen Theile darin, dass die Früchte der überwiegenden Mehrzahl der Vertreter dieser Gruppe von winzigen Dimensionen sind und dabei so wenig reichlich auftreten, dass es selbst Demjenigen, der solche Objecte kennt und aufzufinden weiss, relativ viel Zeit und Mühe kostet, für solche Untersuchungen nur einigermassen ausreichende Materialien zusammenzubringen. Aus diesen Schwierigkeiten erklärt es sich auch wohl, dass noch niemals Chemiker sich solchen Objecten zugewandt haben.

Grössere Mengen zu beschaffen ist in der That nur in Bezug auf einige wenige, relativ grosse Formen, wie das stattliche *Aethalium septicum*, *Lycogala flavo-fuscum* und *Stemonitis ferruginea* möglich, bei den beiden Letzteren übrigens auch nur unter besonders günstigen, nicht häufig eintretenden Umständen. Doch sollte man auch die kleinen Formen nicht gänzlich vernachlässigen, selbst auf die Gefahr hin, dass das Ergebniss ein minder vollständiges wird. Eine oder die andere biologisch nicht unwichtige Frage wird man bei nur einigermassen ausreichenden Materialmengen wohl immer lösen können, so z. B. ob ein oder mehrere Farbstoffe gebildet werden, ob diese Säurecharacter zeigen oder nicht, wasserlöslich sind oder nicht, ob Carotin-artige darunter vorkommen, in welchem Entwickelungsstadium der eine oder der andere Farbstoff auftritt, ob er nur in der Fructification oder nur in den vegetativen Stadien oder in beiden vorhanden ist u. s. f.

Ich habe zunächst von zweien dieser kleinen Formen Materialien zusammenzubringen und zu prüfen versucht, nämlich von der durch Schröter schon untersuchten rothen *Arcyria punicea* und der gelben *Arcyria nutans*.

1. *Arcyria punicea* Pers.

Bekanntlich zeichnen sich die zierlichen, nur etwa 2 bis 3 Millim. hohen, kurzen gestielten Keulen ähnlichen Früchtchen dieser ziemlich

1) Ueber einige durch Bacterien gebildete Pigmente. Cohn's Beiträge zur Biologie. Bd. I, p. 116.

2) Vorkommen von Fettfarbstoffen bei Pilzthieren. Flora 1890.

häufigen Species im frischen Zustande durch ein schön ziegelrothes bis rothbraunes Colorit aus, das im Alter bisweilen ins Gelbbräunliche bis Nussbraune übergeht.

Die Ursache jener schönen Rothfärbung hat schon Schröter[1] zu ermitteln versucht und dabei folgendes Resultat gewonnen:

„*Arcyria punicea* enthält in Capillitium und Peridium einen rothen Farbstoff, der sich nur schwach in warmem Wasser, schnell und vollständig in Alcohol löst. Die Farbe der Capillitien ähnelt den jungen rosenrothen Bacteridien-Colonieen (es ist *Bacterium-prodigiosum* [Ehrenb.] gemeint), die Farbstofflösung ist orangeroth, etwas bräunlich. Durch Schwefelsäure wird die Farbe nicht verändert, ebensowenig durch Salzsäure, durch Salpetersäure wird sie beim Erwärmen zerstört, durch Ammoniak wird sie violettroth gefärbt."

Schröter hat also den rohen alcoholischen Extract für die Lösung eines einheitlichen Farbstoffes genommen und einige Reactionen an dieser rohen Lösung gemacht, ohne zu prüfen, ob wirklich ein einheitliches Pigment oder aber ein Pigmentgemisch vorliege.

Da mich der Zufall in den letzten beiden Jahren soweit begünstigte, dass ich eine relativ ansehnliche Menge ganz frischer Früchtchen[2] zusammenbringen konnte, so lag es nahe, dieses schöne Material mit Rücksicht auf die von Schröter offen gelassene Frage einer erneuten Untersuchung zu unterwerfen.

Hierbei hat sich nun herausgestellt, dass jene Rothfärbung keineswegs von nur einem Farbstoffe herrührt, sondern vielmehr auf Combination mehrerer gefärbter Substanzen basirt, von denen die eine durch ein prachtvolles Gelb ausgezeichnet ist.

Selbstverständlich ist es bei einem so winzig kleinen und niemals massenhaft auftretenden Object unmöglich, so viel Material zusammenzubringen, dass ein besonders eingehendes Studium der Farbstoffe ermöglicht würde. Allein es liess sich wenigstens ausser der Trennung der Pigmente eine Characteristik insoweit erreichen, dass die Verschiedenheit dieser Stoffe deutlich in die Augen springt.

Zur Gewinnung der Pigmente schien sich nach verschiedenen Versuchen folgendes Verfahren am Besten zu bewähren:

Die ganz frischen ziegelroth gefärbten Früchtchen werden nach sorgfältiger Abtrennung vom Substrat mit Alcohol absolutus ausgezogen, wobei man binnen wenigen Stunden eine diluirt rothe, nach etlichen Tagen tief und leuchtend burgunderrothe oder cherryrothe Flüssigkeit erhält, während sich die Früchtchen fast völlig entfärben.

Dieser Auszug wird nach dem Filtriren mit einer passenden Menge von 30%iger Natronlauge verseift und das Seifengemisch mit destillirtem Wasser verdünnt.

---

1) Ueber einige durch Bacterien gebildete Pigmente. Cohn's Beiträge zur Biologie. Bd. I, p. 116.

2) Dass dieselben frisch verwandt werden, ist nöthig, weil einer der darin befindlichen Farbstoffe sich an der Luft bald verändert.

Zunächst prüfte ich, ob etwa durch den Verseifungsprozess ein Carotin-artiger Farbstoff, wie solche nach meinen Beobachtungen bei *Stemonitis*- und *Lycogala*-Arten vorkommen, in Freiheit gesetzt worden sei. Allein dies war nicht der Fall, denn Petroläther sowie Aether nahmen nichts von Farbstoff aus dem Seifengemisch auf.

Es mussten demnach die gefärbten Körper Verbindungen mit dem Alkali eingegangen sein. Aus diesen liessen sie sich durch Zusatz von verdünnter Säure (Weinsäure) befreien. Petroläther nahm nun aus dem Gemisch sofort einen gelblich gefärbten Stoff auf, welcher beim Verdampfen des Lösungsmittels einen gelben bis gelbbräunlichen Ueberzug auf der Porzellanschale bildete. Er zeigte deutlichen Fettsäuregeruch, zumal beim Erwärmen, und gab die Acroleinreaction. Es handelte sich hiernach offenbar um einen Fettsäure-artigen Körper. Seine Menge war übrigens im Vergleich zu den sogleich zu besprechenden Farbstoffen eine ziemlich geringe.

Nachdem jenes Gemisch durch wiederholtes Ausschütteln mit reichlichen Mengen Petroläther von der Fettsäure befreit worden war, wurde dasselbe, zur Gewinnung eines anderen, benzollöslichen, gefärbten Stoffes, öfters mit Benzol ausgeschüttelt. Dasselbe färbte sich alsbald leuchtend bernsteingelb, während die Unterlauge merklich blasser ward, ohne jedoch (auch nach öfterer Anwendung jenes Lösungsmittels) völlig entfärbt zu werden.

Die gelbe filtrirte Benzollösung giebt beim freiwilligen Verdunsten des Lösungsmittels einen in dünner Schicht schön rosen- oder malvenrothen, in dickerer etwa zinnober- oder ziegelrothen, also etwa dem Roth der Früchtchen entsprechenden Rückstand. Derselbe ist unlöslich in Wasser, Ligroïn, Petroläther und Schwefelkohlenstoff, leicht löslich dagegen in Aether, Chloroform, Benzol, Methyl- und Aethylalcohol; die alcoholischen Lösungen besitzen im Vergleich zu der prächtig bernsteingelben Benzollösung ein entschieden mehr rothgelbes Colorit. Auch Eisessig löst mit röthlicher Farbe.

Beim Erwärmen auf dem Wasserbad erweicht die Substanz etwas.

Von concentrirter Schwefelsäure wird dieselbe aus dem Ziegelrothen ins Sepia- bis Violettbräunliche verfärbt und mit bräunlicher oder rothbräunlicher Farbe gelöst, durch starken Wasserzusatz aber scheinbar unverändert wieder ausgeschieden, um in darüber geschichteten Aether sofort mit der ursprünglichen gelben Farbe hineinzugehen.

Lässt man auf den ziegelrothen Ueberzug ein oxydirendes Mittel, wie Stickoxyd, einwirken (dasselbe wurde einfach durch Uebergiessen einer Kupfermünze mit Salpetersäure dargestellt), so verwandelt sich sein Roth in Gelb.

Auch durch concentrirte Salpetersäure wird die rothe Masse gelb gefärbt und mit eben solcher Farbe gelöst. Sie scheint aber dabei eine starke Veränderung zu erleiden, denn wenn man zu der Lösung viel Wasser setzt und dann Aether darüber schichtet, der sich sofort gelb färbt, so erhält man nach dem Abdampfen dieses Lösungsmittels statt der ursprünglichen rothen Masse eine gelbe.

Verdünnte Kali- und Natronlauge lösen den rothen Körper mit rothbräunlicher bis etwa violettbräunlicher Farbe. Aus solchen Lösungen wird der Farbstoff durch Zusatz einer verdünnten Säure ausgefällt, ein Zeichen, dass man es mit einer Säure zu thun hat.

Die alcoholische Lösung, deren Spectrum ich auf Taf. III dargestellt habe, reagirt schwach, aber deutlich sauer. Nach möglichster Neutralisation mit Ammoniak erhält man mit essigsaurem Blei einen blassröthlichen Niederschlag, mit Barythydrat eine reiche flockige Fällung, die auf dem Filter mit röthlich-bräunlicher Farbe zurückbleibt, mit essigsaurem Kupfer einen spangrünen, flockigen, in Wasser unlöslichen Niederschlag.

Zersetzt man die Barytverbindung mit verdünnter Schwefelsäure, so wird der Farbstoff frei gemacht und geht in darüber geschichteten Aether mit gelber Farbe hinein. Der beim Verdampfen dieses Lösungsmittels auf der Porzellanschale erhaltene Ueberzug schien mir aber nicht mehr ganz die ursprüngliche ziegelrothe Farbe, sondern einen Ton, der etwas mehr ins Gelbe hineinspielt, zu zeigen.

Auf Grund vorstehender Angaben glaube ich den vorliegenden Farbstoff als einen harzartigen und zwar als eine Harzsäure auffassen zu dürfen. Sie möge als Arcyrsäure bezeichnet werden, da sie mit keinem der anderen Mycetozoen-Harze, die mir bekannt sind, identificirt werden kann. In der Literatur findet sich eigentlich nur das *Aethalium*-Harz erwähnt,[1] das ganz andere, nämlich gelbe Farbe und andere chemische und optische Reactionen zeigt.

Nachdem ich die Arcyrsäure aus dem oben erwähnten angesäuerten Seifengemisch durch wiederholtes Ausschütteln mit Benzol entfernt hatte, entzog ich diesem Gemisch einen weiteren gefärbten Stoff durch öfteres Ausschütteln mit reichlichen Aethermengen. Das Lösungsmittel färbt sich intensiv gelb und hinterlässt bei freiwilligem Verdunsten einen mattbraunen Rückstand, dem man etwa anhängende Reste von Arcyrsäure durch Auswaschen mit Benzol entzieht, worauf man wieder mit Aether aufnimmt, um einen rothbräunlichen Körper zu entfernen, der als ätherunlöslich auf der Porzellanschale in geringer Menge zurückbleibt.

Die ätherische Lösung giebt beim Verdunsten einen Rückstand, der im Gegensatz zur Arcyrsäure, die auf der Porzellanschale, wie wir sahen, schön rosen- bis ziegelrothe Ueberzüge bildet, gelbbraun bis röthlichbraun erscheint.

Ausser in Benzol ist er auch in Schwefelkohlenstoff, Petroläther und Ligroïn unlöslich, wird dagegen von Aether, Chloroform und Alcohol reichlich aufgenommen. Auffällig ist die grüne Fluorescenz, welche die ätherische Lösung, namentlich im Lichtkegel der Sammellinse erkennen lässt und an der alcoholischen Lösung nicht so ausgesprochen hervortritt; die ätherische Lösung der Arcyrsäure zeigt diese Fluorescenz nicht.

---

1) Reinke und Rodewald, l. c.

Von concentrirter Schwefelsäure wird die bräunliche Masse mit bräunlicher Farbe (schmutzig-violettbräunlicher) gelöst; bei Zusatz von viel Wasser erfolgt Wiederausscheidung des Stoffes mit gelblicher Farbe. Aetzkalilauge löst mit rothbrauner bis violettbrauner Farbe; durch vorsichtigen Säurezusatz wird der Farbstoff aus dieser Lösung in gelben Flocken gefällt.

In der schwach sauer reagirenden alcoholischen Lösung bewirkt, nach vorangegangener möglichster Neutralisation mittelst Ammoniak, essigsaures Blei einen äusserst reichen flockigen, schön braunrothen, getrocknet lehmfarbenen Niederschlag (nachdem in der Lösung vorübergehende violettrothe Färbung aufgetreten ist).

Leider reichte das Material zu weiterer Prüfung nicht aus. Doch geht aus dem Gesagten wohl mit Sicherheit hervor, dass wir es hier ebenfalls mit einer Säure (jedenfalls ist es auch eine Harzsäure) zu thun haben, und dass dieselbe von der Arcyrsäure verschieden ist.

(Den vorhin erwähnten rothbräunlichen Körper, der sich mit gelber Farbe leicht in Alcohol, nicht in Aether und Wasser löste und Säurenatur besass, konnte ich leider nur in sehr geringer Menge bekommen und nahm daher eine Prüfung gar nicht erst vor.)

Fassen wir das Ergebniss vorstehender Untersuchung zusammen, so ergiebt sich, dass aus dem alcoholischen Extract frischer reifer Früchtchen von *Arcyria punicea* gewonnen werden konnten:

1. eine benzollösliche gelbe, im festen Zustande ziegelrothe Harzsäure (Arcyrsäure);
2. eine benzolunlösliche gelbe, im festen Zustande bräunliche Harzsäure;
3. eine gelbe (wohl nur durch Farbstoff verunreinigte) Fettsäure;
4. eine gelbe alcohollösliche (äther- und wasser-unlösliche) in festem Zustande rothbräunliche Säure.

Das Ergebniss der Schröter'schen Untersuchung, laut welchem der rohe alcoholische Extract nur einen einzigen Farbstoff enthält, entspricht daher nicht den thatsächlichen Verhältnissen.

Das für die Species so characteristische ziegelrothe Colorit wird im Wesentlichen bedingt durch die erstgenannte Harzsäure (Arcyrsäure), die, wie ich auch ohne genaue quantitative Bestimmung sagen darf, gegen jede der drei anderen Substanzen überwiegt. Nächst dieser ist die an zweiter Stelle genannte Säure am reichlichsten vorhanden. Es wäre nicht unmöglich, dass sie aus der anderen durch Oxydation entstanden ist, denn wie ich zeigte, kann man die ziegelrothe Masse der Arcyrsäure durch Oxydation mittelst Stickoxyd umwandeln in einen gelbbräunlichen Körper. Damit erklärt sich denn auch die von verschiedenen Beobachtern und auch von mir selbst gemachte Beobachtung, nach welcher die Früchtchen unter dem Einfluss atmosphärischer Einwirkungen bräunliche Färbung annehmen können.

Im Jugendstadium lassen die Früchtchen, gleich den Plasmodien, keinerlei Färbung erkennen. Die färbenden Substanzen scheinen erst unter dem Einflusse von Luft und (vielleicht auch) Licht aus farblosen Körpern hervorzugehen.

2. *Arcyria nutans* Bull.

Von dieser unserer grössten, an faulenden Baumstümpfen und todtem Holze überhaupt nicht seltenen, aber doch immer nur spärlich auftretenden *Arcyria*-Species habe ich im Laufe des letzten Jahres wenigstens so viel Material zusammengebracht, dass ich entscheiden konnte, ob auch hier die Färbung auf der Gegenwart zweier oder mehrerer Pigmente beruht. Zur Untersuchung benutzte ich ausschliesslich frische reife Früchtchen, die bekanntlich neapelgelb oder isabellfarben erscheinen.

Dieselben wurden zuerst mit 60—70%, dann mit absolutem Alcohol ausgezogen. Die gelben bis gelbgrünlichen vereinigten Auszüge wurden nach dem Filtriren reichlich mit Wasser verdünnt und zur Entfernung von Fett mit Ligroïn ausgeschüttelt. Letzteres färbte sich übrigens auch nach vielstündigem Stehen nicht. Nachdem es im Scheidetrichter abgetrennt war, wurde die wässrig alcoholische Lösung nunmehr mit reichlichen Mengen Aether ausgeschüttelt, der sofort einen intensiv gelben bis gelbgrünen Antheil aufnimmt, während die darunter stehende Flüssigkeit deutlich blasser wird. Sie entfärbt sich aber nicht ganz, weil sich der wasserlösliche gelbe Farbstoff, den sie enthält, in Aether nicht löst.

Was durch Aether ausgeschüttelt werden kann, ist im wesentlichen Harz, welches noch durch geringe Mengen von Fett verunreinigt ist, die man nach dem Eindampfen der ätherischen Lösung mit Petroläther wegnimmt. Es bleibt eine braune harzartige Masse, die sich in concentrirter Schwefelsäure mit rothbrauner, stark grün fluorescirender Farbe löst. Bei starkem Wasserzusatz fällt das Harz in bräunlichen Flocken wieder aus. Durch Kali- oder Natronlauge wird es mit gelber Farbe gelöst und aus dieser Lösung durch Hinzufügen einer Säure frei gemacht, um in darüber geschichteten Aether mit gelber Farbe hineinzugehen. Hiernach besitzt es die Eigenschaften einer Harzsäure. Unlöslich in Wasser, löst es sich in Benzol, Aether, Chloroform, Alcohol. Beim Erwärmen schmilzt es und verbrennt auf dem Platinbleche erhitzt mit leuchtender russender Flamme. Im Gegensatz zu anderen Harzen nimmt die gelbe alcoholische Lösung bei Zusatz von Eisenchlorid keine olivenbräunliche Färbung an, sondern wird nur etwas dunkler gefärbt.

Den gelben wasserlöslichen Farbstoff gewinnt man, indem man die oben erwähnte, durch Ausschütteln mit Aether von Harz befreite wässrig-alcoholische Lösung eindampft und den Rückstand zur Entfernung schleimartiger Substanzen mit Alcohol absolutus auszieht. Die intensiv bernsteingelb gefärbte Lösung giebt beim Eindampfen auf der Porzellanschale einen gelbbräunlichen glänzenden Ueberzug, der sich in Wasser, Methyl- und Aethylalcohol reichlich löst, in Aether unlöslich ist.

Die Lösungen reagiren schwach sauer. Mit essigsaurem Blei erhält man, nach vorheriger möglichster Neutralisation der gelben Lösung, einen ziemlich reichen Niederschlag, der auf dem Filter neapelgelbe Färbung zeigt. Nachdem er gewaschen war, zerlegte ich ihn unter

Wasser mit Schwefelwasserstoff. Die durch den frei gemachten Farbstoff gelb gefärbte Lösung verlor aber leider beim Eindampfen auf dem Wasserbade ihre Farbe vollständig, sodass eine weitere Prüfung derselben nicht vorgenommen werden konnte.

So mangelhaft die vorstehenden Beobachtungen sind, so zeigen sie doch, dass auch die Färbung der Früchtchen von *Arcyria nutans* nicht bloss auf einem einzigen, sondern auf mindestens zwei Farbstoffen beruht, einem harzartigen vom Character der Harzsäuren und einem wasserlöslichen. Das Harz scheint auch hier den Hauptantheil an der Färbung zu haben.

Da trotz wiederholten Ausziehens mit Alcohol absolutus die Früchtchen noch gelb gefärbt blieben, so habe ich dieselben schliesslich noch mit Aether, Schwefelkohlenstoff und Benzol ausgezogen. Auf diese Weise gewinnt man noch etwas von dem Harz, aber die Früchtchen zeigen immer noch eine deutlich gelbe Färbung. Auch die Anwendung von Eisessig bewirkt keine vollständige Entfärbung. Die Sporen scheinen sogar nichts von ihrer Farbe einzubüssen. Es scheint mir demnach, dass das Harz der Capillitien und Sporenmembranen, unter dem Einflusse der Luft auf diese Organe, theilweis unlöslich wird.

VII. Ueber die Ursache der Rothfärbung eines neuen Wasserspaltpilzes aus der Familie der Cladothricheen (Sphaerotilus roseus).

Im November 1889 überbrachte mir Herr Chemiker C. Liesenberg zu Halle eine rosen- oder mohrrübenroth gefärbte Pilzmasse, die er in der Ohle bei Münsterberg in Schlesien gesammelt hatte unterhalb des Einflusses eines Zuckerfabrik-Abwassers. Ich unterwarf dieselbe einer näheren Untersuchung und fand, dass es sich um einen bisher unbekannten Spaltpilz handelt.

Derselbe bildet lange feine Fäden, welche sich zu schleimigen Strängen zusammenlagern können, durch deren Vereinigung kleinere oder grössere, wenige Millimeter bis etwa 1 Centim. lange Flöckchen von mohrrüben- oder rosenrother bis karminrother Farbe entstehen. Man findet diese Flöckchen todten pflanzlichen oder thierischen Theilen (Grashalmen, Blattresten, Holzfragmenten, Insectenleibern etc.) angeheftet, vielfach auch zwischen und auf den Rasen eines anderen Spaltpilzes, nämlich des *Sphaerotilus natans* Kützing, sowie einer Saprolegniee (*Leptomitus lacteus* Ag.) sitzend, die stete Begleiter des rothen Spaltpilzes zu sein scheinen.

Bei näherer Untersuchung stellte sich heraus, dass die Fäden dieses Organismus einerseits von feiner Scheide umgeben sind, andererseits sogenannte unächte Verzweigungen eingehen, wie wir sie in der Familie der Zweighaarspaltpilze *(Cladothrix, Sphaerotilus)* vorfinden. Letztere Eigenschaft lässt sich freilich, wie bei *Sphaerotilus natans,* nur dann sicher constatiren, wenn man die Präparation in schonendster Weise vornimmt, andernfalls brechen die Fäden noch

leichter entzwei, als es bei eben genanntem Wasserspaltpilze der Fall ist, oder sie verwirren sich und lagern sich so dicht zusammen, dass man die Verzweigungen nicht deutlich mehr erkennt.

Die Fäden bestehen aus gestreckten Zellen, deren Durchmesser im Vergleich zu *Sphaerotilus natans* sehr klein ist, d. h. ohne die Scheide nur 0,7 bis 1 mikr. beträgt. Letztere zeigt zwar äusserst zarte Beschaffenheit, ist aber bei starken Vergrösserungen schon ohne Färbungsmittel wahrzunehmen, besonders an Stellen, wo der Fadenverband (durch das Wegrücken der Zellen nach dem freien Ende der Scheide zu) unterbrochen erscheint.

Die aus der Scheide ausgetretenen Glieder besitzen offenbar Schwärmvermögen. Ich habe dies zwar nicht direct constatiren können, glaube es aber aus folgender Thatsache schliessen zu müssen. Die Zellen setzen sich, wie an todte Gegenstände, so auch an die lebenden Fäden der obengenannten Saprolegniee in grosser Anzahl an und zwar folgen sie dabei dem Spitzenwachsthum des *Leptomitus,* aber so, dass sie sich immer nur eine bestimmte Strecke weit unterhalb der fortwachsenden Spitze dieser Pilzfäden ansiedeln. Von hier aus nach rückwärts hat man denn alle Stadien der Fadenbildung des Spaltpilzes vor sich, von den jüngsten bis zu den ältesten. Wären die Zellen nicht schwärmfähig, so würde ein solch regelmässiges Sichansetzen an die Leptomitusfäden, dem acropetalen Wachsthum der Letzteren entsprechend, ganz unmöglich sein.

Die Frage, warum die Spaltpilzschwärmer beim Ansetzen niemals bis zum Scheitel des lebenden Leptomitusfadens herangehen, findet jedenfalls darin ihre Erklärung, dass bei dem hier vorsichgehenden sehr lebhaften Wachsthumsprozesse Stoffe gebildet werden, welche nicht nur keinen anlockenden Reiz auf die Schwärmer ausüben, sondern dieselben sogar abstossen.[1] Diese Auffassung harmonirt mit der Thatsache, dass an abgestorbenen Spitzen der *Leptomitus*-Fäden die Ansiedelung des Spaltpilzes stets zu finden ist.

Die älteren Theile der *Leptomitus*-Fäden findet man so dicht mit dem Spaltpilze bedeckt, dass sie wie in einen Pelz gehüllt erscheinen, dessen rothe Färbung man selbst noch bei mittelstarken Vergrösserungen deutlich, wenn auch in abgeschwächter Form erkennt.

Dass die Färbungsursache im Inhalt der Zellen, nicht etwa in der Scheide zu suchen ist, geht aus den gleich anzuführenden Thatsachen hervor.

Wie bei andern Cladothricheen gliedern sich auch bei vorliegender Species die vegetativen gestreckten Zellen schliesslich in kürzere Glieder, welche als Arthrosporen aus der Scheide austreten.

Interessanter als durch seine Morphologie zeigt sich der Pilz nach der physiologischen Seite hin, speciell mit Bezug auf seine Färbungsursache. Herr Liesenberg theilte mir mit, dass in der Periode seiner üppigsten Vermehrung ganze grosse Strecken des genannten Flusses

1) Vergl. W. Pfeffer, Chemotactische Bewegungen von Bacterien, Flagellaten und Volvocinen. Unters. aus d. bot. Inst. Tübingen. II, p. 582.

intensiv rosen- bis blutroth gefärbt waren. Er vermittelte die Sendung einer grösseren Quantität der Spaltpilzmasse an das kryptogamische Laboratorium und in dieser waren massenhaft rosen- bis blutrothe Flöckchen des Pilzes vorhanden. Sie wurden sorgfältig ausgelesen, namentlich auch von allen fremden Pflanzentheilchen befreit und, da ein Vorversuch gezeigt hatte, dass Alcohol die Farbe extrahirt, mit diesem Lösungsmittel behandelt. Es färbte sich schön gelb bis gelbroth. In einen Theil dieses Auszuges wurden Streifen von schwedischem Filtrirpapier gehängt, die sich im unteren Theile in einer mehrere Finger breiten Zone schön rosenroth färbten, während darüber eine schmale gelbe Zone, noch weiter nach oben ein schmaler gelbbräunlicher Rand entstand.

Als die Papierstreifen in Wasser gelegt wurden, löste sich nur die gelbe Zone, die rosenrothe war löslich in Alcohol, Aether, Chloroform, Ligroïn, Petroläther, Benzol, Schwefelkohlenstoff. Eine Anzahl solcher rothen Zonen liess ich arglos im Tageslicht zum Trocknen hängen und musste nun erfahren, dass von der früher so intensiven Röthung auch nicht eine Spur mehr vorhanden war. Ich erinnerte mich, dass diese Erscheinung auch bei gewissen Carotin-artigen Farbstoffen (Fettfarbstoffen) anderer Organismen auftrat und wurde dadurch auf die Vermuthung geführt, dass *Sphaerotilus roseus* ein solches Carotin-artiges Pigment producire.

Aus dem noch übrigen Theil des ursprünglichen Alcohol-Extractes versuchte ich daher den Farbstoff durch Verseifung frei zu machen, indem ich ihn mit einer angemessenen Menge von 30%iger Natronlauge unter möglichstem Schutz gegen Licht erhitzte. Aus der mit heisser Kochsalzlösung ausgesalzenen orangenen Seife nahm nun Petroläther in der That ohne Weiteres einen leuchtend gelben Farbstoff auf. Bei der spectroscopischen Untersuchung, bei welcher ich Sonnenlicht und das Zeiss'sche Spectralocular benutzte, bot nun diese im verdünnten Zustande verwandte Lösung in hoher Schicht (150 mm) die beiden für gelbe Carotine characteristischen Bänder dar, von denen das erste bei F lag und etwa von λ 492—474, das andere zwischen F und G liegende etwa von λ 456—442 reichte. Aber auch darin zeigte sich der Carotin-Character, dass die zur Trockne eingedampfte Masse, die ich leider nicht zur Krystallisation bringen konnte, mit concentrirter Schwefelsäure sowie mit concentrirter Salpetersäure dunkelblaue, mit Osmiumsäure olivenbräunliche Färbung ergab und man mit kleinen Theilen des Verdampfungsrückstandes bei Behandlung mit den erstgenannten beiden Säuren indigoblaue Kryställchen erhielt.

Der auf dem Wege der Verseifung frei gemachte Farbstoff erwies sich eben so lichtempfindlich wie der ursprüngliche rohe Extract.

Den gelben wasserlöslichen Farbstoff gewann ich leider in zu geringer Menge, als dass er einer näheren Untersuchung hätte unterzogen werden können. (Der gelbbräunliche Rand auf Filtrirpapier war wohl nur durch schleimartige Substanzen verursacht und darum nicht weiter zu berücksichtigen.)

Die Ursache der Rothfärbung beruht ohne Zweifel auf der Gegenwart des oben characterisirten Carotin-artigen Pigments. Es gehört zu den Carotinen mit 2 Absorptionsbändern (Dicarotine). Die Reihe der Carotinbildner erweitert sich daher von den Coccaceen und Bacteriaceen aus nach den Cladothricheen hin.

Den ersten Fall eines Vorkommens von Carotinen (Lipochromen oder Fettfarbstoffen, wie Krukenberg sie nannte) bei Spaltpilzen constatirte ich zunächst für *Bacterium egregium* Zopf,[1] dann kamen *B. chrysogloia* Z., *Micrococcus rhodochrous* Z., *M. erythromyxa* Z.,[2] die beide von A. Overbeck[3] neuerdings näher auf ihre Pigmentbildung untersucht wurden, sowie *Staphylococcus aureus* Rosenb. hinzu.[4]

Da bisher keine Cladothrichee bekannt geworden ist, welche einen Carotin-artigen Farbstoff zu erzeugen im Stande wäre, so glaube ich berechtigt zu sein, in Rede stehende Species als neu anzusprechen und sie als *Sphaerotilus roseus* zu bezeichnen. Ich stelle sie desshalb zu *Sphaerotilus* und nicht zu *Cladothrix*, weil sie dem *Sphaerotilus*-Character insofern mehr entspricht, als die Fadensysteme strangartige (bündelartige) Vereinigungen bilden, während *Cladothrix* in mehr isolirten Zweigsystemen auftritt. Die Feinheit ihrer Fäden, sowie die rosenrothe, mitunter bis ins Carminrothe oder selbst Blutrothe gehende Farbe ihrer Colonieen, die undeutliche Gliederung der Fäden im lebenden Zustande und die nur schwache Färbung mit Jod lassen sie leicht von dem übrigens in mächtigen Rasen auftretenden, gemeinen *Sphaerotilus natans* unterscheiden.

An der genannten Lokalität ist die Pflanze nunmehr drei Jahre hintereinander während der Zuckercampagne massenhaft aufgetreten (im November und December), in diesem Jahre auch ein Wasserrad mit wunderschön rothem Ueberzuge versehend. Die Praktiker fürchten sie insofern, als sie das Anzeichen einer besonders schlechten Beschaffenheit des Wassers sein soll. Von anderen Orten her ist sie mir bisher nicht bekannt geworden.

Schliesslich sage ich noch Herrn Chemiker C. Liesenberg, dem ich Materialsendungen dieses interessanten Spaltpilzes im Winter 1889, 1890 und 1891 verdanke, für seine wiederholten Bemühungen meinen besten Dank.

---

1) Ueber Pilzfarbstoffe. Bot. Zeitung 1889. p. 89.

2) Ueber Ausscheidung von Fettfarbstoffen seitens gewisser Spaltpilze. Berichte der deutsch. botan. Gesellschaft 1891. p. 22. Vergl. auch Zeitschrift für wissensch. Mikroscopie VI (1889). p. 172—177.

3) Zur Kenntniss der Fettfarbstoff-Production bei Spaltpilzen. Nova acta Leop. Acad. Bd. LV. Nr. 7.

4) Die bereits früher versprochene Characteristik der erstgenannten Species muss ich vorläufig noch aufschieben, da die Untersuchungen noch nicht beendet sind.

Zur Kenntniss der Labyrinthuleen, einer Familie der Mycetozoen.

Von

W. Zopf.

Vor etwa 25 Jahren lehrte der um die Kenntniss niederer thierischer und pflanzlicher Organismen so vielfach verdiente Cienkowski zwei sehr einfach organisirte Meeresthiere kennen, die er als *Labyrinthula vitellina* und *L. macrocystis* beschrieb. Da er sie im System nirgends unterzubringen vermochte, schuf er eine neue Familie, welche den Namen der Labyrinthuleen erhielt und von ihm selbst in folgenden Sätzen characterisirt wurde:[1]

1. Haufen von Zellen, die einen Nucleus einschliessen, sich durch Theilung vermehren, einen gewissen Grad von Contractilität zeigen und zeitweise von einer Rindensubstanz umhüllt werden.
2. Erwähnte Zellen scheiden eine faserige Substanz aus, welche sich zu einem starre Netze oder bäumchenförmige Verzweigungen bildenden Gerüste gestaltet.
3. Die Zellen verlassen den Haufen und gleiten auf den mannichfachsten Umwegen des Gerüstes zu der Peripherie des Tropfens hin; nur auf diese Fadenbahn gestützt können die Labyrinthulazellen ihre Wanderung ausführen.
4. Die wandernden Zellen vereinigen sich von Neuem in Haufen und gehen in einen Cystenzustand über, wobei eine jede Zelle für sich eine harte Umhüllung erhält und alle von einer Rindensubstanz zusammengehalten werden.
5. Aus jeder Cyste bilden sich nach längerer Ruhe 4 Kügelchen, die höchstwahrscheinlich in junge Labyrinthula-Zellen sich verwandeln.

Von diesen Ergebnissen sind die unter Nr. 2 und 3 angeführten sehr merkwürdig: Die Zellen sollen eine faserige Substanz ausscheiden; Letztere soll sich zu einem „starren“ Netze oder einem „starren“ mit baumartigen Verzweigungen versehenen Gerüste ausgestalten; auf diesem

---

1) Ueber den Bau und die Entwickelung der Labyrinthuleen. Max Schultze's Archiv für mikroscopische Anatomie. Bd. III (1867). p. 274. Taf. 15—17.

Gerüste, von Cienkowski als „Fadenbahn" bezeichnet, sollen die „Zellen" ihre Wanderungen ausführen.

Nähere Aufschlüsse über diese seltsamen Bildungen und Vorgänge, insbesondere über die Entstehungsweise der „starren Fadenbahn" hat Cienkowski nicht gegeben, und da eine analoge Bildung sonst nirgends im Bereiche der niedersten Thiere gefunden wird, so kann man sich füglich eines Zweifels nicht erwehren, ob der genannte Forscher seine Beobachtungen richtig gedeutet hat.

In diesem Zweifel wird man noch durch die Thatsache bestärkt, dass Cienkowski schon früher einmal etwas ganz Aehnliches, wie jene „Fadenbahn mit darauf hingleitenden Spindeln" gesehen und beschrieben,[1] aber in viel einfacherer und natürlicherer Weise, nämlich als Plasmodium (er nennt es Fadenplasmodium) gedeutet hat.

Jedenfalls dürfte es nach dem eben Gesagten geboten erscheinen, die Cienkowski'schen Angaben und Deutungen einmal auf ihre Richtigkeit zu prüfen.

Da ich neuerdings durch einen Zufall in den Besitz einer Süsswasser-*Labyrinthula* gelangte, welche der *L. macrocystis* Cienk. sehr ähnlich ist, so wollte ich die Gelegenheit zu einer solchen Prüfung nicht vorübergehen lassen und theile im Folgenden die Resultate derselben mit.

Ich fand dieses kleine Wesen in einer grossen, zu Demonstrationszwecken gehaltenen Algenkultur, welche hauptsächlich *Vaucheria sessilis* enthielt und vom Sommer 1891 bis zum März 1892 gestanden hatte.

Mit den beiden genannten Meeresbewohnern theilt es zwar zunächst die Eigenschaft, als Saprophyt frei im Wasser leben zu können, denn seine vegetativen Zustände fanden sich theils auf *Vaucheria*-Fäden, theils am Rande des Wassers kriechend, theils an der Oberfläche desselben schwimmend vor. Allein es stellte sich andererseits bald heraus, dass es auch ausgesprochen-parasitische Angriffskraft besitzt, die es nicht bloss an den vegetativen Organen, sondern auch an den Antheridien, Oogonien und Oosporen jener *Vaucheria* zur Geltung brachte.

Ich habe mich nun bemüht, zunächst die morphologischen Verhältnisse des nach Cienkowski's Untersuchungen so merkwürdigen vegetativen Stadiums festzustellen, sodann die Ruhezustände (Sporenzustände) aufzufinden und endlich die Entstehung des vegetativen Zustandes von den Ruhestadien aus zu ermitteln. Daneben wurden noch die biologischen Verhältnisse in Betracht gezogen.

Was zunächst das vegetative Organ anbetrifft, so stellt dasselbe auf der Höhe seiner Ausbildung ein System von relativ sehr kleinen, unter sich verbundenen Zellen dar, welches mit dem entsprechenden Zustande von *Labyrinthula macrocystis*, wie ihn Cienkowski abbildete, die grösste Aehnlichkeit zeigt (Taf. IV Fig. 1). Solche Systeme trifft man sowohl im Innern der *Vaucheria* (in den Schläuchen, Antheridien, Oogonien, Oosporen) an (Taf. IV Fig. 4. 5. 6. 7; Taf. V Fig. 1. 2. 6. 7), als auch ausserhalb derselben, und man kann, wie ich noch speciell

1) Pringsheim's Jahrbücher, Bd. III. p. 408.

zeigen werde, die Auswanderung der Systeme aus der Wirthsalge ins Wasser hinein vielfach direct beobachten (Taf. IV Fig. 7).

Es ist nun klar, dass diejenigen vegetativen Systeme, welche sich frei im Wasser befinden, wie das in Taf. IV Fig. 1 abgebildete, sich mehr ausbreiten und genauer studirt werden können, als die in der Alge befindlichen und daher in räumlichem Sinne mehr eingeschränkten. Wir wollen daher jene freien Systeme zum Ausgangspunkt der Betrachtung wählen. Ich konnte dieselben in zwiefacher Weise erhalten: entweder indem ich ein mit der Pincette von oben gefasstes Deckglas schnell auf die Wasseroberfläche drückte und eben so schnell abhob; auf diese Art bekam ich fast jedesmal ein oder mehrere Systeme, die sich nun im Tropfen des Objectträgers bequem untersuchen liessen; oder ich verfuhr in der Weise, dass ich befallene *Vaucheria*-Schläuche im Tropfen auf dem Objectträger ausbreitete, ein Deckglas auflegte und das so hergestellte Präparat 12—24 Stunden in der feuchten Kammer liegen liess. Während dieser Frist krochen fast regelmässig mehrere vegetative Systeme aus der Alge heraus, um sich im Wasser auszubreiten und weiter zu leben.[1]

Wie die vegetativen Systeme der *L. vitellina* und *macrocystis* nach den Angaben Cienkowski's, so schienen mir zunächst auch diejenigen meiner *Labyrinthula* aus zweierlei Elementen zu bestehen, nämlich einerseits aus einem Gerüst von starren dünnen Fäden, welches meist netzartige, mitunter auch strauchige Formen zeigte, ganz wie es Cienkowski beschrieb, und andererseits aus kleinen schwach amoeboïden Zellchen, welche in Spindelform sich auf dem Gerüst hin zu bewegen schienen (Taf. IV Fig. 1. 3. 4). Allein bei weiterer, genauerer Untersuchung gewann ich die bestimmte Ueberzeugung, dass diese Systeme nur aus einem einzigen Element gebildet werden, nämlich aus Amoeben, welche wenige, sehr lange Pseudopodien treiben und durch dieselben mit einander in Verbindung treten (fusioniren).

Für die Richtigkeit dieser Auffassung sprechen mehrere gewichtige und völlig einwandsfreie Thatsachen.

Bei längerer Beobachtung mit einem starken System lässt sich nämlich constatiren, dass die spindelförmigen Zellen sehr lange, aus körnerlosem Plasma (Hyaloplasma) bestehende Fortsätze sehr langsam aussenden und nach längerer Zeit wieder einziehen. Am schönsten kann man diese Vorgänge verfolgen, wenn man auf Amoeben einstellt, die an der Peripherie eines Netzes liegen (wie z. B. auf *abcd* in Taf. IV Fig. 1). Man sieht dann, wie die Plasmafäden nach der freien Seite hin bald zu 1, bald zu 2, bald zu mehreren ausgesandt werden und sich mitunter auf sehr beträchtliche Länge, oft in ganz gerader Linie, meist in sehr flachem Bogen vorstrecken.

Man bemerkt ferner, dass diese Plasmafäden schwache seitliche Bewegungen ausführen, die gewöhnlich mit geringerer oder stärkerer

1) Kulturen dieser Art halten sich auch noch länger, wenn noch assimilationsfähige Algentheile mit unter Deckglas eingeschlossen sind, andernfalls machen sich leicht Spaltpilzvegetationen breit und tödten die Labyrinthulen, die, wie schon Cienkowski angiebt, ziemlich empfindlich sind, leicht ab.

Krümmung im basalen oder mittleren Theile verbunden sind und schliesslich zu einer Berührung und Verschmelzung mit einem anderen Plasmafortsatz derselben Amoebe oder einer benachbarten führen können. Nicht selten gewahrt man auch, wie an einem der Plasmafäden ein sich verlängernder Zweig entsteht (Taf. IV Fig. 1. 2) oder wie zwei oder drei ursprünglich freie Plasmafäden an der Basis mit einander verschmelzen, einen stärkeren Strang bildend, oder endlich wie ein Plasmafaden sich an den Körper einer benachbarten Amoebe anlegt und an ihm haften bleibt.

Es bedarf allerdings eines starken Systems, guter Beleuchtung und aufmerksamster Beobachtung, um diese sich im Ganzen sehr langsam vollziehenden Vorgänge an so feinen und blassen Organen festzustellen, aber sie sind doch eben zu constatiren und werden noch am ehesten bemerkt, wenn man genaue Zeichnungen davon mit der Camera zu entwerfen im Begriff ist.

Jedenfalls steht es hiernach fest, dass die freien Fäden nicht starre Gebilde sind, sondern contractile plasmatische Bewegungsorgane jener Zellchen, also Pseudopodien.

Ganz dieselbe Natur besitzen nun auch die Fäden, durch welche die spindeligen Zellchen unter einander verbunden sind, wie wir bereits sahen, meist in Form eines Netzwerks (Taf. IV Fig. 1). Beobachtet man diese Fäden längere Zeit, so kann man wahrnehmen, dass sie sich, wenn auch langsam, zusammenziehen und wieder ausstrecken können. Durch jenen Act nähern sich die Zellchen, durch diesen entfernen sie sich von einander. Ausserdem können die Zellchen diesen oder jenen Plasmafaden völlig einziehen. Oft ziehen während 1—2 Stunden ganze Gruppen der Zellchen ihre Fäden an der einen Seite ein und bewirken dadurch eine gänzliche Trennung von der anderen Zellgruppe. So habe ich z. B. an dem in Taf. IV Fig. 1 abgebildeten Netze beobachtet, wie im Laufe von etwa $1^1/_2$ Stunden die nach der Seite von *B* liegende Zellgruppe sich durch Einziehung der Plasmastränge partiell von der nach *A* zu gelegenen abtrennte und sich auch später nicht wieder mit ihr vereinigte.

In entschiedener Bewegung nach einer bestimmten Richtung hin begriffene Amoeben ziehen ihre seitlichen Pseudopodien meistens ganz ein und behalten nur die polargestellten, durch welche sie unter sich verbunden bleiben. Es resultiren aus dieser Anordnung Amoebenverbände, die anstatt der Netzform Reihenform zeigen (Taf. IV Fig. 3). Die die Amoeben verbindenden Hyaloplasmastränge pflegen in diesem Falle oft kräftiger zu sein und können ganz beträchtliche Länge erreichen (Taf. IV Fig. 3).

Während die freien Amoebensysteme der Regel nach in der Richtung der Fläche entwickelt sind (Taf. IV Fig. 1), erscheinen die in den *Vaucheria*-Schläuchen und besonders die in nicht zur Sporenbildung gelangten Oogonien auftretenden vielfach nach allen drei Raumesrichtungen ausgebildet (Taf. IV Fig. 4).

Dafür, dass die die Amoeben verbindenden Stränge nicht starre Gebilde sind, sondern weiche Plasmafäden, sprechen aber noch andere beachtenswerthe Momente:

Ich muss zunächst bemerken, dass die *Vaucheria*-Schläuche die längst bekannte Eigenthümlichkeit besitzen, sich, infolge der Wanderung des chlorophyllhaltigen Plasmas nach den Orten der Oogonien- und Antheridienbildung hin, zu entleeren und gegen die entleerten Theile hin Querwände zu bilden. Wenn sich nun die *Labyrinthula* in solchen entleerten Theilen befindet und von hier aus weiter wandert, so durchbohren die feinen Plasmastränge der Amoeben die Querwände, und die Amoeben selbst drängen sich eine nach der andern durch die entstandene Oeffnung hindurch, ein Vorgang, der sich häufig und leicht verfolgen lässt (Taf. V Fig. 1. 2. 4). Ferner lässt sich beobachten, dass auch die viel dickeren Seitenwände der Schläuche von den Fäden durchbohrt werden (Taf. IV Fig. 7 bei *a*), ja selbst die noch stärkeren der Oogonien resp. Oosporen (Taf. V Fig. 7).

Wenn ein reihenförmig angeordnetes System durch die Algenwand ins freie Wasser hinauswandert, so bleibt natürlich diese Anordnung gewahrt; wenn dagegen ein Netzsystem den Weg nach aussen nehmen soll, so muss — und dieser Punkt ist wieder sehr bemerkenswerth — die netzige Anordnung aufgehoben und eine Reihe hergestellt werden, was dadurch geschieht, dass die Amoeben sich anders gruppiren und nur die beiden polaren Pseudopodien beibehalten, die andern aber einziehen (Taf. IV Fig. 7 bei *a*). Umgekehrt geben die Amoeben nach dem Austritt früher oder später die Reihenform wieder auf und bilden, indem sie sich durch Aussendung neuer Pseudopodien unter einander verbinden, wiederum die ursprüngliche Netzform. Ich habe beiderlei Veränderungen in Taf. IV Fig. 7 zur Darstellung gebracht, des Raumes wegen aber das im Innern des *Vaucheria*-Schlauches *(S)* befindliche Netzsystem nur zu einem Theile wiedergegeben.

Alle diese soeben hervorgehobenen Prozesse würden offenbar gar nicht stattfinden können, wenn die als Plasmafäden bezeichneten Fortsätze der Amoeben „starre“ Gebilde wären.

Aber es lässt sich noch ein anderes Argument für die Richtigkeit der Deutung jener Fäden als Pseudopodien beibringen, nämlich der Umstand, dass diese Bildungen im Stande sind, Nahrung herbeizuziehen. Man kann in den entleerten *Vaucheria*-Abschnitten ganz deutlich beobachten, wie die Pseudopodien mehr oder minder reichlich körnige Theile aufnehmen und sie dem Amoebenkörper zuführen (Taf. V Fig. 1. 2), ja man kann leicht feststellen, dass in den von dem Organismus befallenen grünen Theilen der *Vaucheria*-Schläuche die Chlorophyllkörner und andere Inhaltstheile durch den Eingriff der Pseudopodien zusammengeballt und deformirt werden (Taf. IV Fig. 5. 6).

Wenden wir uns dem Baue der Amoeben zu, so besteht der Körper derselben vorwiegend aus Körnerplasma, ziemlich gleichmässigen winzigen Körnchen, die bei Fixirung der Amoebe mit Osmiumsäure augenscheinlich dunkler werden. Sie sind nicht, wie bei *Labyrinthula vitellina* Cienk. orangegelb gefärbt, sondern wie bei *L. macrocystis* Cienk. farblos.

Das Hyaloplasma, in welches die Körnchen (Mikrosomata) eingebettet erscheinen, ist um das Körnerplasma herum höchstens als sehr

dünne Zone sichtbar, da es seiner Hauptmasse nach zur Bildung der Pseudopodien verwandt wird.

Den Kern kann man trotz seiner Zartheit und Kleinheit mit starken Systemen schon ohne Präparation nachweisen, wenigstens dann, wenn der Plasmakörper sich nicht stark contrahirt hat (Taf. IV Fig. 2). Auch eine kleine Vacuole ist meistens ohne Weiteres zu erkennen.

Sind die Amoeben in relativ energischer Bewegung nach einer bestimmten Richtung hin begriffen, was bei reihenförmiger Anordnung am schönsten hervortritt, so zieht sich der Amoebenkörper in die Länge und zeigt meist Spindelform (Taf. IV Fig. 3. 7), bisweilen auch cylindrische Gestalt. Bei der netzartigen Anordnung der Systeme, wo der Zug der Plasmafortsätze nicht bloss auf die Pole beschränkt ist, ändert sich die Körperform im Laufe der Beobachtung vielfach (Taf. IV Fig. 1), wenn auch gewöhnlich nicht in besonders auffälliger Weise.

Die Amoeben sind im Stande, sich durch Zweitheilung zu vermehren. Dieser Vorgang findet nach meinen directen Beobachtungen in der Weise statt, dass die Amoebe sich ziemlich bedeutend streckt und dann etwa in der Mitte einschnürt, worauf beide Theile auseinander rücken, aber durch einen Hyaloplasmastrang verbunden bleiben. Wir finden hier also den Theilungsprozess in der Weise verlaufend, wie er sonst bei Amoeben allgemein beobachtet wird.

Nach Cienkowski (l. c. p. 304) verläuft derselbe in anderer Weise: Es tritt in der Spindel eine „halbirende Querwand" auf, die allmählich eine schräge Richtung einnimmt, bis sie endlich als eine die Zelle der Länge nach in zwei Theile sondernde Linie erscheint. Diese Deutung ist falsch; schon desshalb, weil es eine morphologische Unmöglichkeit ist, dass in einer, wie Cienkowski doch selbst sagt, „hautlosen" Zelle, einer Amoebe, eine Querwand auftreten könne; Querwandbildung findet bekanntermassen nur in Zellen statt, welche eine Wandung besitzen. Cienkowski hat einen ganz anderen Vorgang ganz richtig gesehen, aber fälschlich auf Theilung gedeutet, was ich ihm um so mehr verzeihe, als ich, aufrichtig gestanden, zunächst selbst in diesen Fehler verfallen bin. Wenn man nämlich die Amoeben längere Zeit beobachtet, so kann man oft sehen, wie je zwei anfänglich getrennte (Taf. V Fig. 5*a*) sich dicht zusammenlagern, sodass sie an den Berührungsstellen sich abplatten (Taf. V Fig. 5*b*), dann sich schräg gegen einander lagern (Taf. V Fig. 5*c*) und endlich mehr oder minder parallel zu liegen kommen (Taf. V Fig. 5*d*). Solche Zustände hat offenbar auch Cienkowski vor sich gehabt. Sie bedeuten also nicht Theilungs-, sondern vielmehr Aneinanderlagerungs-Stadien.

Haben die oben characterisirten Amoebensysteme längere oder kürzere Zeit vegetirt, so schreiten sie zur Fructification. Dieselbe wird dadurch eingeleitet, dass eine Anzahl der Amoeben die sie verbindenden Pseudopodien soweit verkürzen, dass sie sich dicht an einanderlagern (Taf. V Fig. 6*A*, 7*a*). Nach und nach greift dieser Prozess weiter um sich, sodass immer mehr Amoeben sich zusammhäufen, und schliesslich mehr oder minder grosse Ansammlungen derselben entstehen. Sehr schön lässt sich dieser Vorgang sowohl in den Schläuchen der

Vaucheria verfolgen, wo die Ansammlung namentlich an Querwänden, mitunter inmitten eines zelligen Schlauchstückes zu erfolgen pflegt, im Uebrigen aber auch in den Oogonien (Taf. V Fig. 7), sowie in den Antheridialästen beobachtet wird. Die Oosporen pflegen von den sich zusammenhäufenden Amoeben oft ganz vollgestopft zu werden.

Ist diese Bildung von Amoeben-Aggregaten eingetreten, so werden die einzelnen Zellen bewegungslos, runden darauf ihren Körper zur Ellipsoïd-, Ei- oder Birnform ab und treten durch Abscheidung einer Membran in das Cysten- oder Sporenstadium ein. Die Haufen (Sori) enthalten oft nur wenige Sporen (Taf. V Fig. 8. 10), oft einige Dutzend (Taf. V Fig. 9), oft hundert und mehr. Es hängt dies ganz davon ab, ob alle Amoeben eines vegetativen Systems sich zusammenhäufen, oder ob dasselbe vorher nach dem oben angegebenen Modus eine Theilung in 2 oder mehrere Partieen erfährt.

Jede Spore zeigt nach Fixirung mit Osmiumsäure und Färbung mit Haematoxylin, entsprechend der Entstehung aus nur einer Amoebe, einen Kern. Wie man bei Hervorrufung von Plasmolyse sieht, besitzt die Membran nur geringe Dicke. Die Sporenhaufen sind niemals noch von einer besonderen Hülle umgeben, sondern nackt.

Es war nun die Aufgabe nachzuweisen, wie die Sporen keimen und wie aus den Keimungsproducten das Plasmodium hervorgeht. Meine Beobachtungen in dieser Beziehung sind trotz aller Bemühung nicht ganz lückenlos geblieben. Von einem Sporen-Sorus, den ich in Taf. V Fig. 9 darstellte, und den ich am Abend bestimmt bezeichnet hatte, waren am folgenden Morgen drei Sporen entleert, während in unmittelbarer Nachbarschaft 3 Amoeben lagen, welche in Form, Grösse und sonstiger Beschaffenheit mit den oben beschriebenen identisch waren. Ich glaube hieraus schliessen zu dürfen, dass jede der drei Sporen eine Amoebe entlassen hat. Eine Oeffnung in der Sporenmembran war nicht zu bemerken. Die Amoeben erschienen bereits nicht mehr frei, sondern waren schon mit einander durch einen Hyaloplasmafaden verbunden. Die aus den Sporen ausgeschlüpften Amoeben vermögen mithin sehr bald in Fusion zu treten, also sehr bald ein Plasmodium zu bilden. In einem anderen Falle beobachtete ich, dass 2 Sporen ausgekeimt waren, 2 Amoeben sich in unmittelbarer Nähe befanden und wiederum bereits in Fusion getreten waren. Das Ausschlüpfen der Amoebe aus der Spore direct zu beobachten wollte mir trotz vieler darauf verwandter Mühe und Zeit niemals gelingen.

Soweit die morphologischen Verhältnisse. Was nun die Biologie und Physiologie anbetrifft, so besitzt der Organismus, wie bereits bemerkt, auch parasitische Eigenschaften. Er geht nicht bloss in die vegetativen Schlauchtheile der *Vaucheria* hinein, sondern siedelt sich auch in den Antheridien und Oogonien an. Die zerstörenden Wirkungen, die er in den Schläuchen und Antheridien hervorruft, äussern sich zunächst in einer Contraction des Plasmaschlauches, sodann in der Zusammenballung der Chlorophyllkörper zu grossen und unförmlichen, die Schläuche in Intervallen durchsetzenden Massen (Fig. IV Fig. 5. 6), in der Auflösung der Kerne und in der Zerstörung des

Chlorophylls, das er in bräunliche körnige Klümpchen umwandelt. Für die naheliegende Annahme, dass die Chlorophyllkörper in den Amoebenkörper hineingezogen werden, habe ich keinen sicheren Anhalt gewinnen können. Allerdings hat es auch sehr grosse Schwierigkeiten, den zarten Organismus inmitten der Chlorophyllmassen in seiner zerstörenden Thätigkeit genau zu beobachten, und wenn die Amoeben aus diesen herauskriechen, erscheinen sie stets frei von grünlichen oder bräunlichen Theilen, also vollkommen farblos.

Der Inhalt der Oogonien resp. Oosporen, der ja bekanntlich neben dem später mehr und mehr zurücktretenden Chlorophyll reichlich Fetttropfen enthält, wird ebenfalls mehr oder minder vollständig zerstört (Taf. V Fig. 7). Das massige Verschwinden des Fettes in den Oosporen muss wohl durch die Annahme erklärt werden, dass der Parasit ein fettspaltendes Ferment producirt. Wie schon oben angedeutet, hat er ferner die Fähigkeit, die Wandungen der Schläuche und Oosporen zu durchbohren, was auf die Abscheidung eines Cellulose-spaltenden Encyms hindeutet.

Es bleibt nun noch die systematische Stellung der Labyrinthulen zu erörtern. Zu diesem Zwecke muss zunächst nochmals auf die morphologischen Ergebnisse hingewiesen werden, welche die Beobachtungen an dem vegetativen System lieferten.

Wie oben gezeigt wurde, besteht dasselbe aus Amoeben, welche durch längere oder kürzere Hyaloplasmafäden verbunden sind, denen der morphologische Werth von Pseudopodien zukömmt. In einem solchen System liegt offenbar eine Bildung vor, welche an die Plasmodien der Mycetozoen erinnert. Auch hier sehen wir mehr oder minder zahlreiche Amoeben sich zu einem einheitlichen vegetativen Gebilde vereinigen.

Diese Vereinigung findet bei den bisher bekannten Formen auf zweierlei Weise statt: Bei den höchst entwickelten Mycetozoen De Bary's, den Myxomyceten im Sinne von Wallroth, entsteht das Plasmodium bekanntlich in der Weise, dass eine völlige Verschmelzung nicht bloss des Hyaloplasma's, sondern auch des Körnerplasma's der Amoeben zu Stande kömmt und nur die Kerne in diesen Vorgang nicht einbezogen werden. Eine solche Bildung bezeichnete ich seinerzeit als „ächtes Plasmodium" oder „Fusionsplasmodium".[1]

Bei den Acrasiaceen Van Tieghems findet eine Plasmodienbildung in dem erwähnten Sinne niemals statt, vielmehr tritt hier eine nur ganz entfernt ähnliche Bildung auf, indem nach Brefeld[2] die Amoeben einfach von verschiedenen Seiten her zusammenkriechen und sich zu einem dichten Haufen neben- und übereinander lagern, um alsbald zur Fructification überzugehen. Wir haben es hiernach nur mit einer ganz transitorischen Bildung zu thun, die sich von dem ächten Plasmodium auch dadurch unterscheidet, dass sie nicht zur Nahrungsaufnahme be-

1) Die Mycetozoen. Breslau 1885. p. 25.
2) Dictyostelium mucoroïdes. Abhandl. der Senkenberg. naturf. Gesellsch. Bd. VII.

fähigt ist. Man darf hier also höchstens von einem „unächten Plasmodium“ (Pseudoplasmodium) reden, ein Ausdruck, den ich in meinen Pilzthieren (p. 23) zuerst gebrauchte und der auch von anderer Seite, z. B. von Schröter,[1] adoptirt wurde, während Engler[2] auch für die Acrasieen den Ausdruck „Plasmodium“ beibehält, wenn er sagt: „amoeboïde Körper zum Plasmodium zusammentretend, aber nicht verschmelzend.“

Das vegetative System der *Labyrinthula* stimmt nun mit dem erstgenannten Typus insofern überein, als die Amoeben thatsächlich miteinander fusioniren. Es unterscheidet sich aber von ihm dadurch, dass diese Fusion sich nur auf das Hyaloplasma (die Pseudopodien) beschränkt, eine Verschmelzung des Körnerplasma's also unterbleibt.

Von dem Pseudoplasmodium differirt es durch den Umstand, dass eine ausgesprochene Fusion der Amoeben, wenn auch eben nur in Bezug auf das Hyaloplasma, stattfindet, es nähert sich ihm aber einigermassen, indem die Amoebenkörper ihre Individualität (bis zu gewissem Grade) beibehalten.

Wir haben also in dem vegetativen System der *Labyrinthula* einen Plasmodientypus vor uns, welcher gewissermassen ein Bindeglied zwischen dem ächten Plasmodium der Myxomyceten Wallroths und dem unächten Plasmodium der Acrasieen darstellt.

Es empfiehlt sich wohl, für diesen Typus eine besondere Bezeichnung zu schaffen, und ich möchte den Ausdruck Fadenplasmodium (Plasmodium filarium) vorschlagen. Cienkowski[3] hat diesen, wie mir scheint, ganz bezeichnenden Ausdruck bereits gebraucht für ein unbestimmtes Plasmodium, welches er unter verschiedenen, der Gartenerde von Blumentöpfen entnommenen Schimmelarten vorfand, und welches vielleicht meiner *Labyrinthula* zugehört.

Man würde also künftig zu unterscheiden haben:

1. Das ächte Plasmodium (Plasmodium verum) bei den höheren Mycetozoen (Myxomyceten Wallroth) vorkommend und in der Weise entstehend, dass Hyaloplasma und Körnerplasma der Amoeben zu einem einheitlichen Plasmagebilde verschmilzt, in welchem die einzelnen Amoeben-Körper nicht mehr unterscheidbar sind. (Totale Fusion.)
2. Das Fadenplasmodium (Plasmodium filarium) bei den Labyrinthuleen vorkommend und in der Weise entstehend, dass die Amoeben bloss durch Hyaloplasmabrücken (Pseudopodien) miteinander in Verbindung treten, während ihr Körnerplasma getrennt bleibt. (Partielle Fusion.) Die einzelnen Amoebenkörper sind daher in dem Ganzen deutlich unterscheidbar.
3. Das unächte Plasmodium (Pseudoplasmodium). Die Amoeben lagern sich zu äusserlich den ächten Plasmodien ähnlichen Massen

1) Kryptogamen-Flora von Schlesien, Pilze. p. 97.
2) Syllabus der Vorlesungen über specielle und medicinische Botanik. Grosse Ausgabe 1892. p. 1.
3) Pringsh. Jahrb. III. p. 408.

zusammen, ohne dass irgendwelche Fusionserscheinungen aufträten. Bei den Acrasieen vorkommend.

Was nun die Fructification anlangt, so haben wir gesehen, dass zur Vorbereitung derselben die Plasmabrücken zwischen den Amoeben eingezogen werden und auf diese Weise eine Zusammenhäufung der Amoeben zu Stande kömmt. Zwischen diesen Amoebenhaufen und denen der Acrasieen, speciell des *Dictyostelium* herrscht eine gewisse Aehnlichkeit. Schliesslich runden sich, wie bei den Acrasieen, die dichtgelagerten Amoeben gegen einander ab, umgeben sich mit Haut und werden zu Sporen. Es entstehen auf diese Weise Sporenhaufen, die ebenfalls an die Acrasieen erinnern, wenigstens an einfachere, stiellose Formen derselben.

Nach diesen Auseinandersetzungen dürfte die Frage nach der systematischen Stellung der Labyrinthuleen wohl dahin zu entscheiden sein, dass es Mycetozoen sind, welche in Bezug auf ihr Plasmodium höher organisirt erscheinen, als die Acrasieen, aber niedriger als die Myxomyceten, und sich in Bezug auf ihre einfache Fructification entschieden den Acrasieen nähern.

Demgemäss würde man die Labyrinthuleen zu stellen haben zwischen die Acrasieen und die Myxomyceten Wallroths, aber mehr in Anlehnung an die Acrasieen.

Zu den Labyrinthuleen dürfte ausser der Gattung *Labyrinthula* Cienk. noch das Genus *Diplophrys* (Barker) Cienk. zu ziehen sein, da nach der Beschaffenheit des vegetativen Systems sowohl als der Fructification, wie sie Cienkowski[1] beschreibt, ein Zweifel an der Verwandtschaft mit *Labyrinthula* nicht wohl aufkommen kann.

In Rücksicht auf die grosse Aehnlichkeit, welche das vegetative System von *Diplophrys stercorea* nach Cienkowski's Abbildungen (l. c.) zeigt, kann sogar die Frage aufgeworfen werden, ob nicht eine Vereinigung mit *Labyrinthula* angezeigt wäre.

Die specielle Eintheilung der höheren Mycetozoen (Eumycetozoen) würde sich demnach wie folgt gestalten:

Ordnung I: **Sorophoreen** Zopf 1885 (erweitert).

Schwärmer fehlend; Pseudo-Plasmodien oder Faden-Plasmodien; Sporen einen Sorus bildend, der entweder nackt oder in erstarrtes Hyaloplasma eingebettet ist und bei gewissen Vertretern auf einem stielartigen Theile ruht.

Unterordnung I: **Acrasieae** Van Tiegh. Mit Pseudoplasmodien. Sori kopfförmig, nackt, gestielt oder sitzend. Todte Pflanzentheile (Mist, Pilze etc.) bewohnend.

Familie 1: Guttulinaceae Zopf 1885.
Guttulina Cienk. *Copromyxa* Zopf.

Familie 2: Dictyosteliaceae Rostafiński.
Dictyostelium Bref. *Acrasis* Van Tiegh. *Polysphondylium* Bref.

1) Max Schultze's Archiv Bd. 12.

Unterordnung II: **Labyrinthuleae** Zopf. Mit Fadenplasmodien. Sori nackt oder in erstarrtes Hyaloplasma gebettet, ungestielt. Theils Saprophyten (Mist-, See- oder Süsswasserbewohner), theils Parasiten.

Familie 1: Labyrinthuleen (Cienk.) Zopf. Amoeben meist spindelförmig. Sporen 1—4 Amoeben entlassend.

a) *Labyrinthula* Cienk. Amoeben spindelig, gefärbt durch gelbe Fettkörper oder ungefärbt. Sporen ellipsoïdisch, 1—4 Amoeben erzeugend.

L. vitellina Cienk. Mit orangerothem, durch Jod sich bläuendem Farbstoff. Meerbewohnend. Sporen vier Amoeben erzeugend.

L. macrocystis Cienk. Farblos oder schwach gelblich. Sporen in eine Hüllsubstanz eingebettet, Inhalt in 4 Zellen zerfallend. Meerbewohnend.

L. Cienkowskii Zopf (oben beschrieben). Farblos. Sporen ohne Hüllsubstanz nur 1 höchstens 2 Amoeben entlassend. Süsswasserbewohner. Parasit in *Vaucheria*.

b) *Diplophrys* (Archer) Cienk. Amoeben spindelig, gelb gefärbt. Sporen kugelig, mit doppelter Haut.

D. stercorea Cienk. Mistbewohner.

D. Archeri Barker. Süsswasserbewohner.

Im Jahre 1884 sandte mir Prof. Engler, damals in Kiel, einen Organismus, den er an einem schwimmenden Korke in einem Seewasser-Aquarium fand. Es war offenbar der Plasmodium-Zustand einer *Labyrinthula*, Dauerzustände hatte er nicht zu Gesicht bekommen. In meinen Pilzthieren habe ich eine Abbildung davon gegeben. Ich kann natürlich nicht entscheiden, ob diese Art mit Cienkowski's *L. macrocystis* oder mit einer *L. Cienkowskii* übereinstimmt oder aber eine andere Species darstellt, vermuthe aber das Erstere, weil ja auch *L. macrocystis* ein Meeresbewohner ist.

Ueber die systematische Stellung der Labyrinthuleen war man bisher völlig im Unklaren, weil die sonderbare „Fadenbahn" Cienkowski's bei keinem andern Organismus je beobachtet wurde. Genannter Forscher sagt selbst,[1] dass die Labyrinthuleen „unter keiner der bekannten Wesengruppen, die das Grenzgebiet beider organischen Reiche einnehmen, ihren Platz finden." Bei den Spongien, Rhizopoden, Gregarinen, bewimperten Infusorien, Algen und Pilzen seien, wie er sogleich hinzufügt, die Labyrinthuleen nicht unterzubringen.

Auch Bütschli konnte diesen Organismen keine bestimmte Stellung anweisen. Er urtheilte aber ganz richtig, wenn er sagte[2]: „Der fraglichste Punkt in der Natur dieser eigenthümlichen Labyrinthula-Zellenaggregate bildet die Entstehung und Natur der sogenannten

1) l. c. p. 307.
2) Protozoen I p. 145.

Fadenbahn. Protoplasmatisch scheint dieselbe nicht zu sein, sondern eine Ausscheidung der Zellen darzustellen, womit jedoch ihr scheinbar selbständiges Entstehen und Vergehen nicht ganz wohl in Einklang zu bringen ist.“ Meine obigen Untersuchungen haben jedenfalls das Urtheil und den Zweifel Bütschli's als vollkommen berechtigt erwiesen. Es ist Bütschli ferner nicht entgangen, dass das vegetative System von *Diplophrys stercoreum* Cienkowski mit demjenigen von *Labyrinthula* grosse Aehnlichkeit zeigt.

Ich glaube übrigens, dass wenn Cienkowski in der späteren Zeit seiner wissenschaftlichen Thätigkeit nochmals Labyrinthulen unter die Hand bekommen hätte, er sicherlich das vegetative System derselben so gedeutet haben würde, wie er es bereits früher in Bezug auf einen ganz ähnlichen Organismus gethan hatte, nämlich als Plasmodium.

Ob mit *Labyrinthula* die von Archer (Quart. Journ. micr. sc. XV) entdeckte und bezüglich des vegetativen Systems unverkennbare Aehnlichkeiten aufweisende *Chlamydomyxa labyrinthuloïdes* in näherer verwandtschaftlicher Beziehung steht, muss vorläufig dahin gestellt bleiben, da die Entwickelungsgeschichte dieses interessanten Thieres noch zu unvollständig bekannt ist.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel IV.

Sämmtliche Figuren beziehen sich auf *Labyrinthula Cienkowskii.*

1. (450fach.) Stück eines netzförmigen Plasmodiums, welches an der Oberfläche des Wassers schwamm und durch Betupfen der Wasserfläche mit einem Deckglas gefangen worden war. Die nach der freien Seite des Plasmodiums gelegenen Amoeben *a b c d* senden sehr lange Pseudopodien aus, die zum Theil unter einander und mit benachbarten Amoeben fusioniren.
2. (690fach.) Eine einzelne Amoebe desselben Plasmodiums mit unvollständig gezeichneten Pseudopodien, einen Kern (bei *k*) und eine Vacuole (bei *v*) zeigend.
3. (450fach.) Frei im Wasser zwischen *Vaucheria*-Fäden des Kulturtropfens ausgespanntes, hauptsächlich nach einer Richtung hin entwickeltes Plasmodium, seiner bedeutenden Länge wegen nur theilweise gezeichnet.
4. (450fach.) Ein nicht zur Oosporen-Bildung gelangtes Oogon, in welchem sich ein Plasmodium der *Labyrinthula* in Netzform befindet.

5 und 6. (450fach.) Stücke eines *Vaucheria*-Schlauches, mit Plasmodien, welche die Chlorophyllmassen zum Zusammenballen gebracht und auch sonst schon theilweise verändert haben. Ein Theil der Amoeben ist durch das Chlorophyll verdeckt.

7. (450fach.) Stück eines Plasmodiums, welches anfänglich in dem *Vaucheria*-Schlauche *(S)* sich befand, aber zum grossen Theil schon durch die Membran desselben ins umgebende Wasser nach einem andern Schlauche *(B)* hingewandert ist, denselben überziehend. Die Pfeile bezeichnen die Wanderungs-Richtungen.

Tafel V.

Sämmtliche Figuren beziehen sich auf *Labyrinthula Cienkowskii.*

1. (450fach). Stück eines *Vaucheria*-Fadens mit einem Stück des *Labyrinthula*-Plasmodiums, das seine Stränge sämmtlich in der Längsrichtung des Schlauches entwickelt hat. Seine 10 Amoeben verändern ihre Lage beständig. Morgens 8 Uhr.

2. (450 fach.) Dasselbe Object 20 Minuten später, mit anderer Anordnung der Amoeben und Pseudopodienstränge; die Amoebe *a* schickt sich eben an, die Querwand des *Vaucheria*-Schlauches zu durchbohren.
3. (450fach.) Eine Amoebe desselben Plasmodiums, welche die Querwand eben zu durchbohren im Begriff ist.
4. (450fach.) Dieselbe 3 Minuten später, während des Durchtritts durch die Membran.
5. (450fach.) Ein und dasselbe Amoebenpaar in verschiedenen Stadienvorübergehen der Zusammenlagerung, welche Theilungszustände vortäuschen. Reihenfolge nach den Buchstaben.
6. (450fach.) Stück eines *Vaucheria*-Schlauches mit einem aus ca. 130 Amoeben bestehenden *Labyrinthula*-Plasmodium. Die Amoeben beginnen bei *A* bereits sich zum Zwecke der Fructification in einen grossen Haufen zusammenzuziehen, was in der Richtung der Pfeile geschieht.
7. (450fach.) Stück eines *Vaucheria*-Schlauches mit Oogon und Antheridium. Ein Plasmodium ist im Begriff, aus dem Schlauche und dem Antheridium in die Oospore einzuwandern. Bewegung der Amoeben in Richtung der Pfeile. Ein Theil der Amoeben ist unter meinen Augen durch die dicke Oogon- resp. Oosporenhaut übergetreten und hat sich dort zu einem Haufen zusammengelagert. Die Pseudopodien sind hier bereits ganz eingezogen und die Amoeben in Abrundung begriffen, als Vorstadium der Sporenbildung.
8. (450fach.) Stück eines septirten *Vaucheria*-Schlauches; in jeder Zelle ein Sorus von Sporen der *Labyrinthula*.
9. (450fach.) Stück eines *Vaucheria*-Schlauches mit einem der Querwand anliegenden Sorus von *Labyrinthula*-Sporen.
10. (450fach.) Schlauchstück von *Vaucheria* mit einem kleinen lockeren Sorus von jungen *Labyrinthula*-Sporen; bei *a* sieht man noch einige Amoeben, die noch nicht zur Spore abgerundet sind, was aber 1 Stunde später geschehen war.
11. (690fach.) Reife Spore. Innerhalb der äusseren Haut hat sich der Inhalt zusammengezogen und mit secundärer Haut umgeben.
12. (690fach.) Gewöhnliche Spore mit einfacher Haut.
13. (690fach.) 4 Sporen nach vorheriger Fixirung und Färbung mit Säurefuchsin, die Kerne zeigend.

Ueber die Ursache der Unbeständigkeit carotinartiger Farbstoffe.

Von

Dr. M. Gerlach.

In der chemischen sowohl wie in der medicinischen, zoologischen und botanischen Litteratur finden sich zahlreiche Angaben, welche dahin lauten, dass carotinartige Farbstoffe, unter welcher Bezeichnung sie auch gehen mögen (Carotine, Lipochrome, Fettfarbstoffe, Chlorophyllgelb, Phycoxanthin, Diatomin, Haematochrom, Lutein, Chromophane, Tetronerythrin), ausser anderen bemerkenswerthen Eigenschaften auch darin übereinstimmen, dass sie im hohen Masse unbeständig, d. h. zersetzlich sind.

In diesem Sinne äufsern sich z. B. Husemann[1] bezüglich des Mohrrüben-Carotins, Capranica[2] hinsichtlich des in der Retina gewisser Thiere vorkommenden Luteins, Krukenberg[3] bezüglich verschiedener Lipochrome aus thierischen und pflanzlichen Organen, A. Hansen[4] mit Bezug auf das in grünen Blättern vorkommende Chlorophyllgelb, Zopf[5] rücksichtlich des Carotins einer Alge (der Veilchenalge Trentepohlia Jolithus) und Overbeck[6] in Bezug auf den Fettfarbstoff zweier rother Spaltpilze (*Microc. rhodochrous* und *Erythromyxa*).

Als Ursache dieser Unbeständigkeit wird von allen zoologischen, medicinischen und botanischen Forschern, welche jene Farbstoffe unter der Hand hatten, übereinstimmend Lichtempfindlichkeit angegeben. So sagt z. B. Capranica (l. c.), dass sich das thierische Lutein am Licht entfärbe, Krukenberg (l. c.) bezeichnet die thierischen und pflanzlichen Lipochrome als lichtempfindliche Stoffe, A. Hansen (l. c.) führt ausdrücklich an, dass das Carotin (Chlorophyllgelb) der grünen Blätter leicht durch Licht zersetzt werde, und man daher bei der

1) Ueber Carotin nnd Hydrocarotin. Liebigs Ann. 117 p. 215 u. 217.
2) Archiv für Anatomie und Physiologie 1877.
3) Vergleichend physiologische Vorträge III. Grundzüge einer vergleichenden Physiol. der Farbstoffe und Farben 1884.
4) Die Farbstoffe des Chlorophylls 1889 p. 60.
5) Beiträge zur Physiol. und Morphol. niederer Organ. Heft I 1892. p. 34.
6) Zur Kenntniss der Fettfarbstoffproduktion bei Spaltpilzen. Nov. act. Leop. Carol. Akad. Bd. 55 (Nr. 7) 1891. p. 16.

Darstellung den Lichtzutritt verhindern müsse. G. Karsten[1] sagt, dass das Haematochrom der Trentepohlien am Licht erblasse, Zopf (l. c.) giebt für das Haematochrom der *Trentepohlia Jolithus* an, dass sich eine mit Wasser gemischte alkoholische Lösung des krystallinischen Farbstoffes schon binnen 25 Minuten im diffusen Tageslichte entfärbt. Die Zoologen schreiben das leichte Ausbleichen der Flügeldecken gewisser Käfer in den Sammlungen, wie *Lina populi, Clythra quadripunctata*, der rothen *Coccinellen*-Arten, deren rothe Färbung nach Zopf[2] auf Carotingehalt beruht, gleichfalls dem Einflusse des Lichtes zu.

Es musste daher auch in den Lehrbüchern die Ansicht von der hohen Lichtempfindlichkeit der carotinartigen Farbstoffe zum Ausdruck kommen, was z. B. in dem Lehrbuch der chem. Physiologie und Pathologie von Halliburton (p. 156) und in Zopf's Handbuch „Die Pilze" (p. 144) geschah.

Dass auch von chem. Seite diese Ansicht getheilt wurde, beweist die Aeusserung von Husemann, dass vollkommen reines Carotin aus der Mohrrübe im Sonnenlichte rasch, im zerstreuten Tageslichte langsam farblos wird und seinen Veilchengeruch und die Krystallisationsfähigkeit verliert.

So auffällig nun auch die Uebereinstimmung von Forschern der verschiedensten Richtungen in der Erklärung der leichten Zersetzbarkeit der carotinartigen Pigmente erscheint, so kann sie doch nicht über die Thatsache hinwegtäuschen, dass eine genaue experimentelle Prüfung der Frage, ob denn das Licht wirklich die Ursache der Unbeständigkeit sei, noch nicht stattgefunden hat.

Eine solche Prüfung dürfte um so nothwendiger sein, als verschiedene Thatsachen mit jener allgemein verbreiteten Ansicht im offenen Widerspruch stehen. So ist längst bekannt, dass die carotinhaltigen Flügeldecken der oben genannten Käfer auch beim Aufbewahren in dunklen Schränken ihre Farbe verlieren. Ferner hatte Zopf vor längerer Zeit die Beobachtung gemacht, dass sich mit Carotin gefärbte Papierstreifen auch beim Liegen im Dunkeln allmählich entfärbten.

Anknüpfend an diese Thatsachen habe ich eine Reihe von Versuchen ausgeführt, um die Faktoren kennen zu lernen, welche die Entfärbung carotinartiger Farbstoffe verursachen.

Von Carotinen kamen in den Versuchsreihen Repräsentanten der drei Gruppen zur Verwendung, welche Zopf nach dem spectroskopischen Verhalten der alkoholischen Lösungen unterscheidet, als Monocarotine (mit einem breiten Absorptionsband bei F.), Dicarotine (mit zwei schmalen Absorptionsbändern, eins bei F. und eins zwischen F. und G.) und Tetracarotine, welche ausser den beiden Dicarotinbändern noch zwei sehr schmale, bei E. und G., besitzen.[3]

---

1) Untersuchungen über die Familie der Chroolepideen. Ann. du jardin bot. de Buitenzorg. Bd. X 1890.

2) Zweite Mittheilung über die Färbungsursachen niederer Organismen, im vorliegenden Heft pag. 12.

3) Vergl. W. Zopf, Zur Kenntniss der Färbungsursachen niederer Organismen. I. Ueber das Haematochrom. Diese Beiträge Heft 1. p. 36. Anmerkung.

Die Darstellung der betreffenden Farbstoffe geschah in der Weise, dass die alkoholischen Extracte carotinhaltiger Organe verseift und die freien Carotine nach Entfernung des Alkohols mit Petrolaether, Schwefelkohlenstoff oder Aether aus dem Seifengemisch extrahiert wurden. Da durch Schütteln mit Wasser behufs weiterer Reinigung der Lösungen, sowie durch andere Behandlungsweisen meist schnelle Zersetzung der Farbstoffe eintrat, so unterliess ich eine weitere Reinigung und neutralisierte nur durch vorsichtigen Zusatz von Salzsäure die von dem Lösungsmittel aufgenommenen Spuren des Alkali. Die spectroskopische Untersuchung der Farbstoff-Lösungen ergab die charakteristischen Absorptionsbänder der betreffenden Carotine.

Zu den Versuchen dienten entweder die klaren Lösungen oder Filtrirpapierstreifen, welche hiermit gefärbt waren.

In einem Falle konnten auch die goldglänzenden Dicarotinkrystalle aus Hühnereidotter benutzt werden, welche durch Verdunsten der aetherischen Lösung erhalten waren und mit Schwefelsäure sehr schön die charakteristische Carotinreaction gaben. Des Weiteren kamen carotinhaltige Organe, wie Käferflügeldecken, zur Verwendung.

Verhalten verschiedener Carotinfarbstoffe zum Licht.

Die Versuche sind theils bei diff. Tageslichte, theils bei völligem Lichtabschluss angestellt worden. Im ersteren Falle wurden die betreffenden Objecte entweder frei im Zimmer aufgehangen (gefärbte Papierstreifen) oder in offenen Glasgefässen dem Lichte ausgesetzt (Lösungen, carotinhaltige Organe). Anderenfalls brachte ich die Objecte in gut schliessende cylindrische Blechbüchsen, deren Verschluss ausserdem mit schwarzem Papier lichtdicht verklebt wurde, stellte diese in eine schwarze gut schliessende Pappschachtel und bewahrte Letztere während der Dauer des Versuches im dunkeln Schranke auf.

Erwähnt mag noch werden, dass zu diesen wie allen übrigen Parallelversuchen stets Theile einer und derselben Farbstofflösung oder des damit gefärbten Filtrirpapierstreifens zur Anwendung kamen.

Die gewonnenen Resultate finden sich in nachstehender Tabelle:

Tabelle I.

Art des Materials	Im diffusen Tageslichte	Im Dunkeln
Monocarotine.		
Monocarotin von *Lina populi*: Die rothen Flügeldecken.	Entfärbung.	Entfärbung.
Monocarotin aus den rothen Flügeldecken von *Lina populi*, Gefärbtes Filtrirpapier.	Entfärbung.	Entfärbung.
Monocarotin von *Micrococcus rhodochrous*. Gefärbtes Filtrirpapier.	Entfärbung.	Entfärbung.
Dicarotine.		
Dicarotin aus Hühnereidotter, Krystallmasse.	Entfärbung.	Entfärbung.
Dicarotin aus den Flügeldecken von *Clythra quadripunctata*, Gefärbtes Filtrirpapier.	Entfärbung.	Entfärbung.

Art des Materials	Im diffusen Tageslichte	Im Dunkeln
Tetracarotine.		
Tetracarotin von *Lycogala epidendron*, Gefärbtes Filtrirpapier.	Entfärbung.	Entfärbung.

Aus diesen Versuchen ergiebt sich:

Die in Entfärbung sich äussernde Zersetzung der Carotine; sowohl der Mono-, als auch Di- und Tetracarotine, erfolgt ebensowohl in absoluter Dunkelheit wie auch im Lichte.

Verhalten carotinartiger Farbstoffe gegen das umgebende Medium.

Nachdem obiges Resultat gewonnen war, lag es nahe, zu prüfen, ob der freie Sauerstoff der atmosphärischen Luft zur Entfärbung der Carotine nothwendig gewesen war. War dies der Fall, so stand zu erwarten, dass sich der Farbstoff in einer Kohlensäureatmosphäre, sowie in atmosphärischer Luft, welche ihres freien Sauerstoffs beraubt war, unverändert halten würde. Um dies zu entscheiden, brachten wir die betreffenden Objecte einerseits in besonders konstruirte Glasgefässe, füllten letztere durch dreiviertel- bis einstündiges Durchleiten von reiner trockener Kohlensäure mit diesem Gase und schmolzen hierauf die offenen Enden der Gefässe zu.[1] Andererseits wurden carotinhaltige Objecte in dickwandigen ungefähr 2 cm breiten und 20 cm langen Reagenzröhren aufgehangen, auf deren Boden sich eine etwa 3 cm hohe Lösung stark alkalischer Pyrogallussäure befand, worauf durch einen gut schliessenden Kautschuckpfropfen von der äusseren atmosphärischen Luft abgeschlossen wurde.[2]

Zum Vergleich sind gleichartige carotinhaltige Substanzen in offenen oder nur lose verschlossenen Glasgefässen der Einwirkung der atmosphärischen Luft ausgesetzt worden.

Zu sämmtlichen Versuchen hatte das Tageslicht Zutritt.

Nachstehende Tabelle enthält die Resultate:

Tabelle II.

Art des Materials	In gewöhnlicher atmosphärischer Luft	In durch alkalische Pyrogallussäure sauerstofffrei gemachter Luft	In reiner Kohlensäure
Monocarotine.			
Monocarotin von *Lina populi*, Die rothen Flügeldecken.	Nach 5 Tagen völlig entfärbt.	Nach $2^1/_2$ Monaten Farbe unverändert.	Nach $2^1/_2$ Monaten Farbe unverändert.

1) Die Glasgefässe entsprachen in ihrer Form im Wesentlichen dem bekannten Modell, welches zur Anaeroben-Cultur unter Kohlensäure benutzt wird und sich bei Liborius (Zeitschrift für Hygiene Bd. I p. 127 Fig. 3) abgebildet findet.

2) Der Apparat entspricht also dem von Buchner (Bacteriologisches Centralblatt Bd. IV) für Anaeroben-Culturen angewandten.

Art des Materials	In gewöhnlicher atmosphärischer Luft	In durch alkalische Pyrogallussäure sauerstofffrei gemachter Luft	In reiner Kohlensäure
	Monocarotine.		
Monocarotin von *Lina populi*, Aetherische Lösung.	Nach 6 Tagen völlig entfärbt.		Nach $2^1/_2$ Monaten keine Aenderung der Farbe.
Monocarotin von *Lina populi*, Gefärbtes Filtrirpapier.	Nach $18^1/_2$ Stunden vollständig entfärbt.	Nach 2 Wochen keine Entfärbung.	Nach 2 Wochen keine Entfärbung.
	Dicarotine.		
Dicarotin aus Blumenblättern von *Ranunculus repens*, Aetherische Lösung.	Nach 6 Tagen vollständig entfärbt.		Nach $2^1/_2$ Monaten Farbe unverändert.
	Tetracarotine.		
Tetracarotin aus *Lycogala epidendron*, Aetherische Lösung.	Nach 7 Tagen vollständig entfärbt.	Nach 15 Tagen noch ursprüngl. Färbung (Papierstreifen).	Nach $2^1/_2$ Monaten Farbe unverändert.

Auf Grund dieser Versuche folgt:

Die in Entfärbung sich äussernde Zersetzung der verschiedenen Carotine findet nicht statt, sobald diese Objecte in einer Atmosphäre von reiner Kohlensäure oder in atmosphärischer Luft aufbewahrt werden, welche durch alkalische Pyrogallussäure ihres Sauerstoffs beraubt ist.

Als Ursache der Entfärbung konnte demnach entweder der atmosphärische Sauerstoff oder vielleicht auch eine Verunreinigung der Luft wie salpetrigsaures Ammonium etc. gelten. Um letzteres zu entscheiden, wurde durch oben erwähnte Glasgefässe, welche mit verschiedenen Carotinen gefärbte Papierstreifen enthielten, mittelst der Saugpumpe ein Strom durch Kalilauge und Schwefelsäure gereinigte atmosphärische Luft geleitet. Innerhalb 24 Stunden waren sämmtliche Papierstreifen gebleicht. Des Weiteren wurden Flügeldecken von *Lina populi* in einer Atmosphäre von reinem Sauerstoff aufbewahrt. Schon nach $3^1/_2$ Tagen verloren die rothen Flügeldecken ihre Farbe, während bei Anwendung von atmosphärischer Luft hierzu 5 Tage erforderlich waren.

Es ergiebt sich also:

Die in Entfärbung sich äussernde Zersetzung der Carotine; sowohl der Mono- als auch Di- und Tetracarotine, ist die Folge eines Oxydationsprozesses und wird, falls sich diese Farbstoffe an der atmosphärischen Luft befinden, durch den freien Sauerstoff derselben hervorgerufen.

Anschliessend an diese Versuche erschien es mir nicht uninteressant, das Verhalten dieser Farbstoffe gegen stark ozonisirte atmosphärische Luft zu prüfen. Ueber die Flügeldecken von *Lina populi* wurde während 5 Stunden ein Strom atmosphärischer Luft geleitet, deren Sauerstoff im Siemens'schen Ozonisator stark ozonisirt war. Die Objecte wurden

hierauf in der ozonhaltigen Luft aufbewahrt. Es trat gleichfalls Entfärbung ein, doch liess sich eine wesentliche Beschleunigung des Entfärbungsprozesses nicht konstatiren. Ich halte diese Versuche jedoch noch nicht für abgeschlossen.

Erwähnungswerth erscheint ferner, dass die rothen Flügeldecken von *Lina populi* sich in einer Atmosphäre von schwefliger Säure lange Zeit unverändert halten, während sie durch Stickstoffdioxyd fast momentan gebleicht werden.

Bei den Versuchen der ersten Reihe, welche Rechenschaft geben sollten über die Wirkung des Lichts auf die Farbstoffe, war mir aufgefallen, dass die Entfärbung der carotinartigen Substanzen in den dunkeln Blechbüchsen langsamer vor sich ging, als im Tageslichte. Nachstehende Tabelle wird dies augenscheinlich machen:

Tabelle III.

Art des Materials	Im diff. Tageslicht	Im Dunkeln in Blechbüchsen eingeschlossen
Monocarotine.		
Monocarotin aus den rothen Flügeldecken von *Lina populi*, Gefärbtes Filtrirpapier.	Nach 18½ Stunden entfärbt.	Erst nach 5 Tagen entfärbt.
Monocarotin von *Micrococcus rhodochrous*, Gefärbtes Filtrirpapier.	Nach 5½ Stunden entfärbt.	Erst nach 18 Stunden entfärbt.
Dicarotine.		
Dicarotin aus Hühnereidotter. Krystalle.	Nach 1½ Stunden entfärbt.	Erst nach 21 Stunden entfärbt.
Dicarotin aus den Flügeldecken von *Clythra quadripunctata*. Gefärbtes Filtrirpapier.	Nach 3½ Stunden entfärbt.	Erst nach 36 Stunden entfärbt.
Tetracarotine.		
Tetracarotin von *Lycogala epidendron*. Gefärbtes Filtrirpapier.	Nach 3 Stunden entfärbt.	Erst nach 19 Stunden entfärbt.

Ein gleichartiges Resultat wurde erhalten, als ich mit Carotin gefärbte Papierstreifen einerseits in einem grossen Glasgefässe, andererseits im Schraubstock eingeklemmt zwischen den Blättern eines Buches aufbewahrte. Auch hier zeigte sich im letzteren Falle eine bedeutend langsamere Entfärbung.

Berücksichtigt man die Umstände, unter welchen jene Parallelversuche angestellt wurden, so bemerkt man, dass in allen den Fällen, wo die Objecte der Einwirkung des Lichts ausgesetzt waren, dieselben zugleich mit einem wechselnden Luftstrom in Berührung kamen, während bei den Versuchen im Dunkeln die Farbstoffe nur einem verhältnissmässig geringen Luftquantum ausgesetzt waren. Die langsamere Entfärbung im Dunkeln konnte daher entweder eine Folge des gehinderten Luftzutrittes oder eine solche des Lichtmangels oder eine solche dieser beiden Faktoren sein.

Es erschien daher nothwendig, eine Reihe von Versuchen in der Weise anzusetzen, dass ein Luftmangel nicht eintreten konnte.

Verhalten der verschiedenen Carotine in einem Luftstrome bei Anwesenheit von Licht und bei Lichtabschluss.

Zur Anwendung kamen wiederum Streifen von Filtrirpapier, welche mit Lösung in verschiedener Carotine gefärbt waren.

Die eine Reihe der Streifen wurde in ein ungefähr $2^1/_2$ cm weites und 30 cm langes Glasrohr gebracht, welches an beiden Enden ausgezogen war, und durch einen Schlauch mit der Saugpumpe in Verbindung stand. Die andere Reihe der Streifen fand Platz in einem ungefähr ebenso grossen Blechgefäss, welches aus zwei übereinander schiebbaren Hohlcylindern bestand, in deren Boden je ein $^1/_2$ cm weites Rohr eingelöthet war. Die im Innern der Hohlcylinder befindlichen Rohröffnungen waren geschlossen, und besassen dieselben hier nur zwei feine seitliche Oeffnungen. Das eine der Rohre wurde durch einen starken lichtdichten Gummischlauch mit einer Saugpumpe verbunden, das ganze Blechgefäss hierauf in schwarzes Tuch gewickelt und in einen dunkeln Kasten gelegt, so dass, wie ein Versuch mit lichtempfindlichem Bromsilberpapier zeigte, ein Eindringen von Licht unmöglich war. Durch Oeffnen der beiden Saugpumpen wurde durch das Glasrohr und Blechgefäss ein lebhafter Luftstrom gesogen.

Die Resultate dieser Versuche befinden sich in folgende Tabelle:

Tabelle IV.

Art des Materials	Im diff. Tageslicht	Im Dunkeln
Monocarotine.		
Monocarotin aus *Micrococcus rhodochrous*, Gefärbtes Filtrirpapier.	Nach 6 Stunden entfärbt.	Nach 24 Stunden theilweise, nach 54 Stunden vollständige Entfärbung.
Monocarotin aus Flügeldecken von *Lina populi*, Gefärbtes Filtrirpapier.	Nach 24 Stunden entfärbt.	Nach 24 Stunden theilweise, nach 54 Stunden vollständige Entfärbung.
Dicarotine.		
Dicarotine aus Flügeldecken von *Clythra quadripunctata*, Gefärbtes Filtrirpapier.	Nach 6 Stunden entfärbt.	Nach 24 Stunden vollständige Entfärbung.
Dicarotin aus Hühnereidotter; Gefärbtes Filtrirpapier.	Nach 48 Stunden entfärbt.	Nach 48 Stunden theilweise, nach 96 Stunden vollständige Entfärbung.

Aus diesen Versuchen folgt:

Die in Entfärbung sich äussernde Zersetzung von Carotinen, über welche ein lebhafter Strom atmosphärischer Luft geleitet wird, erfolgt schneller bei gleichzeitiger Einwirkung des Lichtes, als im Dunkeln.

Die Oxydationsprozesse, welche eine Entfärbung der Carotinfarbstoffe hervorrufen, werden durch die Gegenwart des Lichtes beschleunigt.

Schlussbemerkung.

Die Kenntniss der Thatsache, dass weniger die Einwirkung des Lichtes, als diejenige des freien atmosphärischen Sauerstoffs auf die Carotine eine Zersetzung und Entfärbung dieser Farbstoffe hervorruft, zeigt den Weg an, auf welchem eine Reindarstellung grösserer Mengen carotinartiger Farbstoffe aus pflanzlichen und thierischen Organen zu versuchen ist. Es wird sich empfehlen, bei der Gewinnung und Reinigung dieser Körper den Zutritt der atmosphärischen Luft möglichst abzuschliessen und die betreffenden Prozesse, soweit es geht, in einer Atmosphäre von Kohlensäure auszuführen. Ich selbst bin zur Zeit mit diesen Arbeiten beschäftigt.

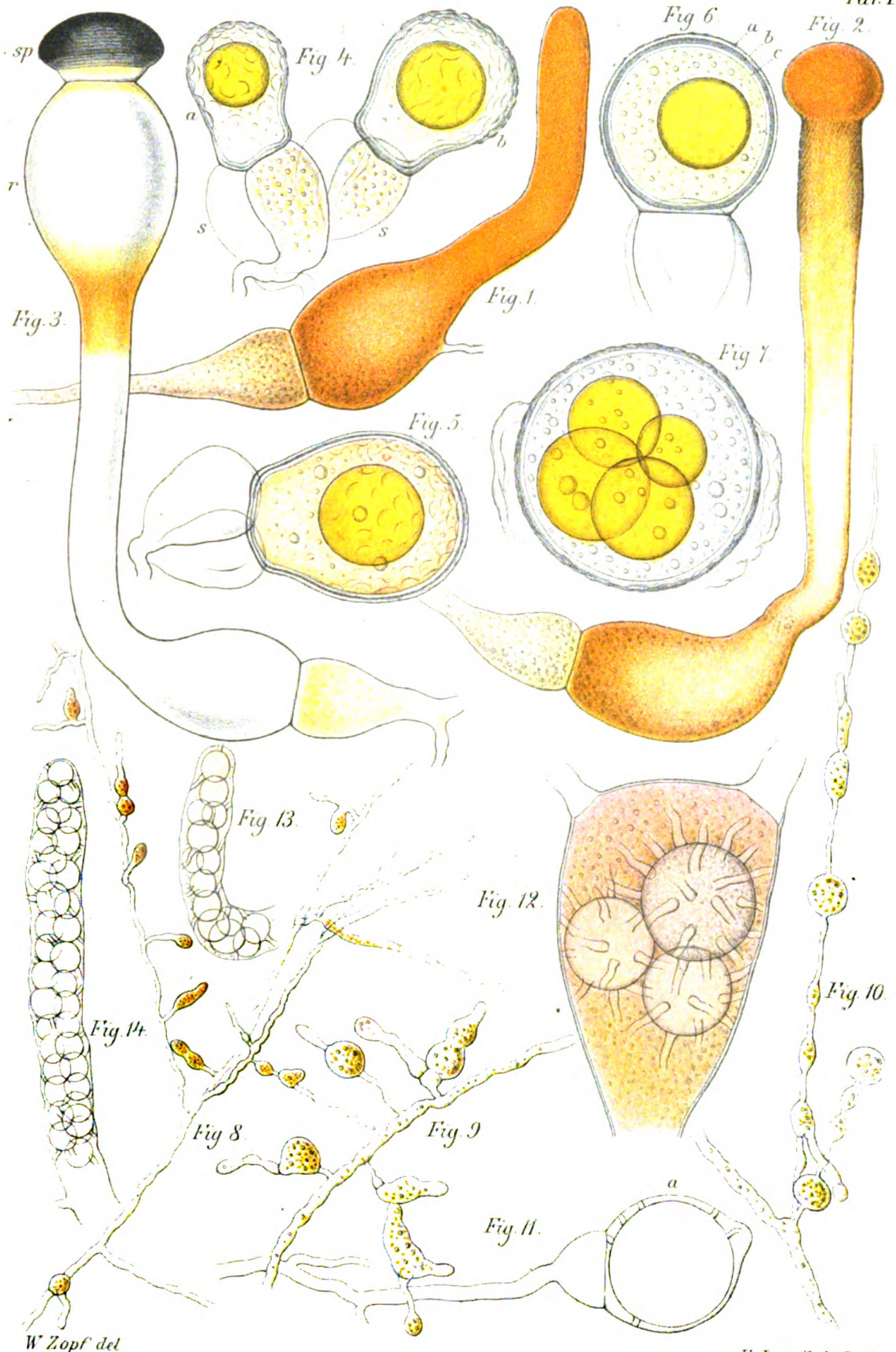
Des Weiteren ergiebt sich, dass die Carotinfärbung verschiedener zoologischer, botanischer und medicinischer Objecte sich in den Sammlungen sehr gut conserviren lässt, wenn die betreffenden Organe nicht wie bisher an der atmosphärischen Luft, sondern in einer Kohlensäureatmosphäre aufbewahrt werden. Wir haben eine Anzahl von Käfern wie Lina populi, Clythra quadripunctata und einige Coccinellen in ein mit diesem Gase gefülltes Glasgefäss eingeschlossen. Dieselben sind zur Zeit fast drei Monate lang dem Tageslichte ausgesetzt, ohne dass eine Aenderung in der Farbe eingetreten ist. Gleichartige Objecte, welche an der atmosphärischen Luft aufbewahrt waren, hatten schon innerhalb acht Tagen ihre Farbe vollständig verloren.

Eine Entfärbung carotinhaltiger Organe in lebenskräftigen Organismen oder Organen ist bisher mit Sicherheit noch nicht beobachtet worden. Welche Umstände dies verhindern, ob der oxydirenden Wirkung des Sauerstoffs entgegen gewirkt wird, oder ob nach etwaigem Zerfall eine fortgesetzte Neubildung dieses Farbstoffes im lebenden Körper stattfindet, ist zur Zeit noch nicht entschieden. Dagegen hat Zopf die Beobachtung gemacht, dass schon eine Schwächung des Lebensprozesses eine Entfärbung carotinhaltiger Organe zur Folge haben kann: Die Weibchen von *Lina populi* sterben nach dem Ablegen der Eier allmählich ab, und schon von diesem Zeitpunkte an lässt sich ein langsames Erbleichen der rothen Flügeldecken beobachten.

(Kryptogamisches Laboratorium der Universität Halle a. S., September 1892.)

Halle a. S., Buchdruckerei des Waisenhauses.

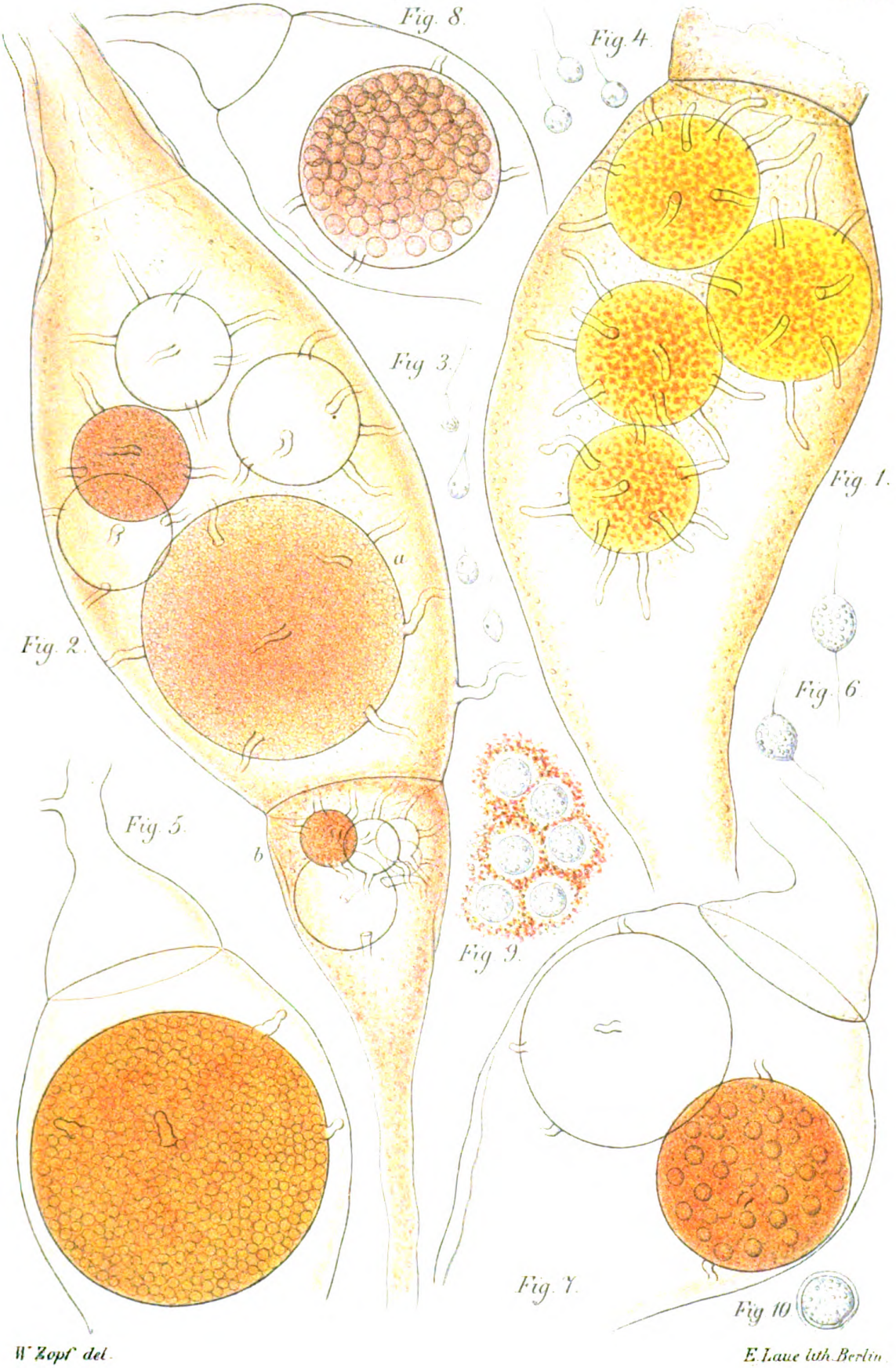
Taf. I.



W Zopf del

E. Laue lith. Berlin

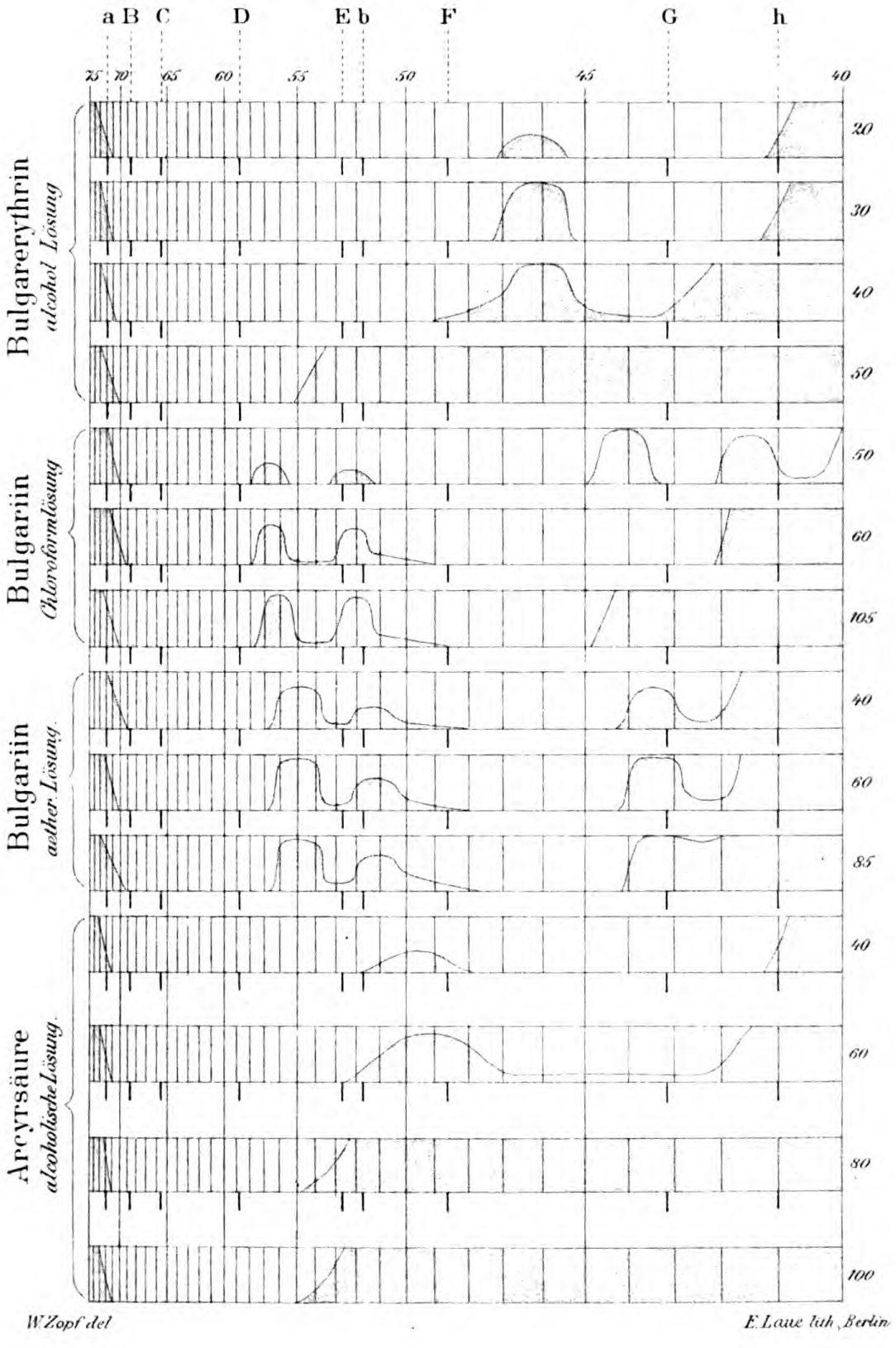
Taf. II.

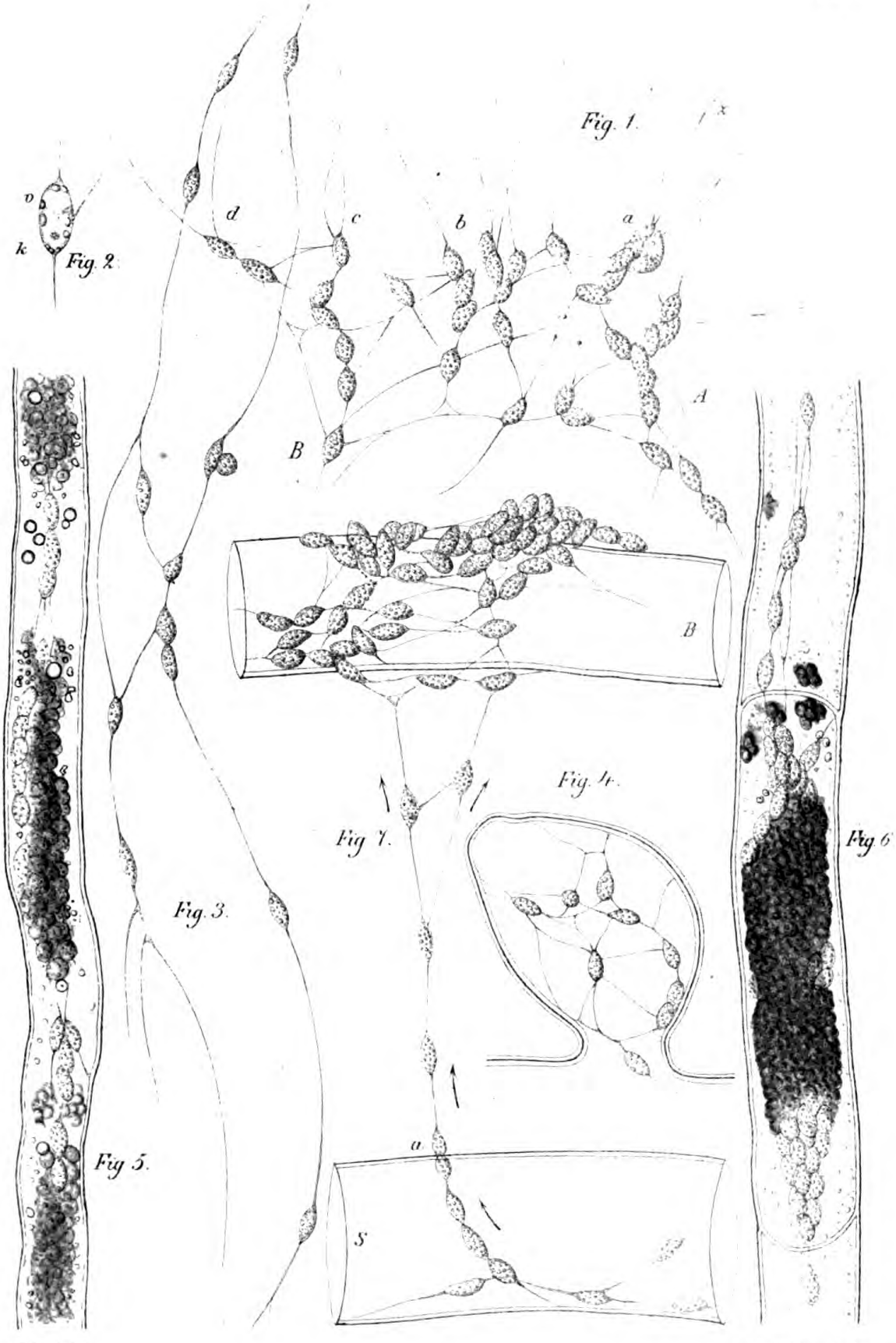


W. Zopf del.

E. Laue lith. Berlin.

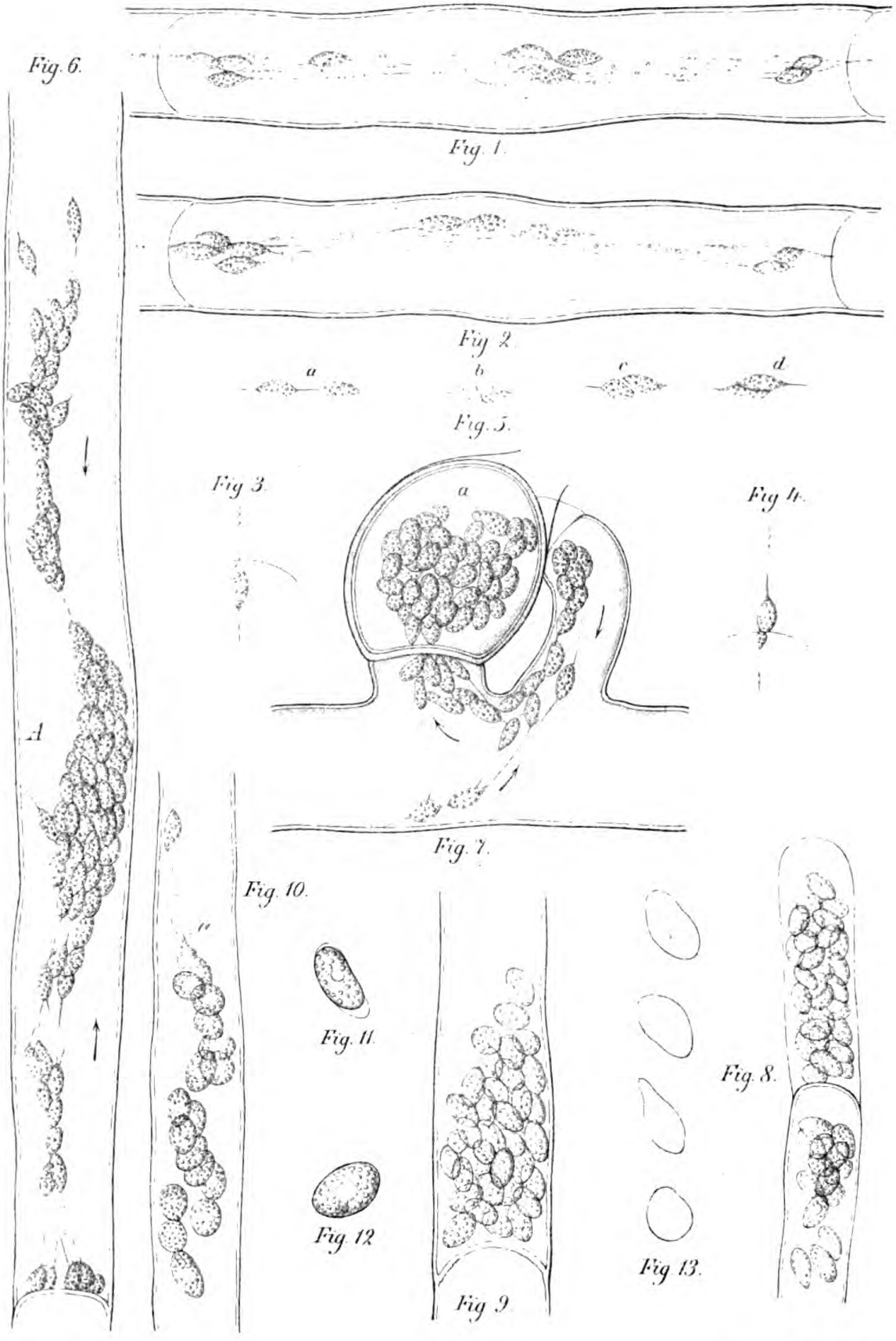
Taf. III.


a B C D E b F G h
75 70 65 60 55 50 45 40
Bulgarerythrin
alcohol Lösung
Bulgariin
Chloroformlösung
Bulgariin
aether Lösung.
Arcyrsäure
alcoholische Lösung.
20
30
40
50
50
60
105
40
60
85
40
60
80
100
W. Zopf del
E. Laue lith. Berlin



W. Zopf del.

F. Lauze lith. Berlin



W Zopf del

E Laue lith Berlin

Beiträge

zur

Physiologie und Morphologie

niederer Organismen.

Aus dem Kryptogamischen Laboratorium der Universität Halle a. S.

Herausgegeben

von

Professor **Dr. W. Zopf,**
Vorstand des Kryptogamischen Laboratoriums der Universität Halle.

Drittes Heft.

Leipzig.
Verlag von Arthur Felix.
1893.

Inhaltsverzeichniss zum dritten Heft.

Seite

Kritische Bemerkungen zu Brefeld's Pilzsystem von W. Zopf 1

Ueber die eigenthümlichen Structurverhältnisse und den Entwickelungsgang der Dictyosphaerium-Kolonieen von W. Zopf (hierzu Taf. I) 15

Erklärung der Abbildungen von Taf. I 25

Zur Kenntniss der Färbungsursachen niederer Organismen (Dritte Mittheilung) von W. Zopf 26

Ueber Production von Carotin-artigen Farbstoffen bei niederen Thieren und Pflanzen:

1. Niedere Krebse 26
2. Hypocreaceen-artige Pilze 34
    1. Polystigma rubrum 35
    2. Polystigma chraceum 40
    3. Nectria cinnabarina 42
3. Tremellinen 46

Ueber eine Saprolegniacee mit einer Art von Erysipheen-ähnlicher Fruchtbildung von W. Zopf (hierzu Taf. II u. III) 48

Erklärung der Abbildungen von Taf. II u. III 58

Zur Kenntniss der Färbungsursachen niederer Organismen (Vierte Mittheilung) von W. Zopf 60

Basidiomyceten-Färbungen:

Der blutrothe Löcherschwamm, Polyporus sanguineus Fr. 60

Der zinnoberrothe Blätterschwamm, Cortinarius (Dermocybe) cinnabarinus Fr. 64

Cortinarius (Dermocybe) cinnamomeus (L.) Fr. 69

Kritische Bemerkungen zu Brefeld's Pilzsystem

von

W. Zopf.

Im neunten Heft seiner Untersuchungen aus dem Gesammtgebiet der Mycologie unterwirft Brefeld das bisherige System der Pilze (Eumyceten im Sinne Eichler's) einer wesentlichen Umgestaltung.

Es geschieht dies auf folgendem Wege: Zunächst lässt er die bisherige, von ihm selbst aufgestellte Hauptgruppe der Mycomyceten, welche die Basidiomyceten, Uredineen, Ustilagineen und Ascomyceten im Sinne De Bary's umfasste, vollständig fallen und kreirt nunmehr eine neue Hauptgruppe, der er zwar denselben Namen (Mycomyceten) verleiht, aber nur noch die Basidiomyceten, Uredineen und einen Theil der früheren Ascomyceten (den grössten) zutheilt.

Die aus dem bisherigen Ascomyceten-Verbande herausgelösten Genera *Protomyces, Ascoïdea* und *Thelebolus* einerseits, sowie die aus dem bisherigen Mycomyceten-Verbande herausgenommene Familie der Ustilagineen andererseits vereinigt er sodann zu einer neuen gemeinsamen Hauptgruppe der Mesomyceten. Er begründet diese Massregel mit dem Hinweise, dass es sich hier um Zwischenformen zwischen den Phycomyceten De Bary's und den Mycomyceten (im neuen verengerten Sinne) handele.

Dabei giebt er den Ustilagineen die neue Bezeichnung der Halb-Basidier (Hemibasidii) in der Annahme, sie seien „mit Basidien-ähnlichen Conidienträgern" ausgerüstet, während er die genannten Ascomyceten-Genera unter dem Namen der Halbschläucher (Hemiasci) vereinigt, indem er ihre Schläuche als eine Mittelform zwischen dem Ascus der Ascomyceten und dem Sporangium der Phycomyceten auffasst.

In übersichtlicher Form stellt sich Brefeld's System demnach wie folgt dar:

1. Phycomyceten De Bary
2. Mesomyceten Bref.

Hemiasci. — Hemibasidii (Ustilagineen De Bary).

3. Mycomyceten Bref.

Ascomyceten. — Basidiomyceten (Uredineen u. Basidiomyceten De Bary).

De Bary's Eintheilung lautet:

1. Phycomyceten.
2. Ustilagineen.
3. Ascomyceten.
4. Uredineen.
5. Basidiomyceten.

Meine Eintheilung:

1. Phycomyceten.
2. Mycomyceten.
   a. Basidiomyceten.
   b. Uredineen.
   c. Ustilagineen.
   d. Ascomyceten.

Angesichts der Brefeld'schen neuen Eintheilung erheben sich zunächst zwei Hauptfragen:

1. Ist das Aufgeben des Begriffes der Mycomyceten im früheren Brefeld'schen Sinne zulässig?

2. Ist die Creirung der Gruppe der Mesomyceten berechtigt?

Es sei mir gestattet, diese Fragen einmal ganz ruhig und sachlich in Erwägung zu ziehen, und ich bitte sowohl Brefeld als die übrigen Leser, nicht etwa aus irgend einer Form der Fassung irgend welche Schärfe oder Härte herauslesen zu wollen, da mir dergleichen durchaus ferngelegen hat.

Was die erstere Frage anbetrifft, so ist sie zu verneinen und zwar auf Grund folgender wichtiger Thatsachen.

Wie schon De Bary, Nägeli und Sachs richtig erkannten und betonten und wie auch Brefeld und ich selbst hervorhoben, prägt sich zwischen den Algenpilzen (Phycomyceten) und den übrigen Pilzen insofern eine beachtenswerthe morphologische Differenz aus, als das myceliale System bei den Ersteren einzellig, also querwandlos, bei den Letzteren dagegen durch Querwände gegliedert erscheint. Da die Querwandbildung in acropetaler Folge vor sich geht, so ist immer eine Scheitelzelle vorhanden, welche das Spitzenwachsthum der Fäden vermittelt und welche man an den ebenfalls durch Spitzenwachsthum sich verlängernden Mycelfäden der Algenpilze vermisst.

Diesen wichtigen morphologischen Unterschied betonte auch Brefeld früher in seinem Colleg und in seinen Schimmelpilzen und sah sich schliesslich zu der Ueberzeugung gedrängt, dass es nöthig sei, diesen Unterschied durch ein passendes Wort zu fixiren. Er drückte mir diese Ueberzeugung aus zu der Zeit, als ich noch sein Assistent und Schüler war. Ich stimmte ihm vollkommen bei und erlaubte mir für den damals von Brefeld gebrauchten Ausdruck „ächte" oder „höhere" Pilze den Namen Mycomyceten vorzuschlagen, weil er als Pendant zu dem Namen Phycomyceten, trotz seines Pleonasmus, geeignet erschien. Brefeld acceptirte meinen Vorschlag und so wurde die Bezeichnung schliesslich der Oeffentlichkeit übergeben.

Jetzt, wo Brefeld diesen Begriff fallen lässt, möchte ich ihn doch noch zu retten suchen, und der Hinweis auf die eben dargelegten wichtigen Unterscheidungsgründe dürfte mich wohl dazu berechtigen. Er bringt eben nur zum Ausdruck, was jene älteren Forscher und ebenso auch Brefeld mit klarem Blick als einen durchgreifenden Character

zwischen dem vegetativen Organe der Algenpilze und dem der übrigen Pilze erkannt hatten.

Ich halte daher den Begriff der Mycomyceten in dem Sinne, wie ihn Brefeld früher aufstellte, nicht nur für berechtigt, sondern auch für sehr wichtig, ja — nach dem jetzigen Stande der Mycologie — für unentbehrlich.

Gehen wir nun zu der zweiten Frage über: Ist die Creirung der Gruppe der Mesomyceten berechtigt? Die Mesomyceten Brefeld's umfassen, wie angeführt, die Ustilagineen, die als Halbbasidier (Hemibasidii) bezeichnet werden und die Halbschläucher (Hemiasci). Die Frage spaltet sich demnach in zwei Unterfragen:

a) Ist es berechtigt, die Ustilagineen (im Sinne De Bary's) als Pilze zu bezeichnen, welche „basidienähnliche Conidienträger" besitzen?

b) Ist es berechtigt, die Gattungen *Ascoïdea, Protomyces, Thelebolus* aus dem Verband der Ascomyceten (im Sinne De Bary's) herauszulösen und sie als besondere Familie der Hemiasci aufzustellen?

Wenden wir uns zunächst der ersteren Frage zu.

Wenn man die Spore gewisser Ustilagineen, z. B. des Haferbrandes (Ustilago Avenae [Pers.] Rostrup) in Nährflüssigkeiten oder selbst in Wasser keimen lässt, so entwickelt sie bekanntlich, wie schon Tulasne, De Bary, Kühn, Fischer v. Waldheim u. A. beobachteten, ein kurzes fadenartiges Gebilde, das die genannten Forscher als einen Mycelschlauch ansahen und daher als Promycel bezeichneten. In der Folge eigneten sich alle Botaniker diese Auffassung und Bezeichnung an und auch Brefeld betrachtete dieses Gebilde als eine rudimentäre Mycelbildung.

Neuerdings erhebt nun derselbe Forscher gegen diese Anschauung Einspruch, indem er behauptet, das genannte Gebilde habe gar nicht den Werth eines vegetativen (mycelialen) Organs, sondern stelle vielmehr einen fructificativen Apparat, eine basidienartige Bildung dar.

Als Grund hierfür führt er an, dass obiges Gebilde durch seine Quertheilung in wenige Zellen und durch seitliche Abschnürung von Conidien an diesen Zellen sich morphologisch ganz ähnlich verhalte wie die Basidie gewisser niederer Basidiomyceten, z. B. von *Pilacre* und *Auricularia.*

Wie mir scheint ist diese Auffassung der Ustilagineen als Pilze mit basidienartiger Fructification zunächst nicht wohl in Einklang zu bringen mit der Thatsache, dass das, was De Bary als Promycel (Brefeld als Basidie) bezeichnet, bei einer ganzen Reihe von Ustilagineen überhaupt nicht vorkömmt.

So hat z. B. für *Ustilago olivacea* Brefeld selbst[1] constatirt, dass die Conidien nicht an einem Promycel, sondern direct an der

1) Botanische Untersuchungen über Hefenpilze. Fortsetzung der Schimmelpilze, Heft V. Leipzig, Felix 1883. Tafel 10. Fig. 13. 15.

keimenden Spore abgeschnürt werden (Fig. 1), sowohl bei Keimung in Wasser als in Nährlösungen.

Für *U. longissima* konnte schon De Bary[1] sicher stellen, dass das Keimproduct der Spore ein sehr kurzes stets querwandloses Gebilde darstellt, das nur an der Spitze eine Conidie abschnürt. Brefeld[2] bestätigte dies und erweiterte die De Bary'sche Beobachtung dahin, dass nach der ersten eine zweite u. s. w. Conidie zur Bildung gelangen kann, was ich ebenfalls gesehen habe (Fig. 2).

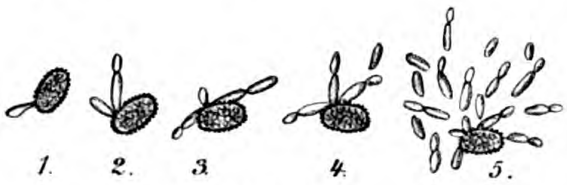


Fig. 1.
Auskeimung der Dauersporen von *Ustilago olivacea*. Continuirliche Entwicklungsreihe nach Brefeld, 400fach vergr.

Am allerbeachtenswerthesten ist aber die von Brefeld gefundene Thatsache, laut welcher *Ustilago Hordei* zu keiner Zeit weder Promycelien noch Conidien entwickelt, sondern stets zu einem typischen Mycel auskeimt (s. Figur 3). Meine Hoffnung aus der Spore doch noch die Sporidienbildung zu erhalten, hat sich im Laufe der Versuche, die ich in Gemeinschaft mit Herrn Stud. P. Herzberg während zweier Semester ausführte, durchaus nicht erfüllt. *U. Hordei* scheint in der That ausschliesslich Mycelkeimung zu besitzen.

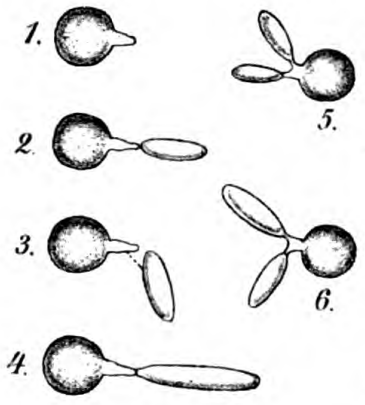


Fig. 2.
Keimungen von *Ustilago longissima* 1–5 continuirliche Beobachtungsreihe. Nach der Natur, 900fach vergr.

Nach Brefeld keimen — und das ist ebenfalls sehr beachtenswerth — von den Sporen der *Ust. destruens* die einen in Promycelform, die andern, in derselben Nährflüssigkeit, mit einem ästigen Mycel, auf welchem schliesslich aufrecht in die Luft wachsende gewöhnliche Conidienträger entstehen, welche ästige Ketten von Conidien abschnüren.

Zu betonen ist ferner, dass *Geminella Delastrina*, wie schon Schröter fand, mit verästelten oder auch einfachen ächten Conidienträgern auskeimt, welche ihre Conidien auf kleinen flaschenförmigen Sterigmen, ähnlich wie bei *Penicillium*, in Kettenform abschnüren. Hier hat man also, und daran dürfte wohl kein Botaniker zweifeln, typische gewöhnliche Conidienträger vor sich, die auch nicht entfernt basidienähnlichen Character zeigen. Ich füge absichtlich ein von Brefeld selbst gezeichnetes Bild bei (Fig. 4, C). Unter anderen Ernährungsbedingungen dagegen wird stets ein typisches Mycel erzeugt, niemals aber eine Promycelbildung beobachtet.

---

1) Morphologie und Physiologie der Pilze etc. 1866. Fig. 62 A.
2) l. c. Taf. VIII.

Schon diese Beispiele, die ich an der Hand der Brefeld'schen Ustilagineen-Arbeit noch vermehren könnte, lehren, dass gewisse Brandpilze das, was De Bary ein Promycel nannte (also auch das was Brefeld als eine basidienähnliche Fructification bezeichnete) überhaupt nicht besitzen.

Hat nun etwa die Bildung, welche bei anderen Ustilagineen in Form eines Promycels wirklich auftritt, den Werth eines basidien-

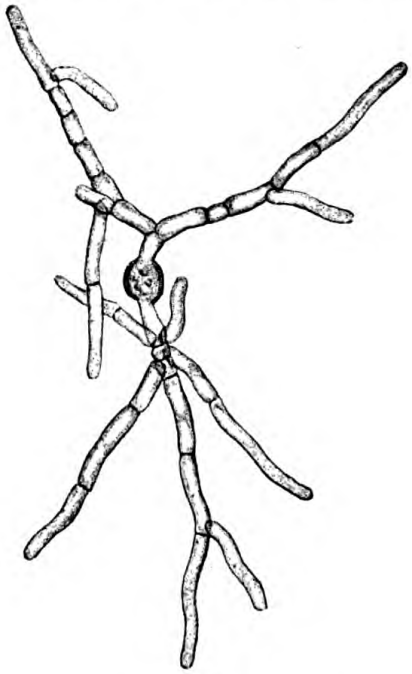


Fig. 3.
Das Keimproduct von *Ustilago Hordei* Bref., ein typisches Mycel darstellend, nach einer Handzeichnung von P. Herzberg, 600fach vergr.

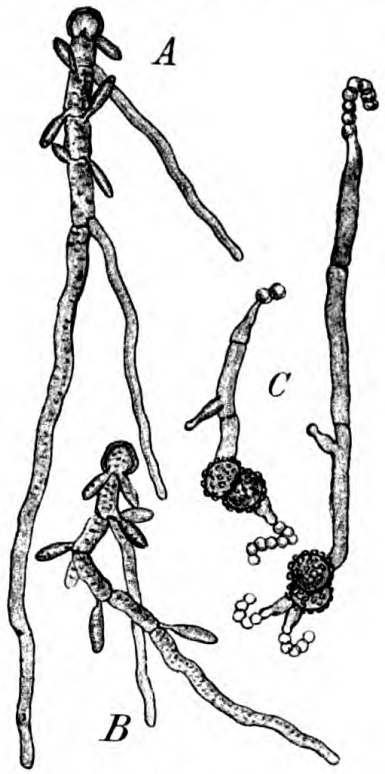


Fig. 4.
A und B: Kleine Mycelien von *Ustilago Carbo* (im alten Sinne), an der Basis der Hauptachse mit seitlichen Conidien, in Nährlösung erzogen, 300fach. C: Keimproducte von *Geminella Delastrina* in Wasser erzogen, mit kleinen einzelligen Conidienträgern in Form von flaschenartigen Sterigmen und längeren mehrzelligen und verzweigten Conidienträgern mit eben solchen Sterigmen, welche die Conidien in Ketten abschnüren, 200fach. Nach Brefeld.

ähnlichen Conidienträgers? Oder ist die alte De Bary'sche Anschauung, dass es sich hier um eine myceliale Bildung handelt, noch heute zutreffend?

Ich glaube, dass das Letztere der Fall ist. Es handelt sich hier um ein Mycel, das infolge ungünstiger Ernährungsweise auf einer Stufe kümmerlicher Entwickelung stehen bleibt. Die Berechtigung hierzu entnehme ich zunächst wiederum Thatsachen, die Brefeld selbst gefunden hat, vor allem der Thatsache dass das Promycel bei geeigneter Ernährung zu einem kleineren oder grösseren Mycelsystem weiter wächst, was seine hier beigefügten Figuren (Fig. 4. A B) wie ich glaube für *Ustilago Carbo*[1]

1) Was Brefeld unter dieser Bezeichnung verstanden hat, weiss ich nicht, da erst nach seiner Ustilagineen-Arbeit durch Rostrup, Kellermann, Swingle,

klar zum Ausdruck bringen. Und ich will nicht vergessen hinzuzufügen, dass wenn man anstatt der von Brefeld gewählten, für Mycelbildung ungünstigen Ernährungsbedingungen (Nährflüssigkeiten) günstigere Bedingungen wählt (in Form von festen Nährböden) man die Promycelien zu äusserst stattlichen Mycelien von 1 cm Durchmesser und darüber heranziehen kann. Resultate dieser Art sollen später veröffentlicht werden.

Nach allen diesen Gründen muss angenommen werden, dass eine basidienartige Fructification im Sinne Brefelds bei den Ustilagineen nicht existirt und daher auch die neue Bezeichnung „Hemibasidii" nicht haltbar ist.

Ehe ich nun die Frage nach der Berechtigung der Familie der „Hemiasci" aufnehme, muss ich etwas ausführlicher die morphologische Auffassung beleuchten, welche Brefeld bezüglich des Ascus entwickelt. Er definirt dieses Organ (p. 86) dahin, dass er sagt, es stelle ein Sporangium dar, welches characterisirt sei durch ganz bestimmt gewordene Gestalt und dadurch, dass es eine ganz bestimmte, nicht mehr schwankende Sporenzahl producire, während das gewöhnliche Sporangium diese Bestimmtheit in der Sporenzahl und in der Form des Behälters nicht besitze. Da es hier vielleicht auf die wörtliche Fassung Brefeld's ankommt, so will ich dieselbe anführen. Brefeld sagt in gesperrt gedruckter Schrift: „Die Ascomyceten sind in Bezug auf ihre Sporangien nicht mehr schwankend in Gestalt und Sporenzahl, sondern typisch und bestimmt geworden in der Formausbildung und in der Zahl der Sporen — mit einem Worte, ihre Sporangien sind zu „Ascen" geworden."

Und einige Seiten früher (p. 72) ist ebenfalls in gesperrter Schrift zu lesen: „Der Ascus stellt die höhere, typisch gewordene Form des Sporangiums dar, die Form, welche in der Grösse und Gestalt und in der Zahl der Sporen bestimmt geworden ist und aufgehört hat, wie ein Sporangium nach äusseren Umständen beliebig in der Formbildung zu schwanken."

Weiterhin heisst es: „Und selbst die Sporen nehmen an dieser Form-Steigerung Antheil. Es muss jedem Beobachter auffallen und allen früheren Beobachtern längst aufgefallen sein, wie die Sporangien — und die Conidiensporen in Form und Grösse beträchtlich schwanken, wie hingegen die Askensporen und die Basidiensporen eine stets wiederkehrende Form und Grösse zeigen."

Fassen wir zunächst die Behauptung ins Auge: Die Zahl der Sporen im Ascus ist eine ganz bestimmte, nicht mehr schwankende und prüfen wir dieselbe an der Hand der Resultate, welche die Mykologen in dieser Beziehung im Laufe der Jahrzehnte durch eine

---

Jensen, Wille das alte *Ustilago Carbo* als eine aus vielen Species bestehende Sammel-Art erkannt worden ist.

Fülle von Specialuntersuchungen gewonnen haben, und welche man in den bekannten Monographieen, systematischen und sonstigen Werken niedergelegt findet.

Für die Trüffeln hebt schon De Bary[1] ausdrücklich hervor, dass die Sporenzahl „grossen Schwankungen unterworfen" sei. Es kommen z. B. vor bei:

Tuber brumale	1—6	Grösstes Schwankungsverhältniss 1 : 8.
„ aestivum	1—6	
„ melanosporum . . .	1—6	
„ rhenanum	2—4	
„ excavatum	2—4	
„ Magnatum	1—3	
Elaphomyces variegatus . . .	2—6	
„ granulatus . .	1—8	

Für die Asci gewisser Saccharomyceten hat E. Chr. Hansen durch genaue Untersuchungen ebenfalls eine beträchtliche Schwankung in der Sporenzahl nachgewiesen:

Saccharomyces cerevisiae I .	1—5	Grösstes Schwankungsverhältniss 1 : 9.
„ Pastorianus I .	1—8	
„ „ II.	1—8	
„ „ III	1—9	
„ ellipsoïdeus I .	1—4	
„ „ II.	1—4	

Derselbe Forscher fand bei seinen Untersuchungen an Sordarien[2]

Sordaria dubia :	2—12—14—16	Grösstes Schwankungsverhältniss 1 : 8.
„ similis . . .	8—14—16	
„ hirta	4—8	

In Winter's Bearbeitung der Pilze für Rabenhorst's Kryptogamenflora findet man betreffs zahlreicher Perisporiaceen ebenfalls Schwankungen der Sporenzahl notirt. Hier nur ein paar Beispiele:

Erysiphe tortilis	4—6	Grösstes Schwankungsverhältniss 1 : 4.
„ Umbelliferarum . .	2—6	
„ communis	2—8	
Microsphaera Alni	4—8	
Uncinula prunastri	4—6	
Zopfia rhizophila	4—8	

Um zu zeigen, dass auch in der Abtheilung der Discomyceten ähnliche Schwankungen vorkommen, greife ich aus der Bearbeitung Rehm's die Gattung Dermatea heraus:

---

1) Morphologie der Pilze etc. 1866 p. 107. Schon Tulasne (Fungi hypogaei) hat das noch früher für *Tuber*- und *Elaphomyces*-Arten constatirt. Vergl. auch Rees und Fisch, über Elaphomyces. Bibliotheca bot. Heft 7 p. 25.

2) Fungi fimicoli danici, in Videnskabelige, Meddelelser der naturf. Gesellsch. Kopenhagen 1876. Résumé.

Dermatea cerasi	6—8	Grösstes Schwankungsverhältniss 1 : 2.
„ alni	6—8	
„ eucrita	4—8	
„ livida	4—8	
„ Frangulae	4—8	
„ vernicosa	4—8	

Aber auch bei den Flechten, sowohl den Pyrenomyceten- als den Discomyceten-artigen ist Inconstanz der Ascosporenzahl zu finden, wie man z. B. aus Körber's und Stein's Floren ersehen kann:

Menegazzia pertusa	2—4	Grösstes Schwankungsverhältniss 1 : 6.
Candelaria concolor	16—32	
Umbilicaria pustulata . . .	1—2	
Callopisma vitellinum . . .	24—32	
Rinodina polyspora	12—24	
Urceolaria scruposa	4—8	
Phlyctis argaena	2—4	
„ italica	2—6	
Pertusaria corallina	1—2	
„ De Baryana . .	3—4	
„ communis . . .	1—2	
„ leioplaca . . .	1—6	
„ glomerata . . .	4—8	
„ Wulfeni	6—8	
Enterographa Hutchinsiae .	6—8	
Porocyphus areolatus . . .	4—8	

Schon aus diesen Daten wird man ersehen, dass die Zahl der Ascosporen bei einer ganzen Reihe von Ascomyceten aus verschiedenen Gruppen Schwankungen unterliegt, welche nicht selten so beträchtlich werden, dass die Schwankungsverhältnisse sich wie 1 : 6, 1 : 8, 1 : 9 gestalten.

Wenn nun Brefeld l. c. wörtlich sagt: „Die Ascen der einzelnen Ascomyceten sind einander in Sporenzahl stets gleich, von welchem Fruchtkörper, von welcher Kultur sie auch entnommen sein mögen", so spricht er damit eine Ansicht aus, welche mit den oben angeführten thatsächlichen Verhältnissen nicht recht in Einklang zu bringen ist.

Dass der genannte Forscher diese Thatsachen nicht gekannt habe, ist bei seiner grossen Belesenheit und seiner reichen mycologischen Erfahrung nicht anzunehmen. Aber es wäre gut gewesen, wenn er den Leser irgendwie aufgeklärt hätte, warum er trotzdem die Ansicht von der Constanz der Sporenzahl im Ascus aussprach.

Es wäre denkbar, dass er sich die Thatsachen so zurecht gelegt hätte: Bei den Ascomyceten sei immer eine ganz bestimmte Sporenzahl in der Anlage vorhanden, von diesen Anlagen würden gelegentlich einzelne unterdrückt, und daraus ergäben sich die Schwankungen in der Sporenzahl.

Eine solche Annahme liegt sehr nahe. Aber ein einziges genau untersuchtes Beispiel genügt, um sie hinfällig zu machen. Das ist

Elaphomyces. Für dieses Object haben Reess[1] und Fisch bestimmt ermittelt, „die Zahl der Sporen-Anlagen ist sehr verschieden und wechselt sowohl bei *Elaphomyces granulatus* wie bei *E. variegatus* zwischen 8 und 2."

Wenn von den Sporen-Anlagen dann später die eine oder andere abortirt und dann ganz verschwindet oder zu einem nicht mehr sporenähnlichen Gebilde verschrumpft oder sonstwie verändert wird, so sind das eben abnorme Verhältnisse, die mit dem normalen Wechsel der Sporenzahl, wie er schon in der Anlage zum Ausdruck kommt, nichts zu thun haben und sehr häufig sind. Uebrigens sagt auch schon De Bary (Morphol. p. 85): „Die Ungleichheit in der Zahl der Sporen (der Ascosporen) hat theils in Ungleichheiten der Anzahl der ursprünglichen Anlagen (resp. Kerntheilungen) ihren Grund." Er verweist sodann auf eine diesbezügliche Untersuchung Errera's, die nur an dieser Stelle veröffentlicht zu sein scheint.

Findet nun aber, wie gezeigt, ein normaler Wechsel der Sporenzahl schon in der Anlage statt, so wird, wie mir scheint, die Annahme von der Constanz der Sporenzahlen auch nach dieser Seite hin unhaltbar.

Ich komme also mit diesen Darlegungen zu demselben Ergebniss, zu welchem kürzlich einer unserer bedeutendsten, sich streng an die Thatsachen haltenden Mycologen ebenfalls gelangt ist.[2]

Wenn man nun in Bezug auf die Ascomyceten nothwendigerweise sagen muss, es giebt Vertreter mit constanter und solche mit inconstanter Zahl der endogenen Sporen, so gilt ganz dasselbe auch für die Phycomyceten. So zeigen z. B. die Oosporangien der Gattungen *Dictyuchus, Lagenidium, Pythium, Peronospora, Cystopus* u. s. w. eine ganz constante Sporenzahl, nämlich die Einzahl. In den Schwärmsporangien von *Cystopus candidus* schwankt die Zahl zwischen 3 und 6, in denen von *Peronospora viticola* zwischen 6 und 8, in denen von *Phytophthora infestans* zwischen 6 und 12, in den Oosporangien von *Saprolegnia asterophora* nach De Bary zwischen 1 und 3 (nach meinen Zählungen zwischen 1 und 5), in den Sporangien von *Mortierella reticulata* sind nach Van Tieghem 2—8, oft 4 Sporen enthalten. Das sind aber Schwankungen, welche von den oben notirten Schwankungen der Ascosporenzahlen weit übertroffen werden können.

Nun wissen wir freilich durch die Untersuchungen der verschiedensten Mycologen, dass die Zahl der Sporen in den Sporangien gewisser Phycomyceten erheblich grössere Schwankungen aufweisen kann, so z. B. liegen Zählungen an den Oosporangien der Saprolegnien durch De Bary vor, welche folgendes ergaben:

---

1) Untersuchungen über Bau und Lebensgeschichte der Hirschtrüffel, Elaphomyces. Biblioth. botanica Heft 7. Cassel 1887 p. 15.

2) Emil Chr. Hansen, Ueber die neuen Versuche, das Genus Saccharomyces zu streichen. Bacteriol. Centralbl. Bd. 13 (1893) p. 16.

Saprolegnia asterophora .	1—3	Grösstes Schwankungsverhältniss 1 : 40.
„ Thuretii . .	2— über 50	
„ hypogyna .	1—40	
„ monoica . .	1— über 30	
„ dioïca . .	bis 20 und mehr	
„ anisospora .	1—10	
„ monilifera .	1—16	
Pythiopsis cymosa . .	1—3	
Achlya prolifera . . .	in wechselnder, meist gröss. Zahl	
Achlya polyandra . . .	in wechselnder, meist gröss. Zahl	
„ gracilipes . . .	8—40	
„ apiculata . . .	1—6	
„ racemosa . . .	1—6	
„ oblongata . . .	meist 6—10	
„ spinosa. . . .	1—3	
„ oligacantha . .	4 bis über 12	
„ stellata. . . .	stets 1	
Aplanes Braunii . . .	bis 40	

Das bedeutet aber doch wohl nur, dass der Grad der Schwankung der Sporenzahl bei gewissen Phycomyceten ein anderer sein kann.

Anstatt also zu sagen:

„Die Schläuche der Ascomyceten weisen stets eine constante Sporenzahl auf,“

„Die Sporangien der Phycomyceten weisen stets eine inconstante Sporenzahl auf“

hätte Brefeld eigentlich sagen müssen:

„Die Schläuche der Ascomyceten weisen theils constante, theils inconstante Sporenzahlen auf.“

„Die Sporangien der Phycomyceten weisen theils constante, theils inconstante Sporenzahlen auf, bei manchen Vertretern sind aber die Schwankungsverhältnisse noch grösser, als bei den Ascomyceten.“

Nach Brefeld unterscheidet sich das Sporangium der Ascomyceten vom Sporangium der Phycomyceten zweitens dadurch, dass jenes im Vergleich zu diesem auch in seiner Gestalt typisch und bestimmt geworden sei.

Demgegenüber möchte ich mir die Frage erlauben, ob es wohl etwas bestimmter und typischer Geformtes geben kann, als die vollendet kugeligen Sporangien der *Chytridiaceen*- und *Mucor*-Arten, die calottenförmigen der *Piloboli*, die citronenförmigen Schwärmsporangien der *Phytophthora infestans*, die kochflaschenförmigen Zoosporangien von *Rhyzophidium appendiculatum*, die gestielt-kugeligen Oosporangien von *Saprolegnia Thuretii*, die birnförmigen Zoosporangien meines *Septocarpus corynephorus* und vieles Andere mehr?

Und wo bleibt diese typische und bestimmte Gestalt bei den Schläuchen gewisser *Saccharomyces*-Arten, wo uns, wie E. Chr. Hansens Reinkulturen gelehrt haben, bald kugelige, bald ellipsoïdische, bald birnförmige, bald stark cylindrisch gestreckte oder keulige Formen entgegentreten in derselben Reinkultur? Ich weiss nicht, ob Brefeld etwa hier die Einwendung machen wird, die Saccharomyceten seien überhaupt keine Schlauchpilze. Aber wohin sollen sie gehören? Seine frühere Ansicht, dass man dieselben als Phycomyceten-Stadien ansprechen müsse, hat er bald selbst aufgegeben, seine spätere, dass sie als Entwickelungsglieder von Ustilagineen aufzufassen seien, hat er mit Recht gleichfalls fallen lassen. Den Basidiomyceten und Uredineen können sie aus dem Grunde nicht zuertheilt werden, weil diesen endogene Sporenbildung vollkommen fehlt. Es bleibt also nichts anderes übrig, als sie mit Reess, De Bary und E. Chr. Hansen zu den Ascomyceten zu stellen, und ich glaube klar die zwingenden Gründe für diese Auffassung in meinem Pilzbuche dargelegt zu haben, Gründe, die sich auf die exacten Forschungen Hansens stützen.

Aber ich bin weit entfernt, mich gerade auf die Saccharomyceten zu steifen. Vielmehr kann ich mich auf Pilze, welche Brefeld selbst als wirkliche Ascomyceten ansieht, beziehen, z. B. auf *Endomyces decipiens*. Die genauen Abbildungen, die Brefeld (l. c. Taf. I, Fig. 22—25) von diesen giebt, lassen deutlich erkennen, dass die Asci bald birnförmig, bald stumpf dreieckig, bald ellipsoïdisch, bald sitzend, bald kurz gestielt, bald länger als breit, bald breiter als lang erscheinen. Aehnlich verhält es sich mit *Taphrina rhizophora*, wiederum nach Brefeld's eigenen Figuren (l. c. Taf. I, Fig. 30 u. 31, 1—4). Auch hier finden wir bald stark verlängerte, bald stark verkürzte, bald schmale bald breite, bald am Scheitel gerundete bald abgestutzte, bald keulige bald cylindrische, bald mit kurzer und stumpfer, bald mit verlängerter und zugespitzter Basis versehene Formen. Das möchte ich aber keine constante, bestimmte Form nennen. Ist dagegen nicht das exakt-kugelige Mucorsporangium ein viel constanter geformtes Gebilde und variirt das Schwärm-Sporangium von *Leptomitus pyriferus* oder das Oosporangium von *Saprolegnia Thuretii* etwa gestaltlich mehr als der *Endomyces*- oder *Taphrina*-Ascus?

Als einen weiteren Unterschied zwischen den Schläuchen der Ascomyceten und den Sporangien der Phycomyceten führt Brefeld an, dass jene bei derselben Species in Bezug auf Grösse stets gleich, diese dagegen stets ungleich seien.

Auch diese Behauptungen stehen, wie mir scheint, mit den Thatsachen nicht recht in Einklang. Ich habe besondere Untersuchungen an gewissen Ascomyceten vorgenommen, deren Sporenzahl in den Schläuchen wechselt und dabei gefunden, dass diejenigen reifen Ascen, welche weniger Sporen enthalten, geringere Dimensionen zeigen als solche, welche mehr Sporen bildeten. In eklatanter Weise lässt sich dies an der Flechte *Pertusaria leioplaca* zeigen, deren 4sporige reife Schläuche nicht unbeträchtlich kürzer erscheinen, als die 6sporigen eben so weit

entwickelten. Ein Gleiches fand ich für die 2sporigen und 4sporigen Asci von *Pertusaria colliculosa.*

Aehnliche Beobachtungen kann man auch an anderen Ascomyceten machen, die schwankende Sporenzahlen im Ascus aufweisen, z. B. an den Sordarien.

Aber selbst für Schläuche mit constanter Sporenzahl lassen sich Dimensions-Schwankungen nachweisen, so z. B. beim *Endomyces decipiens,* wo entsprechend den oben angeführten Variationen in der Gestalt die Länge und Dicke der Asci wechselt, wie dies auch aus Brefeld's sorgfältigen Abbildungen (l. c. Tab. I) hervorgeht.

Beträchtlichere Grössen-Differenzen finden sich nach E. Chr. Hansen bei den von ihm näher untersuchten *Saccharomyces cerevisiae I, S. ellipsoïdeus I* und *II* und ganz besonders bei *S. Pastorianus I, II* und *III,* wo die Länge der grössten Asci die der kleinsten oft ums 5- bis 6fache übertrifft.

Bei manchen Phycomyceten-Sporangien (z. B. *Phytophthora*) sind die Grössendifferenzen auch nicht beträchtlicher, als bei *Endomyces decipiens,* bei anderen erscheinen sie eben so erheblich wie bei den Saccharomyceten, bei noch andern (z. B. *Dictyuchus-, Achlya-, Saprolegnia*-Zoosporangien, *Mucor, Saprolegnia*-Oosporangien) kann man noch grössere Schwankungen wahrnehmen.

Endlich ist auch der Satz Brefeld's, dass die Askensporen eine bestimmte, stets wiederkehrende Form und Grösse zeigen, die Sporangien-Sporen dagegen nach Form und Grösse beträchtlich schwanken sollen, durchaus nicht mit exacten Messungen, die in dieser Richtung vorgenommen wurden, in Einklang zu bringen. Jeder Mycologe, der einmal Messungen an den Schlauchsporen irgend welcher Species vorgenommen hat, wird mir hierin sicher beipflichten. Selbstverständlich ist dabei ganz abzusehen von Abort-Erscheinungen, wie sie Woronin neuerdings in seiner schönen Sclerotinien-Arbeit in so ausgesprochener Weise vorgefunden hat und wie sie auch z. B. bei den Tuberaceen so häufig sind; ich lasse ferner alle diejenigen Species beiseite, deren Sporen schon im Ascus zu keimen vermögen und sich dabei vorher mehr oder minder beträchtlich vergrössern können. Ich will mich vielmehr nur auf solche Arten beziehen, deren Schlauchsporen im Ascus selbst niemals zu keimen vermögen, z. B. auf Ascoboleen und Sordarien, deren Sporen, wie es scheint, immer erst durch den Thierkörper gehen oder sonstwie besonders behandelt sein müssen, ehe an ihnen Keimungsvorgänge eintreten. An solchen Objecten haben die Untersuchungen Woronin's, Winter's, E. Chr. Hansen's, Boudier's u. A. vielfache Variationen in Grösse und Gestalt längst nachgewiesen. Man sehe sich nur einmal die so sorgfältigen Bilder an, welche Hansen von den fimicolen Ascomyceten Dänemarks geliefert hat, in denen gerade die hier in Betracht kommenden Variationen ausdrücklich mit berücksichtigt sind, und man wird fast bei jedem Vertreter das Gesagte bestätigt finden. Ich mache diesen Hinweis natürlich nur mit Rücksicht auf diejenigen, welche keine eigene

Anschauung über diese Objecte gewonnen haben; für den Mycologen bedarf es selbstverständlich eines solchen Hinweises gar nicht.

Aus vorstehenden Darlegungen geht hervor, dass Brefeld's Ansicht, nach welcher der Ascus im Gegensatz zum Sporangium der Phycomyceten „nicht mehr schwankend in Gestalt und Sporenzahl, sondern typisch und bestimmt geworden sei in Grösse, Formausbildung und in der Zahl der Sporen" nicht mit den Thatsachen übereinstimmt. Diese Thatsachen sind, nochmals zusammengefasst, folgende:

1. Es giebt unter den Ascomyceten viele Species, bei welchen die Zahlen der fertigen Ascosporen wie der Sporen-Anlagen mehr oder minder erhebliche Schwankungen erkennen lassen, während andere Species eine constante Sporenzahl aufweisen.
2. Es giebt unter den Phycomyceten Species, wo die Zahl der Sporen im Sporangium constant ist, andere wo sie wenig schwankt, noch andere, wo sie bedeutenderen Schwankungen unterliegt, als bei den Ascomyceten.
3. Beim Ascus derselben Art treten vielfach Schwankungen in Gestalt und Grösse auf, die je nach den Species mehr oder minder auffällig sind.
4. Die Gestalt der Sporangien ist bei manchen Phycomyceten constant, bei andern unterliegt sie nicht grösseren Schwankungen als beim Ascus, bei noch anderen sind die Schwankungen im Vergleich zum Ascus beträchtlichere.
5. Die Grösse der Sporangien ist bei manchen Phycomyceten nicht erheblicher schwankend als beim Ascus, bei anderen treten stärkere Schwankungen auf.

Es ist mithin unmöglich, mittelst der von Brefeld aufgestellten Momente eine Unterscheidung zwischen Ascus und Sporangium zu treffen.

Man müsste also nach anderen Momenten suchen. Es wäre daran zu denken, ob nicht ein Unterschied in der Entwickelung des Sporangium- und des Ascus-Inhalts existire, also in der Art der Sporenbildung beider. Allein die Untersuchungen in dieser Richtung haben bisher kein positives Ergebniss geliefert. Brefeld selbst hebt dies p. 71 ausdrücklich hervor, indem er sagt, „in der Sporenbildung kann der Unterschied zwischen einem Ascus und einem Sporangium nicht gegeben sein." In ähnlicher Weise hat sich auch schon De Bary (Saprolegnien) geäussert. Nun wäre es ja wohl möglich, dass sich in Zukunft doch irgend ein fassbarer Unterschied zwischen diesen beiden Organen auffinden liesse, aber vorläufig fehlt er uns noch.

Wenn man aber vorderhand zwei Dinge nicht unterscheiden kann, so ist es vorderhand auch nicht möglich, eine Mittelform zwischen Beiden aufzustellen, im vorliegenden Falle die „askenähnlichen Sporangien", welche die neue Brefeld'sche Familie der Halbschläucher (Hemiasci) characterisiren sollen.

Die eingangs dieser Bemerkungen aufgestellte Frage: Ist es berechtigt, die Familie der Hemiasci aufzustellen? würde hiernach zu verneinen sein.

Da nun nach den oben dargelegten Gründen auch der Begriff der Halbbasidier (Hemibasidii) nicht aufrecht erhalten werden kann, so folgt, dass die ganze Hauptgruppe der Mesomyceten Brefeld's, die sich ja aus den Hemiasci und Hemibasidii zusammensetzt, ebenfalls unhaltbar ist.

Die hier vorgetragenen Ansichten und Zweifel, die mir unmittelbar nach dem Erscheinen des citirten Brefeld'schen Heftes gekommen sind, hatte ich zunächst nicht die Absicht zu veröffentlichen, denn ich hoffte, dass sich im Laufe der Zeit Brefeld's Anschauungen doch wohl etwas ändern würden.

Nun sind aber in neuerer Zeit Schriften erschienen, welche diese Anschauungen in einer Weise darstellen und betonen, wie sie Brefeld selbst wahrscheinlich gar nicht gewünscht hat: Es werden nämlich die Ansichten des genannten Forschers geradezu als begründete Lehrsätze hingestellt.

Von der Ueberzeugung durchdrungen, dass diese Art der Behandlung der Sache auf Studirende und angehende Botaniker unter Umständen recht schädlichen Einfluss ausüben kann, habe ich es für meine Pflicht gehalten, darauf hinzuweisen, dass jene Lehrsätze mit den vorliegenden Thatsachen nicht vereinbar sind.

Ueber die eigenthümlichen Structurverhältnisse und den Entwickelungsgang der Dictyosphaerium-Kolonieen

von

W. Zopf.

(Hierzu Tafel I.)

Dictyosphaerium Ehrenbergianum stellt eine rein chlorophyllgrüne Alge (Chlorophycee) dar, die man mit Nägeli[1] bisher der Familie der Palmellaceen zureihte.[2] Sie tritt, soweit bekannt, stets in mikroscopisch kleinen rundlichen Schleimkolonieen auf.

Ihr Entdecker Nägeli giebt an, dass diese Kolonieen im Vergleich zu anderen Palmellaceen einen eigenthümlichen zierlichen Bau besitzen: Betrachte man sie nämlich im fertigen Zustande, so sähe man, dass die zahlreichen grünen Zellchen zu einer peripherischen Schicht von Hohlkugelform angeordnet erscheinen und man gewahre feine „Fäden", welche vom Centrum des Ganzen ausgehend die Schleimmasse nach Art von Radien durchsetzten und sich wiederholt dichotom verzweigten. An den äussersten Aesten sässen die grünen Zellen.[3]

---

1) Gattungen einzelliger Algen. Zürich 1849. p. 72—74.

2) Vgl. auch: Kryptogamen-Flora von Schlesien — Algen, bearbeitet von O. Kirchner, p. 105 und Falkenberg, Die Algen im weitesten Sinne in Schenk's Handbuch der Botanik Bd. II. p. 280.

3) Die ausführlichere Fassung der Nägeli'schen Charakteristik betreffs des Baues der Kolonieen lautet folgendermassen: In der homogenen Gallerte bemerkt man zarte Fäden, welche einem im Innern der Hohlkugel liegenden Netzwerk ähnlich sehen. Bei genauerer Untersuchung zeigt sich aber, dass sie nicht netzförmig verbunden sind, sondern von dem Centrum ausstrahlen und sich nach aussen hin verzweigen. Die einzelnen Enden gehen zur Mitte der inneren Fläche jeder Zelle. Verfolgt man diese Fäden von aussen nach innen, so bemerkt man, dass zuerst diejenigen von je zwei Schwesterzellen sich in einen Zweig vereinigen, dass dann je zwei Zweige, welche Schwesterzellen der nächstfrüheren Generation repräsentiren, sich wieder zu einem Zweige vereinigen u. s. w. Leitet man aus diesen Erscheinungen die Genesis der Fäden ab, so ergiebt sich, dass zuerst die zwei Zellen, welche durch Theilung einer Uebergangszelle entstehen, wenn sie sich von einander trennen, durch einen Faden verbunden bleiben; — dass dann ihre zwei Tochterzellen, wenn sie sich von einander entfernen, durch je einen Zweig mit dem Faden der Mutterzelle zusammenhängen u. s. f. So viele Generationen, so viele Verzweigungen. Dabei ist zu bemerken, dass wie die Generationsreihe nicht Glied um Glied gleich verläuft, sondern je zwei Generationen (durch kreuzweise Theilung zusammengerückt werden, so auch die Fadenstücke nicht gleich lang sind, sondern dass in der Regel auf ein langes ein kurzes folgt, sodass die Theilung, statt dichotomisch, oft beinahe tetrachotomisch zu sein scheint.

Zur Erklärung dieser merkwürdigen Structurverhältnisse zieht Nägeli *Volvox* und *Gonium* heran, deren plasmatische Verbindungsstränge ihm das Analogon für die Fadensysteme des *Dictyosphaerium* zu sein scheinen.[1] Doch meint er schliesslich, das Wesen dieser Bildung sei noch räthselhaft.

Später hat meines Wissens Niemand dieses Räthsel zu lösen gesucht. Da sich mir die Alge im Jahre 1885 in Salzlachen am Salzigen See bei Oberröblingen darbot,[2] so glaubte ich die Gelegenheit zur Prüfung jener Frage nicht vorübergehen lassen zu sollen.

Während Nägeli seine Untersuchungen an fertigen Kolonieen machte, wählte ich den entwickelungsgeschichtlichen Weg, indem ich die Kolonieenbildung ab ovo verfolgte.

Ich bediente mich dazu einfacher Deckglaskulturen: Es wurden in dünne Wasserschichten einige wenige kleine Kolonieen der Alge eingesät, die Deckgläser auf Objectträger mit Ausschliff gelegt und ihre Ränder zur Verhinderung der Verdunstung mit Vaseline verstrichen. Es gelang die Alge zu schönster Entwickelung zu bringen und da die Kulturen vollständig frei von Spaltpilzen oder sonstigen Störungen blieben, etwa $1^1/_2$ Monate zu unterhalten.[3]

Den Ausgangspunkt der Beobachtung bildete jedesmal eine einzelne Gonidie, die sich von einer zur Aussaat gebrachten Kolonie unter meinen Augen abgelöst hatte. Sie wurde unter dem Mikroskop fest eingestellt, und nun in ihrer Entwickelung continuirlich verfolgt.

Sobald sich eine solche Gonidie von der Mutterkolonie abgelöst hat, setzt sie sich in der Nähe derselben an der Fläche des Deckglases fest und umgiebt sich alsbald — sie ist anfangs hautlos — mit Membran.

Ihre Gestalt ist niedergedrückt-kugelig oder sehr kurz ellipsoïdisch (Taf. I, Fig. 1. 2). Man kann an einer solchen Zelle stets einen deutlich dorsiventralen Bau erkennen. Derselbe prägt sich insbesondere darin aus, dass der mantelförmige Chlorophor nur den allerdings grösseren unteren Theil der Zelle einnimmt, die Scheitelregion aber frei lässt, weil er nach dieser Richtung hin mehr oder minder deutlich ausgebuchtet, etwa nierenförmig, erscheint (Taf. I, Fig. 1. 2). Der das Pyrenoïd umschliessende Stärkeheerd scheint immer mehr in der ventralen Hälfte des Inhalts zu liegen und wird von dem sonstigen Inhalt meist verdeckt.

---

1) Er sagt p. 74: „Suchen wir nach Analogien für diese Fäden, so finden wir sie bei *Volvox* und bei *Gonium pectorale*, welche wohl ebenfalls zu den einzelligen Algen gehören; bei diesen beiden Gattungen verbinden sie die neben einander liegenden Zellen direct. Bei grossen Formen von *Chroococcus* können die absterbenden Zellen durch einen dünnen Strang vereinigt sein. Bei *Sirosiphon*-Arten sah ich mehrmals die durch breite Hüllmembran getrennten, lebenskräftigen Zellen durch farblose zarte Fäden verbunden."

2) Sonst ist sie, wenn ich recht unterrichtet bin, nur in Süsswasser gefunden worden.

3) In einer Sitzung der naturforschenden Gesellschaft zu Halle 1887, wo ich über den Gegenstand vortrug, wurden diese schönen Kulturen demonstrirt.

Die schon erwähnte Festheftung der Gonidie begünstigt den Verfolg ihrer Entwickelung. Man sieht sie zunächst sich etwas vergrössern, namentlich auch in der Querrichtung, worauf sich der Inhalt, und zwar senkrecht zur Querrichtung, in zwei Hälften theilt, deren jede zu einer Gonidie wird (Taf. I, Fig. 1).

Damit ist die bisher noch nicht bekannte Thatsache constatirt, dass bei *Dictyosphaerium* eine Sporangienbildung vorkommt. Es bleibt aber gewöhnlich nicht bei der einfachen Zweitheilung des Inhalts, sondern jede Hälfte theilt sich meistens nochmals und zwar ebenfalls in senkrechter Richtung, sodass man die 4 Theilstücke vom Pole aus neben einander liegen sieht (Taf. I, Fig. 4A). Später runden sie sich alle 4 zu Gonidien ab. Wenn, wie es häufig der Fall ist, von den beiden Theilhälften bloss die eine nochmalige Theilung erfährt, resultiren natürlich Sporangien mit nur drei Gonidien. Hin und wieder unterbleibt eine Theilung des Sporangien-Inhalts gänzlich. Letzterer wird dann, indem er sich von der Wandung zurückzieht und sich abrundet, zur einzigen grossen Spore.

Beobachtet man nun ein zweisporiges Sporangium weiter, so sieht man, dass die Membran sich schliesslich und zwar in der Scheitelregion, öffnet; die beiden Gonidien liegen jetzt als gerundete Körper frei, aber angeheftet an dem Rande der Sporangienhaut (Taf. I, Fig. 1C, 2B). Als ich dann auf einen dreisporigen Behälter eingestellt hatte, sah ich, dass sich derselbe ebenfalls öffnete, und alsbald alle drei Gonidien gleichfalls am Rande der entleerten Haut festsassen (Taf. I, Fig. 3A). Den nämlichen Vorgang sah ich sich an einem 4sporigen Sporangium vollziehen, nur dass hier 4 Gonidien sich am Sporangienrande festsetzten (Taf. I, Fig. 4B).

Bei solchen Beobachtungen kann es Einem nicht entgehen, erstens dass die Gonidien nach der Oeffnung des Sporangiums alsbald eine Drehung machen, die meist etwa 90° beträgt, und zwar erfolgt diese Wendung in dem Sinne, dass die hellen Scheitel der Gonidien, die im Sporangium einander zugewandt lagen, sich von einander abwenden (Taf. I, Fig. 1C, 2B); zweitens dass die Gonidien bei dieser Bewegung einen Zug auf die zarte Sporangienhaut ausüben, welche eine mehr oder minder ausgesprochene Aenderung in der Form derselben herbeiführen (Fig. 2B, 3A, 4B). Auf den ersten Anblick erscheint daher die Membran des eben entleerten Sporangiums sternförmig. Sitzen ihr 3 Gonidien an, so erscheint der Stern dreistrahlig (Taf. I, Fig. 3A), sind vier aufgeheftet, zierlich vierstrahlig (Taf. I, Fig. 4B). In Fällen, wo nur 2 Gonidien auf dem Rande sassen, blieb die Becherform bisweilen erhalten (Taf. I, Fig. 1C), während sonst auch hier eine Formänderung eintrat (Taf. I, Fig. 2B). Die Sporangienhäute werden dabei übrigens nicht etwa flächenförmig, sondern bleiben immer noch Hohlgebilde (meist etwa einem drei- oder vierzähligen Blüthenkelche vergleichbar), wie man in der Seitenansicht beobachten kann. (Man vergleiche die nämlichen, aber secundären Bildungen in Taf. I, Fig. 5ab.) Mit ihrem Grunde sind sie (dem Deckglas) angeheftet.

Die Gonidien scheinen, wie schon erwähnt, unmittelbar nach ihrer Geburt und ihrer Festheftung am Sporangienrande sich stets in der Weise zu orientiren, dass ihre farblose Seite sich von dem Sporangium-Innern hinwegwendet. Sie umgeben sich bald mit Membran und werden ihrerseits zu Sporangien, die nun durch senkrechte Theilung wiederum 1—4 Gonidien hervorbringen. Nach ihrem Freiwerden siedeln sich Letztere ebenfalls auf dem Rande der Sporangienhaut an. In Taf. I, Fig. 5 ist ein Fall abgebildet, wo das ursprüngliche Sporangium 4 Tochtersporangien erzeugt hat, von denen die bei *a* und *b* dargestellten je 4, die anderen beiden nur je eine Spore erzeugten. Letztere sowohl wie die Tetraden-Gonidien sind bereits ausgetreten und auf den Rändern ihres Behälters festgeheftet. Diese Kolonie hat also bereits Gonidien zweiter Generation producirt. Die Haut ihres primären Sporangiums ist 4strahlig, die der secundären Sporangien *a* und *b* ebenfalls 4strahlig, die der andern beiden secundären Sporangien zusammengedrückt becherförmig.

Die Kolonieen können aber ein noch viel weitergehendes Wachsthum erfahren, indem nach dem geschilderten Modus eine dritte, dann eine vierte, unter Umständen selbst eine fünfte bis sechste Gonidien-Generation erzeugt wird. An dem in Taf. I, Fig. 6 dargestellten Exemplare, das zu den mittelgrossen gehört, ist es bereits zur Bildung der 4. bis 5. Generation gekommen. Je grösser die Kolonieen werden, destomehr nimmt die Schwierigkeit zu, festzustellen, welche Generationszahl erreicht ist.

Es hängt dies mit dem Umstande zusammen, dass die leeren Sporangienhäute, die man bei Kolonieen, welche erst die zweite oder dritte Gonidien-Generation aufweisen, in ihrer Form meist noch so wohlerhalten vorfindet (Taf. I, Fig. 5), bei zunehmendem Wachsthum der Kolonie starke Gestalt- und vielfach auch Lage-Veränderungen erleiden können. Insbesondere wirken strickartige Zusammendrehung sowie Zerrungen, welche ältere Häute erfahren (Taf. I, Fig. 6), bei jener Beurtheilung oft so störend, dass es sich nur um eine Schätzung der Generationszahl handeln kann. Dazu kommt noch, dass die Vergallertung der entleerten Membranen sich mit dem Alter noch steigert und damit auch die Zartheit dieser Theile in dem Masse vergrössert wird, dass man zur Sichtbarmachung des Häute-Systems in allen seinen Theilen, zu Färbungsmitteln greifen muss. Zu empfehlen ist die Anwendung von Methylenblau, durch welches die Häute sehr deutlich werden, während die Gallerte ungefärbt bleibt (Taf. I, Fig. 5. 6).

Aus vorstehenden Beobachtungen geht die für die Morphologie der Alge wichtige, bisher unbekannte Thatsache hervor, dass die Kolonieen Systeme aufeinander sitzender Sporangien-Generationen darstellen, von denen alle bis auf die jüngsten entleert sind. Diese Sporangien-Stöcke zeigen, da sie zunächst angeheftet sind, einen Gegensatz von Basis und Scheitel. Es ist daher nicht zutreffend, wenn Nägeli und alle späteren Beobachter annahmen, dass die Kolonieen freischwimmend seien und centrisch gebaut, indem die Individuen der letzten Generation so angeordnet wären, dass eine „Hohlkugel“ zu Stande käme.

Viel passender könnte man sie mit Korallenstöcken oder zutreffender noch mit den Kolonieen der Alge *Oocardium* vergleichen.

Dem oben geschilderten, direct beobachteten Entwickelungsgange entsprechend ist die Form der am Deckglas sitzenden Systeme etwa dem halbschematischen Bilde des weiter unten beigefügten Holzschnittes entsprechend, also etwa die eines Kugelsectors oder eines breiten Kegels, der mit seiner Spitze angeheftet ist. Dabei ist indessen vorausgesetzt, dass die Entwickelung der Kolonie in zierlicher Regelmässigkeit erfolgt (etwa wie in Taf. I, Fig. 5). Das geschieht aber häufig durchaus nicht. Vielmehr kommen vielfach Unregelmässigkeiten vor, die bedingt sind dadurch, dass die Sporangien eine ungleiche Zahl von Gonidien entwickeln und die einen oft früher als die anderen zu neuen Sporangien auswachsen. Um für solche Unregelmässigkeiten, wie sie schon an wenig entwickelten Systemen auftreten und darum noch klar zu übersehen sind, Beispiele zu geben, sind die Figuren 7 und 8 auf Taf. I gewählt, wo man die Tendenz zu einseitiger und unregelmässiger Entwickelung deutlich ausgeprägt findet.

Wie in der Kultur am Deckglas so sind auch draussen die Kolonieen an andern Algen oder sonstigen im Wasser befindlichen Körpern zunächst angeheftet. Später oder früher können sie sich aber ablösen, und jetzt erst darf man von freien Kolonieen reden. In diesem Zustande verändern sie ihre Form, indem sie sich mehr runden zu ellipsoïdischen oder eiförmigen oder stark verlängerten Körpern (Taf. I, Fig. 6). Diese Gestaltsänderungen scheinen dadurch zu Stande zu kommen, dass die Gonidien resp. Sporangien der letzten Generation infolge ihrer Schwere sich etwas anders lagern müssen und dabei Verschiebungen und Drehungen zu Stande kommen, die sich deutlich darin äussern, dass die Sporangienhäute, namentlich die der ältesten Generationen, in ihrer Form stark verändert werden, indem sie oft bis zur Unkenntlichkeit verzogen oder strickartig zusammengedreht oder sonstwie modificirt werden (Taf. I, Fig. 6 pr) und so die Auffindung der Häute der successiven Generationen mehr oder weniger unmöglich machen. Solche freischwimmende Kolonieen zeigen dann etwas Aehnlichkeit mit einer Hohlkugel oder einem Hohlellipsoïd, nur sind die Individuen der letzten Generationen durchaus nicht immer in derselben Hohlfläche gelegen, wie Nägeli dies annahm.

Weiterhin muss die Thatsache besonders hervorgehoben werden, dass die Individuen (Gonidien) der successiven Generationen allmählich an Grösse abnehmen, die letzte Generation also immer die kleinsten Zellen besitzt. An mittelgrossen und grösseren Kolonieen geht diese Reduction bis zu einem Drittel selbst einem Viertel der ursprünglichen Zellgrösse (Taf. I, Fig. 6). Es kommen aber von dieser Regel auch häufig Ausnahmen vor. So sieht man z. B. in Taf. I, Fig. 5 die Gonidien der zweiten Generation von recht ungleicher Grösse. Vergleiche die von *a* und *b* mit den links und rechts befindlichen. Letztere erscheinen deshalb grösser, weil sich der Inhalt der Sporangien, in denen sie entstanden, nicht getheilt hat.

Wie bereits Nägeli beobachtete, wird die Weiterentwickelung grösserer Kolonieen schliesslich dadurch sistirt, dass die Gonidien der letzten Generation hinweg wandern. Ein Ausschwärmen habe ich aber eben so wenig wie Nägeli beobachten können, obschon die Alge einen Schwärmzustand besitzt. (Vergl. Kirchner l. c.)

In meinen Objectträger-Kulturen trat jene Aufhebung des Kolonieen-Zustandes häufig schon sehr früh ein, wie ich an zwei Beispielen erläutern will.

Taf. I, Fig. 4A stellt ein Sporangium mit seinen 4 Gonidien dar. Im nächsten Stadium (Fig. 4B) sieht man, dass die 4 Gonidien ausgetreten sind und sich auf dem Rande der sternförmig collabirten Sporangienhaut festgesetzt haben, um bald darauf ihrerseits zu Sporangien zu werden (Fig. 4C). Die Gonidien der Letzteren wanderten nun aber kurze Zeit nach dem Aufbrechen der Behälter davon, und so finden wir dieselben im folgenden Stadium (Fig. 4D) in weitem Umkreis um das System der Sporangienhäute herumgelagert. Die Weiterbildung der Kolonie ist damit natürlich sistirt; die freigewordenen Gonidien bildeten den Ausgangspunkt für je eine neue kleine Kolonie. (Man beachte übrigens bei Fig. 4D, wie wenig die Sporangienhäute in ihrer Form alterirt werden, wenn sich die Gonidien nicht auf ihnen anheften. Solche Häute erinnern in ihrer Form an manche Chytridiaceen-Sporangien.) In Taf. I, Fig. 3A—C ist eine zweite Entwickelungsreihe dargestellt, welche einen ähnlichen Fall veranschaulicht. Fig. 3A zeigt ein entleertes Sporangium mit drei bereits festsitzenden Gonidien. Im nächsten Stadium (3B) ist jede derselben selbst zu einem Sporangium geworden; *a* hat 3, *b* und *c* nur je 1 Gonidie erzeugt. Etwas später sind, wie Fig. 3C zeigt, 4 der Zellen bereits hinweg gewandert, die 5. entfernte sich später ebenfalls. Auch hier ist also die Kolonieenbildung sehr frühzeitig sistirt. Es ist nur zur Bildung zweier festsitzender Generationen gekommen.

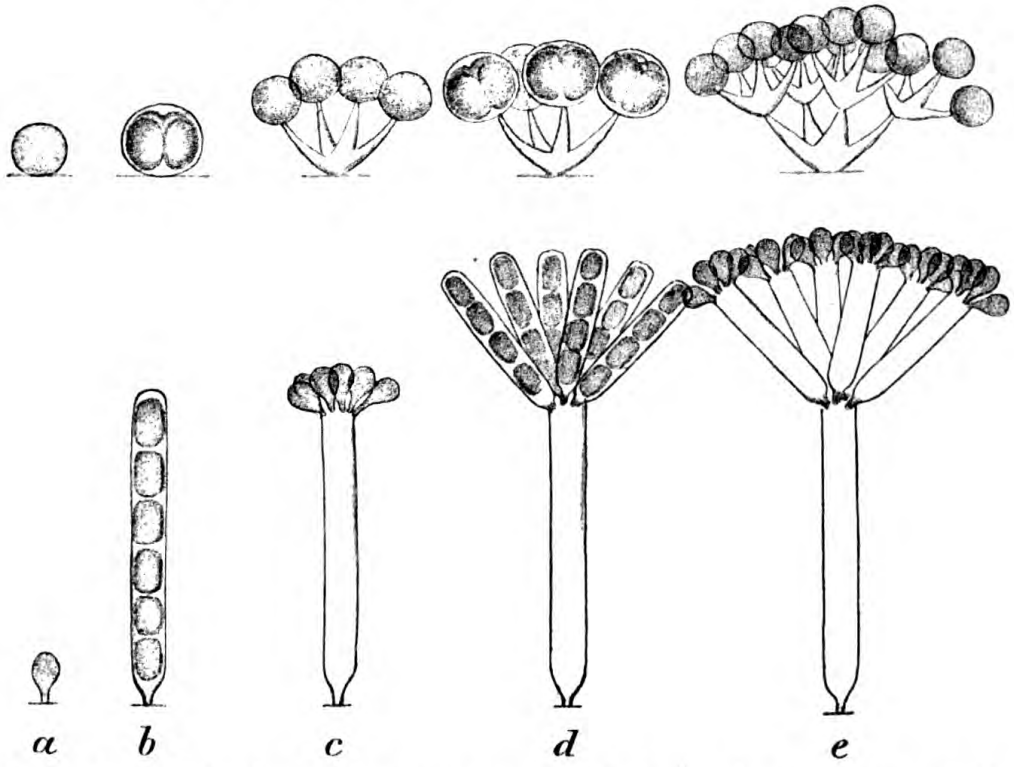
Die gonidienlos gewordenen Hautsysteme vergallerten allmählich so stark, dass sie schliesslich fast oder auch ganz unkenntlich werden.

Die genauere Entwickelungsweise der Gallert bei Gelegenheit der obigen Untersuchungen über den Aufbau der Kolonieen gleichzeitig mit festzustellen wollte mir nicht gelingen, da die Gallertsubstanz sich zu zart erwies, als dass sie unter den genannten Kulturverhältnissen deutlich hätte wahrgenommen werden können. Hierin liegt auch der Grund, dass ich dieselbe in meinen Bildern nicht angedeutet habe.

Fassen wir nun die Ergebnisse vorstehender Untersuchung zusammen, so lauten dieselben folgendermassen:

1. *Dictyosphaerium Ehrenbergianum* ist eine in Sporangien fructificirende Alge.
2. Sie bildet Stöcke, mit festgehefteter Basis und freiem Scheitel.
3. Die Stöcke bestehen aus Systemen aufeinander sitzender successiver Generationen.

4. Dieselben tragen den Character von zwei- oder mehrfach zusammengesetzten Dolden.
5. Nur die Glieder der jeweiligen Endgeneration sind lebensfähig. Von den vorausgehenden Generationen sind nur noch die leeren Häute vorhanden, welche stark vergallerten.
6. Die anfangs festsitzenden Stöcke können sich früher oder später ablösen und werden dann frei schwimmend angetroffen. In diesem Zustande können durch Verschiebungen der Elemente Formänderungen an den Kolonieen auftreten, sodass mehr gerundete Familien entstehen.
7. Die Gonidienbildung in den Sporangien findet durch Theilung nach zwei Richtungen statt, welche aufeinander und zur Querrichtung des Sporangiums senkrecht stehen.



Vergleichende halbschematische Darstellung des Aufbaues der Kolonieen und der Generationsfolge von *Dictyosphaerium Ehrenbergianum* Nägeli (oben) und *Sciadium Arbuscula* A. Braun (unten). Man ersieht aus derselben, dass zwischen beiden Gattungen bezüglich jener beiden Momente eine grosse Aehnlichkeit herrscht.

Aus diesen Ergebnissen folgt, dass die Annahme Nägeli's und der späteren Algologen, nach welchen der Bau der *Dictyosphaerium*-Kolonieen ein centrischer wäre, und vom Centrum aus feine sich verzweigende Fäden nach der Peripherie hin strahlten, welche an ihren Enden die Gonidien trügen, nicht mehr aufrecht erhalten werden kann.

Es wird sich nunmehr darum handeln, nach einem natürlichen Anschluss des *Dictyosphaerium* an andere Algen zu suchen. Und

da meine ich zunächst in dem Aufbau der Stöcke der Braun'schen Gattung *Sciadium* eine frappante Aehnlichkeit mit dem der *Dictyosphaerium*-Stöcke zu erblicken.

Betrachten wir dieselbe näher unter Benutzung der beigefügten halbschematischen Bilder. Von der Gonidie (a) ausgehend gestaltet sich der Entwickelungsgang beider Algen folgendermassen: Die Gonidie setzt sich fest, umgiebt sich mit Membran, vergrössert sich und wird zum Sporangium (b), dessen Form bei *Dictyosphaerium* rundlich, bei *Sciadium* gestreckt (cylindrisch) erscheint. Dasselbe erzeugt bei *Dictyosphaerium* 1—4, bei *Sciadium* 6—20 Gonidien. Nach erfolgter Oeffnung treten die Gonidien aus und heften sich am Rande des Behälters an (c). Hierauf wachsen sie ihrerseits zu (sekundären) Sporangien heran (d), welche meist etwas kleiner erscheinen, als das erste Sporangium. Sie öffnen sich dann ihrerseits und entlassen die Gonidien, die sich wiederum an der Mündung ansetzen (e). Darauf wachsen auch diese zu Sporangien (tertiären) heran u. s. f. Die zuletzt entstandenen Gonidien können ausschwärmen.

Aus diesem Vergleich ersieht man, dass der Aufbau der Kolonieen bei beiden Algen nach ganz demselben Modus erfolgt. Die Unterschiede, die zwischen *Dictyosphaerium* und *Sciadium* existiren, liegen in mehr untergeordneten Punkten, als da sind: Theilungsrichtung des Sporangiuminhalts (bei D. senkrecht zur Querrichtung der Sporangien, bei S. parallel der Querrichtung), Form der Sporangien (bei D. rundlich, bei S. cylindrisch) und Vergallertungsfähigkeit der Sporangienhäute (bei D. sehr ausgesprochen, bei S. fehlend).

Nach den neuerdings von Reinsch[1] publicirten Angaben und Zeichnungen kann es keinem Zweifel unterliegen, dass die Gattung *Actidesmium* Reinsch sich bezüglich des Aufbaues ihrer Stöcke unmittelbar an *Sciadium* anlehnt. [Im Grunde ist sie von letzterem Genus nur durch die Production von Dauersporen (neben den Gonidien) zu unterscheiden, welche Sporenform für *Sciadium* noch nicht bekannt ist.]

Daraus folgt aber, dass *Dictyosphaerium* auch mit *Actidesmium* nahe verwandt ist.

Soweit sich aus Nägeli's[2] Beschreibung und Abbildung von *Oocardium* ein Schluss ziehen lässt, weist auch diese noch eingehenderer Untersuchung bedürftige Gattung bezüglich des Aufbaues ihrer Kolonieen mit *Dictyosphaerium, Sciadium* und *Actidesmium* eine unverkennbare Aehnlichkeit auf. Ganz das Nämliche gilt für *Cosmocladium* Bréb., nach der Beschreibung, welche Kirchner[3] davon entwarf.

Auf Grund dieser Aehnlichkeiten im Aufbau der Stöcke glaube ich annehmen zu dürfen, dass zwischen den Gattungen *Dictyosphaerium, Cosmocladium, Oocardium, Sciadium, Actidesmium* eine nähere Ver-

---

1) Ueber das Protococcaceen-Genus *Actidesmium* Flora 1891 p. 445 ff. und Taf. 14 und 15.

2) Gattungen einzelliger Algen. Zürich 1849, p. 74 und Taf. III.

3) l. c. p. 105.

wandtschaft besteht, die vielleicht zur Vereinigung in eine Familie (Sciadiaceen) führen dürfte. Bisher standen *Sciadium* und *Actidesmium* bei den Protococcaceen, *Dictyosphaerium, Oocardium* und *Cosmocladium* bei den Palmellaceen.

Die Familie würde nach dem Gesagten folgendermassen zu characterisiren sein:

Sciadiaceen Zopf.

Stöcke mit Gegensatz von Basis und freiem Scheitel bildend, der Unterlage entweder dauernd angeheftet *(Sciadium, Actidesmium, Oocardium)* oder früher oder später unter Umständen sich ablösend und dann freischwimmend *(Dictyosphaerium, Cosmocladium)*.

Genesis der Stöcke: Die Gonidie setzt sich fest und wächst zu einem Individuum heran, das sich zum Sporangium entwickelt. Nach Oeffnung desselben treten die Gonidien aus, heften sich am Rande der Sporangienhaut in gewisser Ordnung an und wachsen zu neuen Individuen heran, die ebenfalls zu Sporangien werden. Die in diesen entstandenen Gonidien treten gleichfalls aus, benutzen den Mündungsrand ihrerseits als Stützpunkt und entwickeln sich gleicher Weise zu sporangienbildenden Individuen. Dieser Prozess wiederholt sich so lange, bis die zuletzt gebildeten Gonidien sich als schwärmende oder nicht schwärmende ablösen und damit zum Ausgangspunkte für die Bildung neuer Stöcke werden — oder in den Dauerzustand übergehen (der bisher nur bei *Actidesmium* Reinsch aufgefunden wurde).

Die Stöcke bestehen demnach aus begrenzten Systemen successiver, auf einander sitzender Generationen, genauer ausgedrückt aus Systemen entleerter Häute der successiven Generationen und je einer lebenskräftigen Endgeneration (vergl. den Holzschnitt auf p. 21). In seinen älteren Theilen ist also der Stock nur ein todtes Gebilde, ein Scheinstock — eine „Scheinfamilie" im Sinne Falkenberg's[1], der den Ausdruck für *Sciadium* zuerst anwandte.

Der Aufbau der Stöcke erfolgt etagenartig und kann etwa mit dem Typus der zusammengesetzten Dolde verglichen werden.

Die Individuen der successiven Generationen nehmen im Ganzen allmählich an Grösse ab.

Die Häute der entleerten Generationen vergallerten mehr oder minder intensiv *(Dictyosphaerium, Cosmocladium, Oocardium)*, oder der Vergallertungsprozess tritt vollständig zurück *(Sciadium, Actidesmium)*. Im ersteren Falle kann die Form der entleerten Häute mehr oder minder stark verändert werden, wobei auch noch andere Momente mitwirken *(Dictyosphaerium)*, im anderen bleibt das Hautsystem in der ursprünglichen Gestalt erhalten.

Die Theilungen des Sporangieninhalts erfolgen entweder nur nach einer Richtung des Raumes, welche dann senkrecht zur Längsachse des Sporangiums steht *(Sciadium)* oder nach 2, seltener 3 aufeinander

1) Die Algen im engeren Sinne. Schenk's Handbuch II, p. 278.

senkrecht stehenden Richtungen, die dann im Sinne der Längsachse des Sporangiums liegen *(Dictyosphaerium, Cosmocladium, Oocardium)*.

Aus dem Gesagten ergiebt sich, dass die Stöcke der Sciadiaceen eine gewisse Aehnlichkeit mit den Coenobien der Hydrodictyaceen zeigen und dadurch auf einen verwandtschaftlichen Anschluss an Letztere hindeuten.

Andererseits aber besteht ein durchgreifender Unterschied zwischen beiden Familien, insofern nämlich, als die Hydrodictyaceen-Coenobien zu keiner Zeit festsitzen, also auch keinen Gegensatz von Basis und Scheitel darbieten, vielmehr frei schwimmend sind; und ferner insoweit, als die successiven Generationen der Hydrodictyaceen sich nicht etagenartig aufeinander entwickeln und daher auch keine Scheinstöcke bilden, ein Moment, was übrigens auch schon Falkenberg l. c. p. 278 bei einem Vergleich des *Sciadium* mit den Hydrodictyaceen betont hat.

Ob etwa auch die Nägeli'sche Gattung *Mischococcus* den Sciadiaceen in obigem Sinne zuzutheilen sei, muss erst eine nähere Untersuchung dieses sonderbaren Genus lehren.

Nachträglicher Zusatz. Aus der neuerdings erschienenen Bearbeitung der Algen für Engler's und Prantl's natürliche Pflanzenfamilien habe ich nachträglich ersehen, dass N. Wille zunächst ebenfalls ganz richtig erkannt hat, dass *Dictyosphaerium Ehrenbergianum* Sporangienbildung aufweist. Den Aufbau der Kolonieen entwickelungsgeschichtlich zu verfolgen, lag aber ausserhalb des Bereiches seiner Aufgabe. Er konnte daher auch nicht zu der Auffassung gelangen, dass *Dictyosphaerium, Cosmocladium, Oocardium, Sciadium* und *Actidesmium* in einem gewissen Verwandtschaftsverhältniss stehen und musste diese Gattungen vorläufig noch getrennt von einander in verschiedenen Familien bezw. Gruppen unterbringen.

Wille theilt die Protococcoïdeen ein in:

1. Volvocaceae.
2. Tetrasporaceae.
3. Chlorosphaeraceae.
4. Pleurococcaceae.
5. Protococcaceae.
6. Hydrodictyaceae.

Dictyosphaerium wird nun von ihm zu den Tetrasporaceae gestellt zusammen mit *Physocytium, Chlorangium, Dactylococcus Apiocystis, Tetraspora, Palmodactylon, Hormotila, Hauckia, Mischococcus, Oocardium, Botryococcus.*

Sciadium dagegen stellt er zu den Protococcaceen und zwar zu den Characiaceen neben *Characium, Peroniella* und *Ophiocytium.*

Es werden also, wie bei den früheren Systematikern, *Dictyosphaerium* und *Sciadium* weit von einander getrennt.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel I.

(Sämmtliche Figuren sind bei 690facher Vergrösserung gezeichnet.)

Fig. 1. A—C. Continuirliche Entwickelungsreihe von der Gonidie A aus. Dieselbe hat sich am Deckglas festgeheftet. Bei B ist sie im Begriff, sich zum Sporangium auszubilden. Der Inhalt, der sich etwas von dem unteren Theile der Wandung zurückgezogen hat, theilt sich eben in 2 Gonidien. Bei C hat sich das Sporangium geöffnet, die beiden Gonidien sind ausgetreten und haben sich auf dem Rande der Sporangienhaut festgesetzt.

Fig. 2. A und B. Continuirliche Beobachtung: Die Gonidie A hat sich bei B zu einem Sporangium entwickelt, das sich bereits geöffnet und seine beiden Gonidien entlassen hat. Dieselben sitzen schon einige Zeit auf dem Rande der Sporangienhaut fest. Letztere ist gespalten und collabirt.

Fig. 3. A—C. Continuirliche Entwickelungsreihe, innerhalb 68 Stunden gewonnen. A. Sporangium, bereits entleert und collabirt, die Form eines dreistrahligen Sternes zeigend, mit der Rückseite festsitzend, drei festgeheftete Gonidien a. b. c. tragend. B. dasselbe Object. Gonidie a ist zum Sporangium entwickelt, das seine 3 Gonidien eben entlässt, Gonidie b hat sich ebenfalls zum Sporangium entwickelt, das aber nur eine grosse bereits ausgeschlüpfte Gonidie bildete. Gonidie c ist erst in der Entwickelung zum Sporangium begriffen. C. Dasselbe Object. Die Gonidien der Sporangien a und c haben sich abgelöst. b ist immer noch in der Entwickelung zum Sporangium begriffen. Später entliess es eine Gonidie.

Fig. 4. A—D. Continuirliche Entwickelungreihe, innerhalb mehrerer Tage gewonnen. Die kleinen Buchstaben a b c d bezeichnen correspondirende Theile. A. Ein Sporangium, dessen Inhalt sich in 4 Gonidien getheilt hat. B. Dasselbe entleert und sternförmig collabirt, die 4 Gonidien festgeheftet. C. Dasselbe Object; die 4 Gonidien sind zu eben so vielen Sporangien geworden, die je zwei Gonidien producirten. Letztere sind im Begriff, die Sporangien zu verlassen. D. Sämmtliche Gonidien sind hinweggewandert und liegen in einem weiten Kreise um das System der entleerten Sporangien herum. Die mit a b c d bezeichneten zeigen Becherform.

Fig. 5. Eine Kolonie mit Gonidien 3. Generation. Häute der entleerten Sporangien zierlich sternförmig-vierstrahlig, durch Methylenblau gefärbt.

Fig. 6. Eine etwas grössere Kolonie mit Gonidien 4. und 5. Generation, die ebenfalls durch Methylenblau gefärbten Sporangienhäute meist verschrumpft und strickartig zusammengedreht, z. B. bei pr.

Fig. 7 und 8. Kleine, unregelmässige, mehr nach einer Richtung entwickelte Kolonieen.

Zur Kenntniss der Färbungsursachen niederer Organismen

(Dritte Mittheilung)

von

W. Zopf.

Ueber Production von Carotin-artigen Farbstoffen bei niederen Thieren und Pflanzen.

1. Niedere Krebse.

Im Jahrgang 1889 der Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroscopie (Bd. VI p. 17), wo ich eine Mittheilung „über das mikrochemische Verhalten von Fettfarbstoffen und fettfarbstoffhaltigen Organen" machte, ward u. A. der Nachweis geführt, dass bei gewissen niederen Krebsen und Wassermilben, deren Körper rothe Färbung aufweist, rothe Carotin-artige Stoffe (Lipochrome, Fettfarbstoffe) vorkommen. „Es giebt, so sagte ich dort, eine Anzahl kleiner rother Krebse (Daphniden etc.) sowie gewisse rothe Wassermilben *(Hydrachna geographica),* welche nach besonderen Untersuchungen, die ich hierüber anstellte, rothe Fettfarbstoffe enthalten. Zerdrückt man ein solches Thierchen, trocknet eine ganz minimale Quantität der rothen ausgepressten Masse auf dem Objectträger ein, befeuchtet mit Schwefelsäure und legt nun das Deckglas auf, so sieht man, dass in der blau gewordenen Masse reichlich indigoblaue Kryställchen vorhanden sind. Häufig beobachtete ich, wie in den Fetttropfen, welche das Lipochrom enthalten, grosse tiefblaue Tropfen auftraten, in denen alsbald jene Krystallbildung stattfand. Selbst in kleinen Theilchen eines solchen Thierchens, einer Antenne, einem Beinchen etc. lässt sich durch das Auftreten der blauen Krystalle nach Schwefelsäure-Zusatz ein etwaiger Fettfarbstoffgehalt nachweisen." Ein Jahr später erschien in den Comptes rendus der Pariser Akademie[1] eine Abhandlung von R. Blanchard, betitelt „Sur une matière colorante des *Diaptomus,* analogue à la carotine des végétaux", in welcher dieser Forscher bezüglich des *Diaptomus bacillifer* Koelbel den gleichen Nachweis auf einem andern als dem von mir eingeschlagenen (mikrochemischen) Wege zu erbringen suchte, nämlich durch eine spectroscopische Untersuchung des extrahirten Farbstoffs und durch Reactionen an dem zuvor durch Petroläther entfetteten Rückstande des Extracts, insbesondere durch die Blaufärbung mit Schwefelsäure.

1) Tom. 110 p. 292—294.

Er kam dabei zu dem Resultate, dafs der Farbstoff eine ausgesprochene Aehnlichkeit mit gelbem pflanzlichem Carotin (dem der Mohrrübe und der grünen Blätter) habe, sowohl hinsichtlich des Spectrums seiner Lösungen, als auch der Reactionen.

Mit dieser Behauptung Blanchard's stimmen nun aber die thatsächlichen Angaben, die er bezüglich des Spectralverhaltens macht, durchaus nicht überein. Es ist ja allbekannt, dass die Carotinlösungen dadurch ausgezeichnet sind, dass sie nur gewisse Lichtstrahlgruppen in der rechten Hälfte des Spectrums absorbiren, daher ausgesprochene Bänderbildungen in diesem Theile des Spectrums aufweisen. Speciell das gewöhnliche Mohrrüben-Carotin, worauf sich Blanchard ausdrücklich bezieht, weist gerade zwei sehr characteristische Absorptionsbänder auf, das eine bei F, das andere zwischen F und G gelegen (ätherische, alcoholische oder Petroläther-Lösung). Blanchard giebt nun ausdrücklich an, dass der Farbstoff des *Diaptomus bacillifer* keine Absorptionsbänder, sondern nur eine diffuse Endabsorption in der rechten Spectrumhälfte aufweist, denn er sagt: „Il donne en effet un spectre exempt des bandes; mais dans lequel le bleu, l'indigo et violet sont obscurcis. Avec une solution moins diluée, ces mêmes couleurs sont absorbées, ainsi que la moitié droite du vert. Enfin, une solution très concentrée absorbe tout le spectre, à l'exception du rouge. Dans aucun cas, les parties visible du spectre ne présentent la moindre bande d'absorption."

Folglich hat Blanchard entweder gar keinen Carotin-artigen Körper unter den Händen gehabt, sondern einen Farbstoff, der in Bezug auf die diffuse Absorption der rechten Spectrumhälfte sowie auf die Blaufärbung durch Schwefelsäure mit dem *Chrysochinon* Liebermanns grosse Aehnlichkeit zeigt. Oder aber er arbeitete mit einem Gemische von Carotin mit einem oder mehreren anderen Pigmenten, deren Spectra sich in der Weise deckten, dass jene diffuse Absorption resultirte.

Jedenfalls bedarf hiernach die Frage nach den Färbungsursachen bei *Diaptomus* noch einer Nachprüfung.

Da sich mir im October vorigen Jahres zufällig Gelegenheit bot, schönes Material des *Diaptomus bacillifer,* aus dem Lüner See im Rhaeticon stammend, zur Untersuchung zu erhalten[1], so nahm ich diese Prüfung gern vor. In Massen zusammengehäuft zeigten die Thierchen mehr oder minder intensiv carminrothe Färbung. Unter dem Mikroscop erschienen sie durchsetzt mit Fetttropfen, die schön roth tingirt waren.

Zur Gewinnung der Farbstoffe habe ich folgendes Verfahren eingeschlagen. Da Alkohol absolutus selbst in heissem Zustande wenig Farbmaterial auszieht, so wurde die Extraction mit kochendem Aether-

---

1) Es war von Herrn Prof. F. Zschokke in Basel gesammelt und an Herrn Dr. Schmeil in Halle gesandt worden, der mir dasselbe grösstentheils zur Verfügung stellte. Später hatte Herr Prof. Zschokke die Güte, grössere Quantitäten zu senden. Ihm und Herrn Dr. Schmeil spreche ich hierdurch meinen verbindlichsten Dank aus.

Alcohol (2 Theile Alkohol und 1 Theil Aether) vorgenommen, wobei die Thiere schliesslich vollständig entfärbt werden.

Nach Verjagung des Aethers und eines Theiles vom Alkohol verseifte ich zur Zerlegung der mit ausgezogenen Fettmassen den rohen Extract durch Erhitzen mit Natronlauge (in kleinem Ueberschuss angewandt). Darauf wurde ein weiterer Theil des Alcohols vertrieben und die gebildete Seife durch Kochsalzlösung ausgesalzen. Sie sammelte sich nach reichlichem Zusatz von Wasser in tiefrothen Massen an der Oberfläche an.

Diesem Seifengemisch liess sich nun zunächst ein gelber Farbstoff entziehen, was durch Ausschütteln mit wenig Petroläther geschah. Letzterer färbte sich grünlich-gelb. Nachdem die Lösung zur Entfernung von Seifen- und Alkaliresten wiederholt mit destillirtem Wasser gewaschen war, kam sie zur spectroscopischen Untersuchung, die bei Sonnenlicht mittelst des Zeiss'schen Spectraloculars ausgeführt wurde.

Hierbei zeigte sich, dass von der verdünnten Lösung, wenn sie in gewisser Schichtenhöhe verwandt wurde, alle rothen, orangenen, gelben und violetten Strahlen, sowie der grösste Theil des Grün, ein Theil des Blau und ein Theil des Indigo durchgelassen wurden, und nur an der Grenze von Blau und Grün sowie im Indigo je ein Absorptionsband zu bemerken war. Band I gerade auf F fallend reichte etwa von $\lambda 498-479$, und zeigte das Maximum etwa bei $\lambda 487$, Band II lag in der Mitte zwischen F und G, reichte etwa von $\lambda 464-450$ und war am dunkelsten etwa bei $\lambda 457$. Ueberdies erschien Band I etwas dunkler als Band II, was sich deutlicher noch bei der Untersuchung einer minder hohen Schicht erwies. In höheren Schichten traten weiter keine Absorptionsbänder hervor (vergl. die nebenstehenden Spectrogramme, Klammer III).

Löst man den Verdampfungsrückstand der Petrolätherlösung in Schwefelkohlenstoff, so erhält man eine orangene Flüssigkeit, die ebenfalls zwei Absorptionsbänder aufweist, nur sind dieselben mehr nach links gerückt, sodass Band I bei E liegt (in 100 mm Schichtenhöhe der sehr verdünnten Lösung etwa von $\lambda 522-507$ reichend) Band II bei F (von $\lambda 491-478$). Die Bänder sind auch durch einen deutlichen Schatten verbunden.

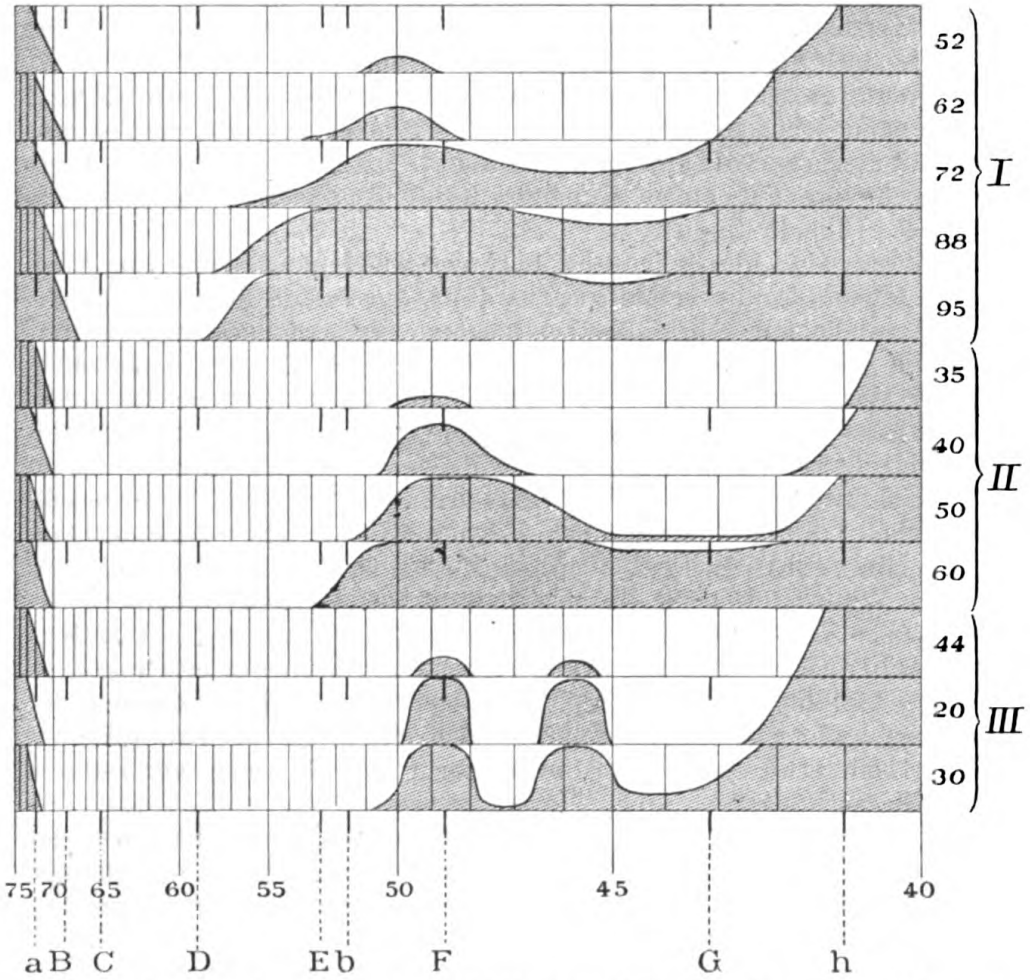
Befeuchtet man den Verdampfungsrückstand der Lösungen, der übrigens von rein gelber Farbe erscheint, mit concentrirter Schwefelsäure oder conc. Salpetersäure, so färbt er sich schön blau, doch verschwindet die Färbung namentlich im letzteren Falle ziemlich bald.

Die Gesammtheit der angeführten Eigenschaften weist mit Bestimmtheit darauf hin, dass es sich hier um einen Carotin-artigen Farbstoff und zwar um ein gelbes Carotin mit zwei Absorptionsbändern handelt.

Beim nochmaligen Ausschütteln der Seife mit Petroläther erhält man den Farbstoff ebenfalls noch frei von anderem Pigment, wogegen bei fortgesetzter Behandlung mit diesem Lösungsmittel schon ein wenig von einem rothen Pigment mit genommen wird.

Extrahirt man hierauf die Seife mit Aether, so gewinnt man zunächst ebenfalls ein Gemisch des rothen Farbstoffes mit dem eben characterisirten gelben Carotin. Diese wie zwei weitere Auszüge mit Aether wurden daher nicht weiter berücksichtigt.

Nach jener wiederholten Extraction mit Petroläther und Aether erscheint die Seife gegen früher in einer etwas anderen, nämlich reiner rothen Färbung, die etwa dem Karmin- oder Blutrot entspricht.



Erklärung beistehender Abbildung. I Rothes Carotin aus *Diaptomus bacillifer*, Spectrogramme der Schwefelkohlenstofflösung, den Gang der Absorption zeigend. II Dasselbe. Gang der Absorption in der ätherischen Lösung. III Das gelbe zweibändrige Carotin. Petroläther-Lösung in verschiedener Schichtenhöhe. — Die Zahlen rechts bezeichnen die Schichtenhöhe in mm.

Aus ihr lässt sich nun durch Zusatz von sehr verdünnter Schwefelsäure ein zweiter Farbstoff frei machen, der in darüber geschichteten Aether mit rothgelber bis schön braunrother Farbe hineingeht.

Nachdem diese Lösung mit destillirtem Wasser gewaschen, durch weiteren Aetherzusatz stark verdünnt und dann filtrirt war, zeigte sie im Spectroscop bei Sonnenlicht ein einziges breites Absorptions-

band im Grün und Blau zu beiden Seiten der Linie F. Den Gang der Absorption veranschaulicht die beigefügte Spectrogramm-Gruppe II.

Beim Eindampfen der Lösung erhält man einen Rückstand, der in dünner Schicht etwa malvenroth oder rosenroth, in dickerer ziegelroth bis dunkelziegelroth erscheint.

Die stark verdünnte Lösung desselben in Schwefelkohlenstoff bot bei Sonnenlicht dasselbe Spectralbild wie die ätherische dar, nur mit dem Unterschiede, dass das breite Absorptionsband mehr nach dem Roth zu verschoben war. Den Gang der Absorption veranschaulicht die beigefügte Spectrogramm-Gruppe I.

Mit concentrirter Schwefelsäure betupft nahm der Rückstand der Lösungen schön blaue Färbung an, die aber bald ins Grüne umschlug. Auch von concentrirter Salpetersäure wurde er blau gefärbt, doch nur auf einen Moment, während verdünnte alcoholische Jodlösung grüngelb tingirte.

Versetzt man die ätherische Lösung nach Hinzufügung von Alcohol mit einer Lösung von Barythydrat, so erhält man eine reiche Fällung, welche auf dem Filter im feuchten Zustande prächtig ziegelrothe, im trocknen matt-rosarothe Färbung zeigt. Dieser Niederschlag stellt die Barytverbindung des Farbstoffes dar. Dieselbe ist unlöslich in Wasser, Methylalcohol, Aethylalcohol, Aether, Petroläther, Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff.

Durch Behandlung mit Kalkwasser erhält man in der ätherisch-alcoholischen Lösung ebenfalls einen reichen ziegelrothen Niederschlag: die Calciumverbindung des rothen Pigments. Sie ist gleichfalls unlöslich in Wasser, Alcohol, Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff.

Ebenso verbindet sich dasselbe mit Aetzalkalien. Die Natriumverbindung, die im feuchten Zustande ebenfalls prächtig ziegelrothe Färbung zeigt, löst sich im Gegensatz zur Baryt- und Kalkverbindung und zwar in Schwefelkohlenstoff mit rosen- bis karminrother, in Benzol mit etwa rosenrother, in Aether und Petroläther mit röthlich gelber Farbe.

Erwähnenswerth ist, dass diese Verbindungen, ebenso wie der freie Farbstoff, sich bei Luftzutritt leicht zersetzen und infolge dessen Bleichproducte liefern; nur erfolgt dieser Prozess weniger schnell, als beim freien Farbstoff.

Uebergiesst man die genannten Verbindungen mit Aether und fügt stark verdünnte Schwefelsäure hinzu, so wird der rothe Farbstoff frei gemacht und geht sofort mit rothgelber Farbe in den Aether hinein.

Wird schon durch das spectroscopische Verhalten und durch die Schwefelsäure- und Salpetersäure-Reaction ziemliche Sicherheit gegeben, dass es sich im vorliegenden Falle um ein rothes Carotin handelt, so weist die Fähigkeit, mit Aetzalkalien und alkalischen Erden Verbindungen einzugehen, nur noch bestimmter hierauf hin. Schon Maly hat diese Fähigkeit als ein Charakteristikum der rothen Carotine (speziell des Vitellorubins) im Gegensatz zu den gelben betont, und W. Kühne sowie Krukenberg haben dasselbe in Bezug auf ihr Rhodophan gethan.

Nach dem eben Dargelegten enthält also der alcoholisch-ätherische Extract von *Diaptomus bacillifer* zwei ganz verschiedene Carotine: ein der gelben Reihe angehöriges zweibändriges und ein rothes einbändriges.

Das Vorkommen von gelben Carotinen war bisher nur bezüglich der höheren Krebsformen (Decapoden, speziell der Krabben) bekannt und zwar durch Maly[1] und Krukenberg[2], nicht aber für niedere Formen dieser Gruppe. Möglicherweise ist das gelbe *Diaptomus*-Carotin mit dem „Vitellolutein" Maly's aus den *Maja*-Eiern identisch. Doch spricht vorläufig die etwas andere Lage der Absorptionsbänder in der Petrolätherlösung der durch Verseifung gereinigten Farbstoffe dagegen, wie sie aus dem Vergleich meines Spectrogramms mit dem von Krukenberg (l. c. Taf. V Fig. 11) gegebenen hervorgeht. Genannter Autor zeichnet nämlich die Bänder in mehr nach rechts gerückter Stellung.

Was ferner das Vorkommen von rothen Carotinen anbetrifft, so wurden Farbstoffe dieser Art für höhere Krebse (Decapoden) ebenfalls bereits nachgewiesen, so das „Crustaceorubin" in der Haut von *Gnathophausia, Petalophthalmus* und Verwandten durch Moseley[3], das „Vitellorubin" in den Eiern der Seespinne *(Maja Squinado)* durch Maly (l. c.) und das damit identische „Rhodophan" aus demselben Object durch Krukenberg (l. c. p. 100), welches von diesem Autor mit dem Rhodophan Kühne's aus der Retina des Huhnes identificirt wurde.

Für niedere Krebse (Daphniden) gab ich (l. c.) früher bereits Gehalt an rothem Carotin an, allerdings nur auf Grund von mikrochemischen Befunden.

Obwohl sich nicht verkennen lässt, dass die Spectren der genannten Farbstoffe eine grosse Aehnlichkeit aufweisen (alle besitzen ein einziges breites Band bei F), so ergiebt sich doch insofern eine wesentliche Verschiedenheit gegen das rothe Diaptomus-Pigment, als die Barytverbindung des letzteren in Aether, Benzol, Chloroform und Schwefelkohlenstoff unlöslich ist, während das Vitellorubin und das Rhodophan nach Maly's und Kühne's übereinstimmenden Angaben in diesen Mitteln recht wohl löslich erscheinen. In Rücksicht auf die Mangelhaftigkeit der Charakteristik des Crustaceorubins von Moseley lässt sich die Frage einer etwaigen Identität von diesem Krebsroth und dem *Diaptomus*-Roth zur Zeit nicht entscheiden.

Von sonstigen rothen Carotinen wären zum Vergleich heranzuziehen das von Krukenberg[4] in *Euglena sanguinea* entdeckte, aber leider nur in kurzer Notiz ohne nähere Angabe seiner Eigenschaften

---

1) Ueber die Dotterpigmente. Sitzungsber. der Wiener Akad. 1881. Bd. 83 II. Abth.

2) Vergleichend-physiol. Studien, II. Reihe III. Abth. p. 99 ff.

3) On the Colouring Matters of Various Animals and especially of Deep-sea Forms dredged by Challenger. Quart. Journ. Micr. Sc. Ser. II vol. 17 (1877) p. 12.

4) Vergleichend-physiol. Vorträge. Heidelberg 1886. III. Grundzüge einer vergleichenden Physiologie der Farbstoffe und der Farben, p. 122.

erwähnte, ferner das von mir aus den Flügeln gewisser Käfer *(Lina populi, Coccinella)* isolirte (diese Beiträge Heft II p. 12), das von Overbeck in *Micrococcus rhodochrous* und *Erythromyxa* aufgefundene, von mir Liporhodin genannte.

Das rothe Pigment aus *Lina populi* scheint mir grosse Aehnlichkeit mit dem rothen Diaptomus-Carotin zu haben, sowohl was das Spectrum anbetrifft (es ist ein breites Absorptionsband vorhanden, das bezüglich seiner Lage völlig mit dem des Diaptomus-Farbstoffes übereinstimmt), als auch bezüglich der Farbe und der Löslichkeitsverhältnisse der von mir neuerdings hergestellten Natrium-, Baryt- und Calcium-Verbindung, wie folgende Angaben zeigen werden.

Die Natriumverbindung des rothen Lina-Carotins ist unlöslich in Wasser, löslich in Alcohol, wird von Aether bei längerem Stehen ziemlich reichlich mit schön rothgelber Farbe aufgenommen, von Chloroform, Benzol und Schwefelkohlenstoff mit etwa rosenrother Farbe.

Die Calciumverbindung ist unlöslich in Wasser, Alcohol (nur bei sehr langem Stehen schien Alcohol Spuren aufzunehmen), Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff.

Die Baryumverbindung ist gleichfalls unlöslich in Wasser, Alcohol, Aether, Chloroform, Petroläther, Benzol, Schwefelkohlenstoff.

Jedenfalls wird man aber die Frage, ob beide Farbstoffe identisch sind, nicht eher entscheiden können, bis eine genaue chemische Untersuchung beider vorliegt. Bis dahin möge das rothe *Diaptomus*-Carotin als neu angesehen und als Diaptomin bezeichnet werden.

Wenn man eine Lösung des Diaptomins und des gelben Carotins (z. B. eine ätherische) mischt, so erhält man selbst in niederen Schichten und bei Sonnenlicht ein Spectrum, welches keinerlei Absorptionsbänder erkennen lässt, sondern vom Grün ab eine diffuse Endabsorption in der rechten Spectrumhälfte zeigt, wie sie Blanchard für seinen *Diaptomus*-Farbstoff beschrieb. Hieraus scheint mir hervorzugehen, dass genannter Forscher ein Gemisch beider Carotine vor sich gehabt hat, des gelben und des rothen.

Das Letztere ist zwar in den Thieren in überwiegender Menge vorhanden, aber auch von Ersterem sind verhältnissmässig nicht geringe Quantitäten zu gewinnen.

Wahrscheinlich produciren gewisse andere kleine Copepoden und Phyllopoden, deren Färbung eine ähnliche ist, wie beim *Diaptomus bacillifer,* ein mit dem Diaptomin identisches oder doch nahe verwandtes rothes Carotin.

In dieser Vermuthung bin ich bestärkt worden durch die nachträgliche Untersuchung einer Quantität intensiv rother Individuen von *Diaptomus denticornis,* welche von Herrn Prof. Zschokke gleichfalls aus einem Rhaetikon-See entnommen waren.

Kocht man die Krebsmasse mit Aether-Alcohol aus, so bekommt man ein Extract von genau derselben Farbe wie das Aether-Alcohol-Extract aus *D. bacillifer.* Um die darin befindlichen Carotine von Fetten abzutrennen, verseifte ich die Flüssigkeit nach Verjagung des Aethers. Nach dem Aussalzen der Seife mit Kochsalz trennte ich dieselbe ab,

wusch sie mit Wasser und zerlegte sie mit sehr verdünnter Schwefelsäure, worauf darüber gegossener Aether sich rothgelb färbte.

Diese Lösung enthält nun ein rothes und ein gelbes Carotin. Zur Trennung beider versetzte ich die Aetherlösung mit Alcohol und dann mit ausreichender Menge gesättigten warmen Barytwassers, wodurch das rothe Carotin als Barytverbindung vollständig ausgefällt wird, während das gelbe in Lösung bleibt. Beide Farbstoffe lassen sich daher durch Filtration vollkommen trennen. Die ziegelroth aussehende Barytverbindung wurde dann mit Aether gewaschen (worin sie vollständig unlöslich ist), und auf diese Weise von dem gelben Farbstoffe völlig frei gemacht.

Letzterer stimmte in den spectroscopischen und sonstigen Eigenschaften mit dem gelben Carotin aus *D. bacillifer* aufs Genaueste überein.

Aus der rothen Barytverbindung lässt sich das rothe Carotin durch sehr verdünnte Schwefelsäure frei machen und wird jetzt von Aether leicht aufgenommen.

Das Spectrum einer solchen Lösung, bei Sonnenlicht erhalten, zeigte ein einziges breites Absorptionsband, das bezüglich seiner Lage von dem Diaptomin-Bande nicht zu unterscheiden war.

Farbe und Löslichkeitsverhältnisse der Natriumverbindung waren ebenfalls dieselben wie bei der Natriumverbindung des Diaptomins. Dasselbe gilt für die Baryumverbindung, die sich wie das Baryum-Diaptomin in Alcohol, Aether, Petroläther, Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff unlöslich zeigte.

Nach diesen Resultaten glaube ich annehmen zu dürfen, dass *Diaptomus denticornis* und *D. bacillifer* ein und dasselbe rothe Carotin (Diaptomin) erzeugen.

Beide Species stammten von derselben Lokalität (Rhätikonseen). Im vergangenen Winter hatte ich nun Gelegenheit, ein Gemisch zweier anderer Species, *Diaptomus Wierzejski* Rich. und *Cyclops strenuus* Fischer, in einiger Menge zu untersuchen, welche Herr Dr. Schmeil in der weiteren Umgebung von Halle unter dem Eise gefischt und mir freundlichst zur Verfügung gestellt und bestimmt hatte. Das Material hatte etwa denselben Farbton wie das aus dem Rhaetikon, nur erreichte derselbe nicht die Intensität des Letzteren. Eine eingehendere Untersuchung, die ihrem Gange nach sich an das Obige anschliesst, zeigte, dass hier ebenfalls 2 Carotine, ein gelbes und ein rothes gebildet werden, welches Letztere sowohl in seinem spectroscopischen als auch in seinem chemischen Verhalten vom Diaptomin nicht zu unterscheiden war. Nun handelt es sich hier allerdings um ein Gemisch zweier Species. Immerhin aber giebt dieser Befund eine weitere Hindeutung, dass die Rothfärbung solcher kleinen Krebse durch Diaptomin sich nicht auf den *Diaptomus bacillifer* beschränkt.

Bemerkt sei schliesslich noch, dass ich gelegentlich in kranken Daphniden, welche sehr reich an Diaptomin waren, eine kleine anscheinend parasitische *Pseudospora* beobachtet habe, deren Amoeben-Zustände sich von dem Diaptomin-haltigen Fett nährten und daher in ihrem Körper wunderschön roth gefärbte, zahlreiche und z. Th. sehr

grosse Fetttropfen enthielten. Sie zeigten dieselben auch noch, nachdem sie sich zum Zwecke der Schwärmerbildung bereits abgerundet und encystirt hatten. Leider starben mir diese Zustände bald ab, so dass ich nicht feststellen konnte, ob das rothe Carotin durch den Verdauungsprozess schliesslich nicht doch verändert resp. zerstört wird. Bei meinem *Pleotrachelus fulgens* allerdings, der wahrscheinlich auch zu den niedersten Thieren gehört (bisher stand er unter den Chytridiaceen) erfährt allerdings das aus gewissen *Piloboli* aufgenommene Carotin in den Amoeben- und auch in den Sporangienstadien keinerlei Veränderung, sodass man es noch in den Schwärmern vorfindet.

Ich möchte nun noch einen Einwand erwähnen, den man mir machen könnte rücksichtlich des von mir in jenen Krebsen gefundenen gelben zweibändrigen Carotins. Man könnte nämlich sagen, es stamme dieses Carotin nicht aus den Organen der Krebse selbst, sondern vielleicht aus den chlorophyllhaltigen den Thieren zur Nahrung dienenden Algen, da diese ja stets ein gelbes zweibändriges Carotin erfahrungsgemäss aufweisen. Dieser Einwand, der um so berechtigter scheinen könnte, als ich mit grösseren Krebsmengen gerarbeitet habe, lässt sich durch Folgendes widerlegen: Die von Herrn Collegen Zschokke mir mitgetheilten Krebsmassen waren in Alcohol conservirt. Derselbe hatte sich nur schwach und dabei rein röthlich gefärbt, also von Chlorophyll nichts aufgenommen, was die spectroscopische Untersuchung bestätigte. Hatten die Thiere also noch Algen im Verdauungstractus, so musste sich dies bei der microscopischen Untersuchung zeigen. Es war aber nichts von solchen Organismen aufzufinden.

Dagegen konnte man feststellen, dass grössere Fetttropfen im Innern der Thiere deutlich gelb gefärbt waren durch das gelbe Carotin. Letzteres war also wirklich in den Organen der Krebse selbst vorhanden. Im vergangenen März habe ich nun auch lebende Phyllopoden und Copepoden auf den Gehalt an beiden Carotinen dem gelben und dem Diaptomin untersucht und wiederum gefunden, dass man Beide getrennt beobachten kann. So war z. B. beim Weibchen von *Diaptomus Castor* Jurine[1] in den schön roth gefärbten Antennen ausschliesslich und nicht an deutlich unterscheidbare Fetttröpfchen gebunden, Diaptomin reichlich vorhanden, in der Leibeshöhle dagegen hatten sich Fettmassen in grossen Tropfen angesammelt, die das gelbe Carotin enthielten, denn sie waren vom reinsten Gelb und gaben mit Schwefelsäure ebenfalls die bekannte Lipocyan-Reaction. Ich glaube demnach berechtigt zu sein zu der Annahme, dass das gelbe Carotin, welches ich im Grossen aus den Krebsen gewann, ganz ebenso wie das Diaptomin, von den Thieren selbst producirt wurde und nicht etwa aus Algen des Verdauungstractus stammte.

2. Hypocreaceen-artige Pilze.

Die intensiv rothen und gelben Färbungen, welche man an verschiedenen Hypocreaceen, z. B. an Polystigmen, Nectrien, Tor-

1) Von Herrn Dr. Schmeil bestimmt.

rubien etc. beobachtet, weisen im Verein mit der an Schnitten auftretenden Blaufärbung durch Schwefelsäure darauf hin, dass bei diesen Ascomyceten Carotine gebildet werden.

Ich habe daher ein paar Vertreter genannter Familie in dieser Richtung untersucht und dabei positive Resultate erhalten.

1. Polystigma rubrum.

Bekanntlich lebt dieser gemeine Pilz als Parasit auf Pflaumenblättern und ruft daselbst eine als „Rothfleckigkeit" bezeichnete, oft sehr schädlich auftretende Krankheit hervor, deren Symptome darin bestehen, dass infolge der Wucherung des Pilzmycels flache polsterartige Bildungen in dem grünen Blattgewebe entstehen, welche durch intensive Färbung ausgezeichnet sind. Letztere erscheint anfangs (im Juli und August) mehr orangegelb, später dagegen ausgesprochen ziegelroth bis rothbraun, um endlich (im Spätherbst) ins tief Braune überzugehen. In dem zu einem Stroma sich verdichtenden Pilzgewebe kommen im Sommer und Herbst die Spermogonien zur Entwickelung sowie die Schlauchfrüchte, welche ihre volle Ausbildung aber erst im nächsten Frühjahr erhalten. Den Sitz der vom Pilze producirten Farbstoffe hat man besonders in den schön rothen Wandungen jener Früchte zu suchen, z. Th. aber auch im Inhalt der stark verdickten Stromazellen. Infolge der Einwirkung des Pilzes, der das chlorophyllhaltige Gewebe auseinander drängt und abtödtet, bilden sich in den abgestorbenen Wirthszellen gelbbraune bis rothbraune Farbstoffe, sowohl in der Epidermis als in dem Pallisaden- und Schwammgewebe. Letztere Pigmente gehören also nicht dem Pilze selbst an.

Es ist wahrscheinlich durchaus nicht gleichgültig, zu welcher Zeit man die Farbstoffuntersuchung vornimmt, ob im Juli, wo die Flecken orange, oder im September oder October, wo sie ziegel- bis braunroth oder endlich im Winter, wo sie auf dem Boden liegend tief und schmutzig braun bis schwärzlich geworden sind.

Ich will daher bemerken, dass ich meine Untersuchung ausschliesslich an Materialien gemacht habe, welche vom 7. bis 10. October gesammelt wurden und dass die Flecke sämmtlich schön ziegelrothe bis rothbraune Färbung aufwiesen. Unter diesen wählte ich die grössten, etwa $1^1/_2$ cm im Durchmesser haltenden aus und stach dieselben mittelst eines Locheisens von nur 7 mm lichter Weite so sorgfältig aus den Blättern heraus, dass nur der centrale Theil der rothen Stromata gewonnen wurde, mithin noch ein rother Rand stehen blieb und demgemäss auch nicht der kleinste Theil von grüner Blattsubstanz mit zur Verarbeitung kam.

Diese Vorsicht ist unbedingt nothwendig, nicht etwa nur, weil man zu fürchten hätte, dass in den Extract Chlorophyll hineinkäme, sondern vielmehr weil in der grünen Blattsubstanz bekanntlich stets ein gelbes Carotin vorhanden ist.

Dasselbe würde bei der Prüfung des Pilzes auf Carotin unvermeidlich mit in die Auszüge gelangen und zu Fehlerquellen Veranlassung geben.

Bei der makroscopischen Betrachtung der so intensiv roth bis rothbraun gefärbten Flecken und ebenso bei der mikroscopischen Betrachtung der prächtig roth gefärbten Spermogonien auf Querschnitten durch das Stroma kann man sich des Gedankens nicht erwehren, dass der Pilz ein rothes Carotin bildet. Da nun rothe Carotine gewöhnlich von gelben begleitet zu sein pflegen, wofür auch die vorausgehende Untersuchung an *Diaptomus* einen Beleg liefert, so ergab sich die Fragestellung: Ist *Polystigma rubrum* etwa im Stande, ein rothes und ein gelbes Carotin zu erzeugen?

Die in grosser Zahl verwandten zerkleinerten Pilzausschnitte wurden zunächst zweimal stark mit Wasser ausgekocht, zur Entfernung verschiedener wasserlöslicher Substanzen, um sodann mit heissem Alcohol ausgezogen zu werden. Nachdem die rothe Lösung filtrirt war, verseifte ich sie mit starker Natronlauge (in kleinem Ueberschuss angewandt), verjagte den grössten Theil des Alcohols, verdünnte das Seifengemisch mit ausgekochtem Wasser, kühlte ab und zog nun zunächst mit einer kleinen Menge von Petroläther auf nur kurze Zeit aus.

Das Lösungsmittel färbte sich alsbald gelbgrünlich. Die klare Lösung wurde abgetrennt, zur Entfernung von Seifenspuren und Alkali wiederholt mit sauerstofffreiem (ausgekochten) Wasser gewaschen, filtrirt und nun der spectroscopischen Untersuchung mit Zeiss' Spectralocular bei Sonnenlicht unterworfen. Hierbei zeigte sich, dass die ziemlich verdünnte Lösung in einer Schichtenhöhe von 50 mm zwei schöne Absorptionsbänder aufweist. Band I liegt bei F, etwa von λ 496—477 reichend und am dunkelsten bei F; Band II, zwischen F und G gelegen, reichte etwa von λ 458—445, war weniger dunkel als Band I und zeigte sein Absorptionsmaximum etwa bei λ 451.

Beim Verjagen des Lösungsmittels erhält man auf der Porzellanschale einen rein gelben Ueberzug, der sich mit concentrirter Schwefelsäure oder Salpetersäure betupft vorübergehend blau färbt.

Hiernach kann als feststehend betrachtet werden, dass in dem alcoholischen Auszuge der rothen Stromata zunächst ein gelbes Carotin vorkömmt und zwar ein solches mit zwei Absorptionsbändern (ein Dicarotin).

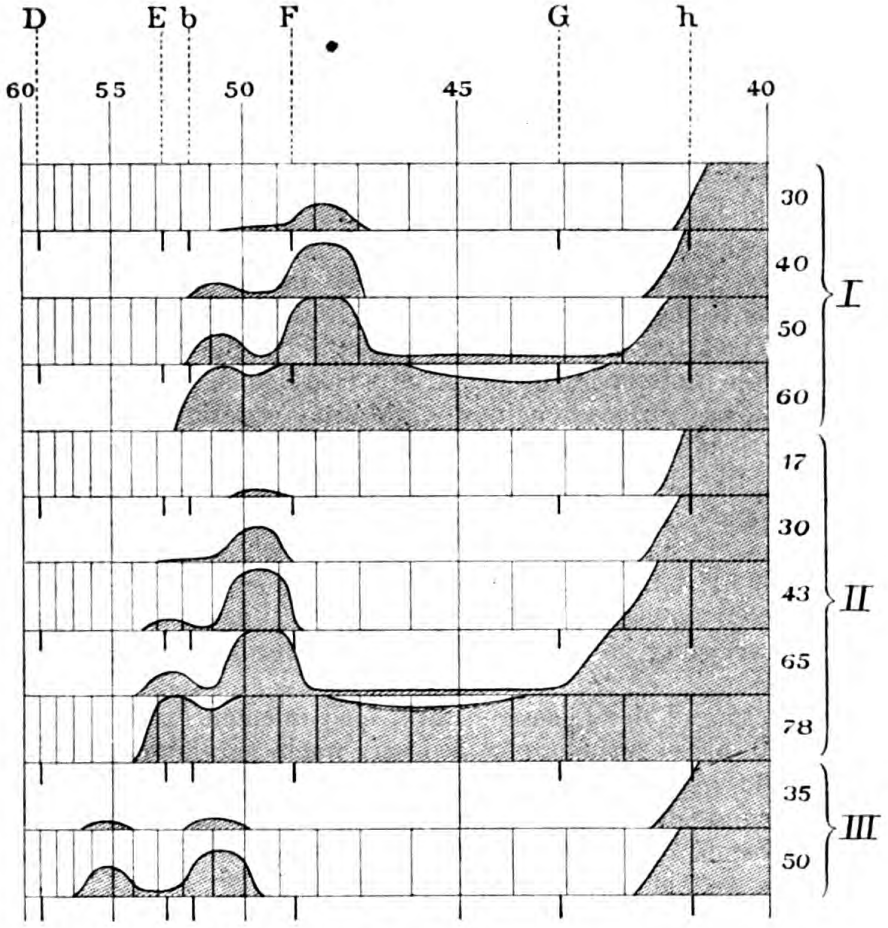
Nachdem die rothe Seife zur Entfernung des eben erwähnten Farbstoffes wiederholt mit viel Petroläther ausgeschüttelt war, bis dieser sich ins Röthliche zu färben begann, sah die Seife rein roth (etwa kirschroth oder mennigroth) aus. Durch Extraction mit Aether liess sich derselben nunmehr ein zweiter Farbstoff entziehen. Die ätherische Lösung zeigt einen rothgelben bis rothbraunen Ton. Sie wurde ebenfalls wiederholt mit ausgekochtem Wasser ausgewaschen und filtrirt.

Bei der spectroscopischen Untersuchung unter Benutzung von Sonnenlicht stellte sich folgendes Resultat heraus:

Sämmtliche Lösungen weisen zwei Absorptionsbänder auf (vergl. die beistehenden Spectrogramme). Bei Verwendung einer sehr verdünnten Lösung in mittlerer Schichtenhöhe erscheint Band II stets als das breitere und dunklere und ist mit Band I stets durch einen

schwachen Schatten verbunden. Ich glaubte anfangs in Band I eine subjective Erscheinung vor mir zu haben, die auf blosser Contrastwirkung beruht, allein wenn man den Gang der Absorption näher verfolgt, so sieht man Band I schliesslich fast eben so dunkel werden wie Band II.

Jedenfalls ist die Lage der Absorptionsbänder im Vergleich zu anderen Carotinen eine sehr bemerkenswerthe.



Figurenerklärung.

Rothes Carotin von *Polystigma rubrum* (Polystigmin) I Spectrogramm-Gruppe der ätherischen Lösung in verschiedener Schichtenhöhe. II Ebensolche der Benzollösung. III Ebensolche der Schwefelkohlenstofflösung. (Die Zahlen rechts bezeichnen die Schichtenhöhe der sehr verdünnten Lösungen in mm.)

Je nach den Lösungsmitteln variirt die Lage der Bänder mehr oder minder stark. Am weitesten nach dem Blau hin verschoben erscheint sie in der Petroläther-, ätherischen und alcoholischen Lösung.

So zeigt die ätherische Lösung bei starker Verdünnung in mittlerer Schichtenhöhe Band I etwa von λ490—470 reichend, das Maximum etwa bei 478; Band II etwa von 518—500, Maximum bei 509 (vergl. vorstehende Spectrogrammgruppe I).

In der Chloroformlösung sind die Bänder bereits mehr nach links verschoben, sodass das Absorptionsmaximum von Band II etwa bei 490 liegt. Noch weiter nach dem Roth zu gerückt erscheinen die Bänder in der Benzollösung: Das zweite Band liegt dicht vor F (diese Linie tritt als dicker schwarzer Strich hervor) und reicht etwa von λ 508—484 mit dem Maximum bei etwa 494; Band I liegt bei Eb, reicht etwa von λ 535—517 und zeigt das Maximum etwa bei 525 (vergl. vorstehende Spectrogramm-Gruppe II).

Am weitesten nach dem Roth zu gelagert erscheinen die Bänder in der Schwefelkohlenstofflösung. In 50 mm hoher Schicht der sehr verdünnten Lösung lag Band I in der Mitte zwischen D und E etwa zwischen 570—540, mit dem Maximum bei etwa 551; Band II zwischen 520—496, die stärkste Absorption etwa bei 508 zeigend. Dabei trat die Linie b als dicker schwarzer Strich hervor (vergl. vorstehende Spectrogramm-Gruppe III).

Was die Farbe der Lösungen anbetrifft, so zeigen sie alle einen Stich ins Rothe resp. ausgesprochene Rothfärbung. Die Schwefelkohlenstoff-Lösung sieht in verdünntem Zustande etwa himbeerroth, im concentrirten tief purpurn bis purpur-violett aus. Die Benzol- und Chloroformlösungen erscheinen verdünnt rosenröthlich, concentrirt tief roth (der Ton ist schwer zu beschreiben, er erinnert einigermassen an Cherry). Die ätherischen und alcoholischen sehen im verdünnten Zustande mehr gelb aus, nur mit einem kleinen Stich ins Röthliche, in concentrirtem dunkel rothgelb, doch nicht ganz den Farbton der concentrirten Chloroform- und Benzollösungen zeigend. Rein orangerothe oder gelbgrüne Töne fehlen allen diesen Lösungen, auch der Petrolätherlösung vollständig, mag die Verdünnung gewählt sein wie sie will.

Der Rückstand der Lösungen färbt sich mit concentrirter Schwefelsäure deutlich aber vorübergehend blau, noch vergänglicher ist diese Färbung, wenn man conc. Salpetersäure verwendet.

Auf Grund der angegebenen Eigenschaften muss der in Rede stehende Farbstoff gleichfalls als ein Carotin und zwar als ein der rothen Reihe angehöriges angesprochen werden.

Im Vergleich zu dem gelben ist es in den Stromata des Pilzes in viel reicherer Menge vorhanden und kann ihnen durch wiederholtes Ausziehen mit Aether, Benzol oder Schwefelkohlenstoff vollständig entzogen werden.

Wie schon in der vorausgehenden Mittheilung angeführt wurde, kennt man bereits eine ganze Reihe von rothen Carotinen.

Von allen diesen ist nun das Polystigma-Carotin schon durch sein eigenthümliches spectroscopisches Verhalten durchaus verschieden: Es besitzt zwei Absorptionsbänder, während man mit Kühne und Krukenberg bisher annahm, dass die rothen Carotine immer nur ein einziges Absorptionsband aufwiesen. Auf Grund dieser Verschiedenheit werde ich den Farbstoff als „Polystigmatin“ oder (falls die besser klingende Abkürzung gestattet ist) als „Polystigmin“ bezeichnen.

Wenn man zu einer alcoholischen Lösung gesättigtes heisses Barytwasser zusetzt, so entsteht sofort ein reicher Niederschlag, der auf dem Filter mit schön ziegelrother oder mennigrother Farbe verbleibt (getrocknet blassroth erscheint). Er ist der Barytverbindung von Malys Vitellorubin, Kühne's Rhodophan, meines Diaptomins und Lina-Carotins äusserlich ganz ähnlich, unterscheidet sich aber durch seine Löslichkeit in Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff und Alcohol. Das Diaptomin und das Lina-Carotin geben nämlich mit Barythydrat Verbindungen, die in allen diesen Lösungsmitteln unlöslich sind, während die Barytverbindung des Vitellorubins nach Maly[1] sowie des Rhodophans nach Kühne[2] nur von Alcohol nicht gelöst werden, wohl aber von Aether, Chloroform und Schwefelkohlenstoff.

Es ergiebt sich demnach, dass in den Auszügen der Anfangs October gesammelten Stromata von *Polystigma rubrum* zwei verschiedene Carotine vorhanden sind: ein gelbes und ein rothes. Letzteres überwiegt bei weitem und hat einen wesentlichen Antheil an der Rothfärbung der Flecken.

Untersucht man die Stromata viel früher, etwa Anfang August, wo die Flecken noch wenig stark roth tingirt, vielmehr orangefarben erscheinen, so ist das Mengenverhältniss insofern ein etwas anderes, als das gelbe Carotin etwas reichlicher, als im October vorhanden ist. Dieser Umstand, zusammen mit der sogleich näher zu erweisenden Thatsache, dass eine zweite *Polystigma*-Species *(P. ochraceum)* relativ grosse Mengen des gelben Carotins zu erzeugen vermag, lässt wie ich glaube, die Deutung richtig erscheinen, dass das von mir in *P. rubrum* gefundene gelbe Carotin von dem Pilze selbst producirt ist und nicht etwa aus den Wirthszellen stammt. In Bezug auf das Polystigmin kann kein Zweifel in dieser Beziehung obwalten, weil man den Sitz dieses Pigmentes z. B. in den Wandungen der Spermogonien schon an der ausgesprochen rothen Farbe nachweisen kann.

Die Blattflecken bleiben auch dann noch gefärbt, wenn man alles Carotin durch Aether herausgebracht zu haben glaubt. Sie sehen jetzt noch ziemlich lebhaft rothbraun aus. Diese Färbungen gehören aber wie die mikroscopische Untersuchung zeigt, nicht dem Pilze, sondern den Wirthszellen an und sind z. Th. im Inhalt, z. Th. in der Membran derselben vorhanden. Es kann kein Zweifel sein, dass sie durch Einwirkung des Pilzes hervorgebracht sind, da sie nur auf die Blattstellen beschränkt bleiben, welche den Stromata entsprechen. Wir haben ja auch sonst manche Beispiele, dass Blatt- oder Stengelparasiten Farbstoffbildung in dem Wirthsgewebe hervorrufen, sowohl im Zellinhalt als auch in der Membran. Ich erinnere nur an *Synchytrium*-Arten und die parasitischen Pilze des Zuckerrohrs.

---

1) Ueber die Dotterpigmente. Sitzungsberichte der Wiener Akad. Bd. 83. Abth. II (1881) p. 1139 ff.

2) Beiträge zur Optochemie. Untersuchungen aus dem physiol. Institut Heidelberg. Bd. IV p. 169—249.

Jene Farbstoffe lassen sich dem Wirthsgewebe durch Behandlung mit sehr verdünntem Ammoniak entziehen, das sich dunkel rothbraun bis fast schwarz färbt. Mit Salzsäure versetzt giebt die Flüssigkeit einen sehr reichen flockigen Niederschlag, der auf dem Filter tief braun aussieht und in Wasser sich nicht löst. Es scheinen also säureartige Farbstoffe in derselben enthalten zu sein. Ein näheres Eingehen auf dieselben war nicht meine Aufgabe. Ich will nur noch bemerken, dass die Verfärbung der rothen Blattflecken ins Dunkelbraune bis fast Schwärzliche, wie sie nach Regenwetter im späteren Herbst und namentlich an den bereits abgefallenen Blättern hervortritt, wahrscheinlich auf der Einwirkung des Ammoniaks der Luft beruht.

2. **Polystigma ochraceum** (Wahlenberg).
(P. fulvum D. C.*)*

Auf *Prunus Padus* kömmt bekanntlich eine andere *Polystigma*-Art vor, welche Blattflecken bildet, die im Gegensatz zu *P. rubrum* auf der Unterseite mehr gelb denn roth (ochergelb bis matt orange), auf der Oberseite lederbraun oder auch schön rothbraun erscheinen. Man hat daher diese Species ganz passend als *P. ochraceum* bezeichnet.

Es schien mir von Interesse zu prüfen, ob auch hier zwei Carotine verkommen. Der Färbung der Stromata nach lässt sich hieran zweifeln.

Da die Blattflecken zu klein und zu unregelmässig begrenzt erscheinen, als dass sie mit dem Hohlmeisel hätten ausgestochen werden können, so schnitt ich sie mit einer feinen Scheere so sorgfältig aus, dass noch ein dünner Rand stehen blieb, jedenfalls keine Spur der angrenzenden grünen Blattsubstanz mitgenommen wurde.

Die weitere Behandlung geschah nun genau in der Weise wie bei *P. rubrum.* Zunächst zweimaliges Auskochen der Ausschnitte mit destillirtem Wasser, dann Extraction mit heissem Alcohol absolutus.

Die auf diese Weise erhaltene Lösung zeigt nun einen ganz anderen Farbton, als die auf gleiche Weise aus den Flecken von *Polystigma rubrum* gewonnen. Während nämlich diese, wie wir sahen, ein entschieden mehr ins Rothe gehendes Aussehen hat, erscheint jene goldgelb bis orangegelb und zeigt höchstens eine Andeutung von Roth. Hierdurch ist bereits ein Hinweis gegeben, dass entweder die Pigmente in beiden Extracten nicht identisch sind, oder aber das Mischungsverhältniss Beider ein verschiedenes ist. Wir werden gleich sehen, welche von beiden Eventualitäten zutrifft.

Der rohe alcoholische Extract wurde mit Natronlauge verseift, der Alcohol durch Eindampfen möglichst verjagt, das Seifengemisch mit Wasser verdünnt und mit wenig Petroläther übergossen. Er färbt sich bald rein gelb. Nach mehrmaligem Auswaschen und Filtriren untersuchte ich die Lösung spectroscopisch. Sie zeigte bei Sonnenlicht die beiden Bänder gelber Carotine und zwar lag das eine bei F, das andere zwischen F und G. Bei mittlerer Schichtenhöhe der ziemlich verdünnten Lösung reichte Band I etwa von $\lambda 496-477$, Band II von $\lambda 458-444$. Dampft man die Lösung auf der Porzellanschale ein, so

bekömmt man einen gelben bis orangegelben Rückstand, der mit conc. Schwefel- oder Salpetersäure die blaue Carotin-Reaction giebt.

Obschon dieses Carotin nach der Lage der Absorptionsbänder mit dem gelben Carotin von *Polystigma rubrum* übereinstimmt, so glaube ich doch nicht, dass beide identisch sind, denn die Farbe des Verdampfungsrückstandes bietet bei ersterem Farbstoffe einen mehr ins stumpf-röthliche gehenden Ton dar, bei letzterem einen mehr reingelben bis orangenen. Einen ähnlichen Unterschied zeigt die Farbe der Lösungen.

Während es mir bis jetzt nicht gelang, das Polystigmin zum Krystallisiren zu bringen, habe ich von dem gelben Carotin aus *P. ochraceum* Krystalle erhalten, wenn ich die stark concentrirte ätherische Lösung in kleinen Mengen in Reagirgläser brachte und diese in einem sauerstofffrei gemachten (mit Pyrogallussäure und Aetzkali beschickten) Gefässe hielt. Das Letztere ist unbedingt nöthig, da wie Gerlach[1] neuerdings zeigte, die Carotine bei Sauerstoffzutritt sich leicht zersetzen. Die erhaltenen Krystalle, die mit conc. Schwefelsäure die Blaufärbung in reinster Form gaben, blieben aber mikroscopisch klein und in eine dünne wie es schien fettartige Schicht eingelagert, die ich nicht ganz entfernen konnte. Sie waren ausserordentlich massig vorhanden und meist in Gruppen zusammengehäuft.

Auch beim weiteren Extrahiren der Seife mit Petroläther und dann mit Aether erhielt ich immer nur dasselbe Pigment. Polystigmin nachzuweisen war mir nicht möglich. Später habe ich die Versuche, diesen Körper wenn auch nur in kleiner Menge aus den Stromata zu erhalten, wieder aufgenommen, unter anderen den Aether- oder auch Schwefelkohlenstoff-Extract der Seife in Filtrirpapier aufsteigen lassen, um auf diese Weise etwaige Spuren des Polystigmins in Form einer rothen Zone zu erhalten, allein auch hier fiel das Resultat vollkommen negativ aus.

Die Untersuchung über beide *Polystigma*-Species ergiebt also, dass *Polystigma rubrum* zwei Carotine zu erzeugen im Stande ist: ein rothes, das wegen seines von allen bisher bekannten rothen Carotinen abweichenden Spectrums bemerkenswerth ist und als Polystigmin bezeichnet wurde, und ein gelbes, welches nach Färbung der Lösungen, Zahl, Lage und Breite seiner Absorptionsbänder dem Mohrrüben-Carotin und dem der grünen Blätter nahe verwandt zu sein scheint. Dabei überwiegt das Polystigmin den letzteren Farbstoff in sehr beträchtlichem Masse und hat einen Hauptantheil an der rothen Färbung der Stromata des Pilzes.

Polystigma fulvum producirt ein mit dem obigen nicht ganz übereinstimmendes gelbes Carotin in relativ grosser Menge und verdankt die mehr gelbe Farbe seiner Stromata eben diesem Pigmente. Von dem rothen Carotin (Polystigmin) wird seitens dieses Pilzes augenscheinlich nichts producirt.

---

1) Ueber die Ursache der Unbeständigkeit carotinartiger Farbstoffe. Diese Beiträge Heft II.

Die Existenz eines gelben zweibändrigen Carotins bei den beiden *Polystigma*-Arten habe ich bereits früher angezeigt.[1] Schon damals wusste ich, dass *P. rubrum* noch einen rothen Farbstoff producirt, konnte aber erst später über seine Natur ins Klare kommen.

3. Nectria cinnabarina.

Zur Untersuchung gelangten die Conidienlager des Pilzes, welche man früher als *Tubercularia persicina* Ditmar bezeichnete. Sie waren Mitte November dürren Aesten der Rosskastanie *(Aesculus Hippocastanum)* entnommen. Die hell-ziegelrothe bis dunkelrothe Farbe der kleinen, etwa $^1/_2$—$1^1/_2$ mm im Durchmesser haltenden Polster liess im Hinblick auf die nahen Verwandtschaftsbeziehungen zwischen *Nectria* und *Polystigma* von vornherein vermuthen, dass auch dieser Pilz ein rothes Carotin producire. (Die Gegenwart eines gelben, zweibändrigen carotinartigen Pigments in den Conidienpolstern habe ich bereits früher ermittelt.)[2]

Einen rothen Farbstoff wies schon E. Bachmann[3] in jenen Conidienlagern nach. Er sah ihn aber als ein Harz an, welches seinen Sitz in den Membranen des Pilzes habe.

Bei Betrachtung der beiden von Bachmann gegebenen Spectrogramme fiel mir eine gewisse Aehnlichkeit auf zwischen dem rothen *Nectria*-Harz und dem oben characterisirten rothen Carotin aus *Polystigma rubrum,* dem Polystigmin, und da auch das Bachmann'sche Pigment eine ausgesprochene Blaufärbung mit Schwefelsäure giebt, so glaubte ich vermuthen zu dürfen, dass es sich nicht um einen harzartigen Membranfarbstoff, sondern vielmehr um ein carotinartiges Inhaltspigment handeln dürfte. Die folgenden Zeilen werden zeigen, dass diese Vermuthung nicht unrichtig war.

Durch seitlichen Druck mit einem spitzen Messer gelingt es unschwer, die Conidien-Polster von der Unterlage so abzulösen, dass man von dem Rindengewebe nichts mitnimmt; nur dürfen für diesen Zweck die Zweige nicht zu trocken sein. Die grosse Mühe, Tausende der kleinen rothen Körperchen abzulösen, darf man sich nicht verdriessen lassen.

Da die Polster im trocknen Zustande sehr wenig Farbstoff abgeben, so weichte ich sie zunächst in stark wässrigem Alcohol auf, oder kochte sie mit Wasser aus und extrahirte nun mit absolutem Alcohol, dem die gleiche Menge von Aether beigegeben war, in der Wärme. Der hierbei erhaltene rothgelbe, in hoher Schicht rothbräunliche Auszug wurde in der üblichen Weise mit Natronlauge verseift, wobei zugleich der Aether und ein Theil des Alcohols verjagt wurde, und hiernach die Seife durch conc. Kochsalzlösung abgeschieden. Sie sammelte sich, zumal nach Wasserzusatz, in Form einer rothbräunlichen

1) Die Pilze (Eumyceten). Breslau 1890 p. 146.
2) l. c. p. 146.
3) Spectroscopische Untersuchungen von Pilzfarbstoffen. Programm des Gymnasiums Plauen 1886 p. 24.

Masse an der Oberfläche an. Aus diesem Seifengemisch nimmt Petroläther einen Farbstoff mit rein gelber Farbe auf. Er stellt das gelbe zweibändrige Carotin dar, das ich bereits früher in den Conidienlagern gefunden hatte.

Nachdem die abfiltrirte rothbraune Seife noch mehrmals mit Petroläther ausgewaschen ist, um die letzten Reste des gelben Carotins zu entfernen, enthält sie von Pigmenten noch die Natriumverbindung des rothen Farbstoffs. Aus dieser Verbindung lässt sich das Pigment durch sehr verdünnte Schwefelsäure frei machen und geht nun mit röthlichgelber in darüber geschichteten Aether hinein.

Der Verdampfungsrückstand dieser erst noch mit Wasser gewaschenen Lösung zeigt auf der Porzellanschale schön ziegelrothe Färbung. In Petroläther löst er sich mit gelber, in Alcohol mit gelber und dabei einen Stich ins Röthliche zeigender Farbe, während die Schwefelkohlenstoff-Lösung rosenroth gefärbt erscheint.

Versetzt man die alcoholisch-ätherische Lösung mit einer ausreichenden Quantität von gesättigtem Barytwasser, so erhält man einen reichen flockigen Niederschlag, der auf dem Filter mit rothgelber oder chromrother Farbe verbleibt, während das Filtrat völlig farblos abläuft. Dieser Niederschlag stellt die Barytverbindung des rothen Pigments dar. Sie ist unlöslich in Wasser, Alcohol, Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff.

Versetzt man ferner eine alcoholische Lösung des Farbstoffs mit Natronlösung, so entsteht gleichfalls ein reicher flockiger Niederschlag, der auf dem Filter gewaschen und getrocknet etwa chromroth erscheint. Diese Natrium-Verbindung löste sich im Gegensatz zur Barytverbindung in Schwefelkohlenstoff, Chloroform und Benzol, aber nur schwer und mit rosenrother Farbe, während sie an Alcohol sowie an Aether selbst nach 24stündiger Frist nur Spuren abgegeben hat.

Aus der Natrium- bezw. Barytverbindung lässt sich der Farbstoff durch verdünnte Schwefelsäure leicht frei machen, um in darüber gegossenen Aether sofort hineinzugehen.

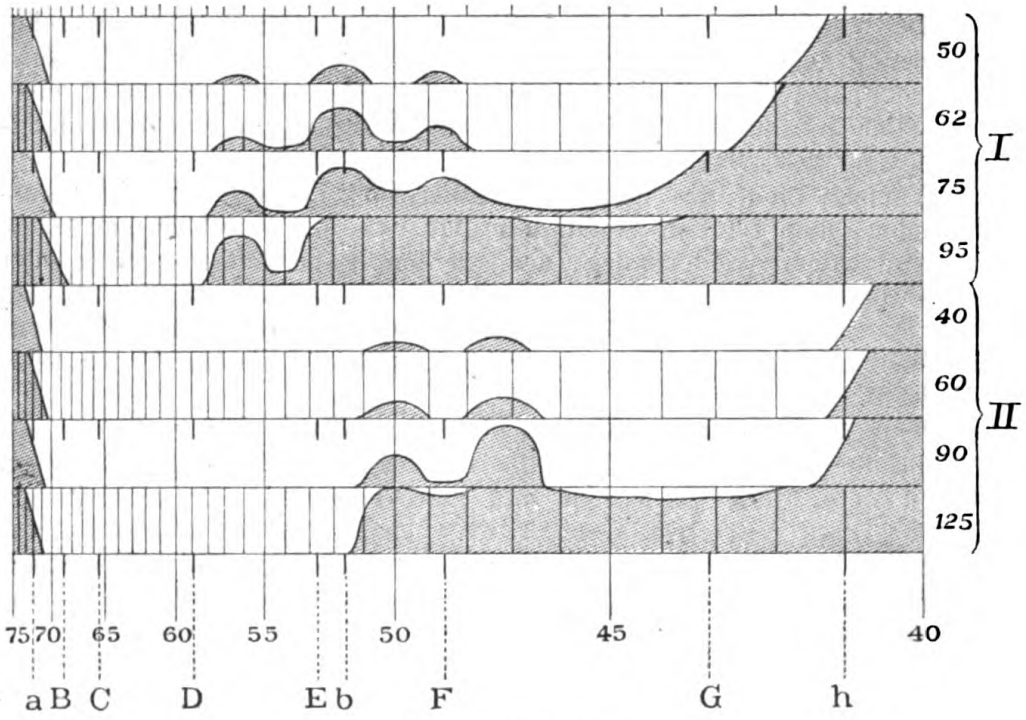
Mit conc. Schwefelsäure färbt sich der Verdampfungsrückstand der Lösungen des freien Farbstoffs sowohl, als auch der Natrium- und Barytverbindung blau. Conc. Salpetersäure ruft sehr vorübergehend ebenfalls Bläuung hervor.

Die spectroscopische Untersuchung des freien Farbstoffs bei Sonnenlicht ergab Folgendes. In der sehr verdünnten ätherischen Lösung sieht man zwei Absorptionsbänder, von denen das erste zwischen b und F, das zweite etwas hinter F liegt. Band II ist dunkler und breiter als Band I. Ein drittes Band tritt in keiner Schichtenhöhe auf (vergleiche das beigefügte Spectrogramm).

Die Schwefelkohlenstofflösung dagegen, gleichfalls sehr verdünnt angewandt, zeigt in gewissen Schichtenhöhen bestimmt drei Absorptionsbänder, wovon das zweite dunkler und breiter erscheint, als das erste und dritte. Das erste Band liegt zwischen D und E, das zweite bei Eb, das dritte bei F (im übrigen vergleiche man die nebenstehenden Spectrogramme).

Wenn Bachmann nur zwei Bänder zeichnet, so könnte die Ursache dieser Differenz darin liegen, dass er, wie aus seiner Darstellung bestimmt hervorgeht, in dem Schwefelkohlenstoff-Auszug der (zuvor vom gelben Pigment befreiten) Seife den freien Farbstoff vor sich zu haben glaubte, während es sich thatsächlich um die Natrium-Verbindung des rothen Pigments handelte, die, wie ich zeigte, in Schwefelkohlenstoff löslich ist.[1]

Aus meinen Angaben geht wohl unzweifelhaft hervor, dass es sich nicht, wie Bachmann annahm, um ein rothes Harz, sondern viel-



Figurenerklärung.

Rothes Carotin aus *Nectria cinnabarina* (Nectriin). I Spectra der verdünnten Lösung in Schwefelkohlenstoff in verschiedenen Schichtenhöhen. II Spectra der verdünnten ätherischen Lösung in verschiedenen Schichtenhöhen. Die Zahlen rechts drücken die Schichtenhöhe in mm aus.

mehr um einen rothen carotinartigen Farbstoff handelt. Als Sitz desselben hat man die rothgelben Fetttröpfchen des Zellinhalts anzusprechen, nicht aber die Membran der Pilzzellen.

Wenn man das rothe *Nectria*-Carotin mit den übrigen bisher bekannt gewordenen rothen Carotinen vergleicht, so ergeben sich überall Unterschiede, sowohl bezüglich der spectroscopischen Charactere als auch hinsichtlich der Eigenschaften der Natrium- und Barytverbindung. Selbst meine anfängliche auf die nahe Verwandtschaft der beiden Hypocrea-

1) Oder sollte die Möglichkeit vorliegen, dass das dritte Band, bei F, ein subjectives wäre?

ceen-Gattungen *Nectria* und *Polystigma* gegründete Vermuthung, das Nectriaroth möchte mit dem Polystigmin identisch sein, hat sich bei näherem Vergleich nicht bestätigt.

Im übrigen werden sich die Unterschiede am besten aus folgenden Uebersichten ergeben:

1. Spectroscopische Eigenschaften.

Rhodophan (Kühne) nur 1 Absorptionsband.
Vitellorubin (Maly) „ „ „
Lina-Carotin (Zopf) „ „ „
Diaptomin (Zopf) „ „ „
Liporhodin (Zopf) „ „ „
Polystigmin (Zopf) in allen Lösungen 2 Absorptionsbänder.
Nectriin (Zopf) in der ätherischen Lösung 2, in der Schwefelkohlenstofflösung 3 Absorptionsbänder.

2. Löslichkeitsverhältnisse der Barytverbindung.

	in Alcohol	Aether	Chloroform	Benzol	Schwefelkohlenstoff
Polystigmin (Zopf)[1]	+	+	+	+	+
Rhodophan (Kühne)	—	+	+	+	+
Vitellorubin (Maly)	—	+	+	+	+
Lina-Carotin (Zopf)	—	—	—	—	—
Diaptomin (Zopf)	—	—	—	—	—
Nectriin (Zopf)	—	—	—	—	—

3. Löslichkeitsverhältnisse der Natriumverbindung.

	in Alcohol	Aether	Chloroform	Benzol	Schwefelkohlenstoff
Polystigmin (Zopf)	+	+	+	+	+
Lina-Carotin (Zopf)	+	+	+	+	+
Diaptomin (Zopf)	+	+	+	+	+
Vitellorubin (Maly)	—	+	+	+	+
Rhodophan (Kühne)	—	+	+	+	+
Nectriin (Zopf)	(—)[2]	(—)	+	+	+

Ich glaube desshalb das rothe Carotin aus den Conidienpolstern von *Nectria cinnabarina* als neu ansprechen zu dürfen und werde dasselbe, wie bereits früher[3] aber in anderem Sinne, als Nectriaroth oder kurz Nectriin bezeichnen.

Nectria cinnabarina ist also in gleicher Weise wie *Polystigma rubrum* im Stande, zwei verschiedene Carotine ein gelbes und ein rothes zu erzeugen, von denen letzteres an Menge überwiegt.

---

1) Das Zeichen + bedeutet löslich, das Zeichen — unlöslich.
2) Das Zeichen (—) bedeutet: unlöslich oder fast ganz unlöslich.
3) Die Pilze (Eumyceten) p. 156.

Fassen wir die Resultate vorstehender Untersuchung über die Carotinbildung bei Hypocreaceen zusammen, so stellt sich heraus:

Erstens, dass eine gleichzeitige Production von mehr als einem Carotin, die bisher nur für Thiere constatirt war (durch W. Kühne, Krukenberg, Maly u. A.) auch bei Pflanzen, speziell Pilzen, möglich ist.

Zweitens, dass rothe Carotine auch von ächten Pilzen producirt werden (bisher waren sie nur für Thiere und Bakterien constatirt worden).

Drittens, dass Vertreter nahe verwandter Gattungen ja Vertreter derselben Gattung ganz verschiedene Carotine erzeugen können.

An letztere Thatsache lässt sich die Vermuthung anknüpfen, dass ähnliche Verhältnisse wohl auch bei den Blüthenpflanzen vorkommen werden.

3. Tremellinen.

Schon früher wurde von mir der Nachweis geführt, dass bei solchen Gallertpilzen, welche intensiv gelbe, orangene oder rothe Färbungen aufweisen, ein Gehalt an carotinartigen Farbstoffen zu constatiren ist; so z. B. bei *Calocera viscosa* und *Dacrymyces stillatus*. Da ich neuerdings die seltenere *Ditiola radicata* (Albertini und Schweinitz) zu sammeln Gelegenheit hatte (auf entblösstem Fichtenholze bei Lofer im Salzburgischen), so habe ich auch dieses Object auf Anwesenheit von Carotin geprüft. Im frischen Zustande erscheinen die Fruchtkörper orangegelb, im getrockneten roth. Nachdem dieselben mit 60%igem Alcohol in der Wärme etwas aufgeweicht waren, zog ich sie mit heissem Alcohol absolutus aus. Der im verdünnten Zustande gelbgrünlich, in concentrirterem orangegelb erscheinende Extract zeigt zwei Absorptionsbänder, von denen Band I gerade auf F, Band II in die Mitte zwischen F und G fällt. Der alcoholische Auszug wurde in üblicher Weise verseift, der Alcohol zum grössten Theile abdestillirt und nun das mit ausgekochtem destillirten Wasser verdünnte Seifengemisch erst mit etwas Petroläther, dann mit Aether ausgezogen, wobei sich die Seife schliesslich entfärbte. Nachdem die Auszüge wiederholt mit warmem Wasser ausgewaschen waren (zur Entfernung von Seifenresten und Alkali) wurden sie bei Sonnenlicht spectroscopisch untersucht. Die Spectren beider Lösungen zeigten zwei Absorptionsbänder in der oben angegebenen Lage, und zwar reichte in der ätherischen Lösung Band I etwa von λ 495—477 (Maximum nach Schätzung bei 485), Band II etwa von λ 459—445 (Maximum etwa bei 452) Band II erschien mir in niederen Schichten der Lösung kräftiger zu sein als Band I. Der Verdampfungsrückstand der ätherischen Lösung färbte sich mit conc. Schwefelsäure blau.

Ditiola radicata erzeugt mithin nur ein einziges gelbes Carotin mit 2 Bändern. Die Petrolätherlösung sieht grünlich gelb, die ätherische im verdünnten Zustande ebenso bis rein gelb aus.

Beim Vergleich dieses Carotins mit dem von *Calocera viscosa* ergiebt sich bezüglich des Spectrums und der Farbe der Lösungen eine so genaue Uebereinstimmung, dass man wohl eine Identität beider Farbstoffe annehmen darf.

Anknüpfend an die obigen Funde neuer rother Carotine bei niederen Krebsen und bei Schlauchpilzen möchte ich noch den wichtigen Unterschied betonen, der zwischen allen bis jetzt gefundenen rothen und gelben Carotinen herrscht.

Dieser Unterschied liegt darin, dass Erstere im Stande sind, mit alkalischen Erden sowie mit Alkalien Verbindungen einzugehen, während die Letzteren hierzu nicht befähigt sind.

Der Umstand, dass die rothen Carotine sich mit Basen verbinden, deutet bestimmt darauf hin, dass sie sauerstoffhaltig sein müssen. Die gelben Carotine dagegen sind nicht sauerstoffhaltig, was für das Mohrrüben-Carotin bekanntlich in der Neuzeit sicher festgestellt wurde durch Arnaud und Immendorf, welche zeigten, dass das Mohrrüben-Carotin ein Kohlenwasserstoff ist, was allerdings auch schon Zeise gefunden hatte.

Es ergiebt sich also zwischen den rothen und den gelben Carotinen eine sehr bemerkenswerthe chemische Differenz. Diese, meine ich, müsste nun auch bei einer Eintheilung der Carotine berücksichtigt werden. Ich möchte daher vorschlagen, dass diese Pigmente in zwei Gruppen geschieden würden, nämlich in Eucarotine (eigentliche Carotine) und in Carotinine.

Erstere würden dadurch characterisirt sein, dass sie sauerstofffreie Körper, Kohlenwasserstoffe, darstellen, mit Alkalien und alkalischen Erden keine Verbindung einzugehen im Stande sind, und in ihrem alcoholischen, ätherischen und Petrolätherlösungen gelb gefärbt erscheinen.

Die Letzteren dadurch, dass sie Sauerstoffgehalt besitzen, mit Alkalien und alkalischen Erden Verbindungen liefern und in ihren alcoholischen, ätherischen und Petrolätherlösungen roth aussehen.

Ich gedenke an anderer Stelle auf diese Gruppen und ihre weitere Gliederung zurückzukommen.

Ueber eine Saprolegniee mit einer Art von Erysipheen-ähnlicher Fruchtbildung

von

W. Zopf.

Während man die Zygosporen- und Oosporangien-Apparate der Algenpilze (Phycomyceten) bis in die siebziger Jahre hinein nur in einfacher, „nackter" Form kannte, haben spätere Untersuchungen gelehrt, dass jene Fructificationsformen bei gewissen Vertretern eine höhere Stufe der Ausbildung erlangen können, indem sie eine mehr oder minder geschlossene „Hülle" erhalten und damit zu einer Art von „Fruchtbildung" vorschreiten.

Für die Zygosporen der Zygomyceten wiesen Van Tieghem[1] und Brefeld[2] dergleichen behüllte Formen bei den Gattungen *Phycomyces, Absidia* und *Mortierella* nach.

Für die Oosporangien (Oogonien) der Oomyceten ist durch De Bary's[3] Untersuchungen an *Achlya prolifera* ein Fall bekannt geworden, in welchem ebenfalls eine Hüllenbildung vorliegt. Allerdings ist dieselbe, wie De Bary's Abbildungen zeigen, ziemlich primitiver Natur, insofern die Hüllelemente das Oosporangium nur locker umwinden, keineswegs aber zu einem Gehäuse zusammenschliessen, und hiermit mag es zusammenhängen, dass die De Bary'sche Deutung in der Folge mycologischerseits ignorirt wurde.

Ich habe nun vor längerer Zeit das Glück gehabt, bei einer neuen *Dictyuchus*-artigen Saprolegniee gleichfalls eine Art von Hüllenbildung an den Oosporangien aufzufinden, welche unter Umständen entschieden ausgeprägter und vollkommener zu Tage tritt, als bei *Achlya prolifera* und dann zur Entstehung einer allseitig geschlossenen Oosporangienfrucht führt, welche lebhafte Anklänge an den so einfach organisirten Schlauchfruchttypus gewisser Melthaupilze *(Podosphaera)* darbietet.

---

1) Ann. sc. nat. sér. 6, tom IV.

2) Schimmelpilze Heft IV.

3) Unters. über die Peronosporeen und Saprolegniaceen in Beitr. z. Morphol. u. Physiol. d. Pilze, 4. Reihe.

Bei der Bedeutung, welche mir dieser Fund in morphologischer Hinsicht zu haben schien, nahm ich eine nähere Untersuchung vor, deren Ergebnisse hier mitgetheilt werden sollen.

Wie bei *Dictyuchus monosporus* Leitgeb bilden die Oosporangien den Abschluss von Haupt- oder Seitenästen (Taf. II, Fig. 1—6, 9—11). Von kugeliger Form, produciren sie wie die von *Dictyuchus monosporus* stets eine bestimmte Sporenzahl, nämlich die Einzahl. Die Spore ist excentrisch gebaut.

An die Oosporangien treten Myceläste heran, welche sich dicht an deren Wandung anschmiegen und dieselben umwachsen. Auf diese Weise entsteht um das Oosporangium eine Hülle.

Die Elemente derselben fügen sich häufig so lückenlos an einander, dass das Oosporangium wie in einer allseitig völlig geschlossenen, im Gesammtumriss gerundeten Kapsel liegt (Taf. II, Fig. 1, 2). Daneben kommen Formen vor, wo der Zusammenschluss der Hüllschläuche nur annähernd vollständig wird (Taf. II, Fig. 3). In noch anderen Fällen ist die Umhüllung eine noch lückenhaftere (Taf. II, Fig. 5, 6, 9), und schliesslich finden sich Oosporangien häufig, an denen eine Hülle nur noch in primitivster Form, nämlich als ein einziger einfacher und kurzer Hüllschlauch zu finden ist (Taf. II, Fig. 11).

Der Hüllapparat ist vielfach nur auf einen einzigen Schlauch zurückzuführen (Taf. II, Fig. 2b, 3b, 4b, 9b, 11), selbst da, wo die Hüllelemente lückenlos zur Kapsel zusammenschliessen (Taf. II, Fig. 2) oder doch nahezu dichten Zusammenschluss zeigen (Taf. II, Fig. 3, 4, 6).

In anderen Fällen treten die Schläuche in der Zweizahl an das Oosporangium heran (Taf. II, Fig. 7 hier sind beide getrennt gezeichnet). In noch anderen Fällen sind drei Schläuche an der Hüllenbildung betheiligt (Taf. II, Fig. 1b c d), in noch anderen vier (Taf. II, Fig. 5a—d).

Die Hüllschläuche stellen vielfach die Enden von Zweigen dar, die anderen Zweigsystemen, als denen, wo das Oosporangium sitzt, entspringen (Taf. II, Fig. 5, 12, 13). Hier und da kommt es vor, dass ein Hüllschlauch unmittelbar unter dem Oosporangium seinen Ursprung nimmt (Taf. II, Fig. 11).

Bisweilen kann man mit Sicherheit einen Hüllschlauch auf einen andern zurückverfolgen, der schon einem anderen Oosporangium anliegt (Taf. II, Fig. 13, 14), mit andern Worten, ein Hüllschlauch kann einen Zweig aussenden, der zum Hüllschlauch eines andern Oosporangiums wird.

Der umhüllende Theil grenzt sich stets durch eine Querwand gegen den Tragfaden ab (Taf. II an allen Figuren zu sehen). Er bleibt entweder einzellig (Taf. II, Fig. 7 links, Fig. 11) oder er gliedert sich durch Querwände (Taf. II, Fig. 4, 7 rechts, 9, 12). Meist verzweigen sich die Hüllschläuche, auch in Fällen, wo sie einzellig bleiben (Taf. II, Fig. 1—4, 6, 7, 8, 9, 14). Dabei treten die Zweige gewöhnlich in unregelmässiger Form und Anordnung auf, meist als kurze, stumpfe Aussackungen, die sich bald durch Querwände abgliedern (Taf. II, Fig. 1—3, 7 rechts), bald ohne solche erscheinen (Taf. II,

Fig. 4—7 links 8) und ihrerseits wiederum Ausstülpungen treiben können.

Im ihrem Bestreben, sich dem Oosporangium möglichst dicht anzuschliefsen, nehmen manche Hüllsysteme oder einzelne Aeste oft recht sonderbare Formen an (Taf. II, Fig. 4, 5, 6, 7, 8), z. B. die einer hohlen Hand (Taf. II, Fig. 7 links) oder einer Zange (Fig. 7 rechts, 9) oder unförmlicher, mit kammartigen Aussackungen versehener Keulen (Taf. II, Fig. 8).

Die Hüllschläuche heften sich ferner so dicht an die Wandung des Oosporangiums an, dass mir eine Ablösung derselben auf dem Wege der Präparation niemals hat gelingen wollen.

Bemerkenswerth ist, dass keine Zelle der Hüllsysteme jemals eine Ausstülpung in das Innere des Oosporangiums hineintreibt nach Art eines sogenannten Befruchtungsschlauches, wie er bei so vielen anderen Saprolegnieen beobachtet wurde.

An vielen Oosporangien erscheint die Hülle zartwandig und geht dann infolge von Vergallertungsprozessen früher zu Grunde, als die derbere Wandung des Oosporangiums; andere Oosporangien indessen, namentlich solche mit vollständigerer Hülle, zeigen letztere in derberer Beschaffenheit und von längerer Persistenz.

An die soeben dargelegten nackten Thatsachen betreffs der Hüllenbildung lassen sich folgende, vom morphologischen Gesichtspunkte aus lehrreiche Betrachtungen knüpfen:

Wir haben gesehen, dass von den Oosporangien der vorliegenden *Dictyuchus*-Art die einen von Hüllzweigen so vollständig umwallt werden können, dass sie sich auf die Stufe einer allseitig dicht geschlossenen rundlichen Kapselfrucht erheben, während andere nur annähernd vollständige Hüllen erhalten, noch andere sogar nur ganz unvollständige Hüllenbildung aufweisen.

Es sind mithin bei *Dictyuchus carpophorus* noch alle Stufen der Ausbildung vorhanden, welche eine einfache Oosporangienfrucht durchlaufen kann.

Die höchste Stufe der Hüllenbildung — die der wirklich lückenlos geschlossenen Kapsel — ist bisher bei keinem anderen Repräsentanten der Oosporeen nachgewiesen worden. Eine wenigstens annähernd vollständige Hüllenbildung kann nach De Bary's bereits erwähnten Beobachtungen bei *Achlya prolifera*, nach Leitgeb's Andeutungen augenscheinlich auch bei *Dictyuchus monosporus* vorkommen.

Betrachten wir nun die allereinfachsten Hüllenbildungen bei *Dictyuchus carpophorus*, also solche, wie ich sie in Taf. II, Fig. 9, 10, 11, 13 zur Darstellung gebracht habe, und vergleichen wir dieselben mit den antheridialen Aesten, wie wir sie bei dem nächstverwandten *Dict. monosporus* Leitgeb's und weiter bei fast allen anderen Saprolegnieen und Peronosporeen vorfinden, so werden wir finden, dass in morphologischer Beziehung (Gestaltungsweise, Ursprung, Anlagerung an das Oosporangium) zwischen jenen Bildungen von *D. carpophorus* und den Antheridien der übrigen genannten Oosporeen eine ausgesprochene Uebereinstimmung herrscht.

Es wird daher der Auffassung nichts im Wege stehen, dass die einfachsten Hüllbildungen von *D. carpophorus* das **morphologische** Homologon der Antheridien der Saprolegnieen und Peronosporeen darstellen.

Ist aber diese Auffassung richtig, so müssen auch die vollkommeneren Formen der Hüllenbildung bei genanntem Pilze, die bis zur Ausbildung eines vollkommen lückenlos zusammenschliessenden Oosporangium-Gehäuses gehen können, als morphologisch weiter entwickelte Antheridialbildungen gedeutet werden.

Hätte *Dict. carpophorus* die unvollkommeneren Formen seiner Hüllenbildung, wie sie z. B. Fig. 11, 10, 9 auf Taf. II aufweisen, bereits eingebüsst und nur noch die vollkommenste Form derselben, die allseitig geschlossene Kapsel, wie sie Taf. II, Fig. 1 u. 2 darstellt, beibehalten, so würde man die morphologische Deutung der Letzteren als weiter entwickelten Antheridialapparat jedenfalls nicht mehr mit solcher Sicherheit geben können, wie es gegenwärtig noch möglich ist.

In physiologischer Hinsicht dagegen sind die Hüllenbildungen des *Dict. carpophorus* nicht als Homologa der Antheridien zu deuten. Es fehlt ihnen die männliche Function: sie können ihren Inhalt nicht mit dem des Oosporangiums mischen, weil sie weder Befruchtungsschläuche treiben, noch durch Fusion mit dem Oosporangium in Verbindung treten.

Durch De Bary's sorgfältige Untersuchungen (l. c.) wissen wir ja bereits, dass auch bei anderen Saprolegnieen die Befruchtungsschläuche geschlossen bleiben oder gänzlich fehlen; „ein Uebertritt von Gonoplasma ist nicht zu erkennen."

Angesichts dieser Objecte darf man also gleicherweise nur mehr in morphologischem, nicht aber in physiologischem Sinne von Antheridien reden; mit andern Worten: das Antheridium ist seiner Gestalt nach noch vorhanden, seiner Function nach bereits verschwunden, ganz im Gegensatz zu gewissen Peronosporeen, wo es nach De Bary seine Function noch ausübt.

Wenn wir nun einerseits sehen, dass Organe, die morphologisch als Antheridien anzusprechen sind, bei gewissen Saprolegnieen eine weitere morphologische Ausbildung in dem Sinne erfahren, dass sie zu mehr oder minder vollkommenen Hüllbildungen entwickelt werden, die bei *D. carpophorus* sogar die Höhe einer allseitig geschlossenen Kapselbildung erreichen können, so sehen wir andererseits bei *Saprolegnia Thuretii* De Bary und anderen Saprolegnieen jene Organe nur selten oder gar nicht auftreten. Es liegt nahe zu vermuthen, dass solche Vertreter einmal Antheridien besessen, dieselben aber im Laufe der Zeit verloren haben oder doch zu verlieren im Begriffe sind.

Ich komme nun zu einem anderen wichtigen Punkte. Nach den oben dargelegten klaren Thatsachen kann kein Zweifel obwalten, dass die Oosporangienbildung bei *D. carpophorus* unter Umständen vorschreitet zur Bildung einer allseitig geschlossenen Oospo-

rangienfrucht, bestehend aus einem Sporangium (Oosporangium) und einer gewebeartig geschlossenen Hülle.

Wenn man nun das Ganze vergleicht mit den einfachen Fruchtbildungen, wie wir sie bei gewissen Ascomyceten und zwar bei den Erysipheen vorfinden, so kann man sich des Eindrucks nicht erwehren, dass zwischen beiderlei Fruchtformen eine ausgesprochene Aehnlichkeit herrscht. Die Schlauchfrüchtchen von *Podosphaera* insbesondere haben mit den Oosporangienfrüchtchen der obigen Saprolegniee das gemein, dass sie nur ein einziges Sporangium aufweisen, und dass dieses Sporangium umwallt wird von Hüllhyphen, die zu einer allseitig geschlossenen rundlichen Kapsel zusammentreten.

Aber nicht bloss im fertigen Zustande prägt sich eine grosse Aehnlichkeit zwischen der *Dictyuchus*- und der *Podosphaera*-Sporangienfrucht aus, sondern auch in der Art und Weise wie sich die Entwickelung Beider vollzieht.

An einem Mycelzweig (bei *Podosphaera* ist es meist ein kurzer Seitenast) entsteht eine Anschwellung, die bauchige Form annimmt und sich alsbald durch eine Querwand abgrenzt, es ist dies die Sporangienanlage. An diese schmiegen sich bei *Podosphaera* ein Hüllast, der von einem benachbarten Mycelzweige entspringt, und dann ein oder mehrere Hülläste, die aus dem das zukünftige Sporangium tragenden Theile entspringen.

Bei *Dictyuchus carpophorus* legen sich an das junge Oosporangium ebenfalls Hülläste, die von ein und demselben oder auch von verschiedenen Mycelzweigen entspringen, mitunter auch dicht unter dem Sporangium selbst ihren Ursprung nehmen.

Die Hüllschläuche können sich ferner bei beiden Pilzen durch Querwände gliedern, sich verzweigen und zu einer dichten Hülle vereinigen. Später bildet dann das *Podosphaera*-Sporangium mehrere, das von *Dictyuchus carpophorus* nur eine Spore.

Ein Unterschied zwischen *Dictyuchus* und *Podosphaera* besteht eigentlich nur darin, dass bei Letzterer das junge Sporangium vor der Sporenbildung sich durch eine Querwand gliedert in eine Stielzelle und in das eigentliche Sporangium, und ferner die Hüllelemente kleine kurze Seitenzweige treiben können, welche den Raum zwischen Sporangium und Hülle ausfüllen, was bei *Dictyuchus carpophorus* nicht eintreten kann, weil die Hüllelemente sich der Wandung des Sporangiums fest anheften.

Nach den eben berührten gemeinsamen Eigenschaften, glaube ich keinen Anstand nehmen zu dürfen, die *Podosphaera*-Frucht als das Analogon der *Dictyuchus*-Frucht anzusprechen.

Schon der weitsichtige De Bary hat (l. c.) eine solche Auffassung ausgesprochen auf Grund der Aehnlichkeit der behüllten Oosporangien von *Achlya prolifera* mit der *Podosphaera*-Frucht. Da nun aber die Hüllen der Oosporangienfrüchte von *Dictyuchus carpophorus* einen entschieden vollkommeneren Grad der Ausbildung und damit auch eine grössere Aehnlichkeit mit der *Podosphaera*-Frucht erreichen, als diejenigen von *Achlya prolifera,* so glaube ich mit noch grösserem Rechte

als genannter Forscher die Analogie zwischen Saprolegnieen- und Podosphaeren-Frucht betonen zu dürfen.

Ich habe nun bereits im Vorausgehenden gezeigt, dass die Hüllästе der *Dictyuchus*-Frucht das morphologische Homologon der Antheridien der Saprolegniaceen und Peronosporeen darstellen.

Wenn nun, wie soeben dargelegt wurde, die Hüllbildungen der *Dictyuchus*- und der *Podosphaera*-Frucht morphologisch analoge Organe sind, so folgt daraus, dass auch die Hülläste der letzteren als den Antheridien der Saprolegniaceen und Peronosporeen morphologisch analoge Bildungen aufgefasst werden müssen.

Indem ich diese Consequenz ziehe, erkenne ich an, dass die Deutung des ersten Hüllschlauches der *Podosphaera*-Frucht als Antheridium im **morphologischen** Sinne, wie sie von De Bary schon vor Jahrzehnten gegeben und später festgehalten, auch mit wenig Ausnahmen von allen seinen Schülern adoptirt wurde, durchaus berechtigt erscheint.

In physiologischer Beziehung kann das Hüllelement von *Podosphaera* natürlich ebensowenig als Antheridial-Bildung gelten, wie das von *Dictyuchus carpophorus*.

Aus allen diesen Darlegungen geht hervor, dass die Sporangienfrucht der Erysipheen, durch Vermittelung von *Podosphaera*, an die Sporangienfrucht der Saprolegniaceen, speciell von *Dictyuchus carpophorus* einen ungezwungenen morphologischen Anschluss findet.

Zu diesem Ergebniss haben auch De Bary's Untersuchungen und Ueberlegungen geführt, wie er sie in der genannten Saprolegniaceen-Arbeit niederlegte.

Trotz der ausführlichen Begründung, mit welcher De Bary's Ansicht gestützt wurde, hat Brefeld dieselbe in der Folge leider vollständig ignorirt und sie zu verdrängen gesucht durch die Annahme, der morphologische Anschluss der Schlauchfrucht der Erysipheen wie der Ascomyceten überhaupt sei ganz wo anders zu suchen als bei den Oosporeen, nämlich bei den Zygosporeen und zwar bei den „Sporangienträgern" von *Rhizopus* und *Mortierella*.[1]

Ich kann nach reiflicher Ueberlegung Brefeld hierin nicht Recht geben, muss vielmehr den von ihm gemachten Versuch eines solchen Anschlusses als einen durchaus gezwungenen, unnatürlichen bezeichnen, wobei ich mich auf folgende Gründe stütze: Eine Umwallung des Sporangiums durch Hüllhyphen findet weder bei *Rhizopus* noch bei *Mortierella* statt. Es wird bei Mortierella nur der lange Träger des Sporangiums und auch dieser nur an der äussersten Basis umwallt.[2] Und was *Rhizopus nigricans* anbetrifft, auf den Brefeld sich ferner bezieht, so zeigt seine Abbildung sehr deutlich (l. c. Taf. IIIA, Fig. 2), dass die Hyphen der dargestellten Rhizoïden-Rosette sämmt-

1) Brefeld, Untersuchungen aus dem Gesammtgebiete der Mycologie Heft 9, p. 79.
2) Man sehe Brefeld's eigene Abbildungen l. c. Taf. IIIA, Fig. 3.

lich in der Mycelebene (Ebene des Kultursubstrats) verlaufen und nur einige Aeste derselben im flachen Bogen sich nach oben wenden. Ich habe mich nun bemüht, diese letztere Erscheinung an *Rhizopus*-Rosetten selbst zu beobachten, aber es ist mir nicht gelungen, dergleichen wieder aufzufinden, weder an den mächtigsten Rosettenbildungen, noch an den einfacheren Formen derselben.

Brefeld muss also eine zufällige Erscheinung vor sich gehabt haben, die er sich in seinem Sinne gedeutet hat, vielleicht eine Art von Luftfäden an den Rosetten, entsprechend den Luftfäden (Luftmycelien) wie sie sich unter gewissen Feuchtigkeitsverhältnissen an Mycelien bekanntlich so häufig entwickeln.

Zwischen einer solchen zweifelhaft-normalen Erscheinung und der Hüllenbildung einer Ascomycetenfrucht, selbst einer so einfachen wie bei *Podosphaera,* eine Analogie herauslesen zu wollen, scheint mir denn doch etwas gewagt.

Wie klar und überzeugend tritt dagegen die Analogie zwischen den Hüllbildungen der Oosporangien von *Achlya prolifera* und vollends von *Dictyuchus carpophorus* einerseits und der Hüllbildung der Podosphaera-Frucht andererseits hervor.

Ich betone daher nochmals, dass man mit De Bary den morphologischen Anschluss der Erysipheen-Schlauchfrucht bei der Oosporangienfrucht der Oosporeen zu suchen hat, nicht aber mit Brefeld bei den Sporangienbildungen der Zygosporeen. Die Berechtigung hierzu gewinne ich, indem ich mich, wie gezeigt, auf den Boden der Thatsachen und der ungezwungen aus diesen sich ergebenden Analogieen stelle.

Nach diesen allgemeinen Darlegungen wende ich mich wieder dem *Dictyuchus carpophorus* zu, um die Charakteristik der Species noch nach einigen anderen Seiten hin zu vervollständigen.

Die Pflanze wurde gefunden auf im Wasser faulenden Sphagnen. Sie trat in $1-1^1/_2$ cm hohen Rasen auf, welche das Substrat bisweilen auf mehrere Centimeter weit überkleideten. (Taf. III, Fig. 1.) Wie andere Saprolegnieen liess sich der Pilz auf Insecten (z. B. Fliegen) leicht übertragen.

Der Verzweigungsmodus folgt, wie bei anderen höheren Saprolegnieen, dem monopodialen Typus. (Taf. III, Fig. 2.) Die Zweige, oft theilweise einseitswendig inserirt, gehen in dünne Enden aus. Wenn die Raumverhältnisse die freie Entwickelung von Haupt- und Nebenachsen bedrängen, treten an den sonst schlanken Hyphen auffallende Unregelmässigkeiten auf, die in energischen Biegungen und reicherer Verzweigung Ausdruck gewinnen, aber im Ganzen doch den sonstigen Mycelcharacter wahren.

Mit diesen Unregelmässigkeiten nicht zu confundiren sind höchst eigenthümliche Verzweigungsformen des Mycels, die trotz ihrer Absonderlichkeit nicht zu den Abnormitäten zu rechnen sein dürften, da sie so characteristisch erscheinen und in solcher Menge auftreten, dass sie geradezu ein für die Morphologie der Species wesentliches Moment in sich schliessen. Beliebige Mycelzweige treiben nämlich bald in der

ganzen Fadenlänge auftretende, bald nur auf eine terminale oder auch intercalare Region beschränkte, meist in relativ grosser Zahl erscheinende Ausstülpungen, die nach den verschiedensten Richtungen gewandt, ihr Spitzenwachsthum frühzeitig aufgeben, daher den Character von Kurzzweigen annehmen und über die kurz- oder gestreckt-papillöse Form nur selten hinausgehen. (Taf. II, Fig. 1; Taf. III, Fig. 16.) Dabei behält der aussprossende Faden an den betreffenden Stellen entweder die normale Dickendimension bei (Taf. II, Fig. 1), oder es tritt eine gewisse Anschwellung der Mutterhyphe ein. (Taf. III, Fig. 16, 17.) Häufig tritt dieselbe in dem Grade hervor, dass auffallend bauchige Formen entstehen, welche entfernt an die zum Zwecke der Oogonienbildung entstehenden Fadenanschwellungen bei *Saprolegnia asterophora* und *Aphanomyces stellatus,* namentlich dann erinnern, wenn die Anschwellungen dem Fadenende entsprechen (Taf. III, Fig. 16, 17) und ihre Ausstülpungen auf die kurz papillöse Form beschränkt bleiben. Sie tragen jedoch rein vegetativen Character.

Bisweilen treiben die Kurzzweige spärliche Seitenäste von derselben Form. Wird diese Verzweigung allgemein und sind die primären Zweiglein selbst schon in dichter Stellung vorhanden, so kann der Mutterfaden ganz dicht eingehüllt, und damit in seinem Verlaufe unkenntlich werden. (Andeutungen hierfür giebt schon Fig. 1 auf Tab. II.)

Auf den ersten Blick machen diese eigenthümlichen, soviel mir bekannt bisher bei keiner anderen Saprolegniacee beobachteten Sprossungen mitunter den Eindruck von Rhizoïden. Allein schon ihre allseitswendige Insertion an der Mutterhyphe und der Umstand, dass sie gerade häufig an den frei ins Wasser ragenden Mycelfäden auftreten, lässt vermuthen, dass sie nicht die Function jener Organe besitzen. Die genauere Untersuchung zeigte in der That nie eine Anschmiegung der Kurzzweige an das Substrat.

Man könnte sich ferner vorstellen, dass die fraglichen Gebilde durch Parasiten verursachte gallenartige Wucherungen seien. Allein es traten niemals Parasiten in den Mycelfäden auf, weder animalische, noch vegetabilische.

Neben der eben characterisirten mycelialen Eigenthümlichkeit existirt noch eine andere von nicht minderer Auffälligkeit. Sie besteht darin, dass die Mycelfäden bald an den Enden, bald an intercalar gelegenen Stellen plötzlich zu kugeligen, ellipsoïdischen oder birnförmigen Blasen anschwellen (Taf. III, Fig. 10a, 12a b), welche sich nicht durch Scheidewände gegen den Faden abgrenzen und infolge schwacher Cuticularisirung der etwas verdickten Membran licht bräunliche Tinction annehmen. Ich werde auf die morphologische Bedeutung dieser Gebilde später noch zurückkommen.

Die Fructification tritt unter den bekannten zwei Formen, der Sporangien- und der Oogonien-Fructification auf. Letztere wurde oben bereits besprochen. Zum Zweck der Sporangienbildung wandert das Plasma entweder in die Spitzen des Mycels ein, oder es bildet Anhäufungen an intercalaren Stellen. (Taf. III, Fig. 6i, 9.) Im ersteren Falle schliesst es sich durch eine, im zweiten durch zwei Querwände

gegen den entleerten Faden ab. Von der Entleerung, die übrigens nur eine partielle ist, werden nicht bloss die gewöhnlichen Mycelfäden betroffen, sondern auch die oben erwähnten Kurzsprosse und die „Blasen". (Taf. III, Fig. 10a, 12a b.)

Je nachdem der Mycelfaden an der Stelle, wo sich die Anhäufung des Plasmas vollzieht, einfach oder bereits verzweigt, stark verjüngt oder keulig verbreitert, selten kugelig oder birnförmig erweitert erscheint, tritt eine entsprechende Form und Verzweigungsweise der Sporangien zutage. (Taf. III, Fig. 10, 11.) Selbst die Fadentheile, welche jene sonderbare Kurzzweigbildung erkennen lassen, werden namentlich, wenn sie Enden darstellen, mit dem zur Schwärmsporenbildung dienenden Plasma gefüllt. (Taf. III, Fig. 16.) Ausserdem können die Sporangien sympodial verzweigte Stände, wie bei anderen Saprolegniaceen bilden. (Taf. III, Fig. 7, 8.)

Es tritt auf diese Weise eine grössere Mannichfaltigkeit in der Form der Sporangien zutage, als man sie bei anderen Saprolegnieen zu sehen gewohnt ist.

Bleibt der Fadentheil, in welchem sich das Plasma zum Zweck der Schwärmerbildung ansammelt, schmal, so bildet sich nur eine Reihe von Zoosporen (Taf. III, Fig. 4, 11, 12), weitet er sich infolge der Plasmaanhäufung, so treten die Schwärmer in 2—3 Reihen auf. (Taf. III, Fig. 5—10.) Im ersten Falle nehmen sie die Form von Cylindern an, die bald niedrig (Taf. III, Fig. 4, 12), bald (wie es an sehr schmalen Fäden die Regel ist) mehr oder minder gestreckte Gestalt zeigen. (Taf. III, Fig. 11.) Im letzteren Falle dagegen werden sie durch gegenseitigen Druck polyedrisch. (Taf. III, Fig. 5—10.) Die letztere Form ist die vorherrschende, doch sind in manchen Rasen die dünnen Sporangien mit gestreckt cylindrischen Gliedern oft in reicher Anzahl zu finden.

Die Zahl der Schwärmer ist sehr wechselnd (2 bis viele), je nach der Grösse der Sporangien.

Wie bei allen Dictyuchusarten bilden sie frühzeitig eine Membran, aus der sie durch ein seitliches Loch ausschlüpfen, sodass ein Membrannetz zurückbleibt. (Taf. III, Fig. 6, 9, 13.) Von diesem Modus der Entleerung giebt es keine Ausnahme, auch bei anderen *Dictyuchus*-Arten, die ich untersuchte, nicht. Ich glaube mich desshalb der Ansicht Leitgeb's,[1] der in dieser Entleerungsweise ein Characteristicum der Gattung erblickt, anschliessen zu dürfen.[2]

Die Schwärmer bewegen sich meist träge, erscheinen von der Seite breit bohnenförmig, vom Pole aus kugelig und zeigen beständige, schwach amöboïde Gestaltveränderungen, die bis zum stumpfeckig Rhombischen gehen können. (Taf. III, Fig. 13.) Der Insertionsstelle der beiden schon ohne Reagentien wahrnehmbaren Cilien entspricht ein vacuolenartiger heller Fleck. Ihre Keimung, die oft schon im Innern der Sporangien erfolgt, zeigt nichts Characteristisches. (Taf. III, Fig. 15.)

1) Ueber neue Saprolegnieen. Pringsh. Jahrb. VII (1869) p. 357—387.
2) Man vergleiche hiermit die Ansicht Pringsheims; Jahrbücher, Bd. IX, p. 221.

Nachdem die Pflanze in einmonatlicher Kultur ausschliesslich Zoosporangien erzeugt hatte, trat Oogonienbildung ein, die bald in üppigster Weise erfolgte. Die Schwärmerfructification ging dabei allmählich zurück, um endlich ganz zu verschwinden. Dass an dem genetischen Zusammenhang der Oogonien mit der zoosporangialen Fructification kein Zweifel sein kann, beweist schon der Umstand, dass beiderlei Fruchtformen an Seitenzweigen desselben Mycel-Fadens auftraten, nicht zu gedenken des häufig eintretenden Umstandes, dass der Tragfaden des Oogons selbst zum Schwärmsporangium wird. (Taf. II, Fig. 14.) Die Pflanze ist also in Bezug auf die beiden Arten der Fructification monoecisch. Gesetzt nun, man untersuchte den Pilz nur in dem Anfangsstadium, wo er ausschliesslich Schwärmer erzeugt, und nur in dem Endstadium, wo die Oosporangien zur ausschliesslichen Herrschaft gelangt sind, so könnte man leicht in den Irrthum verfallen, als entwickele die Pflanze ihre Fructificationen auf verschiedenen Individuen. Vielleicht dürften die Angaben, dass gewisse höhere Saprolegnieen eine strenge Scheidung neutraler und sexueller Pflanzen innehalten, wenigstens zum Theil, auf einem solchen naheliegenden Irrthume beruhen.

Die Oogonien entstehen, wie wir bereits sahen, als bauchige Anschwellungen, welche der Regel nach terminal an Haupt- und Nebenachsen auftreten und kugelige Gestalt annehmen oder sehr ausnahmsweise intercalar angelegt werden und hier ellipsoïdische oder gleichfalls kugelige Gestalt zeigen. Sie nehmen das Plasma der Umgebung auf und schliessen sich durch eine Querwand gegen den Mutterfaden ab. Es tritt nun aber ausserordentlich häufig der Fall ein, dass, bevor diese Scheidewand inserirt wird, das Plasma wieder wegwandert nach anderen Heerden der Fructification hin. (Taf. II, Fig. 12b.) Durch diesen Umstand erklärt sich auch wohl das bei *D. carpophorus* so reichliche Vorkommen der oben bereits erwähnten bräunlichen „Blasen". Sie treten, soweit bekannt, bei keiner anderen der bisher bekannten Saprolegnieen auf.

Was nun das Verhältniss des *Dictyuchus carpophorus* zu den übrigen Species der Gattung anbetrifft, so geht aus dem eben Mitgetheilten deutlich hervor, dass wir es hier mit einer mehrfache Eigenthümlichkeiten zeigenden und darum wohl unterscheidbaren Art zu thun haben.

Während die drei übrigen Vertreter *D. monosporus* Leitgeb, *D. Magnusii* Lindstedt, *D. polysporus* Lindst. und *D. clavatus* De Bary breit abgerundete Astenden besitzen,[1] stets nur sympodiale Sporangienstände bilden, sowie Antheridien mit Befruchtungsschläuchen erzeugen, weist *D. carpophorus* Mycelzweige mit fein zugespitzten Enden, ausser sympodialen auch monopodiale Sporangienstände und Antheridien-ähnliche Hüllbildungen ohne Befruchtungsschläuche auf.

---

1) Vgl. A. Fischer's Bearb. der Phycomyceten in Rabenh. Kryptogamen-Flora Bd. I, Abth. IV, p. 361.

Ausserdem unterscheidet sich die Species noch durch reichlich auftretende eigenthümliche papillenartige Adventivsprosse an den Haupt- und Seitenachsen, sowie durch die oben genannten ebenfalls häufig von mir beobachteten „Blasenbildungen", und durch die bis zur vollkommen geschlossenen Gewebekapsel gehende Ausbildung der Oosporangienhülle.

Gegenüber von *D. polysporus* und *clavatus* liegt überdies eine wesentliche Differenz in der Einzahl der Oosporen (bei jenen Arten sind die Oosporangien mehrsporig), gegenüber von *D. monosporus* und *Magnusii* eine solche in dem excentrischen Bau der Oosporen.

Tafel II.

Dictyuchus carpophorus n. sp.

Fig. 1. 350/1. Ein Mycelschlauch, welcher an seinem Ende eine Oosporangienfrucht erzeugt hat, indem das von dem Aste a getragene Oosporangium von drei Hüllästen bc und d und ihren Zweigen lückenlos umwachsen wurde. An verschiedenen Stellen des Hauptschlauches wie der Seitenäste gewahrt man unregelmässig angeordnete, oft gehäufte Aussackungen, wie sie bei dieser Species mehr oder minder häufig vorkommen.

Fig. 2. 540/1. Eine Oosporangienfrucht mit allseitig dicht zusammenschliessenden Hüllästen, die sämmtlich von einer einzigen aus der Nachbarschaft an das Oosporangium herangetretenen Hyphe b entspringen. a der das Oosporangium tragende Faden.

Fig. 3. 540/1. Eine ähnliche Oosporangienfrucht. Die Hülle nicht an allen Stellen dicht geschlossen, wie es scheint, ebenfalls von einem einzigen Hüllfaden b ausgehend. a Tragfaden des Oosporangiums.

Fig. 4. 540/1. Aehnliche Sporangienfrucht mit nicht ganz dicht schliessender Hülle. Der Hüllschlauch b hat sich in fünf dem Oosporangium o angeschmiegte Zellen gegliedert, die durch die Zahlen bezeichnet sind. Zelle 2 hat mehrere sackförmige Ausstülpungen getrieben. Das Oogon mit seinem Inhalte ist nicht ausgeführt.

Fig. 5. 540/1. Unvollkommene Sporangienfrucht. Das dem Faden o entspringende Oosporangium ist von den Enden vier verschiedener Hülläste abcd umwachsen, die nicht dicht zusammenschliessen. Hüllast c sehr dick und mit Aussackungen x versehen, die auch an Schlauch d auftreten. Hüllast a und b liegen auf der Seite des Beschauers, c und d unter dem Oosporangium.

Fig. 6. 450/1. Sporangienfrucht mit ebenfalls unvollkommener Hülle, gebildet von dem um das Oosporangium sich schmiegenden gegliederten Aste b und dessen Seitenzweige c. Der Zweig d war nach einem anderen Oogon hin gewachsen und hatte sich als Hüllschlauch um dasselbe herumgeschlossen. o der das Oosporangium tragende Faden.

Fig. 7. 540/1. Die beiden Hülläste eines Oosporangiums, jeder für sich gezeichnet, um die Art der Verzweigung klar wieder zu geben. a ist der dem Beschauer zugekehrte Ast mit seinen Verzweigungen, die so angeordnet sind, dass das Ganze wie eine hohle Hand geformt erscheint; b ist der dem Oosporangium von der Unterseite her angeschmiegte Hüllzweig, der nicht wie a einzellig, sondern gegliedert und mit wenigen Kurzästchen besetzt erscheint. Das Oogon ist ganz ausser Betracht gelassen worden.

Fig. 8. 540/1. Ein in drei Zellen gegliederter dicker Hüllschlauch mit unregelmässigen kurzen Aussackungen. Das Oosporangium ist auch hier weggelassen worden.

Fig. 9. 540/1. Ein Oosporangium mit sehr unvollständiger Hülle. a der das Oosporangium tragende Schlauch, b der Hüllschlauch. Er hat sich als dreizelliger Halbring dem Oosporangium angeschmiegt. Die mittlere Zelle hat einen langen Ast entsandt, der dem Oosporangium ebenfalls dicht angeschmiegt erscheint.

Fig. 10 und 11. 450/1. Oosporangien mit noch unvollständigerer Hülle. Bei 11 ist sogar nur ein einziger kurzer einzelliger Hüllast vorhanden, der hier an dem Oogoniumträger und zwar dicht unter dem Oosporangium entspringt.

Fig. 12. 450/1. Der Träger a zeigt ein terminales und ein intercalares Oosporangium b. Letzteres ist steril geblieben, nicht durch Querwände abgegrenzt und von einem gegliederten Hüllschlauche umgeben; ersteres von zwei Hüllschläuchen c und d.

Fig. 13. 450/1. Drei Oosporangien, an den Fäden a b c, umwachsen von den Hüllschläuchen d f g. g entspringt von f, f von d.

Fig. 14. 350/1. Zwei Oosporangien o, unterhalb deren der Tragfaden sich zum Schwärmsporangium ausbildet. Der Hüllschlauch a entspringt vom Hüllschlauch des oberen Oosporangiums.

Tafel III.

Dictyuchus carpophorus n. sp.

Fig. 1. Fragment einer Sphagnum-Pflanze, besetzt mit einem Rasen des *Dictyuchus carpophorus;* nat. Gr.

Fig. 2. 40/1. Theile des mycelialen Systems.

Fig. 3. 60/1. Zweigstück mit umhüllten Oosporangien (mit Oosporangien-Früchten).

Fig. 4—12. Einzelne Fäden und Fadensystem-Theile mit Schwärmsporangien-Bildungen, welche in Form von sogenannten Zellnetz-Sporangien entwickelt sind.

Fig. 4 und 5. 350/1. Zwei einfache gestreckt keulige Endsporangien.

Fig. 6. 350/1. Ein Faden mit stark bauchiger intercalarer Anschwellung, einem terminalen und einem intercalaren (i) Sporangium.

Fig. 7 und 8. 350/1. Fäden mit sympodial verzweigten Zoosporangien-Ständen.

Fig. 9. 250/1. Fadenstück mit intercalarem Zoosporangium.

Fig. 10. 350/1. Stück eines Fadensystems, dessen Hauptachse abschliesst mit einem cylindrischen, an der Spitze kugeligen, an der Basis links mit einer seitlichen Ausstülpung versehenen Sporangium, während die Seitenäste mit kugeligen Anschwellungen (a) von bräunlicher Farbe endigen; der Inhalt ist aus allen diesen Theilen hinweggewandert.

Fig. 11. 250/1. Monopodial verzweigter Zoosporangien-Stand; resp. ein monopodial verzweigtes Mycelstück, dessen dünne Enden in Sporangienbildung übergegangen sind.

Fig. 12. 350/1. Zweigstück mit blasigen Anschwellungen a und b und einigen sympodial entstandenen Zoosporangien.

Fig. 13. 450/1. Sporangium, mit im Austreten begriffenen Schwärmern.

Fig. 14. 450/1. Ein und derselbe zweizilige Schwärmer in verschiedenen Stadien schwacher Metabolie.

Fig. 15. 250/1. Auskeimungsstadien der zur Ruhe gekommenen Schwärmer.

Fig. 16. 540/1. Eigenthümliche, mit Anschwellungen und papillenartigen Aussackungen versehene Myceltheile, wie sie an manchen Stellen der Dictyuchus-Rasen häufig auftreten, z. Th. in Sporangienbildung übergegangen, z. Th. entleert.

Fig. 17. 540/1. Zweig eines ähnlichen Mycelstückes, stark bauchig, entleert.

Zur Kenntniss der Färbungsursachen niederer Organismen

(Vierte Mittheilung)

von

W. Zopf.

Basidiomyceten-Färbungen.

Der blutrothe Löcherschwamm, *Polyporus sanguineus* Fries.

Durch die prächtig rothe Färbung seiner flach-muschelförmigen Fruchtkörper erinnert dieser schöne Pilz an unseren zinnoberrothen Porenschwamm, *Polyporus cinnabarinus* Jacq., doch ist sein Kolorit etwas lebhafter, glänzender, dunkler, wie auch der Name ausdrücken soll, mehr ins Blutrothe getönt, denn zinnoberartig. Die Hymenialschicht erscheint von unten betrachtet tief zinnoberfarben bis blutroth. Der Hutoberfläche wie auch dem kurzen seitlichen Stiel ist das nämliche Roth in minder intensiver Form eigen, hie und da bisweilen unterbrochen von einer mehr rothgelben Zone.

Auf dem Vertikalschnitt erscheint das eigentliche Hutgewebe mehr oder minder ausgesprochen gezont, indem schmale mässig stark rothgefärbte Streifen in von hinten nach vorn gehendem bogigem Verlaufe mit breiteren blasser rothen oder mehr gelbrothen abwechseln, während das Röhrensystem intensivere Färbung darbietet als das Hutgewebe und zwar von ziemlich gleichmässigem Zinnoberroth tingirt ist.

In tropischen Gegenden der alten wie der neuen Welt scheint *P. sanguineus* als Bewohner von Laubstämmen ziemlich häufig vorzukommen. Man hat ihn gefunden in Südamerika (Argentinien, Brasilien, Uruguay), in Centralamerika und in den Vereinigten Staaten, auf Neuseeland, in Tasmanien, auf den Inseln des Stillen Oceans, in Indien, Java, Sumatra, Borneo, den Philippinen, Malacca.[1]

Das von mir benutzte Material war in Brasilien (Santa Catharina) von Herrn Privatdocent Dr. H. Schenk[2] gesammelt worden. Derselbe hatte die Güte, mir ca. ein Dutzend grösserer und kleinerer Fruchtkörper zur Verfügung zu stellen.

Da es bei Untersuchungen wie die vorliegende von Wichtigkeit ist, den Namen des Objects sicher festzustellen, so will ich nicht unter-

1) Vergl. Saccardo, Sylloge Bd. VI, p. 229.

2) Ich sage auch an dieser Stelle Herrn Collegen Schenk für seine Gefälligkeit meinen besten Dank.

lassen anzuführen, dass Herr Prof. P. Magnus den Pilz ebenfalls als *P. sanguineus* Fr. bestimmte.

Zur Gewinnung des Farbstoffes wurden die Hüte, nachdem sie auf dem Reibeisen zu einer sägemehlartigen Masse zerkleinert waren, im Soxhletschen Extractionsapparate mit absolutem Alcohol erschöpft.

Beim Eindampfen des Extractes erhält man auf der Porzellanschale eine blutrothe Masse, welche drei gefärbte Antheile enthält. Der eine Antheil lässt sich durch Ausziehen mit Wasser, der zweite durch Extraction mit Benzol abtrennen, das sich rothgelb bis rothbraun färbt.

Was zurückbleibt ist eine schmutzige rothbraune krystallinische Masse.

Zur weiteren Reinigung wurde sie wiederholt mit Wasser ausgewaschen, um den wasserlöslichen Theil zu entfernen, dann mit Benzol, um den benzollöslichen Antheil zu eliminiren und endlich wiederholt aus heissem Alcohol sowie aus Eisessig umkrystallisirt.

Aus letzteren Lösungsmitteln erhalten bieten die mikroscopisch kleinen Krystalle wetzsteinartige Gestalt dar, d. h. sie zeigen 2 breite spindelige Flächen, während sie von der hohen Kante gesehen schmal erscheinen. Sie schiessen zu kleineren oder grösseren Drusen zusammen (vergl. beistehende Figuren) und sind rothbraun bis röthlich-gelb.



Krystalle von Xanthotrametin aus *Polyporus sanguineus* Fr. stammend, von wetzsteinartiger Tafelform, theils einzeln und von der Fläche gesehen, theils zu Drusen vereinigt und hier theilweis mit der hohen Kante dem Beschauer zu gerichtet. 240fach.

Wenn man die Lösungen schnell auskrystallisiren lässt, so entstehen nur sehr kleine Kryställchen in sphäroïdischen Gruppen und sind nach ihrer Form auch mit starker Vergrösserung nicht mehr zu bestimmen. Auf dunklem Grunde sehen diese Gruppen blutroth aus, bei durchfallendem Licht dunkel-rothbraun. In sehr dünner Schicht auf dem Uhrglase auskrystallisirt zeigt der Farbstoff metallisch grünen Schimmer. Ich habe in der üblichen Weise den Schmelzpunkt zu bestimmen gesucht, aber bei keiner Temperatur, bis zu 250° C. hinauf, ein Schmelzen beobachten können. Vielmehr trat stets eine Zersetzung der Substanz in der Weise auf, dass das rothbraune Krystallpulver sich schwärzte. Hierin liegt aber schliesslich auch ein Characteristikum des Farbstoffs.

Die gereinigte Krystallmasse ist vollkommen unlöslich in Wasser, Petroläther, Ligroïn, Benzol, Schwefelkohlenstoff. In Aethylalcohol absolutus löst sie sich in der Kälte ziemlich schwer, noch schwerer in kaltem Aether, in Chloroform ein wenig mehr, in Methylalcohol sowie Eisessig immer noch am besten, wenn auch ebenfalls nicht besonders reichlich. Die Lösungen sind sämmtlich gelb gefärbt. Fluorescenz weisen dieselben weder bei gewöhnlichem Tageslicht noch im Sonnenlichtkegel der Sammellinse auf.

Bei der spectroscopischen Untersuchung, welche mittelst des Zeiss'schen Spectraloculars bei Sonnenlicht vorgenommen wurde, hat sich eine ganz characteristische Eigenschaft herausgestellt: denn bei Verwendung einer sehr verdünnten alcoholischen Lösung erhält man in

gewisser Schichtenhöhe ein deutliches Absorptionsband. Es liegt in der Mitte zwischen den Linien F und G, ist nicht sehr breit, am dunkelsten etwa von λ 460—455, nach links wie nach rechts schwach abgeschattet und mit der rechten Endabsorption in mittlerer Schichtenhöhe durch einen schwachen Schatten verbunden. Das Spectrum ist also das eines gelben Farbstoffs.

Recht characteristisch sind die Reactionen, welche man mit Mineralsäuren und Alkalien an der Krystallmasse wahrnimmt:

Concentrirte Schwefelsäure löst mit prächtig purpurvioletter Farbe, die bei starkem Wasserzusatz in Gelb übergeht. Eine Ausfällung des Farbstoffs tritt hierbei nicht ein.

Conc. Salpetersäure löst mit prächtig orangerother (leuchtend rothgelber), conc. Salzsäure mit ebenfalls rothgelber aber weniger intensiver Farbe.

In reinem Phenol ist der Farbstoff mit rothgelber bis blutrother Farbe löslich.

Verdünnte Natronlauge löst mit gelber, allmählich ins Röthliche, dann blass Rothviolette gehender Farbe.

Verdünnte Kalilauge löst ebenfalls mit gelber, allmählich röthlich werdender bis blass violetter Farbe.

Aetzammoniak löst mit bernsteingelber, sich nicht weiter verändernder Farbe.

Kohlensaure Alkalien in verdünnter oder unverdünnter Lösung lösen den Farbstoff ebenfalls mit gelber resp. gelbgrüner Farbe, doch weniger leicht als die Aetzalkalien, in kohlensaurem Ammoniak ist das Pigment schwer löslich.

Barytwasser löst mit gelber, dann schwach röthlich-violetter Farbe. Versetzt man die mit verdünnter Natronlauge erhaltene blassroth-violette Lösung mit Salzsäure, so wird der Farbstoff frei gemacht und geht nun in darüber geschichteten Aether mit gelbgrüner bis gelber Farbe hinein.

Die alcoholische Lösung röthete Lakmuspapier sowie wässrige und alcoholische Lakmustinctur schwach aber deutlich.

Mit einer Lösung von essigsaurem Kupfer versetzt verfärbt sich die gelbe Lösung ins Olivengrüne bis Olivenbräunliche. Durch einen Tropfen sehr verdünnten Eisenchlorids wird sie mehr rothgelb. Auf Zusatz von Barytwasser oder Kalkwasser sowie Chlorkalklösung tritt Entfärbung ein, also wohl Zersetzung des Farbstoffs. Mit alcoholischem Bleiessig oder Bleizucker entsteht keine Fällung.

Der vorstehend characterisirte, in seinen Lösungen gelbe, im krystallisirtem Zustande roth bis rothbraun aussehende Farbstoff ist nun in dem Pilze so reichlich vorhanden, dass die Farbe desselben im Wesentlichen durch ihn bedingt wird. Roth, nicht gelb erscheint diese Farbe, weil der Farbstoff laut mikroscopischer Untersuchung von den Gewebshyphen zur Ausscheidung gebracht wird und nun in winzigen rothen Körnchen an der Oberfläche desselben auskrystallisirt. Besonders reichlich erfolgt diese Ausscheidung an den Hyphen der Hymenialröhren, daher diese die intensivste Röthung zeigen, namentlich an

den Mündungen. Doch sind auch die in den rothen Zonen des Hutes und der oberflächlichsten Hutschicht gelegenen Hyphen so reich mit dem Farbstoff beladen, dass sie streckenweis förmlich incrustirt und daher dunkelroth gefärbt erscheinen.

Wir haben oben gesehen, dass die rothen Krystalle des Farbstoffs mit concentrirter Schwefelsäure eine höchst characteristische Reaction geben, indem sie sich schön purpurviolett färben und dann mit derselben Farbe lösen. Diese Reaction tritt nun auch an Schnitten durch das Hut- und Hymenialgewebe sehr schön hervor, zumal wenn man dieselben möglichst dünn macht und auf einen grossen Tropfen der Säure legt. Man sieht dann, wie alle Gewebstheile, die das Pigment enthalten, sich augenblicklich purpurviolett tingiren, und auf mikroscopischem Wege lässt sich die alsbaldige Lösung der auskrystallisirten Pigmenttheilchen verfolgen. Mittelst dieser Reaction kann man nun auch die Vertheilung des Farbstoffes in den Geweben genauer studiren und die zonenartige Ablagerung im Hutgewebe feststellen.

Das vorliegende Pigment stimmt nun in allen seinen Eigenschaften vollständig überein mit demjenigen Farbstoffe, den ich seinerzeit in einem andern Vertreter der Polyporeen, nämlich der *Trametes cinnabarina* Jacq. gefunden habe.[1] Meine jetzige Darstellung ergänzt und berichtigt das Frühere in einigen Punkten. Dass ich damals das characteristische Band im Blau bei der spectroscopischen Untersuchung der alcoholischen Lösung nicht gesehen habe, erklärt sich aus der Verwendung einer concentrirten statt der sehr verdünnten Lösung.

Wenn die bisherige Annahme von der Identität des amerikanischen *Polyporus (Trametes) cinnabarinus* und des europäischen richtig ist, so musste auch die europäische Varietät „Xanthotrametin" enthalten. Ich nahm daher eine Prüfung von Fruchtkörpern dieses Pilzes vor, die ich im vergangenen Jahre in Tirol (bei Waidring) an Ahornstämmen zu sammeln Gelegenheit hatte. Wie schon die so characteristische Purpurviolettfärbung durch Behandlung feiner Schnitte mit concentrirter Schwefelsäure andeutete, ist in der That auch hier Xanthotrametin die Ursache der zinnoberrothen Färbung der Hüte. Das Pigment wurde wie oben gewonnen und zeigte im gereinigten Zustand alle die aufgeführten Charactere des krystallisirenden Farbstoffs jener beiden Schwämme, auch die Art der Vertheilung im Hut- und Hymenialgewebe war ganz die nämliche.

Kehren wir nun zum *P. sanguineus* zurück. Was den benzollöslichen Antheil betrifft, so besteht derselbe im wesentlichen aus einem gelb bis rothbraun gefärbten Fett. Die Lösung enthält noch etwas Xanthotrametin, das man durch Einengen der Lösung und Filtriren entfernt. Der Verdampfungsrückstand des Filtrats stellt einen schmierigen Körper dar, der auf Fliesspapier bleibende Fettflecke hervorruft, mit Alkannatinctur sich roth färbt und die Acroleinreaction giebt. Durch Behandlung mit Natronlauge erhält man eine mit Wasser schäumende Seife, aus welcher Aether nichts Gefärbtes aufnimmt, erst

1) Ueber Pilzfarbstoffe. Bot. Zeitung 1889.

nach Hinzufügung einer verdünnten Säure färbt sich der Aether bernsteingelb. Nach Verjagung des Lösungsmittels bleibt eine schmierige Masse, die Fettsäuregeruch ausstösst.

Das gelbe Fett hat insofern einen Einfluss auf das Colorit des Hutes, als es dem an und für sich stumpfen Roth des auskrystallisirten Xanthotrametins einen lebhafteren, glänzenderen mehr blutrothen und in den helleren Zonen mehr rothgelben Ton verleiht. Wenn man daher eine Lösung des reinen Xanthotrametins mit dem gelben Fett mischt und dann das Ganze auf der Porzellanschale eindampfen lässt, so kann man dasselbe glänzende Blutroth erhalten, welches die Fruchtkörper des *P. sanguineus* aufweisen.

Im Gegensatz zu diesem Pilz vermisst man bei *Trametes cinnabarina* das gelbe Fett beinahe ganz, daher auch die Rothfärbung der Hüte etwas matter erscheint.[1]

Endlich enthält, wie wir sahen, *P. sanguineus* auch noch einen gelben bis rothgelben wasserlöslichen Farbstoff. Doch hat er für das Colorit des Pilzes keine besondere Bedeutung, da er nicht reichlich vorhanden ist. In Rücksicht auf den Umstand, dass ich ihn nicht im krystallisirten Zustande erhalten konnte, habe ich ihn nicht weiter berücksichtigt.

Der zinnoberrothe Blätterschwamm, *Cortinarius (Dermocybe) cinnabarinus* Fries.

Er stellt einen der prächtigsten Hutpilze dar, denn Stiel und Hut sind nebst den Mycelsträngen durch wunderschönes Roth ausgezeichnet, das nach seinem Tone schwer zu characterisiren ist; die Bezeichnungen Zinnoberroth oder Chromroth, die noch am passendsten sind, geben kein vollständiges Bild der Färbung. In Fries' Icones selectae Hymenomycetum nondum delineatorum Vol. II Taf. 154 findet man übrigens dieselbe in ihrer ganzen Schönheit dargestellt. Schon an der jungen Brut ist sie an allen Theilen bemerkbar. Mit der Aufschirmung des Hutes nehmen die Lamellen einen mehr rothbräunlichen Ton an, der später noch nachdunkelt. Im lebenden Zustande habe ich den seltenen Pilz nur ein einziges Mal und nur in wenigen Exemplaren gesehen, nämlich in einem Buchenwäldchen bei Niendorf unweit Travemünde.

Beim Einlegen der lebenden Hüte in Alcohol absolutus erhielt ich damals ein prächtig rothgelbes Extract, dessen Verdampfungsrückstand auf der Porzellanschale zinnober- oder chromroth aussah. Aus diesem Rückstand gewann ich durch Ausziehen mit Aether einen gelbe und einen rothe Kryställchen bildenden Körper, was zurückblieb enthielt zwei wasserlösliche amorphe Stoffe, von denen der eine roth, der andere gelb gefärbt war.

Bei dem Versuche diese drei schönen Farbstoffe näher zu studiren, bin ich damals aus Mangel an Material nicht weit gekommen.

---

1) Was ich früher bei den amerikanischen *Tr. cinnabarina* als gelbes Harz ansprach, ist ebenfalls nichts anderes als ein gelbes Fett.

Erst durch die Güte des Herrn Prof. E. Chr. Hansen, der mir zu zwei Malen Sendungen des Pilzes aus den Buchenwäldern bei Kopenhagen machte, kam ich in die Lage diesen Versuch weiter zu führen.[1]

Zur Gewinnung der Pigmente wurden die getrockneten Fruchtkörper des *Cortinarius* in der Reibschale möglichst fein gepulvert und dieses Pulver zunächst mit grösseren Mengen Wasser ausgezogen, das im Wesentlichen die beiden wasserlöslichen Farbstoffe, den rothen und den gelben, aufnimmt und sich dabei intensiv weinroth färbt. Das so behandelte Pilzpulver wurde dann nach vorherigem Trocknen wiederholt mit kochendem Aether extrahirt. Man erhält eine intensiv grüngelbe bis goldgelbe etwas röthlich fluorescirende Flüssigkeit. Engt man dieselbe bis auf ein ziemlich geringes Volumen ein, so scheidet sich auf dem Boden der Schale ein rothes Krystall-Pulver in geringer Menge ab, welches man mittelst Filters abtrennt. Beim Eindampfen des Filtrats krystallisirt ein intensiv goldgelber bis orangener Körper aus, während sich nach dem Rande der Schale zu ein rothgelber bis bräunlicher Fettrand bildet.

1. Der gelbe krystallisirende Körper. Um ihn von Fett zu befreien wäscht man ihn zunächst wiederholt mit kleinen Mengen von Petroläther, nimmt ihn dann mit Benzol oder Aether auf und filtrirt. Hierbei werden Reste des rothen krystallisirenden Farbstoffes zurückgehalten. Schliesslich krystallisirt man aus Aether-Petroläther und endlich aus Benzol um.

Man erhält auf diese Weise eine rein goldgelbe Masse, welche unter dem Mikroscop aus sternförmigen oder verfilzten Gruppen von Nadeln besteht. Bei langsamem Auskrystallisiren entstehen sechsseitige Täfelchen. In Alcohol und Aether sind die Krystalle wenig, in Chloroform und Benzol dagegen reichlich löslich. Durch conc. Schwefelsäure werden sie mit rother Farbe gelöst. Bei Zusatz von Wasser fällt der Farbstoff unverändert mit gelber Farbe wieder aus. Aetzalkalien lösen ihn sehr leicht und mit purpurrother Farbe, kohlensaure Alkalien sehr wenig aber mit derselben Farbe. Nach Verdampfung des Ammoniaks bleibt die gelbe Säure unverändert zurück. Aus der Lösung in Alkalien fällt der Farbstoff bei Zusatz von Salzsäure in gelben Flocken aus. In Lösungen von Aetzbaryt oder Aetzkalk gebracht nehmen die Krystalle ohne augenscheinliche Gestaltänderung purpurrothe Färbung an. Mit Bleiacetat erhält man in der alcoholischen Lösung eine gelbe Fällung.

Alle diese Eigenschaften weisen übereinstimmend darauf hin, dass hier ein der Chrysophansäure resp. der Physcinsäure nahe stehender Körper vorliegt.

Derselbe ist in dem Pilze in relativ reicher Menge vorhanden. Wären nicht noch der rothe und der gelbe wasserlösliche Farbstoff vorhanden, so würde der Pilz durch jene Säure jedenfalls gelb gefärbt erscheinen, während er so roth erscheint. Dieser Stoff kömmt übri-

1) Ich nehme auch an dieser Stelle Gelegenheit, Herrn Collegen Hansen meinen besten Dank für seine grosse Gefälligkeit auszusprechen.

gens seitens der Hyphen des Stieles und Hutes zur Ausscheidung und wird an der Oberfläche derselben in Form von kleinen gelben Kryställchen angetroffen, die durch Barythydrat roth werden.

Ich prüfte sodann den wässrigen, wein- oder blutroth aussehenden Auszug des Pilzpulvers auf seinen Farbstoffgehalt.

Wenn man in diesen Extract Streifen von Filtrirpapier hineinhängt, so erhält man zwei farbige Zonen, zu unterst eine breite hellrothe, darüber eine schmälere gelbe. Hierdurch wird angedeutet, dass in dem Auszuge zwei wasserlösliche Pigmente, ein gelbes und ein rothes vorhanden sind.

Um dieselben von anderen Stoffen zu befreien verfuhr ich zunächst so, dass ich jenen rohen wässrigen Auszug mit essigsaurem Blei auszufüllen suchte. Man erhält dabei eine massige flockige Fällung von schmutzig violetter Färbung, in der sich die beiden Farbstoffe als Bleiverbindung vollständig vorfinden. Nach sorgfältigem Auswaschen wurde die violette Masse durch Schwefelwasserstoff unter Wasser zerlegt. Leider gingen mir dabei beide Farbstoffe infolge von Zersetzung vollständig verloren. Ich hatte das um so weniger erwartet, als die genannten Farbstoffzonen des Filtrirpapiers sich seit meinen ersten Versuchen, nämlich über vier Jahre, in keiner Weise verändert hatten.

Glücklicherweise hatte ich den grössten Theil des rohen wässrigen Auszuges zurückbehalten. Um ihn zunächst von beigemengten kleinen Quantitäten der krystallisirenden gelben Säure und etwa mitgenommenen Fetttheilchen zu befreien schüttelte ich die Lösung so lange mit Aether aus, als derselbe sich noch gelblich färbte. Hierauf dampfte ich zur Trockne ein. Man erhält eine rothe amorphe Masse, die nochmals mit Aether und Petroläther gewaschen wurde.

Aus diesem Rückstand die beiden Pigmente durch Lösungsmittel getrennt zu erhalten ist leider nicht möglich, da beide in denselben Lösungsmitteln löslich resp. unlöslich sind. Ich sah mich daher genöthigt, zu dem Capillarverfahren[1] zu greifen. Die gelben und rothen Zonen, die sich an in die wässrige Lösung hineingehängtem reinen Filtrirpapier bildeten, wurden möglichst sorgfältig ausgeschnitten, dann die gelben für sich und die rothen für sich ausgezogen und die Lösungen nochmals dem Capillarversuch unterworfen. Wiederholt man diesen Prozess noch ein oder zwei Mal, so hat man für seine Mühe die Genugthuung, beide Farbstoffe vollständig getrennt zu erhalten, den einen mit rein gelbem, den andern mit rein rothem Tone und jeden mit anderen charakteristischen Reactionen. Allerdings ist es auf genanntem Wege nicht möglich grössere Mengen der Pigmente zu gewinnen, allein darauf kam es in diesem Falle auch gar nicht an.

2. Der rothe wasserlösliche Farbstoff. Leicht löslich in Wasser und Methylalcohol wird er von Aethylalcohol absolutus wenig, von Aether, Chloroform, Benzol, Ligroïn, Petroläther, Schwefelkohlenstoff gar nicht gelöst.

1) Von Göppelsröder zuerst angewandt.

Die wässrige Lösung erscheint in stärkerer Concentration tief ziegelroth, in geringerer mehr roth-gelb und fluorescirt im Sonnenlichtkegel der Sammellinse ausgesprochen gelb. In spectroscopischer Beziehung waren keine Besonderheiten zu bemerken, da Absorptionsbänder in keiner Schichtenhöhe auftraten, sondern nur eine diffuse Absorption der blauen Spectrumhälfte.

Der Rückstand der Lösungen sieht malvenroth, rosenroth oder ziegelroth aus. Streifen von reinem Filtripapier, welche mit dem Farbstoffe soweit getränkt waren, dass sie nach dem Trocknen deutlich roth erschienen, färbten sich

mit Aetzkali und Aetznatron tief blau
„ Ammoniak . . . . . violett
„ kohlensaurem Alkali . . . violett
„ Kalkwasser . . . . . violett
„ Barytwasser . . . . . violett
„ essigsaurem Blei . . . . violett

Concentrirte Mineralsäuren sowie Eisessig bewirken keine Farbenänderung. In der wässrigen bis schwach alcoholischen Lösung rufen verdünnte Kali- und Natronlauge violettblaue, Aetzammoniak violette, Mineralsäuren keine Farbenänderung hervor.

In der möglichst neutralen Lösung rufen Barythydrat, Chlorbaryumlösung, Kalkwasser, essigsaures Blei violette, Kupferlösungen blaue Niederschläge hervor.

Setzt man zu der blauen Lösung des Farbstoffes in verdünnter Natronlauge Salzsäure, so fällt das Pigment mit rother Farbe aus. Hieraus folgt, dass der Farbstoff den Character einer Säure besitzt, die ich als Dermocybsäure bezeichnen will, da sie mir mit keiner der bekannten rothen wasserlöslichen Pilzsäuren übereinzustimmen scheint.

Nach der gewonnenen Menge zu schliessen hat sie an der Rothfärbung des Pilzes den allerwesentlichsten Antheil. Wie manche anderen wasserlöslichen Pilzpigmente scheint sie ihren Sitz in den Membranen zu haben. Ihre tinctorielle Kraft ist ziemlich bedeutend, ihre Farbe an Luft und Licht sehr haltbar, denn mit dem Farbstoff getränkte Papiere, welche Jahre lang frei in einem oft geöffneten Schranke aufbewahrt worden waren, zeigten noch die ursprüngliche rothe Farbe. Durch Chlorkalk wird das Pigment, das ich nicht krystallisirt erhalten konnte, gebleicht.

3. Das gelbe wasserlösliche Pigment. Wie die Dermocybsäure so ist auch der gelbe Farbstoff leicht löslich in Wasser und Methylalcohol, mässig leicht in Alcohol absolutus, unlöslich in Aether, Chloroform, Ligroin, Petroläther, Benzol und Schwefelkohlenstoff.

An mit dem gereinigten Farbstoff ziemlich intensiv gefärbten Streifen schwedischen Filtripapiers erhält man folgende Reactionen:

Aetzkali- und Aetznatronlösung färben violett, Ammoniak violettroth, kohlensaures Natron sowie kohlensaures Ammoniak ebenfalls violettroth, nur erhält man mit letzterem Reagens bald eine rothbräunliche, dann rothgelbe Farbe.

Barythydrat und Kalkhydrat färben violettroth, essigsaures Blei rothbräunlich, Eisenchlorid braun.

Concentrirte Schwefelsäure bewirkt rothe Färbung, conc. Salpeter-, Salz- und Essigsäure verändern die gelbe Farbe nicht.

Die wässrigen oder methylalcoholischen Lösungen sehen schwefelbis goldgelb aus. Erstere fluoresziren im Sonnenlichtkegel kaum deutlich röthlich. Im Spectrum bei Sonnenlicht erhält man immer nur eine breite Endabsorption der blauen Hälfte.

Eingedampft geben die Lösungen lackartig glänzende, in dicker Schicht gelbbraune Ueberzüge. Krystallisationsvermögen fehlt. Die tinctorielle Kraft des gelben Farbstoffs ist viel weniger stark als die des rothen.

Aus der violetten Lösung in verdünnter Natronlauge fällt Salzsäure den Farbstoff in gelben Flocken aus. Er besitzt demnach ebenfalls Säurecharacter. Will man eine kurze Bezeichnung haben, so möchte ich den Namen Cybinsäure vorschlagen.

Wenn man das zunächst mit viel Wasser, dann zweimal mit reichlichem Aether ausgezogene Pilzpulver schliesslich noch mit Methylalcohol extrahirt, so gewinnt man einen vierten, schön mennigroth oder ziegelroth gefärbten Körper. Der Extract wird eingedampft, der Rückstand mit Wasser wiederholt gewaschen, um die beiden wasserlöslichen Farbstoffe zu entfernen, dann mit Petroläther, um fettartige Reste zu eliminiren, und endlich mit wenig Benzol aufgenommen, wobei der rothe Farbstoff, der in Benzol, sowie in Chloroform sich wenig löst, zurückbleibt. Schliesslich wäscht man zur Entfernung der letzten Reste des gelben krystall. Körpers nochmals mit Benzol aus.

In Kali- und Natronlauge sowie in Ammoniak löst er sich ähnlich der Chrysophansäure mit prächtig purpurrother Farbe und wird aus diesen Lösungen durch Salzsäure gefällt, ein Zeichen, dass das Pigment ebenfalls eine Säure darstellt. In kohlens. Ammoniak ist er weniger löslich. Conc. Schwefelsäure löst mit purpurner Farbe, durch Wasserzusatz kann man den Farbstoff in Form einer gelben Trübung wieder abscheiden. Meine anfängliche Vermuthung, dass es sich etwa um Emodin handele, hat sich nach diesen Reactionen nicht bestätigt. Im gereinigten Zustande stellt der Körper ein krystallinisches Pulver dar, das in grösseren Kryställchen nicht zu gewinnen war. Es schmolz bei 210—212° C. Ziemlich leicht löslich in Alcohol und Methylalcohol löst es sich weniger leicht in Aether, Benzol und Chloroform. Die Lösungen sehen gelb aus. In der alcoholischen entsteht mit Bleiessig eine röthliche Fällung, mit Eisenchlorid wird sie schön rothbraun.

Es sind also im Vorstehenden vier säureartige Farbstoffe in den Fruchtkörpern von *Cortinarius (Dermocybe) cinnabarinus* nachgewiesen worden:

eine rothe amorphe wasserlösliche Säure (Dermocybsäure),
eine gelbe „ „ „ (Cybinsäure),
eine rothe krystallisirende wasserunlösliche Säure (Rhodocybsäure),
eine gelbe „ „ „ der Chrysophansäure vielleicht verwandt.

Cortinarius (Dermoeybe) cinnamomeus (L.) Fr.

Im Herbst 1888 hatte ich in der Umgebung von Tautenburg in Thüringen Gelegenheit, den Zimmtschwamm wochenlang nach seiner Entwickelung und seinen Färbungserscheinungen zu beobachten und in zahlreichen Exemplaren zu sammeln. Auffälligerweise war er stets nur in Kiefernpflanzungen reichlich zu finden, niemals liess sich eine Einwanderung in reine Fichtenbestände oder gar in Buchen oder Eichenbestände nachweisen, selbst wenn dieselben in unmittelbarer Nachbarschaft lagen. Sein Vorkommen war daher mit der Grenze eines Kiefernbestandes immer wie abgeschnitten. Traf ich ihn dennoch einmal sporadisch in Fichten- oder Birkenbeständen an, so konnte ich stets sicher sein, dass sich in unmittelbarer Nachbarschaft eine einzelne Kiefer oder eine kleine Kieferngruppe befand. In den folgenden Jahren habe ich diese Wahrnehmungen an verschiedenen Orten Deutschlands auf ihre Richtigkeit controllirt, so im Herbst 1889 an der Ostseeküste (bei Niendorf unweit Travemünde) im Herbst 1890 in der Dölauer Haide bei Halle a. S., im Herbst 1891 im Riesengebirge zwischen Krummhübel und Annakapelle und im August 1892 bei Lofer im Salzburgischen.

Hiernach dürfte der Zimmtschwamm in ähnlicher Beziehung zur Kiefernwurzel stehen wie nach Reess die Hirschtrüffel *(Elaphomyces)*, oder wie der Birkenpilz *(Boletus scaber)* zu den Birkenwurzeln, oder wie die ächten Trüffeln zu den Eichenwurzeln. In der Literatur habe ich über jenes Verhältniss keine Angaben gefunden, vielleicht ist das Factum überhaupt noch nicht bekannt.

Dass ich den ächten *Cortinarius cinnamomeus* (L.), der selbst von Kennern, wie Krombholz, mit anderen Blätterschwämmen verwechselt wurde, vor mir hatte, geht schon aus der Uebereinstimmung mit der Schröter'schen Diagnose (Kryptogamen Flora von Schlesien, Pilze) hervor. Zu den bisherigen Beschreibungen füge ich folgende Bemerkungen:

Zunächst sind die sehr weitgehenden Variationen in Gestalt, Grösse und Färbung hervorzuheben. Alle Individuen stimmen aber darin überein, dass die Lamellen dem Stiel angewachsen sind und mehr oder minder lang an ihm herablaufen. Daher gehört das, was Krombholtz auf Taf. 71, Fig. 12—15 seines bekannten Pilzwerks als *Agaricus cinnamomeus* Fr. abgebildet, entschieden nicht hierher, denn bei diesem Object sind die Lamellen nur angeheftet resp. frei.

Der Stiel nimmt entweder von der Basis nach dem Hute hin allmählich an Dicke zu, was die Regel zu sein scheint, oder er zeigt cylindrische Form.

An jungen sowie älteren, noch lebenskräftigen Exemplaren wird man stets, wenigstens in der unteren Hälfte, deutlich gelbe Tinction wahrnehmen, die auch das Fleisch im Innern zeigt. Infolge des Umstandes, dass bei starker Streckung des Stieles die oberflächliche Gewebsschicht zerreisst, findet man den Stiel häufig wie mit schmalen Quergürteln oder Flocken, die dann natürlich ebenfalls gelbe Färbung

darbieten, besetzt. Nach Aufschirmung des Hutes pflegt das Velum bisweilen als gelbflockige ringartige Bildung am Stil zurück zu bleiben. Letzterer mass bei kleineren Exemplaren nur $^3/_4$, an grösseren 2—4 cm in der Dicke, während die Länge zwischen 4 und 10—15 cm und etwas darüber schwankte. Anfangs erscheint der Hut glockenförmig (gebuckelt), später breit gerundet (hin und wieder auch noch gebuckelt) an älteren Exemplaren vollständig plan oder selbst trichterförmig. An Riesenexemplaren misst er nach meinen Beobachtungen nicht selten bis 18 cm, während die gewöhnlichen Hüte nur 2—10 cm im Durchmesser hielten. An normalen Individuen ist die Hutfarbe zimmtfarben mit einem Stich ins Röthliche, an alten, bereits trocknenden gelbbraun, kupferroth oder rothbraun bei feuchtem Wetter. In der Jugend zeigen die Lamellen thonfarbiges oder grauviolettes bis zimmtfarbenes Ansehen, während sie im Alter tiefrothe Töne annehmen, blutroth bis purpurbraun erscheinend.

Die gewöhnlichen Exemplare besitzen Lamellen von nur $^1/_2$ bis $^3/_4$ cm, grosse solche bis 1,5 cm Höhe.

In die Hymenialschicht der Lamellen sind zahlreiche riesige keulige Paraphysen (Cystiden) eingefügt, welche weit über das Niveau der Basidienschicht vorspringen, in diese mit verschmälerter Basis eingesenkt. Eigenthümlich ist, dass sie ein Secret abscheiden, welches bräunliche Farbe hat und meist in Form eines breiten Gürtels oder auch eines continuirlichen Ueberzuges die Paraphysenhaut umhüllt.[1] Dass gewisse Agaricineen-Cystiden als Secretionsorgane fungiren, hat schon vor langer Zeit H. Hoffmann[2] beobachtet. Die Sporen des Pilzes erscheinen von etwas schiefspindeliger Gestalt, messen etwa 17 bis 18,5 mikr. in der Länge und 6,58 mikr. in der Breite und sind mit stark lichtbrechendem Inhalt und mit bräunlich gefärbter Membran versehen.

Wirft man beliebige Theile jüngerer oder älterer Hüte, selbst noch ganz gelbe junge Theile in Alcohol absolutus, so nehmen sie auffälligerweise sofort himbeer- bis blutrothe Färbung an und man erhält einen Extract, der zunächst wie Himbeersaft aussieht, um nach 12—24 Stunden das tiefste Bordeauxroth zu zeigen.[3] Schwächere mehr kupferrothe Farbe entsteht auch selbst dann schon, wenn das Fleisch von Hut oder Stiel gerieben wird. Auch bei Berührung mit Wasser werden die Theile allmählich roth und daher kommt es, dass die gelbe Farbe der Stiele und die Zimmtfarbe der Hüte bei Regenwetter ins Kupferrothe bis Bluthrothe verfärbt und die Lamellen dunkelroth bis purpurbraun werden. Die Gänge, welche Insecten-Larven im Stil des Pilzes graben, färben sich, wie auch die Excremente dieser Thiere, ebenfalls kupferroth, blutroth oder rothbraun.

---

1) Siehe Zopf, Die Pilze (Eumyceten), Breslau 1890, p. 53, Fig. 37, I.
2) Pollinarien und Spermatien von Agaricus. Bot. Zeit. 1856.
3) Dieses Merkmal ist so charakteristisch, dass es mit in die Diagnose aufgenommen zu werden verdiente.

Zur Gewinnung der färbenden Substanzen extrahirte ich die frischen Pilze mit Alcohol absolutus. Man erhält, wie erwähnt, einen schön himbeerrothen bis tief bordeauxrothen oder rothbraunen Extract. Beim Eindampfen in der Porzellanschale sondert sich alsbald ein schön gelber Körper von einer rothbraunen bis schwarzbraunen, harzig-klebrigen Masse ab. Dabei entwickelt sich ein angenehmer obstartiger oder etwa an das ätherische Oel von *Rosa rubiginosa* erinnernder Geruch.

Den gelben Farbstoff kann man von dem völlig getrockneten Rückstande durch Behandlung mit Wasser in ziemlich reichen Mengen abtrennen. Beim Filtriren dieser Lösung entsteht auf dem Filter ein Fettrand, was darauf hindeutet, dass ein Fett in geringer Menge beigemengt ist.

Gelbe wasserlösliche Säure (Cortinarsäure).

Um sie rein zu gewinnen, versetzte ich die eben erwähnte wässerige Lösung mit essigsaurem Blei, wobei ein sehr reicher flockiger Niederschlag von blass ochergelber Farbe entsteht. Letzterer ward auf dem Filter sorgsam ausgewaschen und dann mit Schwefelwasserstoff unter wässrigem Alcohol zersetzt, der den auf diese Weise frei gemachten Farbstoff sofort aufnimmt und zwar, wie man nach Abfiltriren des Schwefelbleies sieht, mit rein und leuchtend gelber Farbe. Diese Lösung kann jedoch noch keinen Anspruch auf Reinheit machen, wie man schon nach dem Verdampfen des Lösungsmittels ersieht. Es krystallisirt nämlich hierbei auf dem Uhrglase in ziemlicher Menge ein farbloser Körper aus. Von diesem trennt man den gelben Farbstoff durch Auswaschen mit kaltem absoluten Alcohol ab, wobei jener Körper als weissliche Masse zurückbleibt. Durch Wiederholung dieser Manipulation wird der Farbstoff schliesslich ganz davon befreit. Endlich wäscht man diesen noch, zur Entfernung von etwa noch vorhandenem Fett mit Petroläther, nimmt mit Wasser auf und filtrirt.

Das so gereinigte Pigment ist ziemlich leicht löslich in Wasser, Alcohol und Aether und zwar mit schön weingelber bis goldgelber Farbe. Der Verdampfungsrückstand solcher Lösungen bildet auf der Porzellanschale glänzend indisch-gelbe, in dickeren Lagen goldgelbe bis dunkelgelbe oder gelbbraune Ueberzüge. Sehr leicht löslich ist er ferner in Methylalcohol, sowie in Eisessig, minder leicht in Chloroform, unlöslich in Petroläther und Benzol.

Concentrirte Salpetersäure löst mit rothbrauner, später abblassender, concentrirte Schwefelsäure mit etwa ähnlicher, mehr braungelber, verdünnte Kalilauge mit dunkelgelber, verdünnte Natronlauge mit zuerst mehr olivengrüner, dann olivenbräunlicher, verdünntes kohlensaures Ammoniak mit gelber Farbe.

Bei der optischen Untersuchung der concentrirten alcoholischen Lösung fielen die Befunde sowohl in Bezug auf Fluorescenz,[1] als

1) Es ist im Sonnenlichtkegel kaum eine Andeutung von grünlicher Fluorescenz vorhanden.

in spectroscopischer Beziehung negativ aus. Wie es auch sonst bei gelben, nicht krystallisirenden, wasserlöslichen Pilzfarbstoffen so häufig der Fall ist, zeigten sich im Spectrum der ziemlich concentrirten alcoholischen Lösung bei Sonnenlicht keine Absorptionsbänder; vielmehr trat nur eine diffuse Endabsorption im blauen Theile des Spectrums auf und zwar liess eine 90 mm hohe Schicht jener Lösung nur Roth, Orange, Gelb und Grün, eine 60 mm hohe auch noch Hellblau durch.

Diese Lösungen röthen sehr deutlich Lakmuspapier. Nach vorheriger möglichster Neutralisation geben sie mit Alkalien, alkalischen Erden und Metalloxyden gefärbte Fällungen. So erhält man in der concentrirten alcoholischen Lösung mit conc. Aetzkali- oder Natronlauge einen reichen, gelben bis bräunlichen, mit Barytwasser einen reichen gelben, flockiggallertigen, mit essigsaurem Blei einen reichen ochergelben, mit essigsaurem Kupfer einen spangrünen, mit Alaun einen hellgelben, mit Silbernitrat einen reichen gelben, schliesslich schmutzig grünlich werdenden Niederschlag. Mit Eisenchlorid wird die Lösung olivenbräunlich, bei auffallendem Licht olivengrünlich.

Conc. Schwefelsäure bewirkt in der conc. alcoholischen Lösung keine merkliche Farbenänderung, höchstens wird dieselbe etwas dunkler; conc. Salpetersäure ruft in jener Lösung einen rothbraunen Ton hervor.

Chlorkalk färbt die alcoholische Lösung zunächst rothbräunlich, später erfolgt aber Entfärbung, während schwefelige Säure nicht entfärbt.

Da man bereits eine ganze Reihe von wasserlöslichen gelben Pilzfarbstoffen kennt, so erübrigt es noch, einen Vergleich zwischen dem gelben *Cortinarius*-Pigment und diesen anzustellen.

Von dem durch E. Bachmann[1] aus dem Hute von Hygrophorus-Arten isolirten gelben Pigment ist mein Farbstoff sowohl in Rücksicht auf die Löslichkeitsverhältnisse verschieden (das *Hygrophorus*-Pigment löst sich nicht in Alcohol absolutus) als auch bezüglich der Fällung, welche man mit essigsaurem Blei in der wässrigen Lösung erhält, und die beim *Cortinarius*-Gelb ochergelb erscheint, dort aber fleischfarben.

Nicht unerheblich sind die Differenzen ferner gegenüber dem gelben Pigment von *Boletus scaber,* dessen concentr. Lösungen mit essigsaurem Blei, sowie mit concentrirten Mineralsäuren und Alkalien nach E. Bachmann[2] keine Reaction geben, von anderen Unterschieden ganz absehen.

Aehnliches gilt vom gelben Farbstoff des *Gomphidius viscidus* und *glutinosus,* der nach E. Bachmann[3] in Aether unlöslich ist und durch Salpetersäure schön roth wird; und von dem gelben Pigment, welches ich in Thelephoren nachwies.[4] Dieses Letztere löst sich nicht

1) Untersuchung von Pilzfarbstoffen. Plauen 1886, p. 25.
2) l. c. p. 26.
3) l. c. p. 17.
4) Ueber Pilzfarbstoffe. Bot. Zeit. 1889, p. 79.

in Aether und giebt mit essigsaurem Blei statt ochergelber fleischfarbene Niederschläge.

Auch das gelbe wasserlösliche Pigment von *Polyporus hispidus* ist ein anderer Körper, wie schon seine Unlöslichkeit in Aether und die deutliche Fluorescenz seiner Lösungen erkennen lassen. Beide Eigenschaften zeigt auch der gelbe wasserlösliche Farbstoff von *Aethalium septicum* (die Angabe der Autoren, dass derselbe in Aether löslich sei, ist unrichtig und beruht auf Verunreinigung mit gelbem ätherlöslichen Harz), sowie der von *Stemonitis ferruginea*[1] und *Lycogala epidendron;*[1] das gelbe wasserlösliche Pigment von *Lycogala flavo-fuscum* ist zwar auch in Aether löslich, zeigt aber wenigstens Fluorescenz.

Da noch andere gelbe wasserlösliche Pigmente bei Pilzen meines Wissens nicht bekannt sind, so glaube ich den vorliegenden Farbstoff als neu ansprechen und ihn mit Rücksicht auf seinen Säurecharacter als „Cortinarsäure" bezeichnen zu dürfen.

Was den Sitz des Farbstoffs anlangt, so kann man ihn an allen Stellen, wo der Pilz gelb gefärbt erscheint, im Inhalt der Hyphen nachweisen.

Rothbraunes Harz.

Wir sahen bereits, dass, wenn man von dem Verdampfungsrückstande des ursprünglichen alcoholischen Pilzauszuges die gelbe Cortinarsäure abgetrennt hat, eine schöne braunrothe bis dunkelbraune harzartig-klebrige, später festwerdende Masse zurückbleibt. Sie ist unlöslich in Wasser, löslich in Alcohol, Aether, Chloroform, Methylalcohol, Petroläther, Benzol, Schwefelkohlenstoff und ätherischen Oelen. Auf dem Platinbleche verbrennt sie mit leuchtender stark russender Flamme. Concentrirte Schwefelsäure färbt den rothbraunen Ueberzug zunächst auffällig ins Sepiabraune um und löst dann mit derselben Farbe. Nach Wasserzusatz fällt der Körper mit schmutzig sepiabrauner Farbe aus. Concentrirte Salpetersäure dagegen löst mit goldgelber Farbe. Beim Erhitzen dieser Lösung im Reagirglase bilden sich schön goldgelbe Nitroverbindungen, welche in Wasser wenig löslich, in Alcohol, Aether und Chloroform ziemlich leicht, in Petroläther unlöslich erscheinen und nicht krystallisiren.

Schon diese Eigenschaften weisen darauf hin, dass man es mit einer harzartigen Masse zu thun hat.

Seine concentrirte alcoholische Lösung ist schön burgunderfarben. Erhitzt man sie mit einer passenden Menge 30%iger Natronlauge, fügt Wasser hinzu und schichtet Aether darüber, so nimmt dieser einen Theil des Harzes sofort mit rothbrauner Farbe auf, zum Zeichen, dass derselbe keine Verbindung mit dem Alkali eingegangen ist, wie es der Fall sein würde, wenn eine Harzsäure vorläge.

An Menge überwiegt das Harz, namentlich in älteren Exemplaren, die Cortinarsäure beträchtlich. Nach der ausgesprochen gelben Farbe zu schliessen, welche junge Individuen aussen und innen erkennen

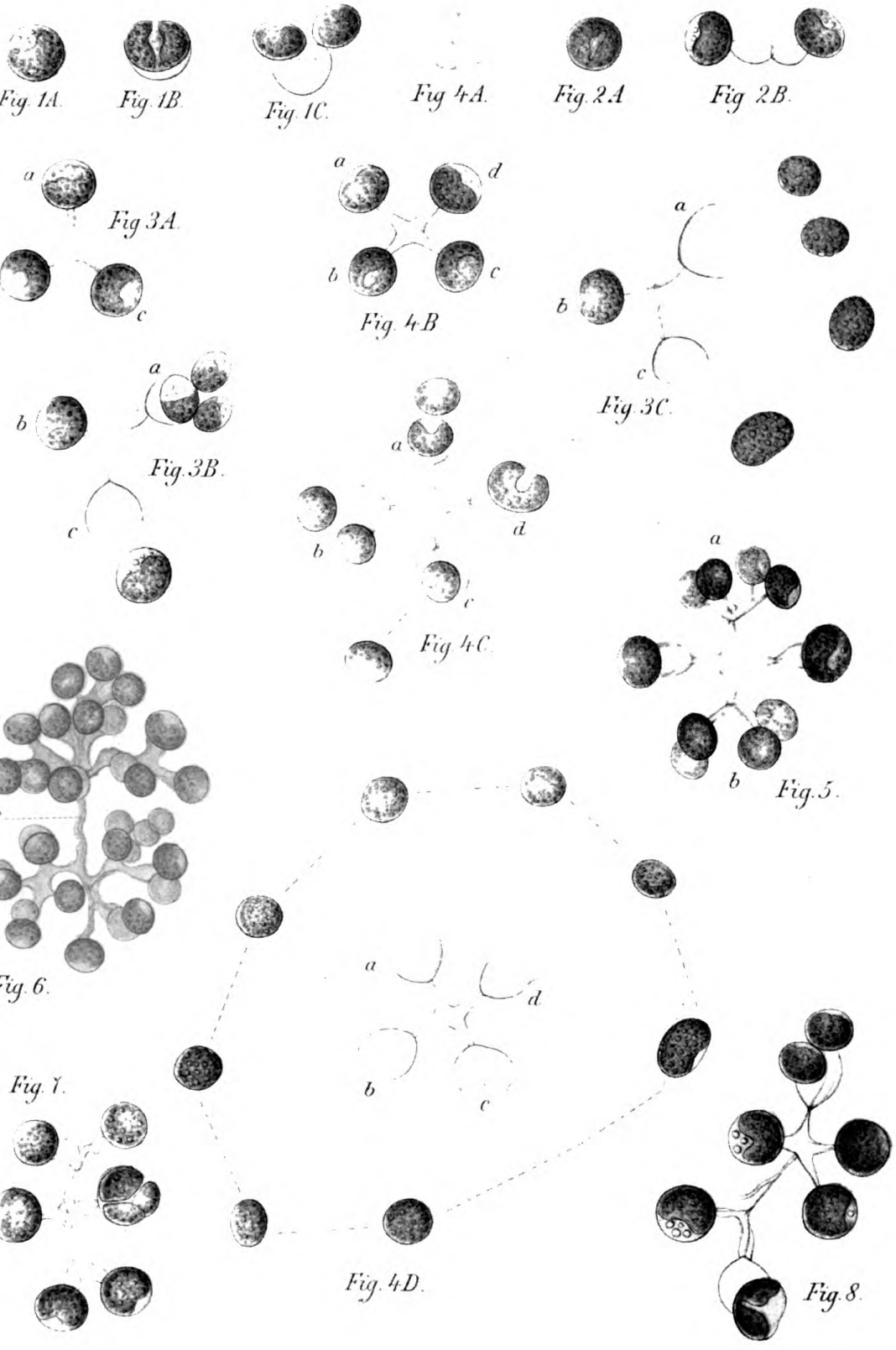
1) Vorkommen von Fettfarbstoffen bei Pilzthieren. Flora 1889, p. 355, 359.

lassen und dem allmählichen Zurücktreten dieser Färbung sowie dem allmählichen sich Vordrängen des braunen Tones ist die Vermuthung nahe liegend, dass das rothbraune Harz aus der gelben Cortinarsäure entsteht, vielleicht in Folge eines Oxydationsprozesses. Ist doch die Umfärbung der gelben Theile eines der Länge nach gespaltenen jungen Pilzes an der Luft eine sehr augenfällige, und weist doch auch die obenerwähnte Rothbraunfärbung der gelben Cortinarsäure durch Salpetersäure, also durch ein Oxydationsmittel, deutlich darauf hin, dass der gelbe Farbstoff zu einem rothbraunen oxydirt werden kann. Die fast augenblickliche Umfärbung ins Rothe, welche noch junge gelbe Pilze beim Hineinwerfen in Alcohol erleiden, würde sich dann so erklären lassen, dass durch die abtödtende Einwirkung des Alcohols die Oxydation der Cortinarsäure sofort ermöglicht wird, indem gewisse reducirende Einwirkungen, die sich in den lebenden Zahlen geltend machten, aufgehoben werden. Uebrigens sehe ich aus E. Bachmann's Abhandlung,[1] dass er bezüglich des gelben Pigments von *Gomphidius viscidus* und *glutinosus* ebenfalls eine Umwandlung in den in diesen Pilzen vorhandenen rothbraunen harzartigen Körper annimmt.

Es wurde oben bereits der Thatsache Erwähnung gethan, dass die in dem Hymenium so ausserordentlich reich auftretenden, sehr grossen Paraphysen ein Secret von bräunlicher Farbe ausscheiden, welches die betreffenden keuligen Zellen meist in Form eines bräunlichen Gürtels oder Ueberzugs umhüllt. Dieses Secret besteht nun aus dem eben erwähnten Harz, das beim Erhitzen mit Wasser zu rothbraunen Tröpfchen zusammenfliesst. Hiernach fungiren die Paraphysen gewissermassen als Harzdrüsen. Der Harzüberzug dieser Organe hat offenbar klebrige Beschaffenheit. Am Hymenium alter Hüte sah ich die Paraphysen infolge des Daranklebens zahlreicher Sporen zu unförmlichen Keulen umgestaltet.

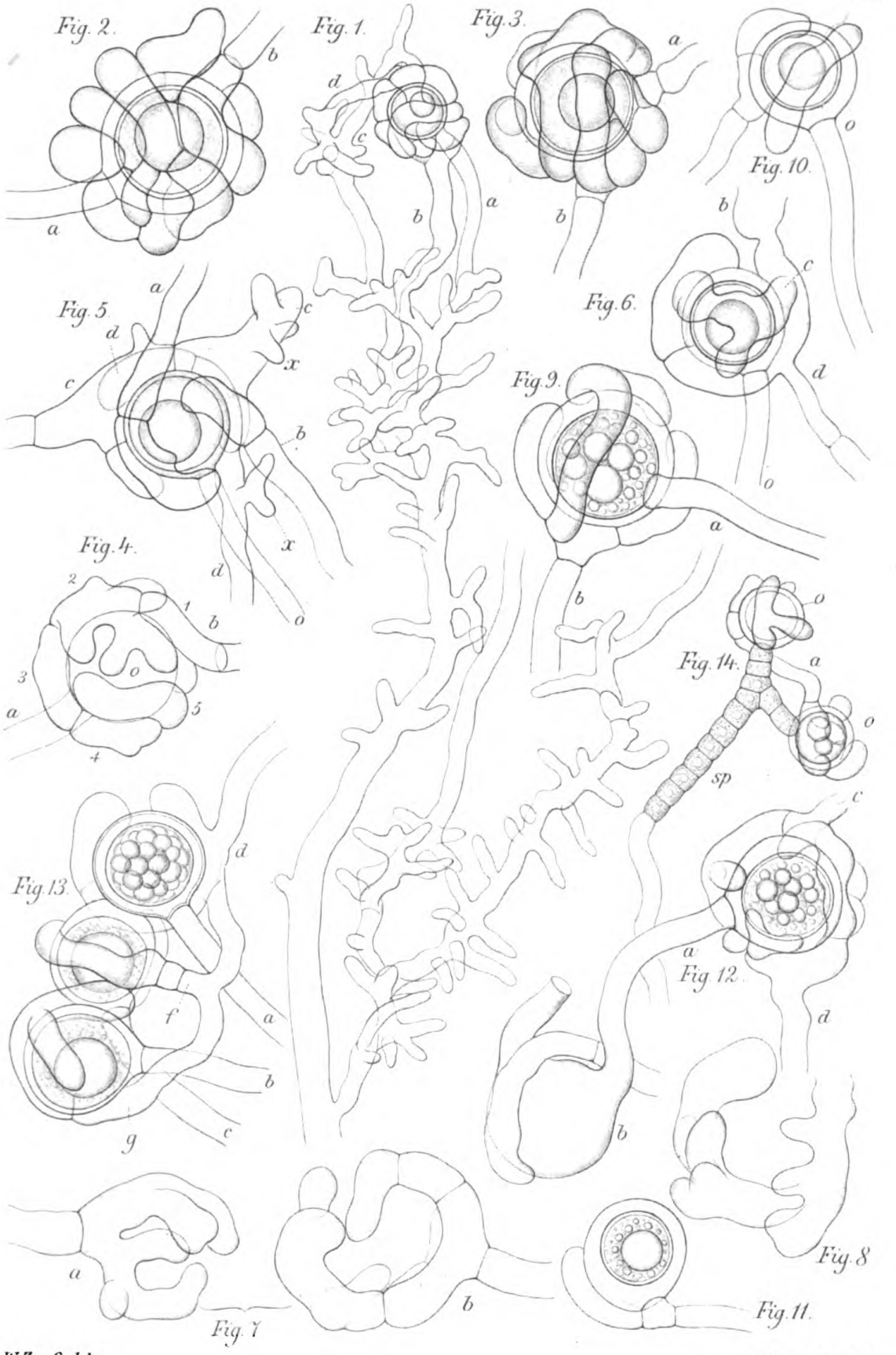
1) Spectroscopische Untersuchung von Pilzfarbstoffen. Plauen 1886, p. 18.

Halle a. S., Buchdruckerei des Waisenhauses.



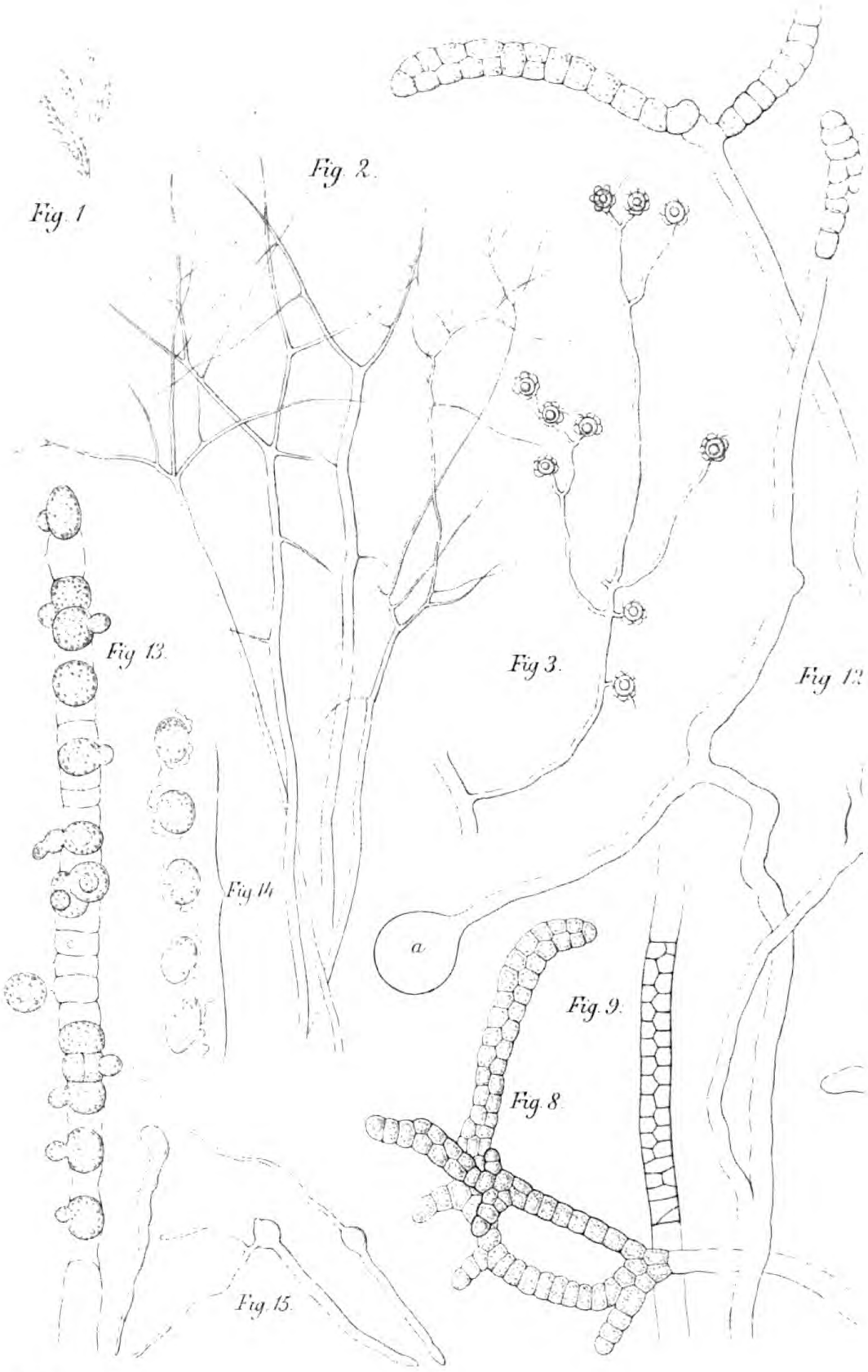
W. Zopf del.

E. Laue lith. Berlin.



W. Zopf del.

E. Laue lith. Berlin.



W. Zopf del.

Taf. III.

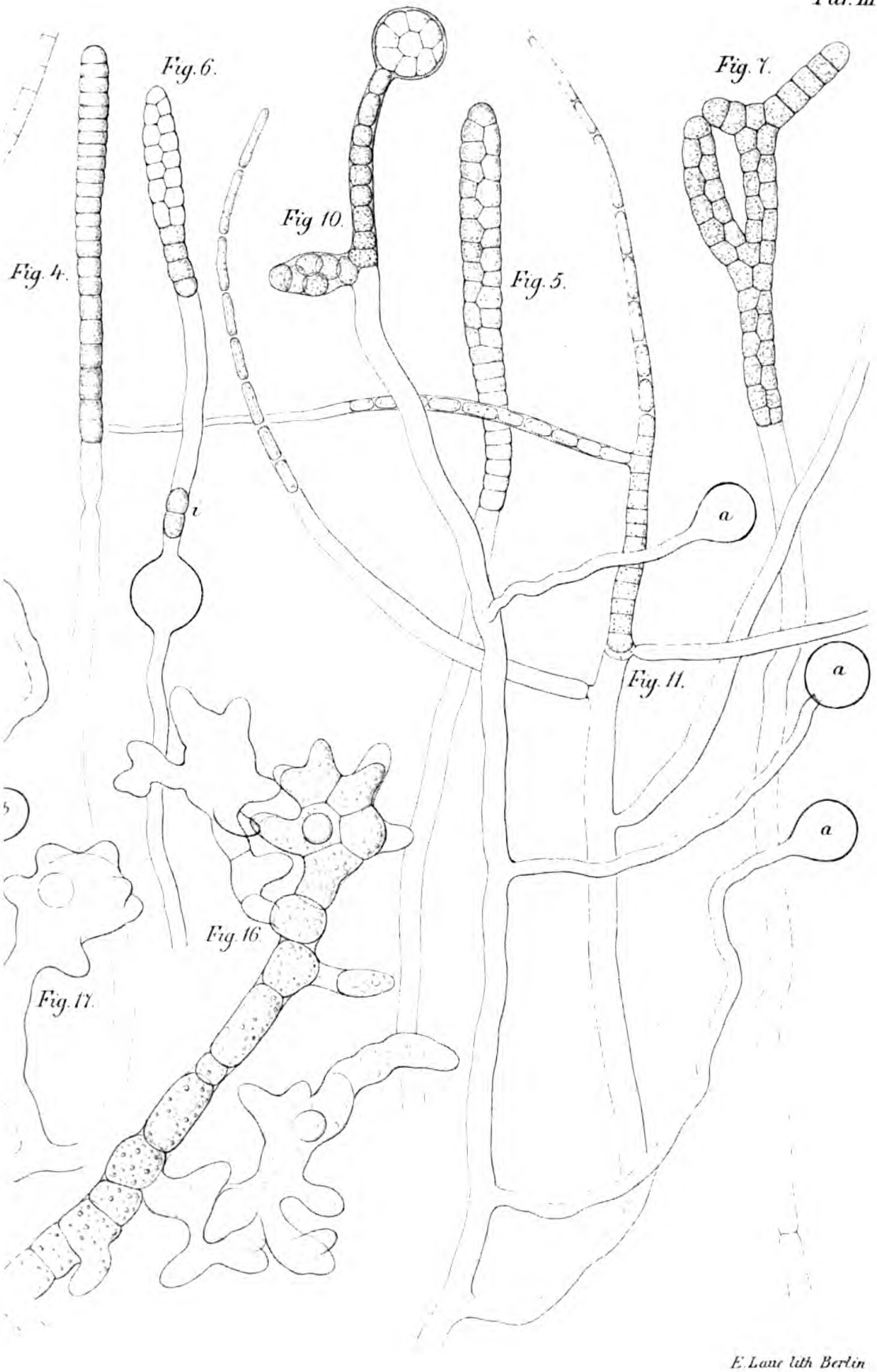


Fig. 6.
Fig. 7.
Fig 10.
Fig. 4.
Fig. 5.
a
Fig. 11.
a
a
Fig. 16.
Fig. 17.
E. Lane lith Berlin

Beiträge

zur

Physiologie und Morphologie

niederer Organismen.

Aus dem Kryptogamischen Laboratorium der Universität Halle a. S.

Herausgegeben

von

Professor **Dr. W. Zopf,**
Vorstand des Kryptogamischen Laboratoriums der Universität Halle.

Viertes Heft.

Mit fünf lithographirten Tafeln.

Leipzig.
Verlag von Arthur Felix.
1894.

Inhaltsverzeichniss zum vierten Heft.

Seite

Hormodendron Hordei. Ein Beitrag zur Kenntniss der Gerstenkrankheiten von Dr. Karl Bruhne (hierzu Tafel I) 1

Erster Abschnitt: Die wichtigsten morphologischen Eigenschaften des Pilzes 3
Zweiter Abschnitt: Einige physiologische Eigenschaften 9
Dritter Abschnitt: Einige biologische Eigenschaften 33
Figurenerklärung zu Taf. I. 41

Ueber einige niedere thierische und pflanzliche Organismen, welche als Krankheitserreger in Algen (Pilzen), niederen Thieren und höheren Pflanzen auftreten. Erste Mittheilung von W. Zopf (hierzu Taf. II. u. III) 43

I. Woronina glomerata. Ein Beitrag zur Kenntniss der thierischen Natur gewisser Synchytriaceen 43
II. Einige neue Beobachtungen an Labyrinthula Cienkowskii Zopf . . . 60
III. Latrostium comprimens, ein neuer Chytridiaceenartiger Schmarotzer in den Oosporen von Vaucheria 62
Erklärung der Abbildungen von Taf. II und III 66

Beiträge zur Kenntniss der Organismen des Saftflusses (sog. Schleimflusses) der Laubbäume von Dr. Wilhelm Krüger 69

I. Ueber einen neuen Pilztypus, repräsentirt durch die Gattung Prototheca (Pr. moriformis u. Pr. Zopfii). Hierzu Taf. IV 69
II. Ueber zwei aus Saftflüssen rein gezüchtete Algen. Hierzu Taf. V . 91

Erklärung der Abbildungen von Tafel IV u. V 115

Hormodendron Hordei.

Ein Beitrag zur Kenntniss der Gerstenkrankheiten.

Von

Dr. Karl Bruhne.

Hierzu Tafel I.

In unmittelbarer Nähe der Stadt Halle tritt schon seit einer ganzen Reihe von Jahren eine höchst auffällige Krankheit der Gerste auf, deren Symptome darin bestehen, dass Halme und Blätter, insbesondere die letzteren, ein eigenthümliches braunfleckiges Aussehen erhalten (Fig. 1), dabei die Pflanzen klein und kümmerlich bleiben und ihre Aehren sich nur mangelhaft ausbilden. Oft zeigt sich diese Krankheit in so grosser Ausdehnung, dass die Gerstenfelder schon aus der Ferne durch ihr missfarbiges, anfangs goldgelbes, dann braunes Aussehen die Aufmerksamkeit auf sich lenken und die Ernte, was Stroh und Korn betrifft, stark geschädigt wird. Seit Herr Prof. Zopf meine Aufmerksamkeit auf diese Erscheinung lenkte, habe ich dieselbe in den letzten zwei Jahren an den verschiedensten Lokalitäten einer näheren Beobachtung unterzogen, so z. B. im Südwesten der Stadt auf einem zum Stadtgut Gimritz gehörigen Felde bei Passendorf, im Norden der Stadt, wo ein an die Feldstrasse stossendes grosses Gerstenstück stark mitgenommen wurde, dann etwas weiter von der Stadt entfernt in der Nähe des Galgenberges, wo namentlich ein grosses Gerstenfeld auf weite Strecken hin höchst auffällig verfärbt erschien, und endlich an verschiedenen anderen Lokalitäten, z. B. bei den Halle benachbarten Ortschaften Trotha, Giebichenstein und Cröllwitz.

Wenn man die Art und Weise, wie diese Krankheit auf dem betreffenden Felde sich verbreitet, vom ersten Frühjahre an aufmerksam beobachtet, so kann man die bemerkenswerthe Thatsache constatiren, dass dieselbe stets ausgeht von den Schutt- und Müllmassen, welche am Rande oder auch in der Mitte der Felder von den Abfuhrwagen abgeladen und aufgehäuft wurden, oder an allen den Stellen auftritt, wo jene Massen bereits ausgestreut sind. Am Gerstenfelde der Feldstrasse z. B. lag am westlichen Rande ein grosser Müllhaufen. Die zunächst angrenzenden Theile des Feldes waren sehr stark von der in Rede stehenden Krankheit befallen, an den weiterhin liegenden nahm dieselbe allmählich ab.

Ferner waren auf einem Felde in der Nähe der Porphyrbrüche am Galgenberge grosse Müllmassen zur Ablagerung gekommen. Das Feld wurde mit Gerste besät. Nun konnte man schon im Frühjahr constatiren, dass in der Nachbarschaft der Ablagerungsstätte und längs der ganzen Wegstrecke, die der Wagen bei der Weiterbeförderung des Schuttes auf den Acker genommen hatte, so wie auch an allen Stellen, wo die Massen zur Düngung ausgestreut worden waren, die Krankheit in intensiver Weise auftrat. Aehnliche Vorkommnisse wurden noch vielfach an anderen Lokalitäten beobachtet.

Diese Art der Krankheit liess vermuthen, dass es sich um eine Pilzinfektion handle. Eine nähere Untersuchung liess diese Vermuthung als richtig erscheinen. Bei der im vorigen Jahre im Juli vorgenommenen mikroskopischen Prüfung der braunen Flecken noch lebender Blätter zeigten sich dieselben besetzt mit einem Pilz, dessen Mycelfäden im Blattgewebe wucherten, während durch die Spaltöffnungen hindurch die Fruktifikationsorgane hervorbrachen in Form von Conidienträgern, die den typischen Charakter eines *Hormodendron* zeigten. Im Folgenden ist der Pilz als eine neue Art, **Hormodendron Hordei,** von mir bezeichnet worden, weil er sich mit keiner anderen *Hormodendron*-Species sicher identificiren liess.

Durch die Thatsache, dass dieser Pilz in den braunen Flecken lebender Blätter gefunden wurde, ist sein Parasitismus zweifellos erwiesen, und da andere Pilze in den Flecken nicht auftraten, so steht der Annahme nichts im Wege, dass jenes *Hormodendron* die Braunfleckigkeit der Gerste verursacht hat.

Es kam mir nun darauf an, den Pilz nach seiner morphologischen, wie nach seiner physiologischen Seite näher zu untersuchen.

Zu diesem Zwecke habe ich ihn nach den üblichen Kulturmethoden, in die mich Herr Prof. Zopf eingeführt hat, völlig rein gezüchtet, ihn in absoluten Reinkulturen weiter vermehrt und an und mit solchem Reinmaterial die morphologischen und physiologischen Untersuchungen angestellt.

In der pflanzenpathologischen Litteratur findet sich bereits eine Krankheitserscheinung an der Gerste erwähnt, welche ebenfalls als Braunfleckenkrankheit bezeichnet wird. Sie hat aber mit der hier in Frage kommenden pathologischen Erscheinung bestimmt nichts zu thun, da sie nach den übereinstimmenden Beobachtungen von J. Eriksson und O. Kirchner durch einen ganz anderen Schimmelpilz verursacht wird, nämlich durch *Helminthosporium gramineum Rbh.*

Erster Abschnitt.

Die wichtigsten morphologischen Eigenschaften des Pilzes.

In diesem Abschnitt möge zur Betrachtung kommen: 1. die habituelle Beschaffenheit der Colonien, 2. die Fruktifikation des Pilzes, 3. die Keimung der Sporen, 4. die Mycelbildung.

Was zunächst die habituelle Beschaffenheit der Rein-Colonien betrifft, so wurden dieselben, wie ich schon in der Einleitung angedeutet habe, auf dem Wege der üblichen Gelatinekultur gewonnen, d. h. es wurden wenige Sporen mit passender Nährgelatine gemischt und in Petri'sche Schälchen ausgegossen. Es entwickelten sich binnen kurzer Zeit kreisrunde, scharf begrenzte, flach erhabene Colonien mit der bekannten radiären Struktur, wie sie Schimmelpilzmycelien in der Regel zu zeigen pflegen. Anfänglich besitzen diese Mycelien eine schmutzig-weisse Färbung, die allmählich in eine erst blasser, später kräftiger olivengrüne übergebt. Gleichzeitig mit dieser Umfärbung beginnt die Fruktifikation in Form von Conidien. Im weiteren Verlaufe der Entwickelung treten an den Räschen dunklere, mehr braune Töne auf.

Von den auf diese Weise gewonnenen Reincolonien impfte ich dann den Pilz auf die schräge Fläche von Nährgelatine im Reagirglas über, und zwar mittels Impfstrich. Von diesem aus entwickelte sich ein Mycel, welches sich allmählich über die ganze Oberfläche ausbreitete und bezüglich seines anfänglichen Colorits, so wie der späteren Umfärbung, auch bezüglich der Fruktifikation, genau wie die Räschen der Gusskultur verhielt.

Zu erwähnen ist noch, dass in beiderlei Kulturen allmählich eine Verflüssigung der Gelatine stattfindet.

Auch auf anderen festen Substraten, die die nöthigen Nährstoffe enthalten, so wie Brot, Mohrrüben, mit Pflaumendecoct gedüngtem Filterpapier, getrockneten Pflaumen, ist die äussere Erscheinung des Pilzes eine ähnliche wie auf der Gelatine.

Züchtet man den Pilz auf flüssigen Nährmedien, so entwickelt sich derselbe bei ruhigem Stehen im allgemeinen an der Oberfläche, und zwar in Form einer Myceldecke, die entweder glatt bleibt oder mehr oder minder starke Faltungen erkennen lässt. Die Färbung solcher Decken schwankt zwischen mehr hellen und mehr dunklen Tönen. In ganz bestimmt zusammengesetzten Nährmedien kommt es überhaupt niemals zu einer Deckenbildung, vielmehr entwickeln sich die Mycelien in der Flüssigkeit selbst, haben ein kümmerliches Aussehen und tragen einen ganz eigenthümlichen, später noch zu besprechenden Charakter zur Schau.

Sobald das Mycel eine gewisse Entwickelung erlangt hat, treten Seitenzweige auf, die sehr bald dadurch bemerkbar werden, dass sie sich in vertikaler Richtung zur Mycelebene entwickeln, unverzweigt bleiben und ihr Spitzenwachsthum bald aufgeben. Sie gliedern sich durch Querwände in mehrere Zellen, von denen die Endzelle sich infolge ihres Plasmareichthums durch stärkeres Lichtbrechungsvermögen auszeichnet. Diese Seitenzweige stellen die Fruchtträger dar. An

diesen erfolgt die Conidienbildung derartig, dass die Endzelle hefeartig sprosst. Aus der ersten Conidie sprosst eine zweite, aus dieser bald eine dritte u. s. f. hervor. Neben der ersten terminalen Conidie kann sich dicht unterhalb derselben eine zweite bilden, die dann ihrerseits eine Tochterconidie, diese eine Enkelconidie u. s. w. erzeugen kann. Ebenso kann auch jede einzelne Conidie seitliche Conidiensprosse bilden. Aus diesen Vorgängen resultirt ein Conidienstand von sprossmycelartigem Charakter (Fig. 4). Den Aufbau solcher Conidienstände hat bereits E. Löw an einem nahe verwandten Objekt, nämlich *Penicillium (Hormodendron) cladosporioides (Fres.)* genauer beobachtet und beschrieben.[1]

Die älteren, grösseren Conidien inseriren Querwände und werden dadurch zwei- bis mehrzellig.

Was die Form der Conidien betrifft, so pflegen die grösseren walzig und an den beiden Enden abgerundet oder etwas verjüngt zu sein. Diejenigen Conidien, die wieder seitlich gesprosst hatten, tragen in der Regel terminale oder seitliche Ansätze, die den Ursprungsstellen der betreffenden Tochterconidien entsprechen. Soweit solche Sporen der jüngeren und namentlich der jüngsten Generation angehören, bieten sie kürzere, ellipsoidische bis fast kugelige Formen dar.

Hinsichtlich der Skulptur hat sich die eigenthümliche Thatsache herausgestellt, dass je nach der Natur des Substrates bald eine mehr oder minder ausgeprägte Wärzchenskulptur auftritt, bald ein gänzlicher Mangel derselben zu constatiren ist.

Jene charakteristische Skulptur zeigte sich mir zunächst an den aus der Natur von lebenden Gerstenblättern entnommenen Conidien (Fig. 2). Als ich nun aber solche Conidien auf dem Wege der Reinzucht zu Mycelien herangezüchtet hatte, erhielt ich auf diesen merkwürdiger Weise ausschliesslich glatte Conidien (Fig. 3).

Infolge dieser Beobachtung glaubte ich zunächst, es wären vielleicht Conidien eines anderen glattsporigen *Hormodendron* von den Gerstenblättern mit in die Schälchenkultur gelangt und nur diese zur Auskeimung gekommen, während den warzigen Conidien vielleicht das Substrat nicht zusagte und sie daher überhaupt nicht gekeimt hatten. Ich stellte daher noch eine grössere Anzahl solcher Schälchengusskulturen an, die mich stets zu genau demselben Resultat führten: ich erzielte immer nur wieder Räschen, die glatte Conidien trugen. Dabei konnte ich mit dem Mikroskop feststellen, dass auf den kranken Stellen der Gerstenblätter die warzigen Conidien fast in Reinkultur vorhanden waren. Diese Beobachtung führte mich nun zu der Vermuthung, es könnten die ursprünglich warzigen Conidien der Gerstenblätter auf dem veränderten Nährboden in Conidien mit glatter Membran übergehen. Da aber auf dem Gebiete der Naturforschung Vermuthungen höchstens Wegweiser zur Feststellung von Thatsachen sein sollen, nie aber an die Stelle der Thatsachen selbst treten dürfen, so bedurfte es eines exakten Experiments, um die Frage endgültig zu entscheiden.

1) E. Löw: Zur Entwickelungsgeschichte von *Penicillium*. Pringsheims Jhrb. Bd. VII. 1870.

Zu dem Zwecke wurde wiederum eine Kultur in feuchter Kammer so hergestellt, dass ich in eine dünne Schicht verdünnten Pflaumendecocts nur ganz wenige Conidien brachte, an denen in der Nährflüssigkeit an allen deutlich die warzige Beschaffenheit der Membran nachgewiesen wurde. Glatte Conidien waren nicht in dieser Kultur vorhanden.

Bei kontinuirlicher Beobachtung stellte ich fest, dass nach nicht allzu langer Zeit (etwa 15 bis 20 Stunden) die einzelnen warzigen Conidien in normaler, kräftiger Weise einen Keimschlauch getrieben hatten. Damit war die Keimungsfähigkeit der warzigen Conidien nachgewiesen. Allmählich entwickelte sich von jeder Conidie aus ein kleines Mycel mit üppigen Hyphen, und es trat darauf in der oben beschriebenen Weise Conidienbildung ein. Die so gebildeten Conidien stammten also sicher nachweisbar von warzigen Conidien ab. In der feuchten Kammer liess sich natürlich nicht an allen Fruchtträgern feststellen, von welcher Beschaffenheit die darauf gebildeten Conidien waren, weil man mit dem Objektiv nicht herankommen konnte; indessen an den Conidien einzelner Fruchtträger liess sich constatiren, dass die Conidien — wenigstens die älteren — ausgesprochen warzig waren.

Von den so geernteten warzigen Conidien (Fig. 2) säte ich nun Material in Nährgelatine aus. Ich erhielt wieder die früheren typischen Mycelräschen in isolirter Form; aber alle hierauf entstehenden Conidien waren vollständig warzenlos (Fig. 3), oder höchstens hier und da mit schwachen Andeutungen von Wärzchenskulptur versehen. Damit ist der sichere Beweis geführt für die interessante Thatsache, dass aus ursprünglich warzigen Conidien unter bestimmten veränderten Ernährungsbedingungen Mycelien hervorgehen, auf denen Conidien erzeugt werden, die zwar an Gestalt den ursprünglichen gleich sind, aber dadurch von ihnen abweichen, dass sie eine glatte Membran besitzen.

Wurden nun die in Schälchenkultur gezogenen Conidien auf die schräge Gelatinefläche einer Reagenzglaskultur mittels Impfstrich übertragen und nun fort und fort in neuen Generationen gezüchtet, so verschwand bald auch jede Spur von warziger Beschaffenheit der Membran, die Kulturen enthielten nur noch vollständig glatte Conidien, also Fruktifikationsformen, die von den ursprünglichen Mutterconidien morphologisch recht verschieden sind.

Wenn wir nun bedenken, dass in der Natur die Verschiedenartigkeit der Lebensbedingungen, denen *Hormodendron* ausgesetzt sein kann, sehr gross ist, so liegt die Möglichkeit nicht fern, dass auch auf natürlichem Substrat der Pilz einmal die Bedingungen vorfinden kann, deren Einwirkung zur Bildung warzenloser Conidien führt.

Die Thatsache, dass warzige Conidien unter bestimmten Ernährungsbedingungen Conidien mit glatter Membran erzeugten, drängte zu der Vermuthung, dass die letzteren unter bestimmten anderen Ernährungsverhältnissen wieder warzig werden möchten. Daher prüfte ich bei der grossen Zahl der Ernährungs- und Concentrationsversuche, die ich mit zahlreichen Stoffen anstellte, die jedesmal erzeugten Conidien genau auf die Beschaffenheit ihrer Membranen. Da ich mir das erforderliche

Conidienmaterial zur Impfung aller Nährlösungen stets mittels Reinkultur auf schräger Fläche von Nährgelatine im Reagenzglase züchtete, so operirte ich während des ganzen Verlaufs meiner Arbeit nur mit glatten Conidien. Zeigten dann die in irgend einer anderen Nährlösung erhaltenen Conidien wieder eine warzige Beschaffenheit der Membran, so konnte diese nur hervorgerufen worden sein durch die veränderten Ernährungsbedingungen, die das neue Nährmedium bot.

Zunächst konnte ich die Thatsache des Wiederwarzigwerdens der Conidien beobachten bei Versuchen, die angestellt wurden, um den Einfluss steigender Concentrationen von anorganischen Nährsalzen auf die Vegetation und Fruktifikation des Pilzes zu prüfen. (Vergl. hier den entsprechenden Abschnitt des physiologischen Theils!)

Als ich nämlich zuerst Kulturen auf 12 prozentiger schwefelsaurer Magnesia nach 30 Tagen untersuchte, konnte ich feststellen, dass die von glatten abstammenden Conidien wieder eine feingewarzte Membran besassen. Bei einem Zusatz von 17 % $MgSO_4$ waren die bei dieser Concentration gebildeten Conidien noch deutlicher warzig. Aehnliche Resultate constatirte ich auch weiterhin bei den Kulturen, in denen andere Salze in steigender Concentration verwandt waren. Ich will hier die einzelnen Fälle, in denen bei veränderten Ernährungsbedingungen die Membran der Conidien die Warzigkeit wiedererlangte, nicht aufzählen, sondern verweise auf den besonderen Abschnitt, in dem die Resultate der betreffenden Versuchsreihe niedergelegt wurden. Hier genügt es, die allgemeine Thatsache zu betonen, dass die glatten Conidien unter Einwirkung von bestimmten Ernährungsfaktoren ihre ursprüngliche, warzige Form wieder annehmen können.

Eines Substrats ist hier aber noch Erwähnung zu thun, das in besonders auffälliger Weise die eben besprochene Thatsache bestätigt. Um zu eruiren, ob *Hormodendron* ein Labferment bilde und das Caseïn der Milch zu fällen vermöge, kultivirte ich dasselbe auf vorher sorgfältig sterilisirter Kuhmilch. Der Pilz entwickelte sich bald recht kräftig und liess eine reichliche Conidienfruktifikation erkennen, die sich dadurch auszeichnete, dass die Mengen der gebildeten Conidien als intensiv gelber Ueberzug erschienen. Gleiches hatte ich auch in den Kulturen mit steigender Concentration von schwefelsaurer Magnesia beobachtet, wo gelb erscheinende Rasen besonders deutlich warzige Conidien aufwiesen. Die auf der Milch producirten Conidien zeigten nun eine besonders auffällige Warzigkeit der Membran, die den von der Gerste direkt entnommenen Conidien nichts nachgab.

Brachte ich die auf der Milch entstandenen warzigen Conidien auf die übliche Nährgelatine, so verschwand die Warzigkeit wiederum, die neu erzeugten Conidien waren wieder glatt.

Ueberblicken wir das über die Veränderlichkeit der Conidien von *Hormodendron Hordei* Gesagte, so ergiebt sich die interessante Thatsache, dass unter bestimmten veränderten Ernährungsbedingungen die Conidien ein für sie sehr charakteristisches ursprüngliches morphologisches Merkmal gänzlich verlieren, während

wiederum andere Ernährungsverhältnisse im Stande sind, die neu gewonnenen glatten Conidien zu ihrer ursprünglichen warzigen Beschaffenheit zurückzuführen.

Wenn ich nun zur Keimung der Conidien übergehe, so ist zunächst zu constatiren, dass dieser Prozess ausserordentlich leicht erfolgt. Um denselben direkt verfolgen zu können, benutzte ich feuchte Kammern in Form sogen. Glaszellen. Auf das Deckglas wurde eine ganz dünne Schicht wässerigen Pflaumendecocts gebracht, und in diese säte ich einzelne Conidien aus, worauf das Deckglas mittels Vaseline auf der Glaszelle festgeheftet wurde. Die Conidien schwellen sehr bald etwas an und bekommen ein pralles Aussehen. Hierauf wird das braune Exosporium an ein oder mehreren Stellen gesprengt, und das zarte Endosporium stülpt sich bruchsackartig heraus, um sich alsbald zu einem Keimschlauch zu verlängern (Fig. 5). Besonders vorgebildete Stellen für den Austritt der Keimschläuche, etwa in Form sog. Keimporen, wie wir sie z. B. bei den Uredo- und Teleuto-Sporen der Rostpilze[1] oder den Schlauchsporen von *Chaetomium*[2] antreffen, sind hier nicht vorhanden, und damit hängt es zusammen, dass die Auskeimung an beliebigen Punkten erfolgen kann. Zwei- bis mehrzellige Conidien pflegen im allgemeinen an jeder Zelle einen Keimschlauch zu treiben; aber es tritt auch nicht selten an jeder Zelle mehr als ein Keimschlauch auf, namentlich, wenn die Ernährungsverhältnisse besonders günstige sind (Fig. 5). Die Keimschläuche entwickeln sich gleich von vornherein in Gestalt cylindrischer Zellen, bilden also nicht vorher eine blasenartige Erweiterung, wie man sie bei der Keimung so mancher Sporen, z. B. von *Chaetomium*, beobachtet hat. Hat der Keimschlauch eine gewisse Länge erreicht, so theilt er sich durch eine Querwand in eine Scheitelzelle und in eine Binnenzelle und wächst nur durch fortgesetzte Streckung und Theilung der Scheitelzelle zu einem Mycelschlauche aus. Während die Scheitelzelle stets von Plasma dicht erfüllt ist und daher stark lichtbrechend erscheint, tritt in den älteren Binnenzellen die Bildung von Vakuolen auf. Sehr bald entwickelt nun jeder Mycelschlauch Seitenzweige (Fig. 6), welche zum Theil dicht unterhalb der Querwände entspringen, häufig aber auch mehr in der Mitte der Zellen ihren Ursprung nehmen. Die Insertion dieser Seitenzweige erfolgt in akropetaler Richtung, und so entsteht aus jedem Mycelfaden ein monopodiales Zweigsystem. An den Seitenzweigen erster Ordnung können dann Seitenzweige zweiter Ordnung, an diesen solche dritter Ordnung u. s. w. entstehen. Auf diese Weise resultirt ein sich reicher und reicher verzweigendes Mycel (Fig. 7), das schliesslich makroskopisch als ein dichtes, flaches Räschen erscheint.

Während im jüngeren Stadium der Mycelfäden und -Zweige die Zellen gestreckt-cylindrisch erscheinen, treten mit zunehmendem Alter intercalare Querwandbildungen auf, durch welche die Binnenzellen in kürzere, oft sogar sehr auffällig verkürzte Glieder getheilt werden.

1) De Bary: Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Seite 120.
2) W. Zopf: Chaetomium in Nova Acta der kaiserl. Leop.-Carol.-Deutschen Akad. d. Naturf., Bd. XLII. No. 5.

Ebenso ändert sich die Beschaffenheit der Membran und des Inhalts. Erstere ist anfangs dünn und farblos, späterhin erfährt sie Verdickung und lagert gleichzeitig eine anfangs olivengrünlich, später braun erscheinende Substanz ein, die zum Theil wenigstens harzartiger Natur zu sein scheint, und die in gewissen Substraten, wie z. B. in weinsaurem Ammoniak, besonders auffällig auftritt.

Die bereits angedeutete Aenderung der Beschaffenheit des Inhalts tritt mit zunehmendem Alter der Zellen darin zu Tage, dass in allmählich wachsender Zahl stark lichtbrechende Tröpfchen auftreten, die sich durch ihr Verhalten gegen Ueberosmiumsäure (Bräunung) sowie gegen Alkannatinctur (Rothfärbung) als Oeltropfen zu erkennen geben, demgemäss auch bei Behandlung mit Aether verschwinden. Solche gebräunten, fettreichen Zellen werden an älteren Myceltheilen mehr oder minder bauchig, so dass sie gegen einander etwas gerundet erscheinen.

Unter ganz bestimmten Substratsbedingungen gelang es mir nun, noch besondere Formen des Mycels zu züchten, wie ich sie sonst unter allen anderen Lebensbedingungen, denen ich den Pilz aussetzte, niemals wieder beobachtet habe.

Derartige abweichende und sehr charakteristische Modifikationen des Mycels erhielt ich, als ich durch Kulturen zu ermitteln suchte, aus welchen N-Verbindungen der Pilz seinen N-Bedarf decken könne, zuerst bei einem Zusatz von 0,5% weinsaurem Ammoniak, ebenso bei Zusatz von 0,5% salpetersaurem Ammoniak, 0,5% Kalisalpeter und 0,5% Natronsalpeter, während in kohlensaurem Ammoniak nur einfache Gemmenbildung eintrat.

Diese auffallenden Veränderungen des Mycels sind auf Grund meiner entwickelungsgeschichtlichen Beobachtungen, die ich in Fig. 8 bis 12 niedergelegt habe, folgendermassen zu deuten. Die Hyphen gliedern sich in kurze Zellen, die mehr oder minder stark, oft sehr auffällig anschwellen, olivenbraun, dickwandig und fettreich werden, mit einem Worte, den Charakter gewöhnlicher Gemmen annehmen. Aber nun kommt das eigenthümliche Moment hinzu, dass diese gemmenartigen Zellen ganz kurze, plumpe Seitensprosse aussenden, die sich gewöhnlich nur in ein bis zwei sehr kurze und sich alsbald stark rundende, vielfach sogar Kugelform annehmende Zellen gliedern, die dann ebenfalls sich bräunen, dickwandig und fettreich werden. Jede dieser Zellen kann nun ihrerseits wiederum solche zwerghaften, in sich rundende Gemmen übergehenden, sich bräunenden Kurzsprosse erzeugen. So entstehen dann derartige höchst eigenthümliche Trauben- oder Knäuelformen von rundlichen Zellen, wie sie Fig. 12 an einem mässig complicirten Beispiele möglichst genau zur Anschauung bringt. Die complicirtesten Formen zu zeichnen, dürfte wohl ausser dem Bereiche der Möglichkeit liegen. Ich will nicht unterlassen anzuführen, dass die Entwickelung dieser sonderbaren Formen langsam vor sich geht und die complicirtesten Stadien sich erst nach wochenlanger Kultur einstellen.

Aehnliche, aber durch noch massigere Zusammenhäufung solcher Kurzsprosse ausgezeichnete und aus diesem Grunde noch auffälliger zu

nennende Formen glückte es mir bei Verwendung anorganischer Nährsalzlösungen in steigender Concentration zu erhalten. Die einzelnen Resultate sind in dem betreffenden Kapitel des physiologischen Abschnitts mitgetheilt, weshalb ich auf diesen Theil verweise. Ich will hier nur anführen, dass solche Formen z. B. auf einer 22procentigen Chlorcalciumlösung auftraten und Bilder lieferten, wie Fig. 13 und 14. Dass solche mächtigen Complexe in ähnlicher Weise entstehen, wie die vorhin erwähnten der Ammoniumtartratkultur, ist durch das in Fig. 13 dargestellte Fragmentchen aus einer jüngeren Kultur in 22procentiger Chlorcalciumlösung zur Darstellung gebracht.

Ferner will ich noch erwähnen, dass ich auch bei Verwendung steigender Concentration von Kohlehydraten ganz ähnliche Formen erzielte, wie die im weinsauren Ammoniak erhaltenen. Vergl. Fig. 8—12.

Zum Schlusse sei noch betont, dass in gewissen Kulturen mit höheren Concentrationen die Mycelzellen eine noch andere Beschaffenheit annahmen. Die Zellmembranen erhielten nämlich ganz eigenthümliche lokalisirte Verdickungen zugleich mit starker Bräunung. Im Profil gesehen, erschienen diese braunen Verdickungsstellen etwa zapfen- oder sackartig. (Fig. 15.) Sie scheinen der äusseren Lamelle anzugehören; denn in besonders deutlichen Fällen konnte ich die Innenlamelle über sie hinweggehen sehen. Bisweilen liegt die Verdickung als Ringmantel im Aequator der Zelle, bisweilen erscheint sie als Fortsatz der Querwand.

Jedenfalls geht aus allen diesen Beobachtungen hervor, dass stoffliche Beschaffenheit und Concentrationsgrad des Substrats einen bedeutenden Einfluss auf den morphologischen Charakter des Mycels auszuüben vermögen.

Uebrigens ist bemerkenswerth, dass zwischen den geschilderten sonderbaren Mycelformen und der Conidienbildung des *Hormodendron Hordei* ein eigenthümlicher Antagonismus besteht, insofern beim Auftreten jener diese unterbleibt.

Zweiter Abschnitt.

Einige physiologische Eigenschaften des Pilzes.

Es wurden zunächst Ernährungsversuche angestellt, wobei folgende Fragen geprüft wurden:

Aus welchen Stoffen kann der Pilz seinen Kohlenstoff- und Stickstoffbedarf gleichzeitig decken?

Welche Verbindungen können als Stickstoffquelle dienen?

Aus welchen Verbindungen kann der Kohlenstoffbedarf gedeckt werden?

Sodann habe ich geprüft den Einfluss von steigenden Concentrationen auf die vegetative und fruktifikative Entwickelung des Pilzes.

Drittens wurden Untersuchungen über Fermentbildung angestellt.

Weiterhin habe ich die Grenzen der Lebensfähigkeit mit Bezug auf Temperatur und Austrocknung studirt, sowie die Grenzen der Wachsthumsthätigkeit.

Endlich habe ich den Grad der Widerstandsfähigkeit des Pilzes gegen gewisse Gifte zu ermitteln gesucht.

I. Ernährung des Pilzes.

Die Ernährungsversuche wurden sämmtlich mit besonders zusammengesetzten Lösungen angestellt in möglichst gleichgrossen Reagirgläsern, die mit je 10 ccm der betreffenden Lösung beschickt und sicher sterilisirt wurden durch sechstägiges discontinuirliches Erwärmen im Wasserbade, resp. durch Erhitzen im Dampfsterilisator, was an drei Tagen hintereinander vorgenommen wurde und jedesmal eine Stunde dauerte, das Anwärmen nicht eingerechnet. Zu jedem Versuch dienten fünf Reagirgläser, die mit Sporenreinmaterial geimpft wurden, sowie ein bis mehrere Kontrollgefässe. Zur Impfung benutzte ich möglichst gleiche Sporenmengen derselben Kultur. Die Temperatur war die des Zimmers.

Zunächst wurde die Frage geprüft:

Aus welchen Stoffen kann der Pilz seinen Kohlenstoff- und Stickstoffbedarf gleichzeitig decken?

Versuchsanstellung: Es wurde eine Grundlösung von der folgenden Zusammensetzung hergestellt:

KH_2PO_4 . . . . . 0,1 %
$MgSO_4$ . . . . . 0,1 „
NaCl . . . . . 0,1 „
$CaCl_2$ . . . . . 0,05 „

In dieser Grundlösung waren also dem Pilze die zum Wachsthum nöthigen Mengen anorganischer Nährstoffe geboten.

Es wurden nun zu dieser Grundlösung die zu prüfenden Stoffe gegeben, nämlich je:

0,5 % Pepton,
0,5 % Asparagin,
0,1 % Leucin.

Nach etwa sechswöchentlicher Wachsthumsdauer waren folgende Resultate zu verzeichnen:

Verbindung	Art der Entwickelung	Reaktion der geimpften Gefässe	Reaktion des Kontrollgefässes
0,5 % Pepton	Ziemlich kräftige Entwickelung einer olivengrünen Mycelhaut an der Oberfläche der Flüssigkeit. Conidienbildung vorhanden.	neutral bis schwach alkalisch	sauer
0,5 % Asparagin	Sehr geringe Entwickelung. Conidien vorhanden.	sauer	sauer
0,1 % Leucin	Etwas kräftigere Entwickelung als im Asparagin. Conidien vorhanden.	sauer	sauer

Diese Resultate zeigen also, dass Pepton wohl geeignet ist, den Kohlenstoff- und Stickstoffbedarf des Pilzes zu befriedigen, während Leucin sich in dieser Beziehung weniger vortheilhaft erweist, Asparagin nur schlecht ernährt. An dem in diesen Nährlösungen gebildeten Mycel wurde etwas Charakteristisches nicht wahrgenommen.

Sodann habe ich untersucht

Aus welchen Verbindungen der Pilz seinen N-bedarf decken kann.

Es wurde zunächst eine Grundlösung hergestellt von derselben Zusammensetzung wie in der vorhergehenden Versuchsreihe, ausserdem wurden 2 % Traubenzucker zugefügt, der dem Pilze als C-quelle diente.

Die weiter unten folgende Tabelle giebt die einzelnen N-verbindungen an, die auf ihre Fähigkeit hin geprüft wurden, dem Pilze als N-quelle zu dienen, gleichzeitig mit den Gewichtsprocenten der angewendeten Stoffe und den dabei erzielten Resultaten[1].

Nach vierwöchentlicher Wachsthumsdauer stellte ich folgende Resultate fest:

Verbindung	%	Art des Wachsthums
1. Weinsaures Ammoniak	0,5	Entw. zahlreicher, kleiner, isolirter Räschen an der Wandung des Gefässes von dunkelolivenbrauner Färbung. Keine Conidienbildung. Charakteristische Veränderungen des Mycels. (Fig. 8 bis 12.)
2. Kohlensaures Ammoniak	1,0	Ziemlich kräftige Entw. einer olivengrünen Mycelhaut an der Oberfläche mit stark entwickeltem weissen Luftmycel. Das Mycel zeigt Gemmenbildung, aber nur von der gewöhnlichen Form, nicht von dem Aussehen wie im weinsauren Ammoniak. Hier trat Conidienbildung ein. Die Conidien besassen glatte Membran.
3. Salpetersaures Ammoniak	0,5	Mässige Entw. von zahlreichen isolirten Mycelien von brauner Farbe. Keine Conidienbildung. Das Mycel zeigt dieselbe charakteristische Beschaffenheit wie im weinsauren Ammoniak. (Vergl. Fig. 8—12.)
4. Kalisalpeter	0,5	Mässige Entw. von olivengrünen Mycelien. Das Mycel zeigt ähnliche Beschaffenheit wie im weinsauren Ammoniak. Keine Conidienbildung. (Vergl. Fig. 8—12.)
5. Natronsalpeter	0,5	Mässige Entw. von isolirten, olivengrünen Mycelien, die ähnliche Veränderungen zeigten wie die im weinsauren Ammoniak. Keine Conidienbildung. (Vergl. Fig. 8—12.)

1) Bei der Sterilisation der Gläser mit kohlensaurem und salpetersaurem Ammoniak wurde eine Modifikation beobachtet. Von beiden Verbindungen wurde die doppelte Anzahl der Gläschen, also 10, beschickt. Kohlensaures und salpetersaures Ammoniak wird bekanntlich beim Erhitzen bis zum Siedepunkt zersetzt. Um dies möglichst zu verhindern, andererseits aber die Nährlösungen keimfrei zu erhalten, wurden die mit der Lösung gefüllten Probirgläser discontinuirlich 6 Mal im Wasserbade bis auf 50°C. erhitzt und einige Zeit bei dieser Temperatur gehalten. Nach Beendigung der Sterilisation wurden sämmtliche Gläschen in den Brütschrank (30°C.) gestellt, um dadurch zu prüfen, ob irgend welche Keime noch lebensfähig geblieben wären. Da in keinem der Gläschen irgend eine Entwickelung sich zeigt, so konnten alle mit Ausnahme je eines Kontrollgefässes mit dem Pilze geimpft werden.

Hormodendron Hordei kann also seinen Stickstoffbedarf sowohl aus Ammoniaksalzen als aus salpetersauren Salzen decken. Beide ernähren indessen weniger gut als Pepton. Von Ammoniaksalzen ernährt aber kohlensaures Ammoniak entschieden besser als salpetersaures Ammoniak; es werden dabei auch Conidien gebildet, was auffälliger Weise weder in salpetersaurem noch in weinsaurem Ammoniak erfolgt, auch in der Kali- und Natronsalpeterlösung nicht eintritt.

Endlich wurde geprüft:

Aus welchen Verbindungen kann der Pilz seinen C-Bedarf decken?

a) Aus welchen Kohlehydraten?

Als N-quelle dienten, während die oben angegebene Grundlösung wiederum verwandt wurde, 0,5 % Natronsalpeter ($NaNO_3$), da bei den vorhergehenden Versuchen diese Verbindung sich nächst Pepton und Leucin, die natürlich wegen ihres Gehalts an Kohlenstoff nicht verwandt werden durften, noch als ziemlich günstig erwiesen hatte. Das allerdings eine etwas bessere Stickstoffquelle darbietende kohlensaure Ammoniak wurde deshalb nicht angewandt, weil die Sterilisation hier schwierig ist wegen der leichten Zersetzbarkeit dieses Salzes.

Die folgende Tabelle giebt die Einzelheiten des Versuches an gleichzeitig mit den gewonnenen Resultaten:

C-Verbindung	%	Art des Wachsthums	Reaktion der geimpften Gläser	Reaktion des Kontroll-gefässes
1. Rohzucker	5,0	Mässig kräftige Entw. Aehnliche Modifikationen des Mycels wie im weinsauren Ammoniak. Keine Conidienbildung.	sauer	sauer
2. Milchzucker	2,0	desgl.	"	"
3. Maltose	1,0	Mässige Entw. von Mycelien von hellbrauner Färbung. Aehnliche Modifikationen des Mycels wie im weinsauren Ammoniak. Keine Conidienbildung.	"	"
4. Traubenzucker	5,0	desgl.	"	"
5. Galactose	1,0	Geringe Entwickelung. Das Mycel neigt zu ähnlichen Bildungen wie im weinsauren Ammoniak. Keine Conidienbildung.	"	"
6. Cellulose[1]	·	Schlechte Entw. Reiche Anastomosenbildung, das Mycel bildet kurze Zweige. Conidienbildung vorhanden.	"	"

1) In Form von reiner entfetteter Watte verwandt. Das geringe Wachsthum ist nicht zurückzuführen auf eine Befriedigung des C-bedarfs aus der Cellulose. Weder mikroskopisch, noch chemisch konnte irgend eine Veränderung der Cellulose festgestellt werden, speciell war Umwandlung der Cellulose in Zucker in keinem einzigen Gläschen nachweisbar. Das ganz geringe Wachsthum ist wohl zurückzuführen auf sehr geringe Mengen von organischen Verunreinigungen der Watte; denn trotzdem die Versuche erst nach reichlich 4 Wochen Vegetationsdauer abgeschlossen wurden, blieb es doch nur bei einer Spur von Entwickelung.

C-Verbindung	%	Art des Wachsthums	Reaktion der geimpften Gläser	Reaktion des Kontroll-gefässes
7. Dextrin	2,0	Ziemlich kräftige Entw. Die eigenthümlichen Gemmenbildungen des Mycels sind hier fast noch ausgeprägter wie im weinsauren Ammoniak. Keine Conidienbildung.	sauer	sauer
8. Inulin	0,5	Ziemlich kräftige Entw. Modifikation des Mycels wie im weinsauren Ammoniak. Keine Conidienbildung.	„	„
9. Gummi arabicum	1,0	Ziemlich kräftige Entw. Ausser Conidien-Fruktifikation gewöhnliche Gemmenbildungen, nicht wie im weinsauren Ammoniak.	„	„

Aus diesen Versuchen ergiebt sich, dass sowohl Kohlehydrate der Rohrzuckerreihe (Rohrzucker, Milchzucker, Maltose) als, wie zu erwarten, der Traubenzuckerreihe (Dextrose, Galactose) und ebenso die der Cellulosereihe (Dextrin, Inulin, Gummi arabicum),. mit Ausnahme der Cellulose, ernähren.

Conidienbildung fand aber merkwürdigerweise nur auf Gummi arabicum statt, was freilich daher rühren mag, dass in den übrigen Lösungen die Sporen, in die Nährflüssigkeit untergesunken, sich nur zu Mycelien entwickelten.

Um zu sehen, ob der Pilz etwa in den Kohlehydratlösungen zu säuern vermöge, wurde dieselbe Versuchsreihe nochmals angestellt, nachdem die Lösungen schwach alkalisch gemacht und zur leichteren Erkennbarkeit einer etwaigen Reaktionsänderung mit wenig Lakmustinctur versetzt waren.

Die Resultate waren die folgenden:

C-Verbindung	%	Art des Wachsthums	Reaktion im geimpften Gefäss	Reaktion des Kontroll-gefässes
1. Rohrzucker	5,0	Mässig kräftige Entw. Aehnliche Modifikationen des Mycels wie im weinsauren Ammoniak. Keine Conidienbildung.	sauer	schwach alkalisch
2. Milchzucker	2,0	desgl.	alkalisch	„
3. Maltose	1,0	Mässige Entw. von Mycelien von hellbrauner Färbung. Aehnliche Modifikationen des Mycels wie im weinsauren Ammoniak. Keine Conidienbildung.	sauer	„
4. Traubenzucker	5,0	desgl.	sauer	„
5. Galactose	1,0	Geringe Entw. Das Mycel neigt zu ähnlichen Bildungen wie im weinsauren Ammoniak. Keine Conidienbildung.	alkalisch	„
6. Cellulose	.	Schlechte Entw. Reiche Anastomosenbildung. Das Mycel bildet kurze Zweige. Conidienbildung vorhanden.	alkalisch	„

C-Verbindung	%	Art des Wachsthums	Reaktion im geimpften Gefäss	Reaktion des Kontroll-gefässes
7. Dextrin	2,0	Ziemlich kräftige Entw. Die eigenthümlichen Gemmenbildungen des Mycels sind hier fast noch ausgeprägter als im weinsauren Ammoniak. Keine Conidienbildung.	sauer	alkalisch
8. Inulin	0,5	Ziemlich kräftige Entw. Modifikation des Mycels wie im weinsauren Ammoniak. Keine Conidienbildung.	alkalisch	„
9. Gummi arabicum	1,0	Ziemlich kräftige Entw. Ausser Conidien-Fruktifikation gewöhnliche Gemmenbildung vorhanden, nicht wie im weinsauren Ammoniak.	alkalisch	„

Säuerung veranlasste der Pilz demnach in denjenigen Gläschen, in denen Rohrzucker, Maltose, Traubenzucker und Dextrin den C-Bedarf deckten. In den übrigen Gläschen blieb die Alkalität der Lösungen unverändert.

Die vom Pilz erzeugte Säure war nicht etwa Kohlensäure; denn beim starken Aufkochen der Gläschen hätte die flüchtige CO_2 entweichen und das Lackmus sich wieder bläuen müssen. Dies trat in der That nicht ein, die gebildete Säure muss also eine andere, nicht flüchtige, sein. Von einer näheren Untersuchung derselben habe ich vorläufig Abstand genommen.

Fernerhin beschäftigte ich mich mit der Untersuchung der Frage:

b) Aus welchen organischen Säuren resp. deren Salzen kann der Pilz seinen C-Bedarf decken?

Verwandt wurde die bisherige Grundlösung anorganischer Nährsalze. Der Stickstoff wurde in Form von 0,5 % Natronsalpeter ($NaNO_3$) geboten, geprüft auf ihre Fähigkeit, den C-Bedarf des Pilzes decken zu können, wurden die in der weiter unten stehenden Tabelle verzeichneten organischen Säuren bezw. deren Salze.

Es wurden zwei Parallelversuche angeordnet. In der ersten Versuchsreihe blieb die Reaktion der einzelnen Lösungen so, wie sie sich aus dem Gemisch der einzelnen aufgelösten Stoffe ergab, d. h. mehr oder weniger sauer. In der zweiten Versuchsreihe wurden die sämmtlichen Lösungen mit Natrium Carbonicum neutralisirt, bezw. schwach alkalisch gemacht, so dass die Säuren zum Theil wenigstens nunmehr in Form des Natriumsalzes vorhanden waren.

Die nach vierwöchentlicher Wachsthumsdauer erhaltenen Resultate habe ich in der folgenden Tabelle verzeichnet:

C-Quelle	%	Maass der Entwickelung in den sauren Lösungen	Maass der Entwickelung in den mit Na_2CO_3 neutralisirten Lösungen
1. Weinsäure	0,5	keine Entwickelung	keine Entwickelung.
2. Citronensäure	0,5	keine Entwickelung	keine Entwickelung.
3. Bernsteinsaurer Kalk . .	0,5	mässige Entwickelung	mässige Entwickelung.
4. Essigsaurer Kalk	0,5	wenig Entwickelung	mässige Entwickelung.
5. Saures oxalsaures Kalium .	0,25	keine Entwickelung	keine Entwickelung.
6. Milchsaurer Kalk	1,0	mässige Entwickelung	mässige Entwickelung.
7. Harnsäure	0,25	keine Entwickelung	keine Entwickelung.
8. Aepfelsäure	0,5	keine Entwikkelung	keine Entwickelung.
9. Ameisensaures Natrium .	0,5	mässige Entwickelung	schwache Entwickelung.

Die Versuchsresultate zeigen, dass *Hormodendron Hordei* den C-Bedarf unter den angeführten Bedingungen nur aus Bernsteinsäure, Essigsäure, Ameisensäure, Milchsäure zu decken vermag, welche Verbindungen übrigens nur mässig nähren; nicht aber aus Weinsäure, Citronensäure, Oxalsäure, Harnsäure, Aepfelsäure.

Schliesslich prüpfte ich noch die Frage:

c) Aus welchen mehrwerthigen Alkoholen kann der Pilz seinen C-Bedarf decken?

Die mehrwerthigen Alkohole wurden einer Grundlösung von der obigen Zusammensetzung mit der üblichen Menge von 0,5 % $NaNO_3$ als Stickstoffquelle zugesetzt. Die Versuchsreihe währte vier Wochen.

Die Resultate dieser Versuchsreihe sind in folgender Tabelle niedergelegt worden.

Mehrwerthige Alkohole	%	Maass der Entwickelung
1. Glycerin	5,0	mässige Entw. eines gebräunten Mycels, keine Conidien.
2. Mannit	1,0	mässige Entw. eines olivengrünen Mycels, keine Conidien.
3. Melampyrit	1,0	sehr schwache Entwickelung.
4. Erythrit	1,0	sehr schwaehe Entwickelung.
5. Quercit	0,5	schwache Entwickelung.

Also auch diese C-Quellen vermag der Pilz unter obigen Bedingungen nur schwierig für seine Ernährung auszunutzen, am besten ernähren immer noch Glycerin und Mannit.

II. Einfluss steigender Concentrationen gewisser Stoffe auf die Entwickelung des Pilzes.

Die Frage nach dem Einfluss von steigenden Concentrationen auf die vegetative und fruktifikative Entwickelung niederer Organismen ist in ausgedehnterem Maasse zuerst von W. Zopf berücksichtigt worden, der Untersuchungen dieser Art bei dem von ihm aus amerikanischem Baumwollsaatmehl isolirten *Bacterium vernicosum* anstellte. Es schien mir nun von Interesse, das Verhalten eines höheren Pilzes in dieser Beziehung kennen zu lernen und daher in eingehender Weise diesen

Gesichtspunkt bei *Hormodendron Hordei* zu prüfen. In Folgendem habe ich die Resultate meiner Untersuchungen niedergelegt:

1. Einfluss einer steigenden Concentration von Kohlehydraten auf die vegetative und fruktifikative Entwickelung des Pilzes.

Gleiche Mengen einer constanten anorganischen Grundlösung (von der Zusammensetzung: 0,1 % KH_2PO_4 + 0,1 % $MgSO_4$ + 0,1 % NaCl + 0,05 % $CaCl_2$), gleiche Mengen einer Stickstoffverbindung (0,5 % $NaNO_3$), ungleiche Mengen eines bestimmten Kohlehydrats in procentischer Steigerung. Dauer der Versuche (bei Zimmertemperatur) 4 Wochen.

1. Rohrzucker.

25 %	45 %	65 %	85 %	110 %
Mässig kräftige Entw. Keine Conidienbildung. Aehnliche Formen des Mycels wie im weinsauren Ammoniak. (Fig. 8—12.)	wie bei 25 %	Mässige Entw. Keine Conidienbildung. Gemmenbildung vorhanden.	Mittelmässige Entwickelung. Keine Conidienbildung. Aehnliche Membranverdickungen wie in 65 % Traubenzucker. (Fig. 15.)	Nur noch ganz geringe Entwickelung.

2. Milchzucker.

10 %	26 %	34 %	gesättigte Lösung
Mässig kräftige Entw. Keine Conidienbildung. Aehnliche Formen des Mycels wie im weinsauren Ammoniak. (Fig. 8—12.)	Mässige Entw. Reichliche Conidienbildung. Keine Mycelveränderung wie im weinsauren Ammoniak. (Fig. 8—12.)	wie bei 26 %	Mittelmässige Entw. Reichliche Bildung von Conidien, die z. Th. die eigenthüml. Membranverdickungen zeigen wie in 65 % Traubenzucker. Fig. 15.

3. Maltose.

5 %	17 %	34 %	80 %	100 %
Mittelmässige Entw. Keine Conidienbildung, einfache Gemmenbildung, z. Th. wie im weinsauren Ammoniak. (Fig. 8—12.)	Mittelmässige Entw., ohne eigentl. Deckenbildung. Aehnliche Formen wie im weinsauren Ammoniak. (Fig. 8—12.)	Mässige Entw. Geringe Conidienbildung. Sonst gewöhnliche Gemmen.	wie bei 34 %	Kaum nennenswerthe Entw.

4. Traubenzucker.

25 %	45 %	65 %	75 %	85 %
Mässig kräftige Entw. Keine Conidien. Ausgeprägt ähnliche Formen des Mycels wie im weinsauren Ammoniak. (Fig. 8—12.)	wie bei 25 %	Schwache Entw. eines hellen Häutchens. Conidienbildung nicht vorhanden. Eigenthüml. braune Membranverdickungen. (Fig. 15.)	Schwache Entw. eines hellen Häutchens. Keine Conidien. Eigenthümliche helle Membranverdickungen. (Fig. 15.)	Nur noch eine Spur von Entw. Mycelzellen stark angeschwollen und nach verschiedenen Richtungen getheilt. (Fig. 16 u. 17.)

5. Galactose.

2 %	3 %
Kaum wahrnehmbare Entwickelung.	Keine Entwickelung.

6. Dextrin.

10 %	26 %	34 %	80 %	100 %
Mässig kräftige Entwickelung. Aehnliche Formen des Mycels wie im weinsauren Ammoniak. (Fig. 8—12.)	Mässig kräftige Entwickelung. Keine Conidienbildung, dagegen Gemmenbildung.	Mässig kräftige Entw., geringe Conidienbildung. Conidien mit ähnlichen Membranverdickungen wie in 65 % Traubenzucker. (Fig. 15.)	wie bei 34 %	Immer noch deutliche Entwickelung.

7. Inulin.

2,5 %	5,0 %	10 %	gesättigte Lösung
Mässig kräftige Entw. Gemmenbildung im gewöhnlichen Sinne. Keine Conidien.	Mässig kräftige Entw. Sonst wie bei 2,5 %.	Mässige Entw., reichliche Conidienbildung. Membranverdick. wie in 65 % Traubenzucker. (Fig. 15.)	Mässig kräftige Entw., sonst wie in 10 %.

8. Gummi arabicum.

10 %	30 %	60 %	gesättigte Lösung
Mässig kräftige Entw. Reiche Conidienbildung.	Mässig kräftige Entw. Reichliche Conidienbildung.	wie bei 30 %.	Schwache Entw., Conidienbildung vorhanden.

Vorstehende Versuche zeigen, dass *Hormodendron Hordei* ganz ausserordentlich hohe Concentrationen von Kohlehydraten vertragen kann. Es wächst nämlich noch:

in Rohrzucker bei 110%,
„ Milchzucker bei gesättigter Lösung,
„ Maltose zwischen 80 und 100%,
„ Traubenzucker zwischen 75 und 85%,
„ Dextrin bei über 100%,
„ Inulin bei gesättigter Lösung,
„ Gummi arabicum bei gesättigter Lösung (etwa 100%).

Ein Vergleich dieser bei *Hormodendron Hordei* gewonnenen Resultate mit denen bei anderen höheren Pilzen erhaltenen ist leider nur zum Theil möglich, da nur sehr wenige Untersuchungen hierüber vorliegen.

F. Eschenhagen[1] fand, dass die Concentrationsgrenzen des Wachsthums lagen:

	in Traubenzucker
für *Aspergillus niger* bei	53%
„ *Penicillium glaucum* bei	55 „
„ *Botrytis cinera* bei	51 „

Reinhardt[2] beobachtete bei *Pezixa Sclerotiorum* noch Wachsthum in 60% Rohrzucker.

Auch bezüglich der Spaltpilze lagen bisher nur wenige Untersuchungen in genannter Beziehung vor. So fand W. Zopf[3], dass *Bact. vernicosum* noch wächst und gährt bei einer Rohrzuckerconcentration, die zwischen 70 und 80%, bei einer Dextrinconcentration, die ebenfalls zwischen 70 und 80%, und in einer Milchzuckerconcentration, die zwischen 50 und 60% liegt.

P. Gräfenhan[4] zeigte, dass *Bacillus disciformis* noch auf 70% Rohrzucker sich, wenn auch schwach, entwickelte und auch auf 70 procentiger Dextrinlösung noch eine Kahmhaut bildete.

W. Zopf[5] erhielt von diesem Pilze sogar noch auf 80procentigem Dextrin eine deutliche, schliesslich in Sporenbildung übergehende Kahmhaut.

Also auch allen diesen Organismen ist *Hormodendron Hordei* in der besprochenen Beziehung überlegen. —

---

1) F. Eschenhagen: Ueber den Einfluss von Lösungen verschiedener Concentration auf das Wachsthum von Schimmelpilzen. Stolp 1889.

2) Reinhardt: Das Wachsthum der Pilzhyphen. Pringsheims Jhrb. Bd. XXIII. Heft 4, pag. 526.

3) W. Zopf: Zur Kenntniss der Organismen des amerikan. Baumwollsaatmehls. (1. Mittheil.) pag. 80 in W. Zopf's „Beitr. zur Physiol. u. Morphol. der nied. Organism. aus dem kryptog. Labor. d. Univers. Halle".

4) P. Gräfenhan: Bacillus disciformis. Ein Beitrag zur Kenntniss der Wasserbakterien. Dissertation. Halle, 1891.

5) l. c. pag. 82.

2. Einfluss steigender Concentrationen von anorganischen Salzen auf die vegetative und fruktifikative Entwickelung des Pilzes.

Gleiche Mengen einer Kohlenstoffverbindung (5 % Rohrzucker), gleiche Mengen von Stickstoffverbindungen (1 % Pepton), gleiche Mengen von Nährsalzen (0,5 % Fleischextrakt), ungleiche Mengen eines bestimmten anorganischen Salzes in procentischer Steigerung. Reaktion die natürliche des Substrats. Temperatur die des Zimmers.

1. Chloride der alkalischen Erden.

Chlorcalcium (wasserfreies): $CaCl_2$.

Concentration	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen	nach 30 Tagen
12 %	Mässige Entw.	Mäss. Fortschritt der Entw. Die Räschen an der Oberfläche haben das Aussehen, als behage ihnen die Lösung nicht recht.	Eine ziemlich kräftige Mycelhaut an der Oberfläche. Conidienbildung vorhanden. Die Conidien glatt. Z. T. Bildung von ziemlich stark gebräunten Gemmen vorhanden.
17 %	Keine Entwickelung.	Sehr schwache Entwickelung.	Mäss. Entwickelung. Die Conidienbildung tritt auffallend zurück bei starker Gemmenbildung.
22 %	Keine Entw.	Entwickel. kaum wahrnehmbar.	Schwache Entw. von einzelnen krümelig aussehenden Mycelien, die bei vollständigem Mangel von Conidienbildung sehr eigenthümliche Gemmenbildungen von Fig. 13 und 14 zeigen.
27 %	Keine Entw.	Keine Entw.	Keine Entwickelung.

Chlormagnesium: $MgCl_2$.

Concentration	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen	nach 30 Tagen
12 %	Deutliche Entwickelung.	Ziemlich kräftiger Fortschritt der Entwickelung.	Kräftige Entw. einer olivengrünen Mycelhaut an der Oberfläche der Flüssigkeit. Reiche Conidienbildung. Die vorhandenen Conidien z. Th. fein gewarzt. Ausserdem auch Bildung von Gemmen mit reicher Fettablagerung.
17 %	Deutliche Entw.	Mäss. Fortschritt der Entw.	Kräftige Entw. einer olivengrünen Mycelhaut. Starke Gemmenbildung; aber auch reiche Bildung von schwach warzigen Conidien.
22 %	Wenig Entw.	Mässige Entw.	Wie bei 17 %. Conidien deutlich warzig.
27 %	Spuren von Entw.	Mässige Entw.	Gute Entw. einer olivengrünen Mycelhaut. Conidien warzig.
32 %	Keine Entw.	Ganz geringe Entwickelung.	Sehr mässige Entw. — Die Räschen streben aus der Flüssigkeit heraus. Conidien schwach warzig.
37 %	Keine Entw.	Keine Entw.	Kaum wahrnehmbare Entwickelung.
42 %	Keine Entw.	Keine Entw.	Keine Entwickelung.

Chlorbaryum: $BaCl_2$.

Concentration	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen	nach 30 Tagen
10 %	Ganz schwache Entwickelung.	Geringer Fortschritt der Entwickelung.	Mässig kräft. Entw. einer hellolivengrünen Mycelhaut. Conidienbildung beschränkt. Conidien glattwandig. Starke Gemmenbildung.
12 %	Keine Entw.	Geringe Entw.	Wie bei 10 %.
17 %	Keine Entw.	Ganz spärliche Entwickelung.	Wenig Entwickelung. Conidienbildung tritt ganz zurück.
22 %	Keine Entw.	Keine Entw.	Keine Entwickelung.

Strontiumchlorid: $SrCl_2$.

Concentration	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen	nach 30 Tagen
12 %	Deutliche Entw.	Mässig kräft. Fortschritt der Entwickelung.	Kräftige Entw. einer hellen olivengrünen Mycelhaut. Reiche Conidienbildung. Conidien z. Th. fein warzig.
17 %	Wie oben.	Wie oben.	Wie oben. Conidien fein gewarzt.
22 %	„ „	„ „	Wie oben. Conidien z. Th. warzig.
27 %	„ „	„ „	Wie oben. Conidien z. Th. warzig.
32 %	„ „	„ „	Noch ziemlich kräftige Entw. wie oben. Conidien schwach warzig.
37 %	Schwache Entw.	Recht mäss. Fortschritt der Entw.	Noch ziemlich kräftige Entw. wie oben. Conidienbildung tritt zurück.
42 %	Keine Entwickel.	Keine Entwickel.	Mässige Entwickelung wie oben. Keine Conidienbildung.
47 %	„ „	„ „	Mässige Entw. wie oben. Keine Conidien, dagegen ähnliche sehr eigenthümliche Formen des Mycels wie im weinsauren Ammoniak. Vergl. Fig. 8—12.
57 %	„ „	„ „	Keine Entwickelung.

2. Chloride der Alkalien und des Ammoniums.

Kochsalz: NaCl.

Concentration	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen	nach 30 Tagen
10 %	Deutliche Entwickelung.	Ziemlich mässige Entwickelung.	Ziemlich kräftige Entw. einer Mycelhaut an der Oberfläche. Reichliche Conidienbildung. Conidien glatt.
12 %	Keine Entwickel.	Ganz schwache Entwickelung.	Ziemlich kräftige Entw., reiche Bildung von Conidien, die sehr kräftig aussehen und eine Spur warzig sind.
17 %	„ „	Ganz schwache Entwickelung.	Ziemlich kräftige Entwickelung. Die Conidien sind auffallend lang und z. Th. warzig.
22 %	„ „	Keine Entw.	Keine Entwickelung.

Chlorkalium: KCl.

Concentration	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen	nach 30 Tagen
12 %	Mässige Entw.	Mäss. Fortschritt von Entw.	Kräftige Entw. einer faltigen olivengrünen Mycelhaut an der Oberfläche. Conidien zahlreich und glatt.
17 %	Geringe Entw.	Sehr mäss. Fortschritt der Entw.	Ziemlich kräftige Entw., reiche Bildung von Conidien, die warzig sind.
22 %	Kaum wahrnehmbare Entw.	Sehr schwache Entwickelung.	Mässig kräftige Entwickelung. Conidienbildung tritt zurück.
27 %	Keine Entwickel.	Sehr schwache Entwickelung.	Mässige Entwickelung weisser Mycelcomplexe. Keine Conidienbildung.
32 %[1]	„ „	Keine Entw.	Ganz geringe Entwickelung.

Salmiak: NH_4Cl.

Concentration	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen	nach 30 Tagen
10 %	Ganz geringe Entwickelung.	Sehr mäss. Fortschritt der Entw.	Sehr mässige Entw. eines hellen Mycels. Conidienbildung tritt zurück.
12 %	Keine Entwickel.	Kaum wahrnehmbare Entw.	Sehr mässige Entw., keine Conidienbildung. Das Mycel strebt aus der Flüssigkeit.
17 %	„ „	Wie bei 12 %.	Höchst schwache Entw., z. Th. Conidienbildung. Conidien mehr oder weniger warzig oder mit Buckeln versehen.
22 %	„ „	Keine Entw.	Keine Entwickelung.

3. Sulfate der alkalischen Erden.

Schwefelsaure Magnesia: $MgSO_4$.

Cencentration	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen	nach 30 Tagen
12 %	Kräftige Entwickelung.	Kräft. Fortschritt d. Entwickelung.	Sehr kräftige Entw. einer faltigen, dicken, olivengrünen Mycelhaut. Conidien reichlich, z. Th. feingewarzt, z. Th. auch Gemmenbildung.
17 %	Wie oben.	Wie oben.	Wie oben. Conidien deutlich warzig.
22 %	„ „	„ „	Wie oben. Conidien deutlich warzig.
27 %	„ „	„ „	Wie oben. Conidien deutlich warzig.
32 %	„ „	Zieml. kräft. Fortschritt der Entw.	Wie oben. Conidien warzig.
37 %	„ „	Desgl.	Wie oben. Conidien warzig.
42 %	Schwache Entw.	Desgl.	Kräftige Entwickelung, sonst wie oben. Conidien warzig.
52 %	Ganz schwache Entwickelung.	Mäss. Fortschritt der Entw.	Kräft. Entw., Conidienbildung tritt zurück. Die vorhandenen Conidien z. Th. ganz schwach warzig, z. Th. ähnliche Formen des Mycels wie in 22 % $CaCl_2$. Fig. 13 und 14.

1) Bei dieser Concentration scheiden sich bei Erkalten der Lösung wieder Krystalle aus, die Lösung war also gesättigt.

Concentration	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen	nach 30 Tagen
72 %	Keine Entwickel.	Ganz schwache Entwickelung.	Mittelmässige Entwickelung. Conidienbildung tritt zurück, die vorhandenen Conidien warzenlos. Stark gebräunte Gemmen, die schlecht aussehen.
82 %	„ „	Keine Entwickelung.	Nur noch in einem Gläschen etwas Entw., was wohl daher kommen mochte, dass etwas reichlich Sporenmaterial mit Mycelfragmenten beim Impfen in die Lösung gekommen war, so dass der Pilz infolge des Feuchtigkeitsgehalts im Gläschen wohl auf Kosten der alten Mycelteile sich spärlich entwickelte. Keine Conidienbildung. Aehnliche Formen wie im weinsauren Ammoniak, die aber schlecht aussehen. Fig. 8—12.

4. Sulfate der Alkalimetalle.

Neutrales schwefelsaures Kali: K_2SO_4.

Concentration	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen	nach 30 Tagen
12 %[1]	Deutliche Entwickelung.	Kräftiger Fortschritt der Entwickelung.	Kräft. Entwickelung einer dicken, faltigen, dunkelolivengrünen Mycelhaut. Bildung von Conidien, die fein gewarzt waren.

Neutrales schwefelsaures Natron: Na_2SO_4.

Concentration	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen	nach 30 Tagen
12 %	Deutliche Entwickelung.	Kräft. Fortschritt d. Entwickelung.	Kräft. Entwickelung einer dicken, faltigen, dunkelolivengrünen Mycelhaut. Conidien vorhanden, glatt.
17 %	Wie oben.	Wie oben.	Wie oben. Conidien glatt.
22 %	„ „	„ „	Wie oben. Conidien z. Th. warzig.
27 %	„ „	„ „	„ „ „ „ „ „
32 %	„ „	„ „	„ „ „ „ „ „
37 %	Schwache Entwickelung.	Mäss. Fortschritt der Entw.	„ „ „ „ „ „
42 %	Keine Entwickel.	Schwache Entw.	„ „ „ „ „ „
52 %	„ „	Schwache Entwickelung.	Ziemlich kräftige Entwickelung wie oben. Beschaffenheit der Membran der Conidien fraglich.
67 %	„ „	Ganz schwache Entwickelung.	Mässig kräftige Entwickelung wie oben. Conidien glatt.
77 %	„ „	Keine Entw.	Keine Entwickelung.

1) Als die Lösung erkaltete, schied sich ein Teil des gelösten K_2SO_4 in Krystallen wieder aus, die Lösung war also schon gesättigt.

5. Phosphate.

Neutrales phosphorsaures Natron: $Na_2 HPO_4$.

Concentration	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen	nach 30 Tagen
12 %	Deutliche Entwickelung.	Mäss. Fortschritt. der Entw.	Mässige Entw. einer dunkelolivengrünen Mycelhaut. Die vorhandenen Conidien glatt.
17 %	Wie oben.	Wie oben.	Wie oben. Conidien ganz schwach warzig.
22 %	Geringe Entw.	„ „	Wie oben. Conidien z. Th. warzig.
27 %	Spuren von Entw.	„ „	„ „ „ „ „ „
32 %	Keine Entwickel.	Ganz geringe Entwickelung.	Mittelmässige Entwickelung. Conidien z. Th. warzig.
37 %	„ „	Desgl.	Mittelmäss. Entw. Conidien z. Th. warzig.
42 %	„ „	Keine Entwickel.	Ganz mässige Entwickelung. Conidien z. Th. warzig.
47 %	„ „	„ „	Ganz mäss. Entw. Keine Conidienbildung.
62 %	„ „	„ „	Schlechte Entw., die das Aussehen hat wie die in 22 % $CaCl_2$. Das Mycel zeigt auch ähnliche Formen wie in 22 % $CaCl_2$. Keine Conidien. Es liegt hier offenbar die Concentrationsgrenze. Vergl. dazu Fig. 13 und 14.

Saures phosphorsaures Kali: $K_2 HPO_4$.

Concentration	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen	nach 30 Tagen
12 %	Schwache Entwickelung.	Mäss. Fortschritt der Entw.	Sehr mässige Entw. einer olivengrünen Mycelhaut. Die Lösung scheint dem Pilz nicht zu behagen. Conidien vorhanden.
17 %	Schwache Entwickelung.	Schwacher Fortschritt der Entw.	Schwache Entw., sehr starke Gemmenbildung. Conidienbildung tritt zurück.
22 %	Keine Entwickel.	Ganz geringe Entwickelung.	Geringe Entwickelung. Keine Conidienbildung.
27 %	„ „	Keine Entw.	Keine Entwickelung.

6. Salpetersaure Alkalien.

Natronsalpeter: $NaNO_3$.

Concentration	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen	nach 30 Tagen
12 %	Deutliche Entwickelung.	Kräft. Fortschritt der Entw.	Kräftige Entw. einer faltigen, dunkelolivengrünen Mycelhaut. Conidien glatt.
17 %	Wie oben.	Mäss. Fortschritt der Entw.	Mässig kräftige Entwickelung. Conidien werden deutlich warzig.
22 %	Geringe Entw.	Desgl.	Mässig kräftige Entwickelung. Conidien sehr deutlich warzig.
27 %	Kaum wahrnehmbare Entw.	Mäss. Fortschritt der Entw.	Mässig kräftige Entwickelung. Conidien z. Th. warzig.

Concentration	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen	nach 30 Tagen
32 %	Keine Entwickel.	Sehr geringe Entwickelung.	Mässige Entwickelung. Keine Conidienbildung.
37 %	„ „	Keine Entwickel.	Ganz geringe Entwickelung. Keine Conidienbildung.
42 %	„ „	„ „	Keine Entwickelung.

Aus diesen Kulturversuchen lassen sich folgende Schlüsse ableiten. Zunächst ersieht man,

dass die Schnelligkeit des Wachsthums mit dem Steigen der Concentrationen abnimmt;

ferner, dass mit zunehmender Concentration der Charakter der Mycelzellen in auffälliger Weise sich verändert;

endlich, dass die verschiedenen Concentrationen im allgemeinen auf Entstehung und Beschaffenheit der Conidien Einfluss haben.

Zu diesen Resultaten ist nun noch Folgendes zu bemerken.

Bezüglich der Conidienbildung hat sich ergeben,

1. dass auf manchen Salzlösungen, z. B. Chlorcalcium, Chlormagnesium, Chlorbaryum, Strontiumchlorid, Chlorkalium, schwefelsaurer Magnesia, neutralem phosphorsaurem Natrium, saurem phosphorsaurem Kalium, Natronsalpeter die bei schwächeren oder mittleren Concentrationen vorhandene Conidienbildung bei höheren Concentrationen unterbleibt;
2. dass auf manchen Salzlösungen bei niederer und mittlerer Concentration die Conidien Warzenskulptur annehmen, bei höherer Concentration aber diese Eigenschaft verlieren, mithin glatt werden. Das ist z. B. der Fall auf schwefelsaurer Magnesia.
3. dass auf manchen Salzlösungen die bei mittleren Concentrationen vorhandene Glattwandigkeit der Conidien bei höheren Concentrationen der Warzigkeit Platz macht, was z. B. in Bezug auf Natronsalpeter gilt;
4. dass die Concentrationsmaxima der Conidienbildung im allgemeinen nicht an die der Mycelbildung heranreichen.

Hinsichtlich der Mycelbildung ist hervorzuheben, dass auf hochconcentrirten Lösungen von Chlorcalcium (22 %), Strontiumchlorid (47 %), schwefelsaurer Magnesia (52 % und darüber), neutralem phosphorsaurem Natrium (62 %) die Mycelien in sonderbar gestalteten Gemmencomplexen auftreten, wie sie bereits im morphologischen Theile geschildert wurden und in den Fig. 8—14 veranschaulicht sind.

Ein näherer Vergleich des *Hormodendron Hordei* mit anderen Schimmelpilzen hinsichtlich der Concentrationsgrenzen des Wachsthums kann vorläufig leider nur theilweise angestellt werden, da Untersuchungen

an andern Schimmeln nur erst mit wenigen der obigen Salze ausgeführt sind. Diese Untersuchungen sind von Eschenhagen[1] an *Aspergillus niger, Penicillium glaucum* und *Botrytis cinerea* vorgenommen worden mit Bezug auf Chlornatrium, Chlorcalcium und Natronsalpeter und haben im Vergleich mit *Hormodendron Hordei* folgende Concentrationsgrenzen der Entwickelung ergeben:

	Na Cl	$Ca Cl_2$	$Na NO_3$
für *Aspergillus niger*	17	18	21
„ *Penicillium glaucum*	19	17	21
„ *Botrytis cinerea*	12	16	16
„ *Hormodendron Hordei*	zwischen 17 u. 22	zw. 22 u. 27	zw. 37 u. 42.

Hormodendron Hordei verträgt mithin höhere, z. Th. bedeutend höhere Concentrationen dieser Salze als die genannten Schimmel.

Eingehendere Vergleiche sind dagegen ermöglicht mit dem von W. Zopf[2] nach den hier in Betracht kommenden Gesichtspunkten weitgehender untersuchten *Bact. vernicosum.* Wie die folgende vergleichende Zusammenstellung erkennen lässt, ist die Höhe der Concentrationsmaxima in Rücksicht auf das Wachsthum für diese beiden Organismen meistens noch erheblich differenter.

	Hormod. Hordei	*Bact. vernicosum*
$Ca Cl_2$	zwischen 22 und 27 %	zwischen 5 und 8 %
$Ba Cl_2$	„ 17 „ 22 „	„ 5 „ 8 „
$Mg Cl_2$	„ 37 „ 42 „	„ 8 „ 10 „
$Sr Cl_2$	„ 47 „ 57 „	—
Na Cl	„ 17 „ 22 „	„ 18 und 20 %
K Cl	in gesättigter Lösung	„ 10 „ 12 „
$NH_4 Cl$	zwischen 17 und 22 %	„ 8 „ 10 „
$Mg SO_4$	„ 72 „ 82 „	„ 25 „ 28 „
$K_2 SO_4$	in gesättigter Lösung	„ 12 „ 15 „
$Na_2 SO_4$	zwischen 67 und 77 %	„ 15 „ 18 „
$Na_2 H PO_4$	gegen 62 %	„ 10 „ 12 „
$K_2 H PO_4$ [3]	zwischen 22 und 27 „	„ 20 „ 22 „
$Na NO_3$	„ 37 „ 42 „	„ 10 „ 12 „

III. Fermentbildung.

Es wurde zunächst geprüft, ob der Pilz ein invertirendes Ferment zu bilden vermag.

Als Nährlösung diente die übliche Grundlösung mit 5 % Rohrzucker. Dieselbe wurde schwach alkalisch gemacht und mit Lackmus gefärbt. Nach einiger Zeit war vollständige Röthung in allen geimpften

1) l. c. pag. 10.
2) W. Zopf: l. c. pag. 91.
3) Zu bemerken ist, dass die in der mit $K_2 H PO_4$ versehenen Lösung gefundenen Resultate nicht ohne weiteres vergleichbar sind, da W. Zopf für sein *Bacterium vernicosum* die Lösung neutralisirte, während ich die Lösung für *Hormodendron Hordei* in ihrer ursprünglichen sauren Beschaffenheit beliess.

Gläschen eingetreten, das Kontrollgefäss dagegen blau geblieben. Der Pilz säuert also in dieser Nährlösung deutlich, was bereits oben nachgewiesen ist. Die Prüfung mit Fehling'scher Lösung ergab die charakteristische Traubenzucker-Reaktion, während im Kontrollgefäss der Rohrzucker unverändert geblieben war. Mithin ist *Hormodendron Hordei* im Stande, ein Rohrzucker invertirendes Ferment zu bilden.

Milchzucker vermag es indessen nicht zu invertiren, wie man übrigens auch schon daraus schliessen darf, dass der Pilz in Milchzuckerlösungen keine Säuerung bewirkt.

Des weiteren konnte nachgewiesen werden, dass *Hormodendron Hordei* ein Gelatine peptonisirendes Ferment ausscheidet. Wenn man nämlich den Pilz auf schräger Fläche einer Nährgelatine kultivirt, der absichtlich kein Pepton zugesetzt war, so tritt bald eine Verflüssigung ein, die soweit vorschreitet, dass schliesslich die sämmtliche Gelatine davon ergriffen wird.

Sodann wurde die Frage geprüft:

Bildet der Pilz ein diastatisches Ferment?

Bei denjenigen niederen Organismen, welche Gelatine nicht zu peptonisiren vermögen, lässt sich der Nachweis, ob Stärke durch ein diastatisches Ferment in Zucker verwandelt wird, am besten dadurch führen, dass man Stärke in eine Gelatine fein vertheilt, die mit Ausnahme einer C-Quelle alle Nährstoffe sonst in geeigneter Form enthält. Giesst man die mit der Stärke versehene Gelatine in ein Gusskulturschälchen aus und macht nach dem Festwerden der Gelatine eine Impfstrichkultur mit dem zur Untersuchung vorliegenden Pilze, so kann man, sobald ein genügendes Maass von Wachsthum erreicht ist, mittels Jodlösung nachweisen, ob der Pilz die Verwandlung der Stärke in Dextrin und Maltose bewirkt hat[1].

Bei *Hormodendron Hordei* war ein solcher Versuch unzulässig. Wie vorher experimentell nachgewiesen wurde, besitzt der Pilz die Fähigkeit, Gelatine stark zu peptonisiren. Mische ich daher zur Gelatine Stärke, so hat der Pilz event. gar nicht nöthig, dieselbe durch Ausscheidung eines diastatischen Fermentes in Zucker zu verwandeln, sondern er wird viel bequemer durch Peptonisirung der Gelatine die erforderliche C-Quelle sich erschliessen.

Daher wurde eine andere Versuchsanstellung gewählt. Verwandt wurde die übliche Grundlösung anorganischer Nährsalze, der als N-Quelle 0,5% $NaNO_3$ zugefügt wurden. Als C-Quelle diente nun in dieser Nährlösung Weizenstärke. Die Lösung wurde schwach sauer gehalten, da nichtalkalische (schwach saure oder neutrale) Reaktion des Substrats bekanntlich für die Wirkung diastatischer Fermente Bedingung ist.

Es hat sich nun bei diesem Versuche gezeigt, dass der Pilz die Stärke nicht umzuwandeln vermag, also Ausscheidung eines diastatischen Fermentes nicht stattfindet.

---

1) Ein ähnliches Verfahren hat seiner Zeit für Bakterien Beyerinck angewandt.

Ferner fragte es sich, ob *Hormodendron Hordei* befähigt sei, ein Labferment zu bilden.

Um die Frage zu entscheiden, wurde eine Anzahl von Reagirgläsern mit je etwa 10 ccm Milch gefüllt, denen Lackmus zugesetzt wurde, das die amphotere Reaktion der Milch anzeigte. Die Gläschen wurden sechsmal diskontinuirlich im Wasserbade nur bis auf 50° C. erwärmt. Sämmtliche Gläschen wurden darauf bei angemessener Temperatur eine Zeit lang in den Brütschrank gestellt, um event. noch nicht abgetötete Keime zur Entwickelung zu bringen. Alle Gläschen, mit Ausnahme eines einzigen, wurden hierbei für steril befunden und nun mit den Conidien des zu untersuchenden Pilzes geimpft.

Es trat bald eine üppige Entwickelung auf der Milch ein, und nach einigen Tagen konnte bereits eine Fällung des Caseïns constatirt werden. Dabei wurde das Lackmus nicht geröthet, der Pilz bildete also auf der Milch keine Säure, die etwa das Caseïn hätte fällen können. Demnach ist die Ausscheidung des Caseïns der Fähigkeit des Pilzes zuzuschreiben, ein Labferment zu bilden.

Ferner beobachtete ich nun in den Milchkulturen, in denen das Caseïn gefällt war, dass der Caseïnniederschlag sich ganz allmählich wieder auflöste. Diese Erscheinung beruht offenbar auf der Wirkung eines anderen, tryptischen Ferments.

Aus vorstehenden Untersuchungen ergiebt sich also, dass *Hormodendron Hordei* im Stande ist, mehrere Fermente *(Enzyme)* zur Ausscheidung zu bringen, nämlich

1. ein Gelatine peptonisirendes,
2. ein gefälltes Caseïn peptonisirendes,
3. ein Rohrzucker invertirendes (Invertin),
4. ein das Caseïn der Milch fällendes (Labferment).

Dagegen vermag dieser Schimmel kein diastatisches Ferment zu erzeugen.

Die Bildung eines Labferments durch *Hormodendron Hordei* ist insofern recht bemerkenswerth, als diese Erscheinung bei anderen Schimmelpilzen bisher nicht beobachtet zu sein scheint, wie ich aus Zopf's Lehrbuch der Pilze (1890) und den später erschienenen Koch'schen Jahresberichten ersehe. (Bei Spaltpilzen dagegen ist Labferment-Ausscheidung bekanntlich mehrfach gefunden worden.)

IV. Die Grenzen der Lebensfähigkeit.

Zunächst habe ich geprüft, welches die Grenzen sind, die der Lebensfähigkeit des Pilzes, und zwar speciell der Sporen, durch die Temperatur gesteckt werden.

Sodann wurde die Einwirkung von Austrocknung auf die Lebensfähigkeit der Conidien untersucht, und endlich zog ich noch die Frage in Betracht, in welchen Concentrationen gewisse giftige Stoffe das Leben der Conidien vernichten.

1. Die Temperaturgrenzen der Lebensfähigkeit.

a) Die obere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit.

α) Bei feuchter Wärme.

Reichliche Mengen von Conidien wurden in etwa 10 ccm destillirten Wassers in einem Reagenzglase vertheilt. Das Gläschen wurde dann in die Oeffnung eines auf ein Becherglas passenden Korkes eingefügt, welches mit Wasser gefüllt war, hing also frei in das Wasser hinein. Hierauf wurde das Ganze in ein Wasserbad gesetzt, das ausserdem noch auf einem Drahtnetz stand. So gelang es, das Versuchsmaterial allmählich auf eine bestimmte Temperatur zu bringen und durch passende Regulirung der Flamme dieselbe eine kurze Zeit constant zu erhalten.

Die Temperatur des Wassers war bei Beginn eines jeden Versuchs $10^1/_2{}^0$ C.

1. Binnen 26 Minuten wurde das Wasser im Reagirglase auf 50^0 C. erwärmt und 5 Min. bei 50^0 C. erhalten.
   Resultat: Die Conidien keimten noch aus.
2. Binnen 30 Min. wurde das Wasser im Reagirglase auf 55^0 C. erwärmt und 5 Min. bei $55 - 55^1/_2{}^0$ C. erhalten.
   Resultat: Die Conidien keimten noch aus.
3. Binnen 17 Min. wurde das Wasser im Reagirglase auf 60^0 C. erwärmt und 5 Min bei $60 - 60^1/_2{}^0$ C. erhalten.
   Resultat: Die Conidien keimten noch aus.
4. Binnen 22 Min. wurde das Wasser im Reagirglase auf 65^0 C. erwärmt und 5 Min. bei $65 - 65^1/_2{}^0$ C. erhalten.
   Resultat: Die Conidien keimten noch aus.
5. Binnen 11 Min. wurde das Wasser im Reagirglase auf 70^0 C. erwärmt und 5 Min. bei $68^1/_2 - 70^0$ C. erhalten.
   Resultat: Die Conidien keimten nicht mehr aus.

Die Grenze, bei welcher durch Einwirkung von feuchter Wärme die Keimkraft der Conidien vernichtet wird, liegt demnach unter obigen Bedingungen zwischen 65 und 70^0 C.

β) Bei trockener Wärme.

Ein Tropfen Wasser, in dem reichliche Mengen von Conidien suspendirt waren, wurde auf ein dünnes Glimmerblättchen gebracht und letzteres an einem Thermometer mit Hülfe eines dünnen Fadens so befestigt, dass es sich in gleicher Höhe mit dem Quecksilbergefäss befand. Das mit dem daran hängenden Glimmerblättchen versehene Thermometer fügte ich mittels eines Wattepfropfs so in ein Reagirglas, dass es frei darin hing, also den Boden nicht berührte. Das Reagirglas, das ganz trocken war, befestigte ich in einer der oberen Oeffnungen eines doppelwandigen, mit Asbest belegten Trockenschrankes so, dass die Oeffnung noch mit Watte, also einem schlechten Wärmeleiter, ausgepolstert war. Auf diese Weise hing das Reagirglas mit seinem Inhalt frei in den Raum des Trockenschrankes hinein. Zur Prüfung der etwa noch vorhandenen Lebensfähigkeit der verwandten Conidien

wurden dieselben mit saurer Nährgelatine gemischt und diese in Schälchen ausgegossen.

1. Binnen 16 Min. von Zimmertemperatur auf 100° C. erhitzt und 5 Min. bei 99—101° C. erhalten.
   Resultat: Die Conidien keimten noch aus.
2. Binnen 35 Min. von Zimmertemperatur auf 110° C. erwärmt und 5 Min. bei $109\frac{1}{2}$—$110\frac{1}{2}$° C. erhalten.
   Resultat: Die Conidien keimten noch aus.
3. Binnen 15 Min. von Zimmertemperatur auf 115° C. erwärmt und 5 Min. bei 115—116° C. erhalten.
   Resultat: Die Conidien keimten noch aus.
4. Binnen 29 Min. von Zimmertemperatur auf 120° C. erwärmt und 5 Min. bei 119—121° C. erhalten.
   Resultat: Die Conidien keimten nicht mehr aus.

Trockene Wärme vernichtet also die Keimkraft der Conidien unter obigen Bedingungen zwischen 115 und 120° C.

b) Die untere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit.

Ueber den Einfluss von niedrigen Temperaturen auf die Lebensfähigkeit der Conidien wurden von mir Versuche nicht angestellt. Nach bereits vorliegenden Versuchen mit einem sehr nahe verwandten Pilze lässt sich jedoch mit ziemlicher Sicherheit vermuthen, dass auch *Hormodendron Hordei* ganz bedeutend niedrige Temperaturen verträgt, ohne seine Keimkraft einzubüssen. W. Zopf[1] hat nämlich *Hormodendron cladosporioides* Fres. 4 Stunden lang einer durch feste Kohlensäure und Aether erzeugten Temperatur von mindestens — 83° C. ausgesetzt, ohne dass eine Abtödtung eingetreten wäre.

2. Die Grenzen der Lebensfähigkeit in Rücksicht auf Austrocknung.

a) In Zimmerluft.

Auf eine Anzahl von sterilisirten Objektträgern wurden in je einen Wassertropfen reichliche Mengen von Conidien des Pilzes vertheilt. Sobald das Wasser verdunstet war, wurden die Objektträger zum Schutze vor Staub und Keimen unter einer sterilisirten Glasschale so aufbewahrt, dass die Luft ungehinderten Zutritt hatte. Zur Prüfung der Keimfähigkeit wurden die Conidien in gewissen Zeiträumen von diesen Objektträgern auf Nährgelatine von erprobter Zusammensetzung in Schälchen ausgesät.

Resultat:

1. Nach 2 Monaten: Die Conidien keimten normal aus.
2. Nach 3 Monaten: Keine Entwickelung mehr.

b) Im Exsiccator.

Ein zweiter Theil der mit Conidien versehenen Objektträger wurde, nachdem das Wasser, in dem die Conidien vertheilt waren, verdunstet

1) W. Zopf: Die Pilze. 1890. pag. 215.

war, in einem mit concentrirter Schwefelsäure beschickten Exsiccator aufbewahrt. Die Prüfung auf noch vorhandene Keimfähigkeit geschah wie oben.

Resultat:

1. Nach 2 Monaten: Die Conidien keimten normal aus.
2. Nach 3 Monaten: Keine Entwickelung mehr.

Die Conidien von *Hormodendron Hordei* vermögen also unter obigen Bedingungen ein zweimonatliches Austrocknen sowohl in gewöhnlicher Zimmerluft als im Exsiccator (über Schwefelsäure) zu vertragen, nicht aber ein dreimonatliches.

3. Die Grenzen der Lebensfähigkeit in Rücksicht auf Gifte.

Wenn ich die Einwirkung verschiedener Gifte auf die Keimfähigkeit der Conidien von *Hormodendron Hordei* prüfte, so geschah dies aus rein praktischen Gesichtspunkten in der Absicht, ein Beizmittel zu finden, das bei einer die Keimkraft der Gerstenkörner möglichst wenig schädigenden Concentration in möglichst kurzer Zeit die Lebensfähigkeit der Conidien zu vernichten vermöchte. Daher drückte ich die Concentration auch, um für die Praxis möglichst unmittelbar verwerthbare Resultate zu erhalten, in Gewichtsprocenten des Lösungswassers aus, und nicht, wie dies nach dem Vorgange von H. de Vries neuerdings von E. Wüthrich[1] als allein richtig vorgeschlagen wurde, nach Aequivalentgewichten. Diese Methode mag ihre Berechtigung haben, wenn es sich darum handelt, rein wissenschaftliche Vergleiche der Wirkungen einzelner Gifte auf die Keimfähigkeit der Sporen vorzunehmen. Für die landwirthschaftliche Praxis dürfte aber entschieden die Angabe der Concentrationen nach Gewichtsprocenten ihrer Einfachheit wegen vorzuziehen sein.

Die Conidienmengen, deren Lebensfähigkeit geprüft werden sollte, wurden in kleine Filterchen gebracht, die zusammengefaltet in die betreffenden Giftlösungen die entsprechende Zeit getaucht wurden unter zeitweiser Umschüttelung der Lösungen. Genau nach Ablauf der Einwirkungszeit wurden die Filterchen mit den Conidien schnell herausgezogen und einzeln in Wasser abgespült, so dass auch die den Conidien noch anhaftende Lösung möglichst abgewaschen wurde. Hierauf impfte ich mit der abgeglühten Impfnadel die Conidien aus den Filterchen in flüssige Gelatine von gewöhnlicher Zusammensetzung in Reagenzgläsern, schüttelte tüchtig um, um die Conidien in der Gelatine möglichst gleichmässig zu vertheilen, und stellte mit der Conidienmenge aus jedem Filterchen je zwei Reagenzglasrollkulturen her. In der folgenden Tabelle habe ich die Resultate dieser Versuche zusammengestellt.

---

1) E. Wüthrich: Ueber die Einwirkung von Metallsalzen auf die Keimfähigkeit der Sporen einiger parasitischer Pilze. (Dissertation.)

Name des Giftes	%	nach 4 Stunden	nach 8 Stdn.	nach 12 Stdn.	nach 16 Stdn.
Conc. Schwefelsäure	1,5	Auskeimung	Auskeimung	Auskeimung	Auskeimung
Salzsäure	1,0	"	"	"	"
Kupfervitriol . . .	0,5	"	"	"	"
Eisenvitriol . . .	1,5	"	"	"	"
Sublimat	0,1	Keine Auskeimung	—	—	—
Kalkmilch	3,0	Auskeimung	Auskeimung	Auskeimung	Auskeimung
Zinkvitriol	1,5	"	"	"	"
Zinkchlorid . . .	2,5	"	"	"	"
Carbolsäure . . .	5,0	Keine Auskeimung	—	—	—

Die mitgetheilten Versuchsresultate zeigen, dass mit Ausnahme von Sublimat und Carbolsäure alle übrigen, sonst giftig wirkenden Stoffe die Keimfähigkeit von *Hormodendron Hordei* noch nicht zu vernichten vermögen, dass aber 0,1 procentige Sublimatlösung und 5 procentige Carbolsäure es schon nach kurzer Einwirkung abzutödten vermögen. Der Pilz hat also im allgemeinen eine bedeutende Widerstandsfähigkeit gegen die übrigen zur Untersuchung herangezogenen Gifte.

V. Die Grenzen der Wachsthumsthätigkeit.

Es kommen hier speciell die Temperaturgrenzen in Betracht.

Minimum der Wachsthums-Temperatur. In einem Reagenzglase wurde auf der schrägen Fläche einer sauren Nährgelatine eine Strichkultur gemacht. Die Kultur wurde (am 24. XI. 1892) sofort darauf in der niedrigen Temperatur in einem der Winterkälte ziemlich ausgesetzten Corridor des kryptogamischen Laboratoriums aufgestellt. Das Maximum der Temperatur, die auf die Kultur einwirkte, betrug um die Mittagszeit $5\,^1/_2\,^0$ C. Die Temperatur ging jedoch während der Nacht bedeutend herab und während der sehr kalten Weihnachtstage jedenfalls auf einige Grade unter 0°; denn auf diesem Corridor stehende, mit Wasser gefüllte Gefässe froren vollständig ein. Trotz dieser niedrigen Temperaturen war am 6. Jan. 1893 die ganze schräge Fläche der Nährgelatine von einem üppigen olivengrünen Mycel überwuchert, das reichlich fruktificirt hatte. Dieser Versuch zeigt, dass innerhalb der Grenzen der angegebenen niedrigen Temperaturen das Wachsthum des Pilzes noch nicht vollständig inhibirt wird, wenn dasselbe auch nur verhältnissmässig langsam fortschreitet. Ich vermuthe hiernach, dass nur geringe Temperaturen über 0° C. erforderlich sind, um eine Weiterentwickelung zu ermöglichen.

Optimum der Wachsthums-Temperatur. Auf der schrägen Fläche einer sauren Agargelatine wurden in zwei Reagenzgläsern Strichkulturen möglichst gleichmässig angelegt. Das eine Gläschen blieb in Zimmertemperatur stehen, die zwischen 16 und 17° C. schwankte, das andere Gläschen wurde im Brütschrank einer Temperatur von $24\,^1/_2$ bis 25° C. ausgesetzt. Nach 4 Tagen wurde das Wachsthum der beiden Kulturen verglichen. Die im Brütschrank aufgestellte Kultur zeigte

eine bessere Entwickelung als die in Zimmertemperatur befindliche. Die Mycelfläche war ausgedehnter und wies viel reichlichere Conidienbildung auf als die der Zimmertemperatur ausgesetzte Kultur.

Hierauf wurden zwei neue Strichkulturen auf schräger Fläche hergestellt. Das eine Gläschen wurde wiederum in Zimmertemperatur aufbewahrt, die sich während der Dauer des Versuches auf etwa 18° C. erhielt, während die zweite Kultur im Brütschrank einer Temperatur von 27° C. ausgesetzt wurde. Nach 4 Tagen war noch kein Unterschied im Wachsthum der beiden Kulturen zu constatiren; vielmehr war die im Brütschrank aufgestellte Kultur um ein Geringes in der Entwickelung zurückgeblieben. Im Hochsommer, wo im Zimmer eine Temperatur von etwa 21—23° C. herrschte, fand recht gute Entwickelung statt. Aus diesen Versuchen geht hervor, dass das Optimum der Wachsthumstemperatur etwa von 21 bis 25° C. liegt.

Maximum der Wachsthumstemperatur. Von zwei Strichkulturen auf schräger Agarfläche wurde die eine in Zimmertemperatur bei 20 bis 21° C. gehalten. Nach 2 Tagen war bereits eine recht kräftige Entwickelung eingetreten. Das zweite Gläschen wurde im Brütschrank einer Temperatur von 29 bis 30° C. ebenso lange ausgesetzt. Nach 2 Tagen war nur eine ganz geringe Entwickelung zu constatiren. Bei einem weiteren Versuche, bei dem eine Strichkultur im Brütschrank einer Temperatur von 31 bis 32° C. ausgesetzt wurde, trat gar keine Entwickelung mehr ein.

Aus diesen Resultaten glaube ich vermuthen zu dürfen, dass das Maximum der Wachsthumstemperatur unter obigen Bedingungen zwischen 30—31° C. liegt.

Als Cardinalpunkte der Wachsthumstemperatur wären demnach anzunehmen:

Minimum: wenige Grade über Null.
Optimum: etwa von 21 bis 25° C.
Maximum: zwischen 30 und 31° C.

Die Temperaturgrenzen, innerhalb deren sich die Wachsthumsthätigkeit von *Hormodendron Hordei* bewegt, liegen also etwa um 27 bis 28 Celsiusgrade von einander entfernt.

Nach jener Ermittelung wird übrigens wahrscheinlich, dass der Pilz bei den niederen Temperaturen, wie sie im Frühjahr und Herbst herrschen oder selbst in gelinden Wintern auftreten, sich noch auf den Feldern entwickeln wird. Der Befund, nach welchem das Optimum etwa von 21 bis 25° C. liegt, stimmt überein mit der Thatsache, dass die Krankheit sich besonders in der warmen Jahreszeit stark ausbreitet.

Dritter Abschnitt.

Einige biologische Eigenschaften.

Man war früher immer bestrebt, die Pilze nach ihrem Verhalten zum Substrat scharf zu scheiden in solche, die ihre Nahrung nur auf Kosten anderer Lebewesen sich anzueignen vermöchten — Parasiten — und andererseits in solche, denen diese Fähigkeit vollkommen abginge, und die daher nur auf abgestorbenem Material vegetiren könnten — Saprophyten. Mit dem Fortschreiten der Wissenschaft wurde indessen nachgewiesen, dass eine solche scharfe Trennung vorzunehmen den thatsächlichen Verhältnissen nicht entspricht. Die Zahl derjenigen Pilze, von denen man früher annahm, dass sie strenge Parasiten wären, ist bedeutend reducirt worden. Seitdem sich gezeigt hat, dass selbst die gefährlichsten Mikroorganismen wie *Spirillum Chol. asiat., Bacillus anthracis* und andere mehr, von höheren Pilzen z. B. die *Ustilagineen, Phytophthora infestans, Claviceps purpurea etc.* auf künstlichem Substrat saprophytisch zu ernähren sind, musste man unvermeidlich zu der Einsicht geführt werden, dass die Annahme eines strengen, d. h. ausschliesslichen Parasitismus nicht mehr aufrecht zu erhalten sei.

Auf der andern Seite ist nachgewiesen worden, dass solche Pilze, von denen man früher annahm, dass sie nur ein rein saprophytisches Dasein führten, fakultativ parasitische Angriffskraft erlangen können, so z. B. die *Aspergillus*-Arten, *Nectrien,* die *Sclerotinia*-artigen Becherpilze, *Arthrobotrys oligospora* und viele Andere.

Zu den letzteren ist nun offenbar auch *Hormodendron Hordei* zu rechnen. Es kann kein Zweifel darüber bestehen, dass dieser Pilz im allgemeinen saprophytisch in der Natur vegetirt und fruktificirt. Dafür spricht schon das gute Gedeihen auf künstlichen Nährsubstraten. Denn abgesehen von Nährgelatine wuchs er sehr schnell und üppig auf abgestorbenen sterilisirten Pappelblättern, auf durch Sterilisationstemperatur abgetötetem Grase, auf Mohrrüben, auf Pflaumen, mit Pflaumendecoct gedüngtem Brot, auf Pumpernickel, Pferdemist u. s. w. Andererseits wies ich ihn auch auf abgestorbenen Pflanzenresten in der Natur nach. Er kommt offenbar im Freien sehr verbreitet vor, weil er in Rücksicht auf die erforderlichen Ernährungsbedingungen wenig anspruchsvoll ist.

Neben seinen saprophytischen Eigenschaften besitzt *Hormodendron Hordei* aber auch die Fähigkeit, auf gewissen lebenden Pflanzen, und zwar Gräsern, speciell Gerstenarten, zur Entwickelung zu gelangen, also sich wie ein Parasit zu verhalten. Dies geht schon aus folgenden Thatsachen hervor.

Im Bereich der braunen Flecken (Fig. 1), die an den kranken Gerstenblättern zu beobachten waren, fand sich das *Hormodendron* überall vor. Sein Mycel durchzog das Blattgewebe in meist intracellularem Verlaufe (Fig. 18), und auf den Mycelfäden entwickelten sich die oben charakterisirten Conidienträgerbildungen, welche durch die Spaltöffnungen büschelweise ins Freie traten und an ihrem Ende Conidien abschnürten. Pilzbildungen anderer Art konnten übrigens

in den braunen Flecken der lebenden Blätter nicht nachgewiesen werden.

Der meist intracellulare Verlauf des Mycels scheint die Bildung von eigentlichen Haustorien überflüssig zu machen, doch lassen sich hie und da in einer Wirthszelle kleine Kurzzweige beobachten, welche als haustorienartig bezeichnet werden könnten. (Fig. 19.)

Irgend welche andere Fruktifikationsorgane wie Schlauchfrüchte oder Pycniden treten in den lebenden Blättern niemals auf, und auch an den trocken gewordenen älteren konnten, selbst bei der Kultur unter der feuchten Glocke, solche Fruchtformen nicht erzielt werden. Es stellten sich hierbei aber fremde, ganz anderen Schimmeln angehörende Fruktifikationen ein, deren Sporen mit dem Staube auf die Blätter gelangt waren.

Die parasitische Wirkung des Pilzes äussert sich in einer Bräunung und Abtödtung gewisser Blattbezirke, was äusserlich als Braunfleckigkeit zu Tage tritt. (Fig. 1.)

Auf dem Schlage am Passendorfer Wiesenwege, der 1892 Gerste getragen hatte, die mir das Ausgangsmaterial für meine Untersuchungen lieferte, wuchs 1893 zum grössten Theil Winterweizen, und nur ein kleiner Theil daneben war mit Sommerweizen bestellt. Infolge Unreinheit des Saatgutes war auf das Feldstück, auf dem der Sommerweizen stand, eine kleine Anzahl Gerstenkörner in guter Vertheilung gelangt. So lange die Saat erst geringe Höhe erreicht hatte, wurden diese Gerstenpflänzchen kaum bemerkbar. Als ich aber nach einiger Zeit wieder an dieses Feld kam, fielen mir zwischen dem grünen, durchaus fleckenlosen Sommerweizen hier und da sofort einzelne Pflanzen auf, welche durch braune Flecken an den Blättern hervortraten. Bei näherer Besichtigung erwiesen sich diese als Gerstenpflänzchen, die in ausgedehntem Maasse von der Braunfleckenkrankheit heimgesucht wurden, so dass sie schon aus einiger Entfernung an ihrer braunen Farbe zu erkennen waren.

So schädigte also hier der Pilz wiederum die Gerste, während der Sommerweizen keine Spur von dieser Krankheit zeigte.

Diese Beobachtung zeigt, dass *Hormodendron Hordei* Weizen nicht zu inficiren vermag. Wäre das Letztere der Fall, so hätten auch die Weizenblätter derartige braune Flecken aufweisen müssen; denn der Weizen und die vereinzelt stehenden Gerstenpflanzen wuchsen unter ganz denselben Bedingungen auf.

An einer andern Stelle nämlich, in der Trothaer Feldmark, standen Gerste und Roggen unmittelbar neben einander. Während nun die Gerste gerade in der Nähe des Roggens über und über die Krankheit zeigte, war an diesem selbst nicht eine Spur davon zu finden. Da auch hier für beide Feldfrüchte die gleichen Wachsthumsbedingungen walteten, so glaube ich aus dieser Thatsache schliessen zu müssen, dass auch der Roggen von *Hormodendron Hordei* nicht gefährdet werden kann. Dieselbe Beobachtung machte ich schliesslich auch am Hafer. Dagegen greift überall da, wo unsere Kulturgerste von dem Pilze

befallen ist, derselbe auch die wildwachsende Mäusegerste, *Hordeum murinum*, in ganz derselben Weise an.

Hormodendron Hordei scheint demnach in seinem parasitischen Auftreten ausschliesslich auf die zur Gattung *Hordeum* gehörigen Gräser beschränkt zu sein.

Eine besondere Rolle bei der Verbreitung des Pilzes scheinen nun Compost- und Schutthaufen zu spielen. Ich konnte nämlich, wie schon in der Einleitung hervorgehoben wurde, in der Umgegend von Halle feststellen, dass, wenn in der Nähe solcher Stellen, wo Compost- oder Schutthaufen sich befanden oder aber im Jahre vorher befunden hatten, Gerste angebaut war, die Infektion derselben stets von diesem Haufen auszugehen schien. Diese Beobachtung, die ich in diesem Jahre an verschiedenen Stellen zu machen Gelegenheit hatte, wurde mir auch bestätigt durch frühere Beobachtungen von Herrn Prof. Zopf. Wäre nun, wie Nagai[1] meint, die Düngung mit jenen Compostmassen die Ursache der Erkrankung, so hätten auch andere Getreidearten dieselbe Krankheitserscheinung zeigen müssen. Dies war aber, wie ich oben bereits ausgeführt habe, nie der Fall.

Ich habe natürlich nicht verfehlt, Infektionsversuche mit dem Pilze an der Gerste anzustellen, sowohl in Töpfen wie auch auf freiem Felde. Die letzteren hatten allerdings von vornherein wenig Aussichten auf Erfolg; denn sie fielen, da die Aussaat der Körner und somit auch die Infektion aus äusseren Gründen erst in vorgerückterer Zeit ausgeführt werden konnte, in die fast gänzlich regenlose, überaus trockene Zeit dieses Jahres. Diesem Umstande möchte ich die Hauptschuld beimessen, dass die Infektionen auf dem Feldstück, das mir Herr Geh. Ober-Regierungsrath Prof. Dr. Kühn gütigst zur Verfügung gestellt hatte, nicht glückten. Aber auch bei den Topfversuchen bin ich trotz mehrfacher Wiederholung zu keinem positiven Resultate gelangt, auch dann nicht, als ich den Pilz auf absichtlich den Blättern zugefügte Verletzungen aussäte. Es ist daher eine Wiederholung der Versuche für später unter günstigeren Bedingungen in Aussicht genommen worden.

Jene negativen Infektionsergebnisse besagen natürlich nichts gegenüber der positiven Thatsache, dass der Pilz im lebenden Gewebe der Gerstenpflanzen nachgewiesen wurde. Ist es doch eine den Pflanzenpathologen nur zu wohlbekannte Thatsache, dass unter Umständen Infektionen von Kulturpflanzen mit typisch parasitischen Pilzen, wie z. B. *Ustilagineen*, bei vollkommener Keimfähigkeit der Sporen und unter sonstigen anscheinend günstigen Bedingungen absolut negativ ausfallen. Es sind eben dabei Faktoren nothwendig, die der Mensch durchaus nicht in der Hand hat, und die die Natur nicht immer darbietet.

Im Anschluss daran sei noch mitgetheilt, dass *Hormodendron Hordei* auch die Eigenschaft besitzt, gesunde Eier zu inficiren. Nach mündlichen Mittheilungen von Herrn Prof. Zopf fand derselbe nämlich häufig einen ähnlichen Pilz in Eiern, was zu der

1) Shinkizi Nagai: Die Landwirthschaft Japans, ihre Gegenwart und ihre Zukunft. Dresden 1887.

Vermuthung führte, dass auch *Hormodendron Hordei* gesunde Eier anzugreifen vermöchte. Deshalb nahm ich künstliche Infektionsversuche vor.

Am 25. April 1893 wurden 8 frische Hühnereier mit Wasser sauber abgewaschen und bald abgetrocknet. Hierauf wurde jedes der Eier mit absolutem Alkohol abgesengt, um etwa an der Schale haftende Organismen abzutödten. Die Eier wurden sofort nach dem Absengen unter einer feuchten Glocke in eine sterilisirte Schale gelegt. Bei vier Stück der Eier wurde mittels einer sterilisirten Pipette verdünntes und vorher gehörig sterilisirtes Pflaumendecoct an den stumpfen Pol gebracht, also an die Stelle, wo sich der Luftraum des Eies in der Regel befindet. Die Conidien von *Hormodendron Hordei* wurden nun in die an den Eiern befindliche Pflaumendecoctlösung übertragen. Die andern vier Eier wurden ohne weiteres am stumpfen Pol mit Conidien inficirt. Der Raum, in dem sich sämmtliche Eier befanden, wurde nach aussen durch Wasser abgeschlossen, um die Luft unter der Glocke möglichst feucht zu erhalten. Nach wenigen Tagen schon begann ein Mycel sich von der Infektionsstelle aus über die Eischale zu verbreiten. Das Mycel wurde mit der Zeit immer dichter und zeigte auch spärliche Conidienbildung.

Nach reichlich vier Wochen wurde das erste Ei geöffnet und zwar eins von denen, die am stumpfen Pol mit einer Pflaumendecoctlösung versehen worden waren. Eine Gasentwickelung hatte nicht stattgefunden, was man beim Oeffnen des Eis hätte wahrnehmen müssen; aber das Eiweiss zeigte eine schmutzig-grüne Färbung, und an der inneren Wandung des Eis im Luftraum war auch Conidienbildung vorhanden. Die mikroskopische Untersuchung des schmutzig-olivengrün gefärbten Eiweisses ergab, dass letzteres von einem üppig entwickelten, dicht gelagerten, farblosen Mycel durchsetzt war, das in seinem Aeusseren ganz mit dem von *Hormodendron Hordei* übereinstimmte. Die an der Eischale im Luftraum gebildeten Conidien zeigten nichts besonders Charakteristisches, sie hatten nur ein etwas kümmerliches Aussehen, das wohl darauf hinzudeuten scheint, dass dem Pilz die gegebenen Ernährungsbedingungen nicht sonderlich zusagen. Der Dotter war noch vollständig intakt.

Nach weiteren vier Wochen wurde eines der vier Eier geöffnet, die ohne Vermittelung des Pflaumendecocts inficirt worden waren. Das Resultat war ganz dasselbe wie beim ersten Ei; nur war die Infektion noch weiter fortgeschritten. Der Dotter war auch hier noch vollständig erhalten.

Nach weiteren vier Wochen zeigte sich, dass bei fortschreitendem Umsichgreifen des Pilzmycels auch der Dotter angegriffen und verändert war. (Fig. 20.)

Vermuthlich dringt der Pilz durch die Poren der Kalkschale in das Innere des Eis ein.

Vielleicht ist *Hormodendron Hordei* mit dem von Zopf und Drutzu in schlechten Eiern häufig beobachteten Pilze identisch; doch sollen darüber noch weitere Versuche angestellt werden.

Die Schutzmittel gegen die von Hormodendron Hordei hervorgerufene Krankheit.

Das Vorkommen dieses Pilzes und damit besonders seine Verbreitung über weitere Flächen scheint, wie ich schon weiter oben ausgeführt habe, an das Vorhandensein von Schutt- und Composthaufen gebunden zu sein. Daher wird der Landwirth ihnen eine besondere Aufmerksamkeit zuwenden müssen, namentlich in der Nähe grösserer Städte, so auch unmittelbar um Halle, wo derartige Abladestellen für Schutt und Kehricht u. s. w. nicht eben selten sind. Da nun nach den von Zopf und mir angestellten Beobachtungen die Infektion von solchen Haufen immer auszugehen scheint, jedoch eine Krankheit nur auf Gerste hervorgerufen wird, so dürfte es sich empfehlen, den Gerstenbau auf den Feldern, die in ihrer Nähe einen derartigen Infektionsheerd besitzen, gänzlich aufzugeben. Es wird dies die einfachste und sicherste Maassnahme sein.

Noch in anderer Weise können Schutthaufen zur Verbreitung und Uebertragung der Krankheit von einem Jahre ins andere beitragen. Gerade auf solchen Schutthaufen oder in deren Nähe wächst besonders gern *Hordeum murinum,* die Mäusegerste. Schon an früherer Stelle habe ich auf Grund meiner Beobachtungen mitgetheilt, dass auch *Hordeum murinum* von *Hormodendron Hordei* inficirt wird, mithin also die Krankheit durch diese wildwachsende Gerstenspecies weiter verbreitet und so auch auf unsere Kulturgerste übertragen werden kann. *Hordeum murinum* finden wir aber auch besonders an Wegerändern und auf Feldrainen, wo sie ganz dieselbe Rolle spielen kann. Deshalb wird es sich, wie ja überhaupt allgemein in pathologischer Beziehung, empfehlen, solche Raine, soweit sie nicht unbedingt erforderlich sind, ganz abzuschaffen oder aber die Vegetation der auf ihnen wachsenden Unkräuter möglichst zu unterdrücken, am besten dadurch, dass man sie häufig abmäht. Hat doch J. Kühn[1] in seinem grundlegenden Werke über die Krankheiten unserer Kulturgewächse bereits darauf hingewiesen, dass die Feldraine gerade die Brutstätten für die Verbreitung der verschiedensten Krankheiten unserer Kulturpflanzen bilden.

Ist ein Gerstenfeld von der durch *Hormodendron Hordei* verursachten Krankheit heimgesucht, so wird der Pilz, zunächst auf Blättern und Stengeln sitzend, beim Dreschen der Gerste auch an die Körner gelangen und an diesen haften bleiben. Es fragt sich nun, ob Maassregeln zu treffen sind, die etwa an den Gerstenkörnern befindlichen Sporen abzutödten.

Bedenkt man, dass *Hormodendron Hordei,* wie oben des näheren ausgeführt wurde, seiner ursprünglichen Natur nach Saprophyt ist und als solcher unter geeigneten Verhältnissen, die im Freien fast immer geboten sein dürften, in grossen Mengen Sporen erzeugen kann, so

1) J. Kühn: Die Krankheiten der Kulturgewächse, ihre Ursachen und ihre Verhütung. 2. Aufl. 1859.

würde es, ähnlich wie bei den Rostpilzen, immer eine ganz vergebliche Mühe und ein unnützer Kosten- und Arbeitsaufwand bleiben, wollte man zum Schutze vor *Hormodendron Hordei* die Gerstenkörner mit irgend einer Lösung beizen. Die verhältnissmässig wenigen Sporen an den Körnern fallen hier gegenüber den Unmengen von Conidien, die der Pilz in der Natur unbehindert bilden kann, kaum ins Gewicht.

Dazu kommt, dass gerade diejenigen Beizmittel, die man bisher zum Zwecke der Vernichtung anderer Parasiten, z. B. der Brandsporen an den Weizenkörnern, anzuwenden pflegt, sich innerhalb einer Einwirkungsdauer, die der Keimkraft der Körner nicht schädlich ist, als wirkungslos erwiesen haben. Während nach den Versuchen von J. Kühn[1] ein 12- bis 16stündiges Einbeizen der Körner in einer $^1/_2$procentigen Kupfervitriollösung die Brandsporen sicher abtödtet, haben die Sporen von *Hormodendron Hordei* nach dieser Zeit kaum etwas von ihrer Keimkraft eingebüsst, wie dies die von mir im physiologischen Theil berichteten Versuche zeigen.

Auch das von Jensen vorgeschlagene Verfahren würde sich gegenüber den Sporen von *Hormodendron Hordei* als vollständig wirkungslos erweisen. Denn da nach den Angaben dieses Forschers die Temperatur des Wassers 56° C. nicht überschreiten darf, wenn die Keimkraft der Körner nicht leiden soll, so ist dieses Verfahren, abgesehen von allen übrigen Gesichtspunkten, die gegen die Ausübung desselben in der landwirthschaftlichen Praxis sprechen, hier von vornherein ausgeschlossen; denn wie die von mir ermittelten Versuchsresultate zeigen, verlieren die Sporen von *Hormodendron Hordei* ihre Keimkraft erst bei der Einwirkung einer feuchten Wärme zwischen 65 und 70° C.

Eine besondere Behandlung erfordert das Stroh von befallenen Gerstenfeldern. Ist dasselbe nur in geringem Grade inficirt, so wird es ohne Schaden für das Vieh verfüttert werden können. Ob nun die Conidien, besonders die älteren mit dickerer Membran versehenen den Darmtractus passiren können, ohne die Keimkraft einzubüssen, konnte ich nicht feststellen. Doch ist dies auch in Anbetracht anderer Beobachtungen von nicht wesentlicher Bedeutung, die Sporen gelangen dann nämlich in den Dünger und mit diesem auf die Düngerstätte.

Ich habe nun *Hormodendron Hordei* auf Jauche zu kultiviren versucht, die aus dem Kuhstall des landwirthschaftlichen Instituts der Universität Halle stammte. Da hier wegen peinlichster Sauberkeit im Stalle die Gänge und Jaucheabzüge häufig mit Wasser gespült werden, so ist die Jauche verhältnissmässig stark verdünnt. Trotzdem aber trat in keinem der mit Jauche gefüllten Reagenzgläschen Entwickelung ein. Die Jauche hindert also die Entwickelung des Pilzes und scheint ihn bald abzutödten. Ich habe die Conidien, die bereits einige Tage an der Oberfläche der Jauche sich befunden hatten, ohne auch nur im

1) J. Kühn: Die Anwendung des Kupfervitriols als Schutzmittel gegen den Steinbrand des Weizens. Ztschr. Prov. Sachsen, 1872, Bd. 29, pag. 279.

geringsten auszukeimen, in Schälchengusskultur ausgesät; es war jedoch keinerlei Entwickelung nachzuweisen.

Dazu kommt, dass in der Jauche eine grosse Menge von Spaltpilzen vegetirt, wie man sich leicht durch das Mikroskop oder eine Gelatinegusskultur überzeugen kann, die die verschiedenartigsten Zersetzungen der in der Jauche enthaltenen Stoffe bewirken. Gegen eine solche Thätigkeit von Spaltpilzen ist aber *Hormodendron Hordei* sehr empfindlich. In allen Schälchengusskulturen, die durch Spaltpilzkolonien verunreinigt waren, starb *Hormodendron Hordei* bald ab. Offenbar vernichten die von den Spaltpilzen producirten gasförmigen wie flüssigen Stoffe seine Lebensfähigkeit.

Wird daher stark befallenes Gerstenstroh, das sich zum Futtern nicht mehr eignet, zur Einstreu im Stalle benutzt, von wo es auf die Düngerstätte gelangt, so ist uns ein Mittel zur Bekämpfung des Pilzes in der rationellen Behandlung des Düngers gegeben. Lassen wir den Dünger auf der Düngerstätte stets sorgfältig ebnen und regelmässig mit Jauche befeuchten, sobald derselbe in den oberen Schichten trocken wird, so werden die mit dem Stroh in den Dünger gelangten Conidien absterben. Sollten aber doch einzelne Conidien auskeimen, so werden die Keimschläuche durch die Berührung mit der Jauche bald zu Grunde gehen, da die vegetativen Zustände des Pilzes noch empfindlicher sind als die mit dickerer Membran versehenen älteren Conidien.

Eine vollkommene Bekämpfung und Vernichtung des Pilzes ist selbst bei gemeinsamem Vorgehen aller Landwirthe einer Gegend freilich schlechterdings unmöglich. Denn wie im Vorhergehenden bereits hervorgehoben wurde, ist der Pilz ursprünglich Saprophyt, so dass er auf allen möglichen abgestorbenen organischen Substanzen unter sonst geeigneten Bedingungen vegetiren und fruktificiren kann.

In Gerstenfeldern, die von *Hormodendron Hordei* befallen waren, habe ich regelmässig gewisse Bezirke bemerkt, die besonders stark von der Krankheit heimgesucht waren. Es wird sich empfehlen, solche Stellen, die schon frühzeitig kenntlich sind, rechtzeitig zu mähen, ehe die Conidien herausbrechen. Solche Stellen würden immer nur einen geringen Ertrag liefern, während sie, bis zur Ernte auf dem Felde verbleibend, in besonders starkem Maasse zur Weiterverbreitung des Pilzes beitragen würden. Den Ausfall der Ernte auf solchen Stellen des Ackers wird man dadurch zum Theil aufheben können, dass man dort noch andere schnell gedeihende Gewächse anbaut, nachdem der Acker vorher recht tief umgearbeitet wurde.

Es wird im allgemeinen räthlich sein, ein Gerstenfeld, das die Krankheit gezeigt hatte, nach Aberntung der Frucht möglichst tief — allerdings immer nur innerhalb der erlaubten Grenzen — umzuarbeiten, um die befallene Stoppel und die Ernterückstände sammt den an der Oberfläche des Ackers befindlichen Keimen möglichst in die Tiefe zu befördern und sie dadurch unschädlich zu machen.

Die eben angeführten Gesichtspunkte gewähren freilich noch kein allgemein wirksames Recept zur Bekämpfung dieses Schädlings, ein solches dürfte auch schwerlich für alle Fälle zu geben möglich sein.

Es ist Sache des verständigen Landwirths, unter den jedesmal gegebenen Verhältnissen selbst die geeigneten Maassregeln zu finden. Ein wichtiges Bekämpfungsmittel wird ihm aber auch in einer den Verhältnissen entsprechenden Fruchtfolge geboten; eine solche aber lässt sich von vornherein nicht für alle Fälle feststellen. Da vermag allein das Urtheil des mit allen Faktoren vertrauten und dabei wohlüberlegten Betriebsleiters das Richtige herauszufinden, blindes Befolgen allgemein aufgestellter Vorschriften kann da leicht zu grösseren Verlusten führen, als uns *Hormodendron Hordei* bereitet haben würde.

Stellung im System.

Was nun die systematische Stellung des Pilzes anbetrifft, so ist zu vermuthen, dass derselbe der grossen Gruppe der Schlauchpilze zugehört, da man für nächst verwandte Schimmel aus der Gattung *Hormodendron* und *Cladosporium* mit mehr oder weniger Sicherheit annimmt, dass dieselben in den Entwickelungsgang von sphäriaceenartigen Ascomyceten hineingehören. Ich habe nun auf dem Wege besonderer Kulturversuche jene Vermuthung zu prüfen gesucht.

Wie wohl von vornherein zu erwarten war, liess sich ebenso wenig auf den üblichen gelatinirten Nährsubstraten wie auch auf den verschiedensten Nährflüssigkeiten von noch so günstiger Zusammensetzung irgend eine andere Fruktifikation als die charakterisirten Conidienbildungen erzielen.

Es liess sich nun vermuthen, dass mit in physikalischer Beziehung günstigeren Substraten ein positiver Erfolg erzielt werden könne. Ich habe daher den Pilz auf festen porösen Substraten, die vielfach variirt wurden, zu der gewünschten Fruktifikation zu bringen versucht. So züchtete ich ihn zunächst auf Brot, Sägespänen, Pferdemist, getrockneten, zuvor aufgeweichten Pflaumen, dann auf verschiedenen Blattsorten, auf sterilisirtem und rohem Grase, auf mit Nährlösungen getränktem Papier und Mohrrüben, Substraten, die bald sauer, bald neutral oder alkalisch gehalten wurden, Wochen bis über halbe Jahre lang. Aber obwohl man sonst, wie bekannt, auf einem oder dem anderen dieser Substrate verschiedene Conidienformen zur Schlauchfruktifikation bringen kann, z. B. *Penicillium* auf Brot, gewisse *Aspergillus*-Arten auf getrockneten Pflaumen, andere Formen auf Blättern, Stengeln oder sonstigen Pflanzenorganen, so ist es mir doch bis heute, wo meine Versuche allerdings noch nicht vollständig abgeschlossen sind, noch nicht gelungen, irgend ein Substrat ausfindig zu machen, auf welchem man den Pilz zwingen könnte, Schlauchfrüchte zu produciren.

Die Frage, ob die gefundenen Conidien wirklich dem Entwickelungscyclus eines Schlauchpilzes angehören, lässt sich daher vorläufig nicht bejahen; sie darf aber auch offenbar, auf Grund der obigen Versuche allein, nicht unbedingt verneint werden; denn es bleibt immer die Möglichkeit, dass auf irgend einem Substrate von besonderer Zusammensetzung Schlauchfruktifikation eintritt.

Ueberdies ist es ja bekannt, mit welchen grossen Schwierigkeiten man zu kämpfen hat gegenüber den allermeisten Conidienbildungen, wenn es gilt, dieselben zu einer andern, höheren Fruktifikation zu bewegen, während es andererseits bekanntlich relativ leicht ist, aus Sporen von Schlauchfrüchten oder anderen höheren Fruktifikationen Conidien tragende Mycelien zu erziehen. Deshalb hat auch Brefeld in seinen neusten Untersuchungen immer den letzteren, leichteren Weg gewählt.

Jedenfalls werde ich mich noch weiter um diese Frage bemühen.

Nach der im morphologischen Theile dargelegten Beschaffenheit der Conidienfruktifikation kann es keinem Zweifel unterliegen, dass hier ein *Hormodendron* vorliegt. Ich habe mir Mühe gegeben, dasselbe mit irgend einem der bekannten *Hormodendron*-Species zu identificiren, welche in Saccardo's Sylloge aufgeführt sind. Allein die daselbst aufgezählten Formen sind in so dürftiger Weise charakterisirt, dass jener Versuch gänzlich vergeblich war. So lange man überhaupt die verschiedenen Species dieser Gattung nicht physiologisch einigermaassen charakterisirt haben wird, dürfte es ganz unmöglich sein, dieselben auch nur einigermaassen sicher zu unterscheiden. In Rücksicht auf die Unmöglichkeit, die Identität des vorliegenden *Hormodendrons* mit einem der in den systematischen Büchern angeführten zu erweisen, habe ich mich genöthigt gesehen, eine neue Art, *Hormodendron Hordei,* zu creiren. Die angeführten morphologischen und namentlich auch die physiologischen Eigenschaften dürften vielleicht ausreichen zu einer einigermaassen sicheren Charakteristik.

Figurenerklärung zu Tafel I.

Fig. 1. Ein in natürlicher Grösse abgebildetes Gerstenblatt, dessen dunkelbraunen, mit helleren Rändern versehenen Flecken die Stellen anzeigen, auf denen der Pilz in hervorragendem Maasse schmarotzt.

Fig. 2. 1/405: Einige von einem inficirten Gerstenblatt entnommenen Conidien, deren Membran deutlich warzig ist.

Fig. 3. 1/405: Einige einer Gelatinekultur von üblicher Zusammensetzung entnommenen Conidien, deren Membran aber vollständig glatt ist.

Fig. 4. 1/405: Ein einzelner Conidienträger mit reichlich verzweigten Sprossconidien an seiner Spitze.

Fig. 5. 1/405: Einige Conidien in mehr oder weniger vorgeschrittenen Keimungsstadien.

Fig. 6. 1/405: Die von einer Conidie getriebenen Keimschläuche in weiterer Entwickelung. Zwei derselben haben bereits einen Seitenzweig gebildet.

Fig. 7. 1/100: Ein von einer einzelnen Conidie ausgehendes verzweigtes kleines Mycel in seinem Gesammthabitus.

Fig. 8—12. 1/405: Verschiedene Modifikationen des Mycels, wie sie sich im weinsauren Ammoniak bildeten.

Fig. 13 u. 14. 1/405: Eine einfache und eine complicirte Form der in 22% $CaCl_2$ auftretenden Mycelveränderungen.

Fig. 15. 1/405: Ein Fragment eines Mycelzweiges aus 65% Traubenzucker mit nach innen wachsenden zapfen- oder mantelartigen Verdickungen der Membran bezw. Septen der Zellen.

Fig. 16 u. 17. 1/405: Drei Fragmente von Mycelzweigen aus 85 % Traubenzucker, deren Zellen durch Scheidewände verschiedenartigster Richtung sich getheilt haben.

Fig. 18. 1/405: Zwei Zellen aus dem Gewebe eines durch den Pilz erkrankten Gerstenblattes. *a*—*a* die den beiden Zellen gemeinsame Zellwand, die bei *b* von einem Mycelschlauch durchbrochen wird.

Fig. 19. 1/405: Zwei Zellen *c* und *d* aus dem Gewebe eines erkrankten Gerstenblattes. Der Keimschlauch verläuft zunächst im Innern der Zelle *c*, tritt aber bei *a* aus derselben durch die Membran heraus, verläuft dann bis *b* intercellular, um dort ins Innere der Zelle *d* einzudringen, wo er ein haustorienartiges Gebilde erzeugt.

Fig. 20. Natürliche Grösse. Ein von Hormodendron Hordei inficirtes Hühnerei. Dasselbe wurde vor dem Oeffnen vorsichtig in Wasser bis zum Kochen des letzteren erwärmt, um den Dotter zum Zwecke der Abbildung möglichst fest zu erhalten[1]. Die Aussenseite der Schale ist spärlich mit Mycelien und Conidienträgern besetzt. Das Eiweiss ist vollkommen von Mycelfäden durchsetzt und nimmt eine dunkelolivengrüne Färbung an. Auch der Dotter ist vom Mycel angegriffen und zeigt dabei eine hellere olivengrüne Färbung.

---

1) Durch Vergleichung des gekochten Eies mit einem nicht gekochten inficirten Ei überzeugte ich mich, dass der Charakter der Infektion durch das Kochen durchaus nicht verändert wird.

Ueber niedere thierische und pflanzliche Organismen, welche als Krankheitserreger in Algen, Pilzen, niederen Thieren und höheren Pflanzen auftreten.

(Erste Mittheilung.)

Von

W. Zopf.

Die folgenden Mittheilungen bilden die Fortsetzung von Untersuchungen, über welche ich in den Jahren 1884—1888 in folgenden Abhandlungen berichtet habe:

I. Zur Kenntniss der Phycomyceten 1. Zur Morphologie und Biologie der Ancylisteen und Chytridiaceen. Nova Acta Acad. Leop. Bd. 47. Mit 10 Tafeln. 1884. 4.

II. Zur Morphologie und Biologie der niederen Pilzthiere, zugleich ein Beitrag zur Phytopathologie. Leipzig 1885. Mit 5 Tafeln. 4.

III. Ueber einige niedere Algenpilze (Phycomyceten) und eine neue Methode, ihre Keime aus dem Wasser zu isoliren. Abhandlungen der naturforschenden Gesellschaft zu Halle 1887. Bd. 17. Mit 2 Tafeln. 4.

IV. Untersuchungen über Parasiten aus der Gruppe der Monadinen. Daselbst 1887. Mit 2 Tafeln. 4.

V. Zur Kenntniss der Infectionskrankheiten niederer Thiere und Pflanzen. Nova Acta Leop. Acad. Bd. 52. Mit 7 Tafeln. 1888. 4.

Die zunächst mitzutheilenden Untersuchungen beziehen sich auf einige niedere Thiere und Pilze, welche als Schmarotzer in *Vaucheria*-artigen Algen nachgewiesen werden konnten.

I. Woronina glomerata, ein Beitrag zur Kenntniss der thierischen Natur gewisser Synchytriaceen.

In meinem mycologischen Handbuche[1] habe ich bezüglich der Verwandtschaftsverhältnisse gewisser *Synchytrium*-artiger Organismen (*Synchytrium, Olpidiopsis, Reessia, Rozella, Woronina* u. A.) eine Ansicht ausgesprochen, welche sich mit den bis dahin geltenden Anschauungen in offenen Widerspruch setzte.

1) Die Pilze (Eumyceten). Breslau, Trewendt. 1890. p. 2.

Während man nämlich, den letzteren folgend, annahm, dass jene niederen Lebewesen den Pilzen und zwar den Algenpilzen (Phycomyceten), speciell der Familie der Chytridiaceen, eng anzugliedern seien, glaubte ich damals äussern zu dürfen: „es erscheine mir angemessener, jene kleine Familie der Synchytriumartigen Organismen von den Chytridiaceen und den Algenpilzen überhaupt abzutrennen“ und sie mehr den niederen Thieren anzugliedern.

Ich motivirte diesen Vorschlag mit dem Hinweis auf die morphologisch wichtige Thatsache, dass „plasmodialer Charakter den vegetativen Zuständen der Eumyceten durchaus fremd“ sei.

Unter plasmodialem Charakter verstehe ich aber diejenigen Eigenschaften, welche man an Amoeben und Plasmodien beobachtet, nämlich die Fähigkeit hautloser vegetativer Körper Pseudopodien zu treiben, mittelst derselben feste Körper als Nahrung aufzunehmen und etwa nicht verdauliche Theile derselben in Form von Excretballen auszustossen.

Amoeben- und Plasmodium-artige Entwickelungsstadien kommen nun bei verschiedenen jener Synchytriaceen-Gattungen in mehr oder minder ausgesprochener Form vor, wovon ich mich nicht sowohl durch das Studium der betreffenden Literatur, als vielmehr durch eigene Beobachtungen überzeugt zu haben glaubte.

Eine nähere Begründung dieser meiner Ueberzeugung zu geben war natürlich das Handbuch nicht der Ort. Ich würde auch vorläufig noch von einer Veröffentlichung thatsächlicher Unterlagen für dieselbe Abstand genommen haben, wenn nicht in jüngster Zeit A. Fischer in seiner verdienstlichen Bearbeitung der Phycomyceten für Rabenhorst's Kryptogamenflora die alte frühere Ansicht, nach welcher die Synchytrium-artigen Organismen mehr pflanzlicher d. h. pilzlicher, als thierischer Natur seien, für die natürlichere erklärt und diese seine Auffassung durch sachliche Gründe zu stützen versucht hätte.

Fischer sagt nämlich: „Mit den Monadinen haben die Olpidiaceen ja manche Aehnlichkeit, aber noch grösser sind die Unterschiede zwischen beiden. Ein principieller Unterschied besteht schon in der Nahrungsaufnahme, bei den Monadinen erfolgt dieselbe durch die starken amoeboïden Bewegungen des plasmodialen Zustandes, wobei allgemein auch feste Theile aufgenommen werden, bei den Myxochytridinen sind aber die amoeboïden Bewegungen der nackten Vegetationskörper immer schwach oder fehlen gänzlich und die Aufnahme fester Theile kommt gar nicht vor. Während sich also die Monadineen wie die Myxomyceten ernähren, herrscht bei den Myxochytridinen nur eine Aufnahme gelöster Stoffe, wie bei den echten Pilzen. Damit im Zusammenhange steht, dass bei allen Monadinen mit der Sporen- und Cystenbildung eine Ausstossung unverdauter Nahrungsballen verbunden ist, was bei den Myxochytridinen natürlich nicht vorkommen kann.“

„Neben diesen aus der verschiedenen Art der Nahrungsaufnahme abgeleiteten physiologischen Unterschieden lassen sich auch noch rein morphologische geltend machen. Bei einer Anzahl zoosporer Monadinen zerfällt der amoeboïde Körper ohne vorherige Membranbildung in Sporen

(Aphelidium, Plasmodiophora), bei jenen Formen aber, bei denen eine Wand (Cystenhaut) vorher gebildet wird, verlassen die Schwärmer ihre Zoocyste an beliebigen Stellen, es fehlt ein besonderer Entleerungskanal, der bei allen Myxochytridinen, ausgenommen *Sphaerita* entsteht. Endlich ist hervorzuheben, dass der stark amoeboïde Körper der Monadinen stets ein echtes Plasmodium ist, durch Verschmelzung mehrerer Amöben entstehend, während bei den Myxochytridinen echte Plasmodien fehlen, mit Ausnahme vielleicht von *Rozella*." Soweit Fischer.

In übersichtliche Form gebracht würden also die von Fischer betonten Unterschiede lauten:

	Monadinen.	Synchytriaceen.
Vegetative Zustände:	Stark amöboïd.	gänzlich bewegungslos oder doch nur schwach amöboïd.
	Amöben oder Plasmodien.	Plasmodien fehlen.
Nahrungsaufnahme:	Es werden auch feste Körper aufgenommen.	„Aufnahme fester Theile kommt gar nicht vor."
		mithin:
	Bei der Sporen- und Cystenbildung erfolgt Ausstossung der unverdauten Nahrungsballen.	bei der Sporen- und Cystenbildung keine Ausstossung unverdauter Nahrungsreste.
Entleerungsweise:	Die Schwärmer verlassen die Cyste an beliebigen Stellen derselben, die Haut durchbohrend.	Die Schwärmer verlassen die Cyste durch einen Entleerungskanal. (Ausnahme *Sphaerita*.)

Es kommt nun darauf an, einmal ganz objectiv zu prüfen, in wie weit die in der Columne rechts aufgestellten Charaktere haltbar sind. Zu diesem Zweck ist es nöthig, einzelne Vertreter der hier in Betracht kommenden Gattungen *(Olpidiopsis, Synchytrium, Woronina, Rozella* u. s. w.) nochmals genau zu untersuchen und die früher gewonnenen Thatsachen in jener Richtung nachzuprüfen. Wir besitzen ja zwar über solche Vertreter schöne Untersuchungen, wie die von De Bary, Woronin, Schröter, Cornu, A. Fischer u. A., auch ich selbst habe einige Repräsentanten untersucht. Allein in allen diesen Arbeiten, die meinigen nicht ausgenommen, ist das Verhalten des vegetativen Körpers in morphologischer wie biologischer Beziehung, speciell auch in Bezug auf die Art der Nahrungsaufnahme, unzureichend berücksichtigt worden, was zum Theil auf der Schwierigkeit der continuirlichen Beobachtung der betreffenden Objecte beruht.

Da ich mich seit Jahren mit dem Studium solcher Vertreter theils gelegentlich theils continuirlich beschäftigt habe, so dürfte es in Rücksicht auf das Erscheinen der Fischer'schen Bearbeitung angezeigt sein, schon jetzt mit der Veröffentlichung der Untersuchungen den Anfang zu machen. Fürs Erste beschränke ich mich auf dasjenige Object, welches im Laufe der Jahre am eingehendsten studirt wurde, und von dem ich daher ein nahezu vollständiges entwickelungsgeschichtliches Bild zu liefern im Stande bin.

Seit Jahren beobachte ich diesen Organismus als Parasiten in *Vaucheria*-Arten, speciell *V. terrestris* und *V. sessilis*. Seine Entwickelung scheint stets ins erste Frühjahr zu fallen und sich nur während des März und April abzuspielen, wenigstens habe ich in späterer Zeit niemals mehr vegetative Stadien angetroffen. Um Halle tritt der Schmarotzer mit der ersten Entwickelung der Vaucherien in flachen Tümpeln auf, welche sich bis Ende oder Mitte April auf den vorher überschwemmten Wiesen zu halten pflegen.

Ohne Zweifel ist der Organismus schon von Cornu gesehen und in seiner bekannten Monographie der Saprolegnieen unter dem Namen eines *Chytridium* (*Ch. glomeratum* Cornu) beschrieben und abgebildet worden.[1] Da aber der genannte Forscher den Schmarotzer nur im allerletzten Entwickelungszustande, d. h. in der Dauersporenform, zu beobachten Gelegenheit hatte, so wurden ihm weder die vegetativen Zustände noch die schwärmerbildenden Cysten bekannt; auch bezüglich der Art der Auskeimung der Dauersporen konnte nichts ermittelt werden.

Cornu fand den Parasiten in den nämlichen *Vaucheria*-Species auf, in denen ich selbst ihn zu beobachten Gelegenheit hatte, nämlich *V. terrestris* und *sessilis*. Die Wirthsschläuche waren zu beiden Seiten der Dauersporen-Haufen mit Querwänden versehen, ähnlich wie Saprolegnia-Schläuche, wenn sie durch Woroninen oder Rozellen befallen sind. Bei dem gänzlichen Mangel an entwickelungsgeschichtlichen Daten bot die Sorusbildung und die Kammerung der Wirthsschläuche dem genannten Forscher augenscheinlich den einzigen Anhalt, den Organismus als eine Chytridiacee aufzufassen und der Sammelgattung *Chytridium* zuzuweisen.

In seiner vorhin citirten Bearbeitung der Phycomyceten hat dann A. Fischer den Organismus zu *Woronina* gebracht, aus Mangel an vorliegenden entwickelungsgeschichtlichen Thatsachen offenbar nur auf den Umstand gestützt, dass die Sori eine gewisse Aehnlichkeit mit Woroninen-Sori's haben und auch wie diese von Seiten des Wirthes in Kammern eingeschlossen werden. Meine folgenden entwickelungsgeschichtlichen Beobachtungen werden zeigen, dass es sich hier in der That um ein *Woronina*-artiges Gebilde handelt.

Wie ich gleich hervorheben will, gliedert sich der Entwickelungsgang, wie bei den Woroninen, in zwei Hauptabschnitte, von denen der eine mit Erzeugung von Schwärmer bildenden Cysten, der andere mit Bildung von einfachen Dauersporen abschliesst.

Den ersten Abschnitt kann man, soweit meine Erfahrungen reichen, nur zu Gesicht bekommen, wenn man die Beobachtungen sehr früh im Jahre vornimmt, nämlich bald nach der Eisschmelze, wenn die *Vaucheria*-Rasen noch jung sind. Etwas später findet man dann beide Entwickelungsabschnitte gleichzeitig vor, schliesslich nur noch den mit Dauerzuständen abschliessenden. Bei meinen ersten Untersuchungen standen mir diese Erfahrungen noch nicht zu Gebote, infolgedessen sah ich

1) Anm. des sc. nat. V. Sér. t. XV (1872) p. 187. Taf. VII. Fig. 20—22.

zunächst nur die Stadien des zweiten Abschnitts. Ich will sie daher zuerst besprechen.

Was zunächst die fertigen Dauerzustände anbetrifft, so sind sie, wie schon Cornu fand, zu Haufen (Sori's) in den Schläuchen der Alge zusammengelagert (Taf. II, Fig. 1). In der Regel ist die Zusammenhäufung eine ziemlich dichte (Taf. II, Fig. 1), doch kommen auch lockere Haufenbildungen vor (Taf. II, Fig. 11), ja manchmal liegen die Sporen ganz getrennt von einander. Ihre Zahl wechselt sehr, man findet meistens ein paar Dutzend zusammengelagert (Taf. II, Fig. 1 u. 11), oft aber auch Hundert und mehr, hier und da auch nur einige wenige (Taf. II, Fig. 2d).

Rechts und links von jedem Sorus gewahrt man in der Regel eine Querwand, deren concave Seite dem Sorus zugewandt ist (Tafel II, Fig. 1 u. 11). Wenn nun, wie es häufig der Fall ist, Dutzende von Sori in Abständen neben einander liegen, so erscheint der betreffende *Vaucheria*-Schlauch vielkammerig (Taf. II, Fig. 1, 2). Es kann unter Umständen sogar vorkommen, dass innerhalb einer solchen Kammer nochmals ein oder zwei Scheidewände gebildet werden (Taf. II, Fig. 1a), die dann näher an den Sorus gerückt erscheinen. Andererseits habe ich mehrfach eine solche Kammerung vollständig vermisst (Taf. III, Fig. 3). Ich komme später auf diese Verhältnisse zurück.

Die Form der Dauersporen ist bald kugelig (Taf. II, Fig. 11, 12), bald kurz ellipsoïdisch (Taf. III, Fig. 1c); in einem und demselben Sorus kommen oft beide Formen vor (Taf. III, Fig. 1). Ihre Grösse schwankt etwa zwischen 13 und 24 Mikr.

Bei mittlerer oder gar schwacher Vergrösserung zeigt ihre Aussenhaut eine feine Stachelsculptur (Taf. II, Fig. 11) und auch Cornu hat eine solche angegeben. Mittelst starker Vergrösserungen überzeugt man sich indessen bald, dass eine äusserst zierliche Netz- oder Wabensculptur vorliegt, wodurch die Sporen lebhaft erinnern an die Dauersporen des Weizenbrandes *(Tilletia Caries)*. (Vergl. Taf. II, Fig. 12 u. 13 und Taf. III, Fig. 1.)

So lange die Dauerzustände noch mit Inhalt versehen sind, tritt diese Sculptur nicht sehr deutlich hervor, um so schöner ist sie an bereits entleerten Sporenhäuten zu sehen (Taf. III, Fig. 1). Grösse und Zahl der Maschen wechselt übrigens nach den verschiedenen Sporen (Taf. III, Fig. 1abc). Anfangs völlig farblos, färbt sich die Aussenhaut im Alter schwach bräunlich. Weder mit Jod allein, noch auch mit Chlorzinkjod tritt Blau- oder Violettfärbung ein. Methylenblau wird reichlich gespeichert.

Unter dem relativ dicken Exosporium liegt ein dünnes farbloses Endosporium. Sehr deutlich ist dasselbe wahrzunehmen bei der Keimung der Dauersporen, denn hier tritt es durch die porenartige Oeffnung der Aussenhaut hindurch als eine zum Entleerungsschlauche sich ausbildende Ausstülpung (Taf. III, Fig. 1). Auf die Keimungszustände komme ich später noch einmal zurück.

Zwischen den Dauersporen trifft man ferner Gruppen von dunkelbraunen rundlichen Körnern in unregelmässiger Anordnung an (Taf. II,

Fig. 1 u. 11). Da sie ziemlich reichlich auftreten, so zeigen die Sori, bei sehr schwacher Vergrösserung betrachtet, ein dunkles Ansehen. Was diese Körner zu bedeuten haben, werden wir sogleich sehen.

Ich habe mich nun bemüht, die Genesis der Dauersporen festzustellen, und das ist auch bis zu einem gewissen Grade gelungen. Es giebt, wie bereits hervorgehoben, im Entwickelungsgange des in Rede stehenden Organismus eine Periode, wo es ähnlich wie bei Chytridiaceen und anderen Organismen, nicht mehr zur Bildung von Schwärmsporangien kommt, sondern nur noch zur Bildung von Dauersporen. Wenn man in dieser Periode die *Vaucheria*-Schläuche aufmerksam mustert, so fällt es auf, dass viele derselben auf kürzere oder weitere Strecken Plasmodienbildungen in ihrem Inhalt erkennen lassen. Diese Plasmodien sind in einem gewissen Stadium, wie es Taf. II, Fig. 9 zeigt, zusammengesetzt aus zahlreichen, relativ grossen Amoeben. Ihre Verbindung zum plasmodialen Körper kommt durch schmälere oder breitere Pseudopodien zu Stande. Solche Stadien lassen sich durch absoluten Alkohol sehr schön fixiren und jede Amoebe zeigt nach Färbung mit Haematoxylin einen deutlichen Kern.

Da die Amoeben in ständiger, wenn auch schwacher Bewegung begriffen sind, so ändert sich natürlich auch das Maschenwerk des Plasmodiums beständig, was sich namentlich beim Zeichnen mit der Camera lucida bemerklich macht. Die Amoeben nehmen die Plasmatheilchen, Chlorophyllkörner und Kerne der Alge durch ihre Pseudopodien in ihren Körper auf und man sieht alle diese Theilchen in den Pseudopodien sowie in dem Amoebenkörper beständig hin und her wandern. Infolge der Chlorophyllaufnahme sind die Amoeben mehr oder minder intensiv grün gefärbt (Taf. II, Fig. 9).

In dem genannten Stadium findet man die Plasmodien in der Regel rechts und links durch eine Querwand abgegrenzt. In Taf. II, Fig. 9 wurde die Querwand rechts nicht mit gezeichnet.

Um nun zu sehen, welche weitere Entwickelung solche plasmodialen Zustände einschlagen würden, bediente ich mich folgenden Verfahrens. Ich zeichnete ein solches Plasmodium, merkte mir die Lage des betreffenden Schlauchabschnittes genau, und legte nun das Präparat in die feuchte Kammer. Nach Verlauf von einigen Stunden wurde dann wieder beobachtet und gezeichnet. Wenn man Sorge trägt, dass unter dem Deckglas noch einige assimilirende Vaucheriaschläuche mit eingeschlossen sind, auch das Wasser ab und zu erneuert wird, so halten sich die Objecte gewöhnlich 12—24 Stunden, im anderen Falle gehen sie früher zu Grunde.

Auf diese Weise habe ich z. B. feststellen können, dass das in Taf. II, Fig. 9 dargestellte Plasmodium nach 5 Stunden das Bild von Taf. II, Fig. 10 darbot. Die Amoeben sind meistens schon vollständig getrennt, nur hier und da noch durch eine Plasmabrücke verbunden. Ihr Umriss änderte sich nur noch schwach, so dass sie bereits unregelmässig gerundete Formen zeigten. Auch die aufgenommene Nahrung musste eine starke Umwandlung erlitten haben, denn man sieht das

Chlorophyll fast vollständig verdaut und in kleine unregelmässig rundliche rothbraune Körner umgewandelt, welche an der Oberfläche des Plasmakörpers bereits ausgestossen worden sind. Später rundeten sich die Plasmakörper noch mehr ab; ich konnte sie indessen nicht bis zur Ausbildung der Sporen bringen, weil sie vorher abstarben.

Sicherer kann man aus jenen Zuständen die Dauersporen erzielen, wenn man im hängenden Tropfen kultivirt, wo die Luft Zutritt hat. Allein hier sind die optischen Verhältnisse für eine genaue Zeichnung der entwickelungsgeschichtlichen Phasen so wenig günstig, dass ich auf dieselbe verzichten musste und daher nur durch das Wort auf die Thatsache der Entwickelung der Dauersporen aus jenen bereits abgerundeten und von den braunen Ingestaresten befreiten Amoeben hinweisen kann.

Beachtenswerth ist die Thatsache, dass die Plasmodien, bevor sie zur Dauersporenbildung übergehen, sich meistens in mehrere bis viele Portionen theilen, die man als Theilplasmodien bezeichnen kann. In der Regel wird jedes Theilstück durch Querwände, welche seitens der *Vaucheria* gebildet werden, in eine Art von Kammer eingeschlossen (Taf. II, Fig. 1, 11). Doch kann diese Kammerbildung sowohl ganz unterbleiben, als auch nur um einzelne Theilplasmodien stattfinden. Jene Fragmentirung grösserer Plasmodien in Theilplasmodien erfolgt, wie man direct beobachten kann, auf rein mechanische Weise. Indem nämlich der eine Theil der Plasmamasse sich nach der einen, der andere nach der anderen Stelle hin anzuhäufen strebt, werden die verbindenden Theile dünner und dünner und schliesslich erfolgt Zerreissung. Ich habe vor mir Skizzen, in welchen ich die verschiedenen Phasen der Fragmentirung fixirte, musste aber schliesslich des Raumes wegen Abstand nehmen, sie auf den beigegebenen Tafeln unterzubringen.

Aus jedem Theilplasmodium geht ein Sporen-Sorus hervor; ist jenes klein, so erscheint dieser wenigsporig, im anderen Falle mehr- bis vielsporig. Wo nun eine Anzahl von Dauersporen-Soris dicht neben einander aufgereiht sind, wie z. B. in Taf. I, Fig. 1, kann man mit ziemlicher Sicherheit annehmen, dass sie sämmtlich aus einem und demselben grossen Plasmodium hervorgingen durch Fragmentirung desselben.

Beobachtungen hinsichtlich der Keimung der Dauersporen lagen bisher nicht vor. Ich selbst habe mich schon früher vielfach bemüht, die Stadien dieses Vorgangs ausfindig zu machen, indessen vergebens. Erst im letzten Jahre glückte es, mehrfach zu beobachten, dass der Inhalt der Dauersporen bei der Keimung in Schwärmsporen umgebildet wird (Taf. II, Fig. 13). Die Dauerspore wird also zu einer Schwärmercyste (Schwärmsporangium). Ein etwaiges vorheriges Aufschwellen der Dauerspore, wie man es an anderen Objecten hier und da beobachten kann, findet übrigens nicht statt. Damit hängt jedenfalls auch zusammen, dass das Plasma vor der Zerklüftung in Schwärmer nicht erst wandständig wird. Die Zerklüftung erfolgt augenscheinlich simultan. Je nach der Grösse der Dauersporen wechselt die Zahl der

Schwärmer etwa zwischen 10 und 80. Messungen, die an reifen aber noch nicht entleerten Schwärmern vorgenommen wurden, ergaben etwa 2—2,6 mikr. Durchmesser.

Für die Entleerung der Schwärmer ist insofern eine eigenthümliche Einrichtung getroffen, als zunächst das derbe äussere, wie wir sahen mit Netzsculptur versehene Exosporium sich an einer eng umschriebenen Stelle porenartig öffnet (Taf. III, Fig. 1a). Von oben betrachtet erscheint der Porus kreisrund. Da diese Stelle an denjenigen Sporen, welche ellipsoïdische Form besitzen, stets polare Lage zeigt, so liegt die Vermuthung nahe, dass der Porus als Keimporus vorgebildet ist.

Aus der so geschaffenen Oeffnung stülpt sich nun das zarte Endosporium hervor, gewöhnlich in Form einer Blase, deren halsartige Verlängerung auf die Membran des *Vaucheria*-Schlauches zuwächst, um sie zu durchbohren und sich dann am Scheitel infolge von Vergallertung zu öffnen (Taf. III, Fig. 1a). Oft werden die Entleerungsschläuche ziemlich lang. Sobald die blasenförmige Ausstülpung an der Dauerspore sichtbar wird, wandern die Schwärmer in dieselbe hinein. Das Ausschlüpfen derselben direct zu beobachten, ist mir indessen niemals gelungen. Ich kann daher auch nichts über die Zahl der Cilien und die Bewegungsform der frei gewordenen Schwärmzellen sagen.

An den eben beschriebenen Auskeimungszuständen habe ich wiederholt höchst eigenthümliche Fusionserscheinungen beobachtet, von denen zwei Fälle in Taf. III, Fig. 1b und c wiedergegeben sind: Die flaschenförmigen Entleerungshälse je zweier in einiger Entfernung von einander liegenden Dauersporen wachsen nämlich, anstatt nach der Wandung des Wirthsschlauches hin, auf einander zu und fusioniren an ihren Enden, so dass eine etwa hantelförmige Verbindung zwischen den beiden Dauersporen hergestellt wird (Taf. III, Fig. 1b, c). Die Entleerung des Fusionsproducts erfolgt nun entweder durch einen einzigen Entleerungsschlauch (Taf. III, Fig. 1c) oder auch durch zwei bis drei (Taf. III, Fig. 1b). Im Ganzen ist die Fusion selten. Sie scheint nur an solchen Dauersporen vorzukommen, welche sehr lockere Sori bilden. In einem Präparat, das ich aufbewahre, sind in demselben Sorus beide Auskeimungsformen, die gewöhnliche Flaschenkeimung und die Fusionskeimung, neben einander vorhanden (Taf. III, Fig. 1a, b und c). So viel mir bekannt, hat man ähnliche Fusionsvorgänge bei verwandten Organismen noch niemals beobachtet. Sehr bald nach der Entleerung werden die an sich schon sehr zarten Membranen der flaschenförmigen Apparate übrigens so undeutlich, dass man sie nur noch bei starker Abblendung deutlich erkennt, bis sie schliesslich durch Vergallertung gänzlich verschwinden.

Im Vorstehenden habe ich den Entwickelungsabschnitt dargelegt, der mit Erzeugung von Dauersporen endigt. Im Laufe weiterer Untersuchung gelang es schliesslich, eine zweite Fructification aufzufinden, nämlich Schwärmer bildende Cysten.

Wie die Dauersporen werden auch sie in grösseren oder kleineren Haufen angetroffen (Taf. II, Fig. 2 sc. 6), die in Abständen in den

Schläuchen jener Vaucherien liegen. In der Regel sieht man diese Sori ebenfalls rechts und links von Scheidewänden eingeschlossen, so dass man ganz das gleiche Bild erhält, wie von den Dauersporen-Soris (Taf. II, Fig. 6). Die Schwärmercysten zeigten die nämliche Gestalt wie die Dauercysten, meist sind sie jedoch kugelig (Taf. II, Fig. 6—8), bei sehr dichter Zusammenlagerung platten sie sich nicht selten etwas ab. Ihre Grösse schwankt etwa zwischen 13 und 33 Mikr. Zwischen den Schwärmercysten bemerkt man stets dieselben braunen rundlichen Körner, welche ich schon bei den Dauersporen erwähnte (Taf. II, Fig. 6). Es handelt sich auch hier, wie wir gleich sehen werden, um verdaute Chlorophyllreste, die beim Eintritt der Vorbereitungen zur Cystenbildung aus dem Körper ausgestossen wurden.

In den Schwärmercysten werden je nach der Grösse ein bis mehrere Dutzend von Schwärmsporen erzeugt (Taf. II, Fig. 8; Taf. III, Fig. 2a). Ihre Entleerung erfolgt auf ganz ähnliche Weise, wie bei den ausgekeimten Dauersporen. Es bildet sich eine zarte, etwa kochfläschchenförmige Aussackung, deren Hals die Membran des Vaucheriaschlauches durchbohrt und sich dann öffnet (Taf. III, Fig. 2a). Den Austritt der Schwärmer direct zu beobachten, ist mir leider nicht gelungen, auch in diesem Jahre nicht, wo ich mich nochmals darum bemüht habe. In einem einzigen in Taf. III, Fig. 2a abgebildeten Falle sah ich wenigstens den Uebertritt aus der Cyste in den Entleerungsschlauch, den Austritt aus der Mündung konnte ich auch hier nicht verfolgen, da ein zufälliger kleiner Druck, den das Object während der Beobachtung bekam, das Ausschlüpfen sofort sistirte. Ich vermag daher auch hier nicht anzugeben, ob die Schwärmer ein oder mehrere Cilien besitzen.

Was nun die Entstehungsweise der Schwärmer bildenden Cysten anlangt, so wurde auf dem Wege continuirlicher Beobachtung Folgendes ermittelt:

Ich sah zunächst in den Vaucheria-Schläuchen zahlreiche Amoeben, welche Chlorophyll und sonstige Inhaltstheile des Wirthes in sich aufnahmen (Taf. II, Fig. 3). Durch die Chlorophyllnahrung wurden sie mehr oder minder intensiv grün gefärbt. Sie trieben nach allen Richtungen hin Pseudopodien, etwa nach *Actinophrys*-Art, durch welche sie unter einander in Verbindung traten (Taf. II, Fig. 3). In Bezug auf Gestalt und gegenseitige Lagerung der einzelnen Plasmakörper treten infolge Austreibens und Einziehens der Pseudopodien langsame aber beständige Veränderungen ein, wobei sich die Amoeben einander bald nähern, bald entfernen. Jede Amoebe besitzt einen Kern. Man kann sich hiervon leicht überzeugen, indem man mit absolutem Alkohol fixirt, durch den zugleich die Chlorophyllfärbung entfernt wird, und dann mit Haematoxylin färbt.

Ein solches, durch die Verbindung der Amoeben hergestelltes Plasmodium zeigt etwa Netzcharakter. Das in Taf. II, Fig. 3 gezeichnete wurde unter Deckglas in der feuchten Kammer weiter cultivirt und zeigte nach 16 Stunden das in Taf. II, Fig. 4 dargestellte Bild. Die Amoebenkörper waren jetzt weniger lebhaft amoeboid und die Mehrzahl derselben, obschon sie noch durch Pseudopodien-Brücken unter

einander in Verbindung standen, in Abrundung begriffen. Bezüglich der aufgenommenen Chlorophyllnahrung zeigte sich bereits eine auffällige Veränderung, insofern die grünen Theile theilweis bereits in schön rothbraune Klümpchen verwandelt und von den Plasmakörpern zur Ausscheidung gebracht worden waren (Taf. II, Fig. 4). In den nächstfolgenden drei Stunden wanderten die Amoeben, immer noch zum Netz-Plasmodium verbunden bleibend, nach links und häuften sich hier an.

Nach noch weiteren 4 Stunden ergab sich das in Taf. II, Fig. 5 dargestellte Bild. Es sind jetzt weiter gehende Veränderungen eingetreten. Zunächst haben sämmtliche Amoeben ihre Pseudopodien eingezogen und ihre Plasmakörper zu etwa kugeligen Formen abgerundet. Von dem aufgenommenen Chlorophyll ist noch mehr verdaut, die ausgestossenen kleinen rothbraunen Ballen sind daher jetzt in grösserer Anzahl zu sehen. Einige Individuen sind bereits ganz chlorophyllfrei und ziemlich scharf abgerundet. Sie haben auch jede Amoeboïdität schon vollständig verloren, während von den chlorophyllhaltigen noch sehr schwache und daher erst nach einiger Zeit deutlich wahrnehmbare Ortsveränderungen ausgeführt werden.

Die bereits völlig chlorophyllfreien und definitiv abgerundeten Zustände befinden sich jetzt in dem Stadium, welches der Ausbildung der schwärmerbildenden Cyste unmittelbar vorausgeht. Gern hätte ich nun an allen jenen Zuständen die definitive Formation der Cyste beobachtet, aber leider starben bei noch weiterer Cultur dieselben sämmtlich ab.

Dagegen lässt sich bei Cultur im hängenden, vor Verdunstung geschützten Tropfen, die Entwickelung jener Plasmodien bis zur Reifung der Schwärmer-Cysten verfolgen. Ich hätte nun gern eine solche ganz vollständige Entwickelung bildlich zur Anschauung gebracht, allein die optischen Verhältnisse sind, wie bereits gesagt, unter der erwähnten Culturbedingung und mit Rücksicht auf die Grösse und Dicke der Schläuche der Vaucherien so ungünstig, dass eine genaue Zeichnung, namentlich der Plasmodien, ganz unmöglich ist.

Bezüglich der Plasmodien, die zur Schwärmer-Cysten-Bildung bestimmt sind, will ich noch bemerken, dass man vielfach Zustände antrifft, in denen eine deutliche Fusion der Amoeben zu breiteren Plasmamassen eintritt. Ja es kommt häufig vor, dass die Verschmelzung aller Amoeben zu einer grossen einheitlichen Masse erfolgt, in der die Einzelamoebe nicht mehr erkannt werden kann. Erst bei der Fructification sondern sich die Amoeben wieder von einander.

Ferner lässt sich beobachten, wie grosse Plasmodien, die den Vaucheria-Schlauch oft auf ganze grosse Strecken erfüllen und oft aus vielen Hunderten, ja Tausenden von Amoeben bestehen, sich vor der Fructification in mehrere bis viele Partieen theilen, die sich meist in bestimmten Abständen von einander in dem Vaucheria-Schlauch lagern. Aus jeder dieser Partien entsteht dann ein Sorus, der, wie bereits hervorgehoben wurde, rechts und links von Scheidewänden abgegrenzt zu sein pflegt. Wo man, wie in Taf. II, Fig. 2, eine ganze Reihe neben einander gelagerter Sori antrifft, darf man daher mit ziemlicher

Sicherheit schliessen, dass sie alle entstanden sind durch Fragmentation eines einzigen grossen Plasmodiums.

Es frägt sich nun, in welcher Weise die Plasmodien aus den Schwärmsporen entstehen. Leider ist es mir trotz aller Bemühung nicht möglich gewesen, mit Sicherheit das Eindringen des einzelnen Schwärmers, seine Umwandlung in eine Amoebe und das weitere Verhalten des Amoebenzustandes zu verfolgen. Die relativ riesigen Dimensionen der Wirthsschläuche, ihr reicher chlorophyllbeladener Inhalt, in welchem die jungen Amoeben wegen ihrer zarten Beschaffenheit zunächst nur schwierig wahrnehmbar sind, machen es, wie mir scheint, fast unmöglich, das Verhalten der jüngsten Entwickelungszustände mit der nöthigen Sicherheit nachzuweisen. Indessen werde ich im nächsten Jahre nochmals versuchen, etwas zur Ausfüllung dieser Lücke beizutragen.

Im Vorstehenden wurden die bisher nicht bekannten schwärmerbildenden Cysten als in genetischem Zusammenhange mit den von Cornu bereits beobachteten einfachen Dauercysten (Dauersporen) stehend angesehen. Ich will nun noch einmal die Gründe zusammenfassen, welche, wie ich glaube, zu dieser Auffassung berechtigen:

Erstens ist der Entwickelungsgang von dem Plasmodium aus nach der Dauerspore einerseits und von dem Plasmodium nach der Schwärmercyste andererseits hin in allen direkt beobachteten Phasen derselbe.

Zweitens endigen beide Entwickelungscyclen mit Sorusbildung.

Drittens werden die aufgenommenen Chlorophyllmassen in derselben Weise verarbeitet und in derselben Form zur Abscheidung gebracht, nämlich als braune kleine Klümpchen.

Viertens werden die Schwärmercysten- wie die Dauersporen-Sori in gleicher Weise von Kammern eingeschlossen. Die Kammerbildung unterbleibt aber häufig bei Beiden.

Fünftens erfolgt die Entleerung der Schwärmer aus den Schwärmercysten wie aus den Dauersporen durch denselben Entleerungsapparat. Ueberdies zeigten die in den Dauer- wie in den Schwärmercysten gefundenen Schwärmer gleiche Grösse und sonstige Beschaffenheit.

Sechstens werden in der ersten Periode der Entwickelung zunächst nur Schwärmercysten erzeugt, später findet man diese wie auch gleichzeitig Dauersporen. Am Ende der Entwickelung werden nur noch Dauersporen gebildet.

Siebentens lässt sich gegen Ende der Entwickelung nicht selten beobachten, dass innerhalb einer Kette neben einander gereihter Soris, welche offenbar durch Fragmentation aus einem einzigen grösseren Plasmodium hervorgegangen ist, Schwärmercysten-Sori und Dauersporencysten-Sori miteinander abwechseln (Taf. II, Fig. 2).

Das Bild des Gesammt-Entwickelungsganges gestaltet sich demnach folgendermaassen:

Aus der überwinterten Dauerspore wird eine schwärmerbildende Cyste, welche eine Anzahl kleiner Zoosporen entlässt, die in die

jungen *Vaucheria*-Schläuche eindringen. Hier gehen sie (wahrscheinlich nach vorheriger Theilung) in den Amoebenzustand über. Die Amoeben ernähren sich von Chlorophyll und anderen Inhaltsstoffen des Wirths (vermehren sich wahrscheinlich erst noch durch Theilung) und treten zu meist grossen, oft riesigen Verbänden von exquisitem Plasmodium-Charakter zusammen, die sich in der Regel in mehrere bis viele Fragmente theilen. Später trennen sich die Amoeben und nachdem sie das verdaute Chlorophyll in braunen Klümpchen ausgeschieden haben, runden sie sich ab, umgeben sich mit einer dünnen Membran und gehen so in den Cystenzustand über. In diesen dünnwandigen Cysten werden eine Anzahl Schwärmer erzeugt, welche durch einen Entleerungsschlauch in das umgebende Wasser entlassen werden. Dieselben dringen in andere Vaucherienschläuche ein, und nun wiederholt sich der eben skizzirte, mit der Entwickelung von Schwärmercysten abschliessende Cyclus, wenn die äusseren Bedingungen es gestatten sogar noch verschiedene Male.

Sobald dann aber ungünstige äussere Bedingungen, z. B. Austrocknen des betreffenden Gewässers, eintreten, erfolgt statt der Schwärmercysten- die Dauercystenbildung.

Die Plasmodien werden oft so gross, dass sie ganze grosse Schlauchstrecken erfüllen. In der Regel theilen sie sich vor Eintritt der Fruktification und aus jedem Theilplasmodium geht ein Sorus von Schwärmercysten oder von Sporen hervor. Es tritt aber auch nicht selten der Fall ein, dass das ganze grosse Plasmodium sich in einen einzigen grossen Cystenhaufen umwandelt.

Biologisches. Allem Anscheine nach beschränkt sich der Parasit hinsichtlich der Wahl seiner Wirthe ausschliesslich auf *Vaucheria*-Arten; jedenfalls habe ich ihn in allen den übrigen rein chlorophyllgrünen Algen, sowie in Diatomeen, welche mit den Vaucherien zusammen in demselben Gewässer oder denselben Kulturen vegetirten (Spirogyren, Zygnemen, Mougeotien, grossen Closterien, den verschiedensten Oedogonien, Cladophoren etc.) stets vermisst, selbst wenn es sich bei diesen Algen um ziemlich weitlumige Formen handelte.

Aber sogar in Bezug auf die verschiedenen Organe der Vaucherien selbst zeigt er sich wählerisch, indem er nur die vegetativen Theile befällt, Antheridien und Oogonien aber streng meidet, während die *Labyrinthula Cienkowskii* auch in diesen Organen sich ansiedelt. Aus den einmal in Besitz genommenen *Vaucheria*-Schläuchen wandert sein plasmodialer Zustand übrigens niemals aus, ganz im Gegensatz zu seiner Hausgenossin, der eben genannten *Labyrinthula,* welche, die Vaucheriahaut durchbohrend, im Plasmodium-Zustande Excursionen in das umgebende Wasser unternimmt und ihre Netze an der Oberfläche desselben ausbreitet.

Was ferner die Wirkung des Parasiten auf die Wirthsschläuche anbetrifft, so äussern sich dieselben niemals in irgend welcher Form von Hypertrophieen, wohl aber in der Weise, dass die befallenen Theile in auffällig grosser Zahl Querwandbildungen erhalten (Taf. II, Fig. 1). Das ist zwar nicht immer der Fall, ja bisweilen fehlen die-

selben vollständig (Taf. III, Fig. 3); im Allgemeinen aber kann das Gesagte als Regel und Charakteristikum gelten.

Etwas Aehnliches konstatirt man übrigens mit M. Cornu und A. Fischer an *Saprolegnia*-Schläuchen, welche von *Woronina polycystis* Cornu befallen sind, oder auch von *Rozella septigena* Cornu. Auch hier kammern sich die genannten Organe durch Scheidewände.

Es entsteht nun die Frage, ob solche Wandbildung seitens des Wirthsplasmas oder seitens des Parasitenplasmas erfolgt.

In Bezug auf die genannten *Saprolegnia*-Schmarotzer hat sich Cornu in letzterem, Fischer in ersterem Sinne entschieden. Ich selbst schliesse mich bezüglich der Vaucheria der Fischer'schen Auffassung an, d. h. ich sehe die Wandbildung an als eine Reaktionserscheinung des Wirthsplasmas auf den reizenden Angriff, den das Parasitenplasma auf dasselbe ausübt. Bestimmend für mich ist namentlich der Umstand, dass die Querwände mit den Seitenwänden des Vaucheria-Schlauches darin übereinstimmen, dass sie Cellulose-Reaktion zeigen und bezüglich ihrer Insertionsweise und ihres Baues von den gewöhnlichen Vaucheria-Scheidewänden keinerlei Abweichung zeigen. Alle die Membranen, die das Plasma des Parasiten ausscheidet, sei es zum Zweck der Schwärmercysten-Formation oder zur Bildung von Dauersporen, tragen niemals Cellulose-Charakter.

Was nun die Ernährungsweise anbetrifft, so ist bereits im entwickelungsgeschichtlichen Theile gezeigt worden, dass die Amoeben-, wie die Plasmodien-Zustände des Organismus sich von allen den Inhaltsstoffen ernähren, welche in dem *Vaucheria*-Schlauche vorhanden sind. Auch die festen Theile, wie Kerne, Chlorophoren und Plasmakörnchen dienen zur Nahrung. Bei genügend starker Vergrösserung lässt sich direkt beobachten, wie die festen Theile in den Pseudopodien der Amoeben hinwandern, resp. von diesen Organen in den Plasmaleib der Amoebe hineingezogen werden und sich hier anhäufen. Am ersten in die Augen fallend ist natürlich immer die Ansammlung der aufgenommenen Chlorophoren, durch welche die Amoeben eine zunächst rein grüne Färbung erhalten. Es lässt sich ferner feststellen, dass die aufgenommenen festen Theile von den Amoeben verdaut und die unverdaulichen Reste ausgestossen werden, ein Prozess, der sich stets vollzieht, wenn die Amoeben in den Zustand der Cystenbildung einzutreten beginnen. Die allmähliche Umwandlung des Chlorophylls in zunächst schön rothe dann rothbraune Körner oder Klümpchen, die ich in Taf. II, Fig. 4, 5 und 10 darstellte, lässt sich an allen den amoeboïden Zuständen stets beobachten.

In der Aufnahme fester Körper mit Hülfe der Pseudopodien und der schliesslich erfolgenden Ausscheidung der unverdauten Ingesta liegt ohne Zweifel ein deutlicher Hinweis, dass es sich hier um einen Organismus von ausgesprochen **thierischem** Charakter handelt.

Insbesondere wird man erinnert an diejenigen niederen Organismen, die ich früher, Cienkowski folgend, als „Monadinen“

bezeichnete, nämlich die Pseudosporeen und Vampyrelleen, deren von chlorophyllhaltigen Algen sich nährende Amoebenzustände die unverdauten Chlorophyllreste in derselben Form und Farbe zur Ausscheidung bringen, wie vorliegender Organismus.

Im Verein mit *Labyrinthula Cienkowskii* Zopf[1] zerstört der Parasit oft so zahlreiche Schlauchtheile der Vaucherien-Thalli, dass die letzteren an Stelle der normalen schön grünen Farbe ein missfarbiges Ansehen annehmen. Es scheint indessen ein gewisser Antagonismus zwischen beiden Schmarotzern zu bestehen, denn niemals wird man Beide in demselben Schlauchstück sich entwickeln sehen. Mitunter complicirt sich übrigens die Mischinfektion in dem Sinne, dass in den Schläuchen noch eine *Pseudospora,* eine *Lagenidium,* mehrere *Rhizophidium*-artige Chytridiaceen und ein *Pythium,* in den Oogonien aber mehrere *Rhizophidium*-ähnliche Organismen sich ansiedeln, von denen ich weiter unten eine Species beschreiben werde.

Die Phaenologie des Organismus betreffend habe ich bereits angeführt, dass er zu den Frühjahrsorganismen gehört. Sein Erscheinen fällt hier um Halle mit dem ersten Auftreten der Wirthsalgen *(Vaucheria sessilis* und *terrestris)* zusammen. Je nachdem die Eisdecke früher oder später schmilzt, findet man bald schon von der ersten Hälfte des März, bald aber auch erst vom April ab vegetative Stadien. Demgemäss kommt der Entwickelungsgang entweder schon im April oder aber erst im Mai zum Abschluss. Selbstverständlich findet man die Dauersporen-Stadien auch noch später, im Sommer, vor, weil die relativ dicken Wände der den Organismus beherbergenden *Vaucheria*-Schläuche bekanntermaassen eine bedeutende Resistenz besitzen.

In Frankreich, wo ihn Cornu zuerst auffand, scheint der Parasit gleichfalls im ersten Frühjahr seine Entwickelung durchzumachen; ich schliesse dies aus dem Umstande, dass genannter Forscher, der erst im Monat Mai beobachtete, nur noch das Dauercysten-Stadium vorfand. Die anderen Zustände zu sehen war offenbar um diese Zeit überhaupt nicht mehr möglich, und so musste seine Untersuchung sehr unvollständig bleiben.

Uebrigens fällt die Zeit der Entwickelung von *Labyrinthula Cienkowskii* ebenfalls in das erste Frühjahr, also mit der des obigen Parasiten zusammen.

Verwandtschaftsverhältnisse. Wie oben bereits angeführt wurde, hat A. Fischer den vorstehend charakterisirten Organismus zu der den Synchytriaceen (Merolpidiaceen Fischer) zugehörigen Gattung *Woronina* gezogen, allerdings nur gestützt auf die sehr dürftigen Angaben, die Cornu über den Parasiten gemacht hat.

In der That ergiebt ein näherer Vergleich vorliegenden Objektes mit der in Saprolegnien schmarotzenden *Woronina polycystis* Cornu,

1) Im zweiten Heft vorliegender Beiträge behandelt.

die von Cornu[1] und namentlich Fischer[2] näher studirt wurde, eine gewisse Aehnlichkeit nicht bloss in morphologischer, sondern auch in biologischer Beziehung.

Beide Organismen besitzen nämlich von Entwickelungszuständen 1. Schwärmer, 2. Plasmodien, 3. schwärmerbildende Cysten und 4. Dauercysten.

Auch die eigenthümliche Sorusbildung der Schwärmercysten wie der Dauercysten wird bei beiden Species beobachtet. Desgleichen ist die Art und Weise der Entleerung der schwärmerbildenden Cysten (durch Entleerungshälse) hier wie dort dieselbe. Selbst die eigenartige Reaktion der Wirthsschläuche — hier der siphoneenartigen Alge *Vaucheria*, dort des siphoneenartigen Pilzes *Saprolegnia* —, die sich in einer Kammerung durch Querwände äussert, durch welche die Sori der Parasiten in zellartige Abtheilungen eingeschlossen werden, ist genau dieselbe.

Auf Grund dieser Daten glaube ich den von mir charakterisirten Organismus als sehr nahe verwandt mit der *Woronina polycystis* ansehen zu dürfen und stelle ihn deshalb definitiv in die Gattung *Woronina* ein. Der Name *W. glomerata* Cornu kann bleiben, denn es ist wohl bei der sonstigen Uebereinstimmung und mit Rücksicht auf den Umstand, dass Cornu seinen Parasiten ebenfalls in *Vaucheria sessilis* und *terrestris* beobachtet hat, kaum zweifelhaft, dass ihm dieselbe Species vorlag wie mir. Seine Angabe, die Dauercysten seien mit Stachelsculptur versehen („spores échinées"), ist sicherlich nur darauf zurückzuführen, dass er diese Zustände nicht mit starken Vergrösserungen angesehen hat. Bei Anwendung weniger starker Vergrösserungen machen die Erhabenheiten in der That leicht den Eindruck feiner Stacheln (Taf. II, Fig. 11) und ich selbst habe sie beim ersten Blick ebenfalls dafür angesprochen. Uebrigens fügt C. auch ein paar stärker vergrösserte Sporenbilder bei, die etwas wie Netzsculptur erkennen lassen (l. c. Taf. 7, Fig. 22 b), aber im Texte spricht er nicht davon, sondern nur von spores hérisées.

Was nun noch die Frage anlangt, ob die Woroninen Thiere oder Pflanzen sind, so geht aus den mitgetheilten Beobachtungen an *Woronina glomerata* zweifellos hervor, dass wir es hier mit einem thierischen Organismus zu thun haben. Die Art der Locomotion der Plasmodien und die Aufnahme fester Körper im Amoeben- resp. Plasmodium-Zustande sowie die Ausscheidung der unverdauten Stoffe in Form von braunen Excretballen lässt in dieser Beziehung jedenfalls keinen Zweifel.

Aber auch *Woronina polycystis* nimmt im vegetativen Zustande sicherlich feste Körper auf, nämlich die körnchenförmigen Einschlüsse des Saprolegniaplasmas und die Kerne. Wäre dies nicht der Fall, so müssten nach Eintritt der Fruktification des Parasiten diese festen

1) l. c.

2) Untersuchungen über die Parasiten der Saprolegnieen. Pringsh. Jahrb. XIII (1882).

Theile sich noch im Saprolegniaschlauche vorfinden. Das ist aber nach meinen Beobachtungen niemals der Fall, es wird Alles Plasma der Saprolegnia inclusive der festen Theile aufgenommen[1]. Uebrigens geht dies auch aus Cornu's und Fischer's citirten Abbildungen hervor. Eine Ausscheidung von Nahrungsballen findet bei *Woronina polycystis* nicht statt, aus dem einfachen Grunde, weil Alles, was mit dem Wirthsplasma aufgenommen, verdaut wird.

Gesetzt den Fall, *W. polycystis* wäre im Stande, in Algen zu schmarotzen, so würde sie das Chlorophyll sicher ebenso gut aufnehmen und dessen Reste ebenso in braunen Ballen abscheiden, wie *W. glomerata*.

Wenn ich nun in meinem Handbuche der Pilze die Auffassung aussprach, „es scheint mir angemessen, die Gruppe der Synchytriumartigen Organismen (mit Synchytrium, Olpidiopsis, Reessia, Rozella, Woronina u. A.) von den Chytridiaceen und den Algenpilzen überhaupt, abzutrennen", so sind, wie ich glaube, die vorstehenden Thatsachen und Erwägungen nur geeignet, mich in dieser Auffassung zu bestärken, zunächst natürlich allein in Bezug auf die Gattung *Woronina*. Betreffs der übrigen Gattungen müssen weitere Untersuchungen lehren, ob ich Recht habe oder nicht. Ich selbst werde solche Untersuchungen vorlegen, sobald ich sie für reif halte.

Schon jetzt aber muss ich darauf hinweisen, dass die Charaktere, welche Fischer seiner Familie der Myxochytridinen speciell den Merolpidiaceen gegeben hat und welche insbesondere dahin lauten, dass echte Plasmodienbildung gänzlich fehle und Aufnahme fester Nahrungstheile gar nicht vorkomme, für *Woronina glomerata* und *W. polycystis* nach meinen Darlegungen fernere Gültigkeit nicht haben können.

Wo der nach meinen Darlegungen zweifellose Anschluss der Woroninen an die niederen Thiere zu suchen ist, darüber kann ich zunächst noch kein abschliessendes Urtheil abgeben. Man könnte zunächst an die Sorusbildner[2] (Sorophoreen) denken, weil auch bei *Woronina* exquisite Sorusbildung auftritt. Indessen weist jene Gruppe weder schwärmerbildende Cysten noch auch solche Plasmodienbildung auf, wie sie *Woronina* besitzt, die Plasmodien der Sorophoreen tragen vielmehr den Charakter von Pseudoplasmodien, oder aber von Fadenplasmodien, wie sie *Labyrinthula* nach meinen Untersuchungen[3] zeigt.

Dagegen lässt sich *Woronina* viel eher anschliessen an die Familie, die ich seinerzeit mit Cienkowski als Monadineae zoosporeae bezeichnet habe. Die Repräsentanten dieser Gruppe zeigen nämlich 1. ein Zoosporenstadium, 2. ein Amoebenstadium, 3. einen Plasmodien-

1) Für eine etwaige Annahme, die festen körnigen Theile des Saprolegnienplasmas würden vor der Aufnahme erst durch ein vom Parasiten abgeschiedenes Ferment peptonisirt und so in den löslichen Zustand übergeführt, liegt keine Erfahrung vor.

2) Siehe meine Bearbeitung der Mycetozoen in Schenks Handb. Bd. IIIb p. 131 und die citirte Abhandlung über Labyrinthula, diese Beiträge, Heft II p. 45.

3) l. c.

zustand (der aber nicht bei allen vorhanden ist), 4. Fruktifikation in zoosporiparen Cysten (Zoocysten) und 5. Fruktifikation in Dauersporen bildenden Cysten oder in nackten Dauersporen. Und bei *Woronina* haben wir alle diese Zustände. Auch darin stimmt *Woronina glomerata* mit den Algen bewohnenden Repräsentanten jener Familie überein, dass sie das verdaute Chlorophyll in rothbraunen Massen aus dem vegetativen Körper ausscheidet. Die Monadineae zoosporeae habe ich in meinen „Pilzthieren" gegliedert in drei Unter-Familien: die Pseudosporeen, die Gymnococcaceen und die Plasmodiophoreen.

Zu den ersteren können die Woroninen nicht gestellt werden, weil hier die Dauersporen nicht frei, sondern in Cysten entstehen und bei den Plasmodiophoreen sind keine Schwärmercysten bekannt. Es bliebe also nichts anderes übrig, als sie zu den Gymnococcaceen zu stellen, die nackte Dauersporen besitzen. Aber dieser Familie fehlt wieder die exquisite Sorusbildung der *Woronina*. Ich glaube daher, dass es am Besten sein wird, über die definitive Stellung der Gattung nicht eher zu entscheiden, als bis die Nächstverwandten der letzteren einer nochmaligen genauen Untersuchung unterworfen worden sind. Das ist zwar meinerseits bereits in gewisser Richtung geschehen, doch halte ich meine Resultate vorläufig zurück, weil sie noch der Ergänzung bedürfen.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich gleich noch auf die Bezeichnng „Monadinen" zu sprechen kommen. In seiner neuesten schönen Flagellaten-Arbeit hat Klebs (Flagellatenstudien I. und II. Theil. Separatabdr. aus Zeitschr. f. wissensch. Zoologie Bd. LV, Heft 2 und 3) darauf aufmerksam gemacht, dass der Name Monadinen in dem Sinne, wie er von Cienkowski angewandt und später von mir adoptirt wurde, Verwirrung anrichten kann, weil es eine Gruppe von Flagellaten giebt, die diesen Namen schon früher erhalten hat. Der Typus derselben ist, wie Klebs hervorhebt, die durch Stein, Bütschli und Fisch klar bestimmte Gattung *Monas*. Ich glaube, dass Klebs vollkommen Recht hat und schlage daher vor, den von Cienkowski und mir gewählten Namen vollständig zu beseitigen und ihn durch einen andern, vielleicht Myxozoïdia, zu ersetzen.

Die Monadineae azoosporeae Zopf und die Monadineae zoosporeae (Cienkowski) würden daher umzutaufen sein in Myxozoïdia azoospooreae, zu denen hauptsächlich die Vampyrelleen gehören, und die Myxozoïdia zoosporeae, zu denen in erster Linie die Pseudosporeen gerechnet werden. Es ändert sich mithin nur der Name, die Sache bleibt.

Bei Besprechung der verwandtschaftlichen Beziehung dieser Familien erkennt Klebs übrigens an, dass die Pseudosporeen und Vampyrelleen einen Uebergang zwischen Flagellaten und Myxomyceten bilden. Denn er sagt (l. c. p. 282): „ein direkter Zusammenhang der Myxomyceten mit den Flagellaten in meinem (Klebs) Sinne, speciell den Rhizomastiginen ist zunächst nicht ersichtlich. Vielmehr erscheint mir am begründetsten die Ansicht von Zopf, dass die Vampyrelliden

und ganz besonders die Pseudosporeen den Uebergang bilden und die letzteren würden dann Myxomyceten und Flagellaten verbinden.“ Für mich ist dieses Urtheil um so werthvoller, als Klebs als einer der besten Kenner der niedersten Thiergruppen gilt.

Ausser *Woronina glomerata* und *Woronina polycystis* sind mir noch zwei Vertreter dieser Gattung bekannt, die von anderer Seite noch nicht beobachtet worden sind. Der eine lebt in einer grünen Alge aus der Familie der Conjugaten, die zu *Mougeotia* oder *Mesocarpus* gehören dürfte, den anderen traf ich in *Pilobolus*-Mycelschläuchen an[1]. Ueber beide sind leider meine Beobachtungen und Abbildungen noch zu unvollständig, als dass ich sie gleich hier anschliessen dürfte. Indessen möchte ich in Bezug auf das erstgenannte Objekt, das ich in Torfmooren bei Speck in Pommern auffand und in meinen Notizen als *Woronina aggregata* bezeichnete, schon jetzt anführen, dass es exquisite Plasmodienbildung besitzt, dass diese Plasmodien unter anderen auch Chlorophyll und Stärke fressen und letztere völlig unverändert, jenes zu braunen Ballen umgewandelt, zur Ausscheidung bringen, sobald sie zur Cystenbildung schreiten wollen. Die Sorusbildung der schwärmererzeugenden Cysten ist ebenfalls eine exquisit *Woronina* artige, soweit ich beobachtete, stets eine rundlichtraubige und in dieser Form von den beiden anderen Species abweichende. Die Sori liegen der Regel nach in der Mitte der Zelle, der braune Excretballen liegt ihnen stets dicht an. Sie bestehen meist nur aus 10—20 Schwärmercysten, die dicht an einander gedrängt sind und zur Entleerung der Schwärmer mit einem einfach schlauchförmigen nicht wie bei *W. glomerata* an der Basis kochflaschenförmig ausgebauchten Entleerungshalse ausgerüstet erscheinen. Die Dauerzustände habe ich leider von diesem seltenen Objekt noch nicht erhalten können. Schon nach dem Gesagten ist *W. aggregata* von *W. glomerata* und *W. polycystis* recht wohl unterscheidbar.

II. Einige neue Beobachtungen an Labyrinthula Cienkowskii Zopf.

Auch in diesem Frühjahr habe ich dieses Mycetozoum in Süsswassertümpeln bei Halle angetroffen als Schmarotzer von *Vaucheria terrestris*, und zwar so massig, dass die Schläuche dieser Alge mit Tausenden der Cystenzustände auf weite Strecken hin förmlich vollgestopft erschienen.

Im vorigen Heft dieser Beiträge, wo ich den Organismus eingehend charakterisirte, wurde unter anderem ein Bild gegeben, welches zeigt, dass beim Encystirungsprozess bisweilen eine doppelte Haut auftritt, indem innerhalb der zuerst gebildeten Membran eine allseitige Contraction des Plasmas erfolgt und dann eine zweite Membran abge-

1) Die betreffende *Pilobolus*-Art hatte sich an der Oberfläche eines an organischen Substanzen reichen Abwassers entwickelt.

sondert wird. Dergleichen Zustände waren jedoch damals nur sehr vereinzelt in diesem oder jenem Sporenhaufen anzutreffen.

Es war nun denkbar, dass beim allmählichen Eintrocknen der *Vaucheria*-Rasen jene weiter vorgeschrittenen Cystenbildungen häufiger, vielleicht ausschliesslich auftreten würden. Ich liess daher dieses Frühjahr in einem flachen Wiesentümpel die befallenen Rasen dieser Alge solange liegen, bis das Wasser nahezu verschwunden und die Watten auf den Spitzen der unterdess hervorgesprossten Grasblätter beinahe völlig getrocknet waren. In diesem Zustande untersucht zeigten die befallenen *Vaucheria*-Schläuche die massenhaft vorhandenen Ruhezustände der *Labyrinthula* ausnahmslos in der Doppelcystenform.

Hiernach dürfte diese Bildung als eine Folge der Austrocknung, mithin als Anpassungserscheinung zu deuten sein. Sie kommt übrigens auch bei verschiedenen anderen niederen Thieren vor, so z. B. bei den *Vampyrelleen*. In einer früheren Abhandlung[1] habe ich für *Vampyrella Spirogyrae* Cienk. einen Fall abgebildet (Taf. II, Fig. 21), wo statt der üblichen zwei Cystenhäute der Sporocysten mitunter drei ja vier bis fünf entstehen.

Die genannten Dauerzustände der *Labyrinthula Cienkowskii* habe ich nun benutzt, um eine Lücke in meiner früheren Untersuchung auszufüllen, nämlich die Art der Keimung sicher festzustellen. Allerdings war durch indirekte Beobachtung sehr wahrscheinlich gemacht, dass wie bei anderen Sorophoreen, so auch bei *Labyrinthula Cienkowskii* bei der Sporenkeimung Amoeben, nicht Schwärmer, erzeugt werden, allein da es mir damals nicht gelang, den Vorgang sich unter meinen Augen vollziehen zu sehen, so war keine völlige Sicherheit für jene Annahme geboten.

Diesmal sind meine Bemühungen von mehr Erfolg gewesen, denn die Dauercysten fand ich in einem Stadium vor, wo sie im Wasser sehr leicht auskeimten.

Bei Verfolgung dieses Prozesses, den ich in einer continuirlichen Beobachtungsreihe in Taf. III, Fig. 4 dargestellt habe, sieht man zunächst, dass das anfänglich homogene und dabei relativ stark lichtbrechende Plasma körnig und weniger lichtbrechend wird. Dann tritt es in schwache metabolische Bewegung ein, die man daran wahrnimmt, dass es sich von der Wandung hie und da zurückzieht, um dann wieder vorzudringen. Bald sieht man dann den Plasmakörper ein oder zwei Pseudopodien durch die Cystenhäute hindurch senden, welche das Ganze zu schwacher, beständiger Ortsveränderung bringen. Schliesslich schlüpft der Plasmakörper, indem er sich durch eines von den Pseudopodien vorgearbeiteten Löchern hindurch zwängt, aus. Ich habe aber auch gesehen, wie die Amoebe oft noch stundenlang in der Cyste bleibt und durch Pseudopodienthätigkeit letztere mit sich herumschleppt, um dann erst später auszukriechen. Man verliert die Amoeben, die nach

1) Zur Morphologie und Biologie der niederen Pilzthiere. Leipzig 1885.

dem Ausschlüpfen Spindelform annehmen, leider so bald aus dem Auge, dass es nicht möglich wird, ihr weiteres Verhalten zu verfolgen.

An den entleerten Cysten erscheint die innere Haut im Vergleich zur äusseren meist etwas kräftiger ausgebildet.

III. Latrostium comprimens, ein neuer Chytridiaceenartiger Schmarotzer in den Oosporen von Vaucheria.

Während des Studiums der *Labyrinthula Cienkowskii* und der *Woronina glomerata* fiel es mir auf, dass die Oogonien der *Vaucheria sessilis* wie der *Vaucheria terrestris,* die aus Wiesentümpeln bei Halle stammten, ausserordentlich häufig von relativ grossen rundlichen Gebilden besetzt erschienen, welche durch ihren stark lichtbrechenden, fast nur aus einem mächtigen Fetttropfen bestehenden Inhalt sowie durch ihre dicke doppelschichtige Haut das Ansehen von Dauerzuständen erhielten (Taf. III, Fig. 15—19).

Dieselben traten immer nur in solchen Oogonien auf, welche bereits ihre Oospore gebildet hatten, und waren stets zwischen die Oogoniumwand und die Oospore seitlich so eingeschoben, dass die ursprünglich etwa eiförmige Gestalt der letzteren auffällige Veränderung erfuhr, welche sich in starker Zusammendrückung äusserte.

Schon entliche Jahre vorher hatte ich an Vaucherien, die in der Nähe von Döllnitz an der Elster aufgenommen waren, die nämliche Erscheinung beobachtet und zwar so häufig, dass sie fast keinem Oogon fehlte.

Meine damaligen Bemühungen, jene Dauerzustände zur Keimung zu bringen sowie irgend welche andere Entwickelungsstadien aufzufinden, welche auf die Natur jener Organe ein Licht werfen könnten, blieben erfolglos. Ebenso war es nicht möglich, irgend einen parasitischen Zusammenhang zwischen der Vaucheria-Oospore und den fremden Dauersporen nachzuweisen, obwohl derselbe in Rücksicht auf die starken, bis zur Abtödtung gehenden Veränderungen, welche Erstere erlitt, unzweifelhaft erschien.

Auch in den folgenden Jahren kam ich nicht weiter. Erst als eine viel frühere Beobachtungszeit gewählt wurde, nämlich statt des Frühsommers das erste Frühjahr (März, April), konnte der Entwickelungsgang annähernd vollständig festgestellt werden.

Um diese Zeit fructificirt der Organismus in Zoosporangien (Taf. III, Fig. 6—11). Dieselben liegen ebenfalls zwischen Oogoniumwand und Oospore eingekeilt, diese stark zusammendrückend (Taf. III, Fig. 6, 7, 9) und dabei zugleich eine napfförmige Vertiefung hervorrufend (Taf. III, Fig. 6, 7, 9). Die Sporangien haben eine eigenthümliche Gestalt. Im Profil gesehen erscheinen sie ziemlich gestreckt-elliptisch bis eiförmig (Taf. III, Fig. 6, 9ab, 14a), von der Fläche aus breit elliptisch bis breit eiförmig (Taf. III, Fig. 8, 9c). Aus der Combination beider Ansichten ergiebt sich die Gestalt einer bald flacheren bald dickeren biconvexen Linse. Im Gegensatz zu den Dauersporen besitzen die Schwärmsporangien eine ziemlich dünne Wandung und einen

zunächst feinkörnigen, sonst nichts Charakteristisches darbietenden Inhalt. An der Membran ist bemerkenswerth eine Stelle, welche, stets nach der offenen Mündung des Organismus zu gerichtet, verdickt und wie gequollen erscheint (Taf. III, Fig. 6m, 7m, 10m). Hier öffnet sich, offenbar in Folge von Verquellung, das Sporangium zur Reifezeit, und aus der relativ grossen Mündung schlüpfen winzige Schwärmsporen aus (Taf. III, Fig. 11, 13m). Sie sind kugelig, messen nur 2,5—3 Mikr., tragen beim Schwärmen ihre schon ohne Reagentien deutliche Cilie voran und zeigen einen ziemlich grossen stark lichtbrechenden excentrischen und farblosen Fetttropfen (Taf. III, Fig. 12). In Stadien weniger lebhafter Bewegung bemerkt man an dem Plasmakörper deutlich metabolische Formänderungen. Die Schwärmbewegungen sind lebhaft, aber niemals hüpfende. Je nach der Grösse der Sporangien werden etwa 50 bis mehrere Hundert Zoosporen erzeugt. Nach der Entleerung collabirt die Sporangienhaut unter Faltenbildung (Taf. III, Fig. 13).

Es lag mir nun sehr daran, die Entwickelung der Sporangien von der Zoospore aus zu verfolgen. Die Letztere muss offenbar in das geöffnete Vaucheria-Oogon einwandern, sich zwischen Oospore und Oogonwand drängen und hier zum Sporangium heranwachsen. Allein die Einzelnheiten dieses Vorganges zu beobachten wollte mir nicht glücken. Hie und da kann man allerdings eine Schwärmspore in der Mündung des Oogons antreffen, aber das weitere Verhalten derselben zu verfolgen war in anbetracht der Winzigkeit und Zartheit dieser Gebilde und der relativ riesigen, dabei wegen ihres reichen Inhalts völlig undurchsichtigen, der Oogonienwand dicht angeschmiegten Oospore völlig unmöglich.

Dagegen gelang es schliesslich, die parasitischen Beziehungen in welchen die Schwärmsporangien zur *Vaucheria*-Spore stehen, genau festzustellen. Etwa von der Mitte derjenigen Fläche des Sporangiums, welche der Oospore angepresst liegt, geht nämlich ein Mycelschlauch aus, der die Oosporenwand durchbohrt und sich im Innern der Oospore zu einem reich verzweigten Mycelium entwickelt (Taf. III, Fig. 6, 7, 9, 13). Allerdings sind die Fäden dieses Systems so ausserordentlich fein, dass man sie zunächst sehr leicht übersieht. Indessen wenn man aus den Oosporen des Chlorophyll durch längeres Ausziehen mit Alcohol absolutus gänzlich entfernt hat, so tritt das System schon ziemlich deutlich hervor, wenigstens wenn es sich um junge in der Einzahl vorhandene Schwärmsporangien tragende Pflänzchen handelt. Hat man es überhaupt erst einmal erkannt, so wird man es unter günstigen Beleuchtungsverhältnissen auch schon ohne Zuhilfenahme irgend welcher Präparation aufzufinden vermögen, vorausgesetzt das das betreffende Einzel-Individuum eine günstige Lage zeigt, nämlich etwa Profilstellung wie etwa in Taf. III, Fig. 6, 7. Sind die Oosporen der *Vaucheria* von mehreren Parasiten befallen — es kommen häufig 4—6 vor — so werden sie durch die relativ grossen Zoosporangien so zusammengedrückt, dass die ohnehin durcheinander wachsenden Mycelien nicht mehr deutlich unterschieden werden können, ja sogar mitunter nur noch durch eine graue Trübung des Oogoniuminhalts angedeutet sind.

Auch Zerdrücken der Oogonien nach vorheriger Behandlung mit Kalilauge pflegt die Dinge nicht deutlicher zu machen.

Als ich im vorigen Jahre den Parasiten untersuchte, traf ich in der ersten Hälfte des April in allen Oogonien ausschliesslich Sporangien tragende Individuen an (Taf. III, Fig. 6—9). Etwas später zeigten sich viele Oogonien gleichzeitig von Zoosporangien- und von Dauersporen-Pflänzchen besetzt (Taf. III, Fig. 14, 15). Im Mai endlich waren nur noch Dauersporen producirende Pflänzchen anzutreffen (Taf. III, Fig. 17, 18).

Die Dauersporen zeigen, von der Fläche gesehen, ebenfalls die Form eines breiten Ellipsoïds, wie die Zoosporangien, oder sie erscheinen selbst kreisförmig (Taf. III, Fig. 15—19), im Profil dagegen sind sie etwas schmäler elliptisch. Wir haben also auch bei diesen Organen dieselbe Linsenform, wie sie die Zoosporangien zeigen. Durch gegenseitigen Druck können sich die Sporen etwas abplatten, was aber meist nur dann vorkommt, wenn 4—6 in einem Oogon entstehen (Taf. III, Fig. 18, 19). Ihr grösster Durchmesser beträgt etwa 30—50 μ. Ausgezeichnet sind sie durch eine relativ mächtige, stets farblose Membran, welche in ein dickeres Exosporium und ein minder dickes Endosporium differenzirt erscheint (Taf. III, Fig. 17—19). Beide färben sich durch Chlorzinkjod, aber auch schon durch Jod sehr schön blau, bestehen also wahrscheinlich aus einer gummi- oder schleimartigen Substanz, ähnlich dem Isolichenin.

Bei stärkerer Vergrösserung erkennt man im Exosporium eine feine radiäre Streifung (Fig. 19). Im Inhalt der reifen Dauersporen wird massig Fett gespeichert in Form eines riesigen, fast das ganze Lumen ausfüllenden stark lichtbrechenden Tropfens (Taf. III, Fig. 17—19).

Wie bereits angegeben wurde, wollte es mir früher trotz aller Bemühung nicht gelingen, ein Mycel an den Dauersporen tragenden Pflänzchen aufzufinden. Die Ursache liegt darin, dass ich zu spät im Jahre beobachtete, wo die Dauersporenpflänzchen schon zu alt waren, als dass die feinen Mycelsysteme nicht schon durch Vergallertungsprocesse unkenntlich gemacht worden oder auch bereits gänzlich verschwunden wären. Minder alte Individuen dagegen zeigen dieselben in ganz derselben feinfädigen und reich verzweigten Form, wie wir sie an den Sporangienpflänzchen wahrnehmen. Die Dauersporen zur Auskeimung zu bringen, wollte bis jetzt nicht gelingen; doch hoffe ich, diese Lücke später doch noch ausfüllen zu können.

Der genetische Zusammenhang zwischen den Dauersporen und den Sporangien tragenden Pflänzchen folgt sowohl aus der gleichen Form der beiderlei Fructificationsorgane, als auch aus der durchaus gleichen Beschaffenheit des Mycels, der gleichen Art des Verhaltens zur Oospore des Wirthes und dem oben besprochenen Successionsverhältniss.

Auf Grund der angeführten Eigenschaften ist der Parasit zweifellos als eine Chytridiacee anzusprechen, und in die nächste Verwandtschaft der Gattung *Rhizophidium*, also zu den Rhizidiaceen (Sporochytriaceen im Sinne von A. Fischer) zu stellen.

Er weicht jedoch von allen *Rhizophidium*-Arten in mehreren Punkten ab: Erstens ist die Längsachse der Sporangien wie der Dauersporen im Vergleich zur Querachse erheblich kürzer, nämlich die Gestalt beider Fructificationsorgane dicker oder flacher linsenförmig, zweitens tragen die Zoosporen beim Schwärmen ihre Cilie voran, anstatt dieselbe nachzuschleppen, drittens führen die Schwärmer nicht die hüpfenden oder in Zickzackbahn erfolgenden Bewegungen der Rhizophidien aus, sondern schwärmen gleichmässig, ruhig; und endlich liegt die in der Einzahl vorhandene Entleerungsöffnung der Sporangien in der Aequatoriallinie des linsenförmigen Körpers. Auch werden so mächtige Wandverdickungen wie die der Dauersporen meines Wissens bei *Rhizophidium*-Arten nirgends angetroffen.

Diese Umstände veranlassen mich, den Pilz nicht in der genannten Gattung unterzubringen, sondern vielmehr ein neues Genus-*Latrostium*[1] — zu creïren. Die Species möge *L. comprimens* heissen, da es zu den charakteristischen Eigenschaften des Schmarotzers gehört, die Oosporen der *Vaucheria*-Arten zusammenzudrücken, oft bis zur völligen Unkenntlichkeit.

Was sonstige Einwirkungen auf die Wirthszelle anlangt, so wird deren Inhalt sehr bald abgetödtet und schliesslich je nach der Zahl der Parasiten mehr oder minder vollständig aufgezehrt. Das Chlorophyll wird zunächst ins Gelbgrüne verfärbt, schliesslich bleiben hiervon nur noch schmutzig braun gewordene Reste (Taf. III, Fig. 18). Von den reichen Fettmassen lässt der Schmarotzer nichts übrig, wahrscheinlich besitzt er die Fähigkeit, das *Vaucheria*-Fett zu spalten durch ein Ferment. Wie alle anderen in pflanzliche Zellen eindringenden Chytridiaceen scheidet er offenbar auch ein Cellulose lösendes Encym ab.

Wie viele Fortpflanzungszellen der Vaucherien der Parasit vernichten kann, geht daraus hervor, dass man an manchen Lokalitäten selbst in grossen Rasen dieser Algen, im Spätfrühling und Frühsommer von den massenhaft gebildeten Oogonien oft kaum ein einziges verschont findet. Man sieht auch hier wieder, wie solche winzigen Schmarotzer regulirend und beschränkend in den Vermehrungsprocess der Algen eingreifen. Uebrigens werden weder die vegetativen Schläuche noch auch die Sporangien (resp. Zoosporen) jemals von dieser Chytridiacee befallen.

Was die Phaenologie des Pilzes anbetrifft, so scheinen die Sporangienbildungen, soweit meine Erfahrungen reichen, nur im Frühjahr vorzukommen. Im Jahre 1892 traf ich sie im April noch ausschliesslich an; im vorigen Jahre, wo sich frühzeitiger Eisschmelze und warmes Wetter eingestellt hatten, fand ich schon in der ersten Hälfte des April nur noch Dauersporen-Fructification, aber kein einziges Sporangium mehr vor.

1) Von latus die Seite und ostium die Mündung, wegen der seitlichen Mündungsöffnung. Aus euphonischen Gründen schlage ich *Latrostium* statt *Laterostium* vor.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel II.

Woronina glomerata (Cornu) Zopf.

Fig. 1. 50fach. Stück eines Thallusschlauches von *Vaucheria terrestris*, besetzt mit zahlreichen Dauersporen-Soris, wahrscheinlich sämmtlich aus einem einzigen grossen Plasmodium entstanden. Dieselben sind rechts und links eingeschlossen durch Scheidewände des Thallusschlauches. Letzterer erscheint daher vielzellig.

Fig. 2. 30fach. Stück eines Schlauches von *Vaucheria terrestris*, ebenfalls mit zahlreichen Sori des Parasiten besetzt. Davon sind die mit *d* bezeichneten Dauersporen, die mit *sc* bezeichneten Schwärmercysten. Beiderlei Sori sind augenscheinlich aus ein und demselben Plasmodium entstanden. Querwände finden sich in dem Wirthsschlauch nur spärlich.

Fig. 3—5 stellen eine continuirliche Entwickelungsreihe dar.

Fig. 3. 300fach. Stück eines Schlauches von *Vaucheria sessilis* mit einem nur theilweise gezeichneten Plasmodium, das aus zahlreichen Amoeben zusammengesetzt ist. Dieselben zeigen infolge des beständigen Ein- und Ausziehens der Pseudopodien deutliche Gestalts- und Ortsveränderung. Die Verbindung der Amoeben mittelst der Pseudopodien ist eine netzartige. Die Amoeben haben neben anderen Inhaltstheilen der *Vaucheria* auch reichlich Chlorophyll aufgenommen, aber von demselben noch nichts verdaut, sehen daher noch schön grün aus.

Fig. 4. 300fach. Dasselbe Schlauchstück 16 Stunden später. Die Amoebenkörper sind jetzt weniger ausgesprochen amoeboïd und haben zum Theil mehr rundliche Form angenommen. Chlorophyll zum Theil schon verdaut, in rothe Klümpchen verwandelt und in dieser Form ausgeschieden. Nach Beendigung der Zeichnung wanderten die immer noch zum Netzplasmodium verbundenen Amoeben nach der linken Seite hin, um sich hier anzuhäufen.

Fig. 5. 300fach. Dasselbe Object 31 Stunden später. Der Plasmodienverband hat sich bereits gelöst, indem die Amoeben ihre Pseudopodien einzogen und sich zu annähernd kugeligen Formen abrundeten. Einige sind bereits chlorophyllfrei.

Fig. 6. 300fach. Schlauchstück von *Vaucheria sessilis* mit einem Sorus von schwärmerbildenden Cysten. In einiger Entfernung von demselben sind rechts und links Querwände in dem Schlauche zu sehen. Zwischen den Cysten liegen die ausgestossenen Reste des verdauten Chlorophylls in Form von kleinen braunen Körnern zu kleinen Gruppen zusammengehäuft.

Fig. 7 u. 8 Zwei von diesen Cysten stärker (etwa 500fach vergrössert) mit den Schwärmsporen im Innern.

Fig. 9. 360fach. Stück eines Schlauches von *Vaucheria sessilis* mit einem von Querwänden rechts und links eingeschlossenen Plasmodium (die Querwand rechts ist weggelassen). Dasselbe besteht aus zahlreichen Amoeben, welche durch schmälere oder breitere Plasmabrücken verbunden erscheinen und das aufgenommene Chlorophyll bereits zum kleineren Theile verändert haben.

Fig. 10. 360fach. Dasselbe Object nach 5stündiger Cultur unter Deckglas in der feuchten Kammer. Amoeben zum grossen Theil durch Einziehung der Pseudopodien von einander getrennt, in Abrundung begriffen, nur noch schwache Ortsbewegungen ausführend. Chlorophyll zum grössten Theile völlig verdaut und in braunrothen kleinen Klümpchen ausgeschieden. 12 Stunden später hatten sich die Amoeben in der Mitte der Zelle dicht zusammengehäuft und zwar an der Wandung.

Fig. 11. 360fach. Schlauchstück von *Vaucheria sessilis*, rechts und links durch eine Scheidewand abgeschlossen mit einem Haufen von reifen Dauersporen mit scheinbarer Stachelsculptur. Zwischen ihnen Gruppen der braune Klümpchen darstellenden, vor der Bildung der Sporen zur Ausscheidung gekommenen Chlorophyllreste.

Fig. 12. 690fach. Eine solche Dauerspore mit ihrer dicken Membran und ihrem körnigen Inhalte, im optischen Durchschnitt.

Fig. 13. 690fach. Eine eben solche Spore, die bei der Auskeimung ihren Inhalt in Schwärmsporen zerklüftet hat, ebenfalls im optischen Durchschnitt.

Tafel III.

Fig. 1—3. Woronina glomerata (Cornu) Zopf.

Fig. 1. 690fach. Stück eines Schlauches von *Vaucheria terrestris* mit ausgekeimten Dauersporen der *Woronina glomerata*.

a. Zwei solcher Sporen. Aus dem mit Porus sich öffnenden, netzartig verdicktem Exospor stülpt sich das Endospor blasenartig hervor, und von der Blase aus geht ein halsartiger Entleerungsschlauch nach der *Vaucheria*-Wand hin, diese durchbohrend und an der Spitze sich öffnend. Die aus dem Inhalt der Sporen gebildeten Schwärmer sind bereits ausgeschlüpft.

b. Zwei Dauersporen. Die aus dem Keimporus hervorgestülpten Blasen sind mit einander zu einem hantelförmigen Körper fusionirt. Von der der Spore links angehörenden Blase gehen zwei Entleerungsschläuche nach beiden Seiten hin, von der der Spore rechts angehörenden einer in vertikaler Richtung ab. Letzterer ist daher nur in der Verkürzung (von oben) zu sehen.

c. Zwei in ähnlicher Weise mit ihren Blasen fusionirende Sporen. Von dem Fusionsproduct geht nur ein einziger Entleerungsschlauch ab. Die Schwärmer sind, wie bei b, bereits ausgeschlüpft.

Fig. 2. 690fach. Stück eines Schlauches von *Vaucheria terrestris* mit einem Sorus von Schwärmercysten, von denen alle bis auf eine bereits entleert erscheinen. Die bauchig-flaschenförmigen Entleerungshälse haben die Wirthsmembran durchbohrt.

Fig. 3. 30fach. Schlauchstück derselben Alge mit einem ausgedehnten, zum Theil einseitswendig gelagerten Sorus von Dauersporen der *Woronina glomerata*.

Fig. 4—5. Labyrinthula Cienkowskii Zopf.

Fig. 4. 850fach. Verschiedene Stadien der Auskeimung ein und derselben Ruhecyste zur Amoebe. Die Zahlen bezeichnen die Beobachtungszeiten.

Fig. 5. 850fach. Eine eben solche Cyste vor und während der Auskeimung zur Amoebe (um 12 und um 5 Uhr).

Fig. 6—19. Latrostium comprimens Zopf.

Fig. 6. 200fach. Oogon von *Vaucheria sessilis*, von einem Sporangienpflänzchen des Parasiten (in Profilstellung) befallen. Inhalt des Sporangiums noch nicht in Schwärmer zerklüftet. Bei *m* die gequollene Stelle, wo das Sporangium sich öffnen wird. Oospore zusammengedrückt und der Lage des Sporangiums entsprechend mit muldenförmiger Vertiefung.

Fig. 7. 200fach. Oogon vom Rücken gesehen. Die Oospore ebenfalls von einem halbreifen Sporangienpflänzchen befallen, tief muldenartig eingedrückt. *m* die spätere Mündungsstelle.

Fig. 8. 200fach. Oogon mit einem Sporangiumpflänzchen, dessen halbreifes Sporangium von der Fläche gesehen wird. Das Mycel ist verdeckt.

Fig. 9. 200fach. Oogon mit vier halbreifen Sporangienpflänzchen, welche die Oospore sehr stark zusammengedrückt haben. Die Sporangien bei *a* und *b* sind mehr im Profil, *c* schräg von der Fläche gesehen.

Fig. 10. 200fach. Halbreifes Sporangium im Profil, *m* die der späteren Mündung entsprechende gequollene Membranstelle.

Fig. 11. 200fach. Dasselbe Sporangium 18 Stunden später. Inhalt bereits in Schwärmer umgebildet, die im Begriffe sind auszuschwärmen.

Fig. 12. 610fach. Einzelne Schwärmer aus demselben Sporangium.

Fig. 13. 200fach. Oogon mit einem sporangiumtragenden Pflänzchen. Das Sporangium bereits entleert, bei *m* die Mündung. Oospore stark eingedrückt, im Innern das entwickelte Mycel des Parasiten zeigend.

Fig. 14. 200fach. Oogon von drei Parasiten befallen, von denen der eine *c* sich zum Dauersporenpflänzchen, die beiden anderen *a* und *b* sich zum Sporangienpflänzchen entwickelt haben. *b* ist bereits entleert und wie *a* im Profil gesehen, die Dauersporen in der Flächenstellung.

Fig. 15. 200fach. Oogon mit vier Parasiten, davon nur einer, bei *d*, mit Sporangium, die übrigen mit Dauersporen. Die bei *b* gezeichneten Dauerspore von der Fläche gesehen.

Fig. 16. 200fach. Dasselbe Object in etwas anderer Lage, wo man blofs die drei Dauersporenpflänzchen sieht, das sporangiumtragende liegt auf der Rückseite, verdeckt von der Oospore und den Dauersporen.

Fig. 17. 200fach. Oogon mit drei Dauersporenpflänzchen.

Fig. 18. 450fach. Oogon einer anderen, nicht näher bestimmten *Vaucheria*, vom Rücken gesehen, mit fünf Dauersporenpflänzchen.

Fig. 19. 450fach. Zwei besonders grosse Dauersporen aus einem Oogon derselben *Vaucheria*.

Beiträge zur Kenntniss der Organismen des Saftflusses (sog. Schleimflusses) der Laubbäume.

Von

Dr. Wilhelm Krüger.

I. Ueber einen neuen Pilztypus, repräsentirt durch die Gattung Prototheca *(P. moriformis et P. Zopfii).*

Hierzu Tafel IV.

Mit Hülfe der üblichen Gelatinekultur erhielt ich aus dem Saftflusse einer Linde, den Herr Geh. Rath J. Kühn bei einem Besuche Jena's im Juni des Jahres 1892 aufgenommen und Herrn Prof. W. Zopf zur Untersuchung übergeben hatte, neben Endomyces-, Oidien-, Hefe-, Schimmel- und Spaltpilz-Vegetationen auch sehr zahlreiche Kolonien eines anderen, chlorophyllosen Organismus, welche durch ihre eigenartige maulbeerförmige Gestalt meine Aufmerksamkeit erregten. Da Prof. Zopf das Objekt als neu und in morphologischer Beziehung sehr eigenthümlich erkannte, so erschien es wünschenswerth, dasselbe weiter zu züchten, in Reinkultur festzuhalten und nach der morphologischen wie nach der physiologischen Seite näher zu untersuchen.[1]

Sehr bald kam mir der Gedanke, es möchten auch die Saftflüsse anderer Laubbäume dieselben oder ähnliche Organismen beherbergen, und in der That konnte ich aus Flüssen von Ulmus campestris bei Halle a. S. eine der obigen nahe verwandte Species isoliren. Sie wurde daher gleichfalls in den Kreis der Untersuchungen hineingezogen.

Diese Untersuchungen haben nun die weiter unten näher zu begründende Thatsache ergeben, dass wir es hier mit einem ganz neuen, in dem bisherigen Pilzsystem nicht unterzubringenden Pilztypus zu thun haben, der gleichzeitig eine Parallelgruppe zu einfachsten protococcaceenartigen Algen darstellt.

Für die beiden untersuchten Organismen wurde auf Zopf's Vorschlag die Genusbezeichnung *Prototheca* gewählt. Die im Lindenfluss gefundene Species nannte ich *Pr. moriformis,* die des Ulmenflusses *Pr. Zopfii.*

1) S. eine vorläufige Mittheilung darüber in den Sitzungsberichten der naturforschenden Gesellschaft zu Halle a. S. Sitzung am 5. November 1892. S. 121.

Die morphologischen Eigenschaften der beiden Pilze.

Was zunächst die äussere Form der Kolonien anbetrifft, so erinnert dieselbe bei beiden Pilzen lebhaft an die Sprosskolonien von Saccharomyces- oder Mycoderma-Arten und sonstigen Sprosspilzformen, andererseits auch an manche Spaltpilz-Vegetationen. Auf oder in gewissen Kultursubstraten sehen die Kolonien beider Pilze einander sehr ähnlich, auf gewissen anderen Substraten dagegen zeigen sich deutliche habituelle Differenzen. So entwickeln sich z. B. auf der Oberfläche von gleich zusammengesetzter Zucker- und peptonhaltiger Nährgelatine[1] vom Impfstrich aus die Kolonien der *Pr. moriformis* als ziemlich dicke, milchweisse, glänzende Schleimmassen mit glatten Konturen und glatter zonenloser Oberfläche (Taf. IV, Fig. 1), während die ebenfalls weisslichen Kolonien von *Pr. Zopfii* mehr in Form flacher, halbtrockener, mit scharfem, krenulirtem Rande und concentrischer Zonenbildung versehene Vegetationen auftreten (Taf. IV, Fig. 2). Im Impfstrich der schrägen Oberfläche einer zucker- und peptonhaltigen Agar-Gelatine erwachsenen Kolonien beider Pilze zeigen diese Differenz in minder auffallendem Maasse, denn hier ist *Pr. Zopfii* ebenfalls mehr schleimig. Während auf der angeführten Nährgelatine und dem Nähragar die Pilze gleich gut wachsen, entwickelt sich bei Verwendung von (Hansen's) Bierwürzegelatine *Pr. Zopfii* schneller und üppiger als *Pr. moriformis* und zeigt dabei die oben charakterisirte Form der krenulirten und gezonten Kolonien (Taf. IV, Fig. 2) noch schöner ausgeprägt. Im Allgemeinen ähneln die auf genanntem Nährsubstrat erzogenen Kolonien von *Pr. moriformis* auffällig gewissen schleimbildenden Bakteriaceen. Bei der Zucht in den verschiedensten Nährflüssigkeiten entwickelten beide Pilze bei ruhigem Stehen stets nur Ringvegetation an der Oberfläche und Bodensätze, die besonders bei *Pr. moriformis* stark schleimigen Charakter zeigten; Deckenbildungen (Kahmhäute) dagegen wurden niemals erzeugt.

Im Allgemeinen wachsen beide Arten sowohl in oder auf festen Substraten als in Flüssigkeiten verhältnissmässig langsam, was zum Theil in der später zu besprechenden Fortpflanzungsweise seine Erklärung findet. In Gelatinegusskulturen werden die Kolonien gewöhnlich erst nach 4—5 Tagen dem unbewaffneten Auge sichtbar. Sowohl die auf festem Substrat erzogenen Kolonien als auch in Nährflüssigkeiten entwickelte Massen weisen schleimartige Beschaffenheit auf, die bei *Pr. moriformis* im Allgemeinen noch etwas mehr als bei *Pr. Zopfii* hervortritt.

Unter dem Mikroskop zeigen die innerhalb der Nährgelatine erwachsenen Kolonien bei *Pr. moriformis* Maulbeerform, bei *Pr. Zopfii* ist dieselbe weniger ausgeprägt; an den oberflächlichen Kolonien der ersteren lässt sich ein schmaler schleimiger Saum nachweisen.

---

1) Z. B. Gelatine 10%, Fleischextrakt 1%, Pepton 1%, Traubenzucker 1%, schwach alkalisch durch kohlensaures Natron.

Auf gekochten Mohrrübenscheiben wie auf gekochten Kartoffeln war das Wachsthum gleichfalls ein gutes (doch trat in den Kolonien beider Species keine deutliche Differenz hervor, vielmehr erschienen sie in gleicher Weise schleimig).

Mischt man die Keime jedes Pilzes mit schwach alkalischer, zuckerhaltiger Nährgelatine (wie oben zusammengesetzt) und giesst diese in Schalen aus, so erhält man nach ein paar Tagen im Innern dieses Substrats kleine milchweisse Kolonien von kugeliger Gestalt, während an der Oberfläche, wie zu erwarten, etwas grössere flache Kolonien von ebenfalls milchweisser Färbung entstehen, die bei *Pr. Zopfii* mehr matt, bei *Pr. moriformis* mehr schleimig-glänzend erscheinen.

Bau und Entwickelungsgang beider Species zeichnen sich durch grösste Einfachheit aus. Zunächst sind einfache Zellen vorhanden. Sie treten bei *Pr. moriformis* in ellipsoidischer, seltener kugelrunder, bohnen- oder birnförmiger Gestalt auf (Taf. IV, Fig. 3), bei *Pr. Zopfii* dagegen erscheinen sie fast stets exakt kugelig (Taf. IV, Fig. 9). Der grösste Durchmesser der Zellen von *Pr. moriformis* beträgt etwa 13 μ, während die kugeligen Zellen von *Pr. Zopfii* im Mittel 15 μ messen. Auf den ersten Blick glaubt man Hefezellen vor sich zu haben, so täuschend ähneln die Protothecazellen den Sprossformen der Saccharomyceten und anderen höheren Pilzen. Indessen findet eine vegetative Vermehrung in Form von hefeartiger Sprossung niemals statt.

Die Vermehrung geschieht vielmehr in folgender Weise. Bei günstiger Ernährung vergrössern sich die Zellchen schnell und werden zu Sporangien, indem sich der Inhalt in zwei bis mehrere Tochterzellen umbildet (Taf. IV, Fig. 6 u. 11). Später gelangen dieselben dadurch in Freiheit, dass die Sporangienhaut sich durch einen Riss öffnet (Taf. IV, Fig. 6).

Die herausgetretenen Zellchen, die übrigens unter keiner Bedingung einen Schwärmzustand einzugehen befähigt sind, vergrössern sich alsbald und werden ihrerseits zu Sporangien. Dieser Process wiederholt sich so oft, als das Nährmaterial ausreicht. Ist dasselbe erschöpft, so gehen die Zellchen in eine Art von Dauersporenzustand über, in welchem sie eine dickere Membran und reichen Inhalt zeigen (Taf. IV, Fig. 8 u. 13).

Nachdem so der Gesammtentwickelungsgang in den Hauptzügen scizzirt worden ist, mögen Zellbau und Zellbildung etwas näher behandelt werden. Die Zellen und Sporangien besitzen eine dünne farblose Membran, welche bei starker Vergrösserung eine Differenzirung in zwei Schichten erkennen lässt, eine innere, stärker lichtbrechende, derbere und eine äussere zarte, von sehr schwachem Lichtbrechungsvermögen und mehr schleimigem Charakter. Bezüglich der chemischen Beschaffenheit der inneren Membran existiren nun zwischen *Pr. moriformis* und *Pr. Zopfii* erhebliche Unterschiede, die ich in folgender Tabelle zur Anschauung gebracht habe.

Reagenz	*Prototheca moriformis*	*Prototheca Zopfii*
Chlorjodzink	Membran deutlich violett.	Keine Färbung der Membran.
Jod und Schwefelsäure .	Schwache, aber deutliche Bläuung.	Membran nur gequollen und schwach gelb.
Jod-Jodkalium	Färbt die Membran nicht.	Keine Färbung der Membran, sondern nur Quellung ders.
Kupferoxyd-Ammoniak .	Löst die Membran nicht oder doch nur theilweise.	Keine Lösung sondern nur Quellung der Membran.

Eine Farbstoffspeicherung in der Membran der Protothecaarten trat bei folgenden Farbstoffen in der angegebenen Weise ein:

Methylenblau in Wasser, ebenso M. und Kali . .	Membran schön blau.	Membran schwach blau.
Säurefuchsin	desgl. roth.	desgl. schön roth.
Haematoxylin n. Grenacher	desgl. violett.	M. violett; jüngere Zellen schwach, ältere kräftig.
Gentiana- und Methylviolett	desgl. violett.	M. schön violett.
Congoroth	desgl. schwach rosa.	M. schwach rosa gefärbt.
Dahlia	desgl. violett.	M. violett.

Dagegen wurden Färbungen nicht erhalten durch: Nigrosin, Vesuvin, Bismarckbraun und Corallin.

Aus dieser Uebersicht ergiebt sich, dass die kräftigere Innenlamelle der Membran von *Pr. moriformis* aus echter Cellulose besteht, allerdings aus einer Modification derselben, die in Kupferoxydammoniak unlöslich ist; die Innenlamelle der Membran von *Pr. Zopfii,* die sich mit Chlorzinkjod sowie mit Jod und Schwefelsäure nicht färbt, mehr die Eigenschaft der Pilzcellulose besitzt. Auffällig ist der Umstand, dass bei Behandlung mit Grenacher'schem Haematoxylin sowie mit Dahlia sich die Membran bei *Pr. moriformis* nicht gleichmässig färbt, vielmehr an den genau den beiden Polen entsprechenden Stellen ein kleiner calottenförmiger Theil viel intensivere Färbung annimmt (Taf. IV, Fig. 7). Dieselbe entspricht aber nicht etwa stärker verdickten Stellen, wovon man sich nach dem Sprengen der Haut resp. ihrer Entleerung deutlich überzeugen kann. Die Membran von *Pr. Zopfii* färbt sich an ganz jungen Zuständen mit Haematoxylin gar nicht, wohl aber an etwas älteren, ohne dass an den Polen eine intensivere Nüance dieser Färbung einträte.

Die äussere Membranschicht, die einen schleimigen Charakter besitzt und namentlich bei *Pr. moriformis* stark quellungsfähig ist — daher deren Kolonien fadenziehende Eigenschaft aufweisen — dürfte etwa ähnlich wie bei Leuconostoc aus einem gummi- oder schleimartigen Körper bestehen. Ich habe versucht, diesen Körper nach dem Verfahren, welches Winter[1] zur Gewinnung des Leuconostoc-Gummis (Dextrans) anwandte, aus einer grösseren Menge von *Pr. moriformis* — die ich in einer Lösung von 3% Traubenzucker, 1% Pepton und den nöthigen Nährsalzen gewonnen hatte — zu isoliren, nämlich durch

1) Dissertation Halle 1891: Untersuchungen über das Zuckerrohr.

Auskochen der Pilzmasse mit Barythydrat, Ausfällen des Baryts mit Kohlensäure, Einengen des Filtrats und Fällung mit Alkohol, habe aber ein völlig negatives Resultat erhalten. Jedenfalls darf hiernach angenommen werden, dass die betreffende gummi- oder schleimartige Substanz nicht Dextran ist.

Der Inhalt enthält zunächst ein nicht allzu winziges Körperchen, welches nach Fixirung der Zellen mit Alkohol, Färben mit Haematoxylin und darauffolgendes Auswaschen mit Wasser deutlich blau gefärbt erscheint, also wohl einen Kern darstellen dürfte; er tritt auch nach der Färbung mit Dahlia sehr schön hervor. Wendet man auf die mit absolutem Alkohol ausgewaschenen Zellen Jodjodkalium an, so lassen sich im Inhalt von *Pr. Zopfii* ein bis mehrere eigenthümliche Körper nachweisen, welche sich mit diesem Reagenz deutlich rothbraun resp. bei stärkerer Verdünnung violett färben. Sie haben die Form von rundlichen oder auch unregelmässig eckigen Schollen oder Körnern. Nach ihrer Färbung zu schliessen, stellen sie möglicherweise ein Kohlehydrat dar. Seine Natur wird definitiv nicht eher festgestellt werden können, bis es makrochemisch isolirt und analysirt worden ist.

Ausserdem kommt, zumal in älteren Stadien und unter gewissen Verhältnissen Fett besonders bei *Prototheca Zopfii* (Taf. IV, Fig. 12) in den Zellen vor. Die Fetttropfen lassen sich sowohl an der Braunfärbung mit Osmiumsäure, als an der Rothfärbung mit Alkannatinktur als solche erkennen.

Wie oben bereits angedeutet, entwickelt sich bei passender Ernährung jede Zelle zu einem Sporangium. Es geschieht dies in der Weise, dass die Zelle sich zunächst mehr oder minder stark vergrössert, etwa um das 2—8fache, worauf ihr Inhalt sich theilt. Die Theilungen treten succedan auf, d. h. das Plasma theilt sich zunächst in zwei Hälften, die entweder gleich oder ungleich ausfallen (Taf. IV, Fig. 4a). (In den wie wir sahen ellipsoidischen Zellen der *Pr. moriformis* liegt übrigens die Ebene der ersten Theilung meistens schief zur Längsachse.) Sodann theilt sich jede Plasmahälfte abermals, und zwar liegen diese Theilungsrichtungen bald senkrecht bald schräg zu der ersten. Jedes der vier Theilstücke kann sich unter Umständen abermals theilen und so fort (Taf. IV, Fig. 4 u. 10). Schliesslich umgeben sich die Theilstücke mit zarter Membran. Die ersten Theilungen sind vielfach schwer wahrzunehmen, weil die Theilungslinien äusserst zart sind. Man kann aber auch in solchen Fällen durch Anwendung schwacher Plasmolyse sich sicher von dem obigen Sachverhalt überzeugen. Je nach der Grösse der ursprünglichen Zellen und je nach dem Grade, zu welchem die Theilung fortschreitet, werden in den Sporangien bis 16, selten mehr Sporen erzeugt, meist weniger (Taf. IV, Fig. 5 u. 11), häufig selbst nur zwei (Taf. IV, Fig. 5a).

Nach ihrer Bildung schwellen die Sporen etwas auf und runden sich gegen einander mehr oder minder ab. Infolge jener Vergrösserung wird ein Druck auf die Sporangienwand ausgeübt, der zur Folge hat, dass die Membran schliesslich gesprengt wird. Bei den wie wir sahen

ellipsoidischen Sporangien von *Pr. moriformis* erfolgt die Sprengung im Aequator.

Die Sporen treten jetzt aus, entweder zu maulbeerartigen Gruppen vereinigt, was namentlich bei *Pr. Zopfii* häufig ist (Taf. IV, Fig. 11e) oder auch einzeln resp. zu zwei oder wenigen zusammenhängend. Häufig bleiben in der entleerten Sporangienhaut noch Sporen zurück und entwickeln sich weiter selbst bis zum Sporangium, das sich wiederum entleert, so dass die entleerte Haut des einen die des anderen umschliesst. Solche Fälle, wo ein Sporangium sich in der Haut des Muttersporangiums ausbildet und entleert, findet man besonders häufig bei *Pr. moriformis*. Die entleerten Häute gehen durch einen Vergallertungsprozess allmählich zu Grunde.

Wichtig ist die Thatsache, dass die Sporen niemals Schwärmfähigkeit erlangen.

Die freigewordenen oder auch in der geöffneten Sporangienhaut liegen gebliebenen Sporen entwickeln sich alsbald wiederum zu Sporangien und dieser Prozess wiederholt sich so lange, als Nährstoffzufuhr stattfindet, wobei es gleichgültig ist, ob sie auf der Oberfläche eines festen Substrates oder in Nährflüssigkeiten wachsen. Mit eintretender Erschöpfung des Substrates verlieren die Zellen die Fähigkeit, sich zu Sporangien zu entwickeln. Sie schwellen mehr oder minder auf und werden, wie es scheint, etwas dickwandiger und fettreicher. Solche Zustände darf man vielleicht als Dauerzustände (Dauersporen) ansprechen. Auf oder in ein neues Substrat ausgesät entwickeln sie sich alsbald wieder zu Sporangien.

Nach dieser kurzen Darlegung der Morphologie der Pilze wäre ihre systematische Stellung zu erörtern. Dass es sich um pilzliche Organismen handelt, ist nach dem Dargelegten wohl unzweifelhaft. Allein sie lassen sich weder bei den Phycomyceten noch bei den Mycomyceten unterbringen. Was die letzteren anbetrifft, so finden wir Sporangienbildung nur bei den Ascomyceten. Aber die Sporenbildung im Ascus ist eine ganz andere als bei *Prototheca*, denn deren Sporangieninhalt bildet sich durch succedane Zweitheilung zu Sporen um. Unter den Phycomyceten könnten nur die einfachsten Formen mycelloser Chytridiaceen zum Vergleich herangezogen werden, aber hier entstehen die endogenen Sporen nicht durch succedane, sondern durch simultane Theilung des Sporangieninhalts und werden übrigens in Schwärmerform ausgebildet, was bei Prototheca nicht stattfindet. Es ist daher nicht wohl möglich unter den bis jetzt bekannten Pilztypen für die Protothecaarten einen passenden morphologischen Anschluss zu finden. Sehen wir uns nun nach einem solchen Anschluss bei den Algen um. Da fällt uns sofort eine grosse Aehnlichkeit in die Augen, welche in gestaltlicher und entwickelungsgeschichtlicher Beziehung zwischen Prototheca und gewissen, niedern chlorophyllgrünen Algen und zwar Protococcaceen herrscht. Namentlich frappant ist die Analogie mit solchen Formen wie sie Beyerinck als *Chlorella vulgaris* beschreibt und, wenn wir absehen von der Schwärmerbildung, auch mit *Cystococcus humicola Nägeli* und mit Chlorosphaera

limicola Beyerinck. Ich selbst züchtete neben andern aus den Saftflüssen von Pappeln und Ulmen eine Alge, welche mit Beyerinck's *Chlorella vulgaris* viel Aehnlichkeit hat. Diese meine Species ist bei gewisser Ernährung so arm an Chlorophyll, dass sie bei starker Vergrösserung fast oder ganz farblos erscheint und nur in Menge deutlich grüne Färbung zeigt. Vergleicht man diese Alge genau mit *Prototheca Zopfii*, so kann man bezüglich der Gestalt und Entwickelungsweise keinerlei Differenz erkennen. Wer nicht weiss, dass die Alge wirklich Chlorophyll enthält, würde sie unter dem Mikroskop für eine *Prototheca* halten.[1]

Hiernach dürfte es berechtigt sein, die *Prototheca* als einen besonderen Pilztypus aufzufassen, der morphologisch das Gegenstück zu jenen einfachsten Protococcaceen bildet, sich also zu diesen ähnlich verhält wie die Spaltpilze zu den blaugrünen Algen (Phycochromaceen), wie die Saprolegnien zu den Siphoneen und die Ascomyceten zu den Florideen sich verhalten.

Einige physiologische Eigenschaften der Pilze.

Zunächst wurden die Grenzen der Lebensfähigkeit und die Grenzen der Wachsthumsthätigkeit geprüft. In ersterer Beziehung kamen in Betracht Temperatur und Austrocknung, in letzterer Temperatur und Sauerstoffbedürfniss.

Sodann habe ich die Nährtüchtigkeit gewisser Substanzen als auch den Einfluss der Concentration verschiedener organischer und anorganischer Verbindungen untersucht und endlich mein Augenmerk auf etwa zur Ausscheidung kommende Stoffwechselprodukte gerichtet.

A. Die Grenzen der Lebensfähigkeit.

1. Temperaturgrenzen der Lebensfähigkeit.

α. Obere Temperaturgrenze.

a. Feuchte Wärme. Um die Widerstandsfähigkeit der Pilze gegen feuchte Wärme kennen zu lernen, wurde Reinmaterial der Erwärmung in destillirtem, sterilisirtem Wasser ausgesetzt. Um vergleichbare Resultate zu bekommen, wandte ich das von Liesenberg und Zopf[2] bei Leuconostoc mesenterioides befolgte Verfahren an.

Auf ein Wasserbad wurde ein hohes Becherglas gestellt, dieses mit kaltem Wasser gefüllt und mit Kork verschlossen. Durch die Bohrung des letzteren hing ein Reagirglas, das eine Aufschwemmung der Pilzmasse in etwa 10 ccm sterisirtem Wasser bis zur deutlichen Trübung enthielt, tief ins Wasser hinein. Ein Thermometer war mittelst Wattepfropf in das Reagirgläschen so eingefügt, dass das Quecksilbergefäss ganz in die Flüssigkeit hineinragte. Hierauf wurde allmählich erwärmt und 5 Minuten auf die angegebene Temperatur gehalten. Die Prüfung auf Lebensfähigkeit geschah durch Schalenguss- oder Reagirglasrollkultur mit einem und mehr Tropfen der Aufschwemmung.

1) Näheres über diese Alge findet sich in der folgenden Abhandlung.

2) Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen. Herausgegeben von W. Zopf. Heft I. Leipzig 1892.

Prototheca moriformis.

Versuchsreihe 1. Das benutzte Reinmaterial entstammte einer im besten Wachsthum befindlichen Gelatinestrichkultur, welche 6 Tage alt war.

Versuch 1. Binnen 13 Min. von 15° C. auf **60°** gebracht. Ergebniss: Nach 7 Tagen keine Entwickelung. (Die mikroskopische Untersuchung des erwärmten Materials ergab, dass der Inhalt vieler Zellen coagulirt war.)

Versuch 2. Binnen 11 Min. von 15° auf **54½—55½°** gebracht. Ergebniss: Nach 7 Tagen keine Entwickelung. (Ein Einfluss der Wärme auf die Struktur der Zellen war mikroskopisch nicht mehr wahrnehmbar.)

Versuch 3. Binnen 10 Min. von 15° auf **51—51½°** gebracht. Ergebniss: Nach 7 Tagen sehr spärliche und langsame Entwickelung von Kolonien.

Versuchsreihe 2. Dasselbe Material 8 Tage alt.

Versuch 1. Binnen 8 Min. von 18° C. auf **45—45½°** gebracht. Ergebniss: Nach 5 Tagen zahllose Kolonien.

Versuch 2. Binnen 8 Min. von 18° C. auf **47—47½°** gebracht. Ergebniss: desgl.

Versuchsreihe 3. Material wie vorhin, 12 Tage alt.

Versuch 1. Binnen 10 Min. von 17° C. auf **48—48½°** gebracht. Ergebniss: Nach 6 Tagen reichliche Kolonienbildung.

Versuch 2. Binnen 10 Min. von 17° C. auf **49—49½°** gebracht. Ergebniss: desgl.

Versuch 3. Binnen 9 Min. von 17° C. auf **50—50½°** gebracht. Ergebniss: desgl.

Versuchsreihe 4. Material wie vorhin, 39 Tage alt.

Versuch 1. Binnen 11 Min. von 19° C. auf 52° gebracht. Ergebniss: Nach 14 Tagen vereinzelte Kolonien.

Versuch 2. Binnen 10 Min. von 19° C. auf 53° gebracht. Ergebniss: desgl. keine Entwickelung.

Die obere Grenze der Lebensfähigkeit liegt mithin für *Prototheca moriformis* unter den obigen Bedingungen zwischen **52** und **53°** C.

Prototheca Zopfii.

Material wie bei *Pr. moriformis.*

Alter der Kultur. Tage	Dauer der Anwärmung. Minuten	Temperatur. °	Ergebniss der Kultur:
		Versuchsreihe 1	
9	13	53—53½	Keine Entwickelung
9	13	50—50½	desgl.
48	12	45	Zahlreiche Kolonien
56	10	40	desgl.
57	11	47	Keine Entwickelung
		Versuchsreihe 2	
21	14	45	Zahlreiche Kolonien
21	13	46	Keine Entwickelung.

Die obere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit bei Anwendung feuchter Wärme liegt demnach unter obigen Bedingungen für *Prototheca Zopfii* zwischen **45—46°** C. *Pr. Zopfii* ist mithin gegen höhere

feuchte Wärme erheblich empfindlicher als *Pr. moriformis*, die, wie wir sahen, erst bei **52—53°** C. abstirbt.

b. Trockene Wärme. Bei der Prüfung des Einflusses trockener Wärme wurde gleichfalls das von Liesenberg und Zopf für Leuconostoc befolgte Verfahren in Anwendung gebracht.

Ein wie bei den vorhergehenden Versuchen gewonnenes Reinmaterial wurde mit Hülfe eines Deckglases in dünner, möglichst gleichmässiger Schicht auf einige Centimeter lange Glimmerblättchen ausgestrichen und nach dem Trocknen an der Luft im Trockenschrank resp. Wasserbad allmählich auf die gewünschte Temperatur gebracht und 5 Minuten darauf gehalten. Das Glimmerblättchen wurde an einem Thermometer mittelst Faden so befestigt, dass es in gleicher Höhe mit dem Quecksibergefäss hing, sodann wurde das Thermometer mittelst Wattepfropfs in ein vollkommen trockenes Reagirglas eingefügt und dieses wiederum mittelst Watte in einer der oberen Oeffnungen eines doppelwandigen mit Asbest belegten Trockenschrankes befestigt, so dass dasselbe frei in den Trockenraum hineinhing. Oder es wurde ganz wie im vorigen Versuch die Erwärmung auf dem Wasserbade vorgenommen, da sich bald herausstellte, dass die Abtödtungsgrenze dieser Organismen im trockenen Zustande weit unter dem Siedepunkte des Wassers gelegen ist. Die Prüfung auf Lebensfähigkeit geschah wie vorhin.

Prototheca moriformis.

Versuchsreihe 1.

Versuch 1. Binnen 26 Minuten von 22° C. auf **110°** gebracht. Material 8 Tage alt. Ergebniss: Nach 5 Tagen keine Entwickelung.
Versuch 2. Binnen 10 Minuten von 25° C. auf **105°** gebracht. Material 12 Tage alt. Ergebniss: Keine Entwickelung.
Versuch 3. Binnen 14 Minuten von 25° C. auf **100°** gebracht. Material 12 Tage alt. Ergebniss: desgl.
Versuch 4. Binnen 15 Minuten von $21^1/_2$° bis auf **95—96°** C. gebracht. Material 46 Tage alt. Ergebniss: Keine Entwickelung.

Versuchsreihe 2. Alter des Materials 20 Tage, Zimmertemperatur 19° C.

Versuch 1. Binnen 14 Minuten auf **65°** C. gebracht. Ergebniss: Zahlreiche Kolonien.
Versuch 2. Binnen 16 Minuten auf **70°** C. gebracht. Ergebniss: desgl.
Versuch 3. Binnen 19 Minuten auf **75°** C. gebracht. Ergebniss: Kolonien weniger zahlreich und Entwickelung weniger schnell.
Versuch 4. Binnen 21 Minuten auf **80°** C. gebracht. Ergebniss: Ebenso.

Versuchsreihe 3. Alter des Materials 37 Tage.

Versuch 1. Binnen 22 Minuten auf **85°** gebracht. Ergebniss: Nach 15 Tagen Kolonien wenig zahlreich.
Versuch 2. Binnen 23 Minuten auf **90°** gebracht. Ergebniss: Keine Entwickelung.

Die obere Temperaturgrenze bei Anwendung trockener Wärme liegt also für viele Zellen aus älteren Kulturen von *Pr. moriformis* zwischen **85** und **90°** C.; für viele Zellen aus jüngeren Kulturen zwischen **70** und **75°**.

Prototheca Zopfii.

Versuchsreihe 1. Alter der Kultur 20 Tage, Zimmertemperatur 19°.

Versuch 1. Binnen 13 Minuten auf **65°** gebracht. Ergebniss: Nach 11 Tagen eine nicht sehr reichliche Entwickelung.
Versuch 2. Binnen 16 Minuten auf **70°** gebracht. Ergebniss: Keine Entwickelung.

Versuchsreihe 2. Alter der Kultur 38 Tage, Zimmertemperatur 20°.

Versuch 1.	Binnen 16 Minuten auf **69°** C. gebracht.	Ergebniss:	Nach 14 Tagen keine Entwickelung.
Versuch 2.	Binnen 14 Minuten auf **68°** C. gebracht.	Ergebniss:	desgl.
Versuch 3.	Binnen 15 Minuten auf **67°** C. gebracht.	Ergebniss:	desgl.
Versuch 4.	Binnen 13 Minuten auf **66°** C. gebracht.	Ergebniss:	desgl.

Die obere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit bei Anwendung trockener Wärme liegt also für *Pr. Zopfii* zwischen **65—66°** C. *Pr. Zopfii* ist also auch gegen höhere Grade trockener Wärme empfindlicher als *Pr. moriformis.*

β. Untere Temperaturgrenze.

Fein vertheilt an die Wand eines sterilisirten Reagirglases ausgestrichenes Material wurde während 4 Stunden einer höheren Kälte, wie sie bei der Verdunstung fester Kohlensäure entsteht, ausgesetzt, indem die möglich engen Gläschen nebst einem mit Chloroform versehenen, in welchem letzteres während der Versuchsdauer stets gefroren blieb, in die mit Aether übergossene Kohlensäure eingesetzt wurden.

Das Alter des verwandten Materials war bei:

Prototheca moriformis 17 Tage
Prototheca Zopfii 79 „

Nach Beendigung des Versuchs wurde das Material mit 3 Tropfen sterilisirtem Wasser losgeweicht und das Ganze auf Gelatine zu einer Schalengusskultur verimpft. Das Ergebniss der beiden untersuchten Species gestaltete sich danach wie folgt:

Pr. moriformis:	Nur vereinzelte Kolonien, trotzdem die Kultur 1 Monat bewahrt wurde.
Pr. Zopfii:	Ueberreichliche Kolonienbildung in wenigen Tagen.

Dieses Ergebniss legte die Vermuthung nahe, dass das Alter der Kulturen auf jenes von Einfluss gewesen sei, zumal da, wie wir gesehen haben, in älteren Kulturen Dauerzustände auftreten. Es ist daher dieser Versuch auch mit älterem Material von *Pr. moriformis* und jüngerem von *Pr. Zopfii* bei der Ausführung eines Gefrierversuchs mit den nachstehend behandelten Algen wiederholt. Nämlich Alter des Materials bei

Pr. moriformis 188 Tage.
Pr. Zopfii 12 „

Das Resultat dieses Versuches war in beiden Fällen ziemlich reichliche Entwickelung.

Wenn wir die Ergebnisse der vorstehenden Versuche über die Temperaturgrenzen der Lebensfähigkeit der untersuchten Pilze in übersichtlicher Weise anordnen, so ergiebt sich Folgendes:

Es liegt:		Bei Anwendung feuchter Wärme	Bei Anwendung trockener Wärme
Die obere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit für	*Prototheca moriformis*	bei 52—53°	70—75 (85—90°)
	Prototheca Zopfii	bei 45—46°	65—66°
Die untere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit für	*Prototheca moriformis*	bei —83 (4stündige Dauer) nicht erreicht.	
	Prototheca Zopfii	desgl.	

2. Die Grenzen der Lebensfähigkeit in Bezug auf Austrocknung.

Sterilisirte Objektgläser wurden entweder mit Hülfe eines Deckglases theilweise mit einer dünnen Schicht des Reinmaterials bestrichen (a) oder es wurden dieselben mit einem Tropfen des in Wasser fein vertheilten Materials versehen (b) und dann in beiden Fällen nach dem Eintrocknen an der Luft in einen Schwefelsäureexsiccator gebracht. Von Zeit zu Zeit wurde nach Abweichung des Materials mit ein wenig sterilisirtem Wasser auf Lebensfähigkeit geprüft. Das Ergebniss war folgendes.

Prototheca moriformis.

Versuchsreihe 1. Das Material wie vorhin gewonnen war 11 Tage alt.

7 Tage getrocknet	a	Nach 5 Tagen eine Anzahl Kolonien, doch eine verhältnissmässig nicht zahlreiche Entwickelung.
	b	desgl. Keine Entwickelung.
14 Tage getrocknet	a	Nach 7 Tagen verhältnissmässig schwache Entwickelung.
	b	desgl. Keine Entwickelung aus dem Material zweier Objektträger.
25 Tage getrocknet	a	Aus zwei Objektträgern wie vorhin.
	b	—
$2^1/_2$ Monat getrocknet	a	Aus zwei Objektträgern wie oben.
	b	—
3 Monate getrocknet	a	degl.
	b	—
6 Monate getrocknet	a	Keine Entwickelung.
	b	—

Versuchsreihe 2. Nur Versuche in der nach b ausgeführten Weise. Material 30 Tage alt.

1 Tag getrocknet: Reichliche Kolonienbildung.
2 Tage „ : Kolonienbildung merklich weniger reichlich.
4 „ „ : Kolonienbildung bedeutend vermindert.

Am 5. und 6. Tage war die Entwickelung noch mehr verringert, so dass am 7. Tage nur noch vereinzelte Kolonien zur Entfaltung gelangten und am 8. Tage das Material gänzlich abgetödtet war.

Pr. Zopfii.

Diese Art zeigte sich noch weit empfindlicher gegen Austrocknung als die vorige, denn 20 Tage altes Material, mittelst Wassertropfen auf Objektträger gebracht (b), hatte schon nach 3 Tagen seine Lebensfähigkeit verloren.

B. Die Grenzen der Wachsthumsthätigkeit.

1. Temperaturgrenzen der Wachsthumsthätigkeit.

Als Nährboden für diese Versuche diente eine wie folgt zusammengesetzte Agar-Agarnährgelatine:

Agar-Agar 1 %. Traubenzucker 1 %. Fleischextrakt 1 %.
Gelatine 1 %. Pepton 1 %.

Die auf schräger Fläche mit lebenskräftigem und gleichaltrigem Material geimpften Gläschen wurden theils im Brütschrank theils im Zimmer bei den angegebenen Temperaturen gehalten und in ihrer Entwickelung beobachtet und verglichen.

Prototheca moriformis.

Versuchsreihe 1.

Temperatur	Art der Entwickelung
32° C.	Nach 4 Tagen (15—19/9 92) Entwickelung besser als bei Zimmertemperatur.
35° C.	Nach 4 Tagen (von 21/7—25/7 92) deutliche Entwickelung.
36—38°	Nach 4 Tagen (29/9—3/10 92) schwache Entwickelung, jedoch weit geringer als bei gewöhnlicher Temperatur.
39—40°	Nach 6 Tagen (20—26/9 92) keine Entwickelung.
	Versuchsreihe 2.
30—31°	Nach 4 Tagen bedeutend bessere Entwickelung als bei Zimmertemperatur (15°).
25°	Entwickelung nach 4 Tagen reichlicher als bei Zimmertemperatur (17° C.), doch weniger reichlich als bei 31° (29/5—2/6 93).
27°	Entwickelung nach 4 Tagen reichlicher als bei Zimmertemperatur (20°).
29—30°	Entwickelung nach 4 Tagen bedeutend reichlicher als bei Zimmertemperatur (20—21°).

Pr. Zopfii.

30—31°	Keine Entwickelung nach 8 Tagen.
25°	Entwickelung reichlicher als bei gewöhnlicher Temperatur (17°).
27°	Entwickelung wie bei Zimmertemperatur (20°).
29—30°	Entwickelung nach 4 Tagen geringer als bei Zimmertemperatur (20—21°).

Kulturen im Eisschrank bei 5—6° C. kamen bei beiden Species nicht zur Entwickelung, doch trat letztere im schwachen Maasse ein bei 10° C.

Demnach liegt:

	für *Pr. moriformis*	für *Pr. Zopfii*
das Minimum	bei 6—10°	bei 6—10°
„ Optimum	„ 29—31° C.	„ ca. 25° C.
„ Maximum	„ ca. 38° „	„ „ 30° „

Optimum und Maximum liegen also bei *Pr. moriformis* wesentlich höher, als bei *Pr. Zopfii.*

2. Wachsthumsthätigkeit in Beziehung zum Sauerstoff.

In den beiden vorliegenden Prototheca-Arten haben wir es mit Organismen zu thun, die ein ausgesprochenes Luftbedürfniss zeigen. Stichkulturen in Reagirgläschen mit etwa 10 ccm Gelatine geben daher nur an der Mündung des Stiches eine üppige Entwickelung und hört das anfängliche schwache Wachsthum in grösserer Tiefe bald auf. Dasselbe ergiebt sich aus folgendem Versuche. Bringt man in flüssig gemachte Gelatine aus einer Reinkultur einer Prototheca-Art das nöthige (aber nicht übermässig) Material, mischt es gut mit derselben und lässt schnell erkalten, so findet kaum eine oder nur geringe, kurzbemessene Entwickelung von Kolonien in den tieferen Schichten der Gelatine statt, sondern dieselbe beschränkt sich vielmehr auf die Oberfläche und auf einen ca. 1 mm breiten Ring unter derselben.

C. Ernährungsversuche.

1. Art der nährenden Substanzen.

Es wurde geprüft, aus welchen der gewöhnlichen Stickstoff- und Kohlenstoffverbindungen die Pilze ihren Stickstoff und Kohlenstoffbedarf decken können.

a. Kohlenstoffquellen.

Eine durch kohlensaures Natron schwach alkalisch gemachte Pepton- und Nährsalzlösung folgender Zusammensetzung:

Pepton 1 %
Nährsalze: 0,2 % PO^4H^2K, 0,04 „ SO^4Mg, 0,02 „ $CaCl^2$

erhielt einen entsprechenden Zusatz von stickstofffreien Kohlenstoffverbindungen, meist der Gruppe der Kohlehydrate angehörend.

Prototheca moriformis.

Nach Impfung mit Material aus einer 22 Tage alten Kultur blieben die Lösungen 18 Tage (8.—26. Juli 92) bei Zimmertemperatur. Das Ergebniss war folgendes:

1. Kontrollversuch. Ohne Zusatz einer stickstofffreien Kohlenstoffverbindung. Keine merkliche Entwickelung.
2. Traubenzucker 1 %. Reichliche Entwickelung in Form eines zusammenhängenden, schleimigen Bodensatzes. Zellen gross. Kräftige Säuerung.[1]
3. Galactose 1 %. Entwickelung sehr reichlich. Zellen von mittlerer Grösse. Keine Säuerung.
4. Rohrzucker 3 %. Augenscheinlich keine Entwickelung.
5. Milchzucker 1 %. Vermehrung vorhanden, aber nicht überaus reichlich. Zellen mittelgross. Keine Säuerung.

1) Der Nachweis der Säuerung ist hier wie in allen folgenden Fällen durch Zusatz von Lackmustinktur bei Abschluss der Versuche geführt.

6. Maltose 1 %. Vermehrung wie beim Milchzucker. Zellen klein bis mittelgross. Keine Säuerung.
7. Dextrin 1 %. Vermehrung vorhanden, aber nicht besonders reichlich. Zellen mittelgross. Keine Säuerung.
8. Inulin 1 %. Augenscheinlich keine Entwickelung.
9. Glycerin 3 %. Reichliche Entwickelung, ähnlich wie beim Traubenzucker und bei der Galactose. Zellen von mittlerer Grösse in lebhafter Vermehrung. Keine Säuerung.
10. Mannit 1 %. Augenscheinlich keine Entwickelung.
11. Erythrit 1 %. Augenscheinlich keine Entwickelung.

Prototheca Zopfii.

Die Impfung der Lösungen geschah mit Material einer 13 Tage alten Kultur. Das Ergebniss der Kulturen war beim Abschluss nach 62 Tagen (v. 2./12. 92—2./2. 93) wie folgt:

1. Kontrollversuch. Ohne Zusatz einer stickstofffreien Kohlenstoffverbindung. Augenscheinlich keine Entwickelung. (Zellen bis 8 μ.) Keine Säuerung.
2. Traubenzucker 1 %. Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ. Säuerung.
3. Galactose 1 %. Entwickelung gut. Grösse der Zellen bis 13 μ., mässig fettreich. Säuerung.
4. Rohrzucker 1 %. Augenscheinlich keine Entwickelung. (Zellen klein bis 8 μ.)
5. Milchzucker 1 %. Entwickelung vorhanden, aber schwach. Zellen mittelgross bis 11 μ. Keine Säuerung.
6. Maltose 1 %. Entwickelung vorhanden, aber mässig. Grösse der Zellen bis 11 μ. Säuerung zweifelhaft.
7. Dextrin 1 %. Entwickelung schwach. Grösse der Zellen bis 11 μ. Keine Säuerung.
8. Inulin 1 %. Augenscheinlich keine Entwickelung. Keine Säuerung. Zellen bis 8 μ.
9. Mannit 1 %. Augenscheinlich keine Entwickelung. Zellen klein, bis 8 μ. Keine Säuerung.
10. Glycerin 1 %. Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ., theils fettreich, theils mit sehr granulosem Inhalt. Keine Säuerung.

Aus diesen Versuchen folgt: erstens, dass Pepton nicht als Kohlenstoffquelle dienen kann; zweitens, dass von den angeführten Kohlehydraten und mehrwerthigen Alkoholen nur Traubenzucker, Galactose, Milchzucker, Maltose, Dextrin und Glycerin ernährend wirken, und zwar Traubenzucker, Galactose und Glycerin mit günstigstem Erfolg; drittens, dass Säuerung nur in Traubenzucker- (u. Galactose) lösung eintritt; viertens, dass gutnährende Verbindungen Bildung grösserer Zellen resp. Sporangien bewirken.

b. Stickstoffquellen.

Einer Lösung von Nährsalzen und Traubenzucker

Traubenzucker 1 %
Nährsalze { 0,2 % PO^4K^2H ; 0,04 „ SO^4Mg ; 0,02 „ $CaCl^2$

die mit Natriumkarbonat eine schwach alkalische Reaction erhielt, wurden die zu prüfenden Stickstoffverbindungen beigegeben.

Prototheca moriformis.

Die Impfung geschah mit Material aus einer 22 Tage alten lebenskräftigen Kultur am 8. Juli 92. Die Züchtung bei Zimmertemperatur ergab als Resultat am 26./7., also nach 18 Tagen, Folgendes:

1. Kontrollversuch. Ohne Zusatz einer Stickstoffverbindung. Gute Entwickelung mit deutlich ausgesprochen schleimigem Charakter, jedoch keine Säuerung der Flüssigkeit. Zellen sehr klein, bis 5 μ. im grössten Durchmesser.[1]
2. Asparagin $^1/_2$ %. Gute Entwickelung in obiger Weise, nach einigen Tagen (15./7.) deutliche, bis zum Abschluss der Versuche bleibende, kräftige Säuerung. Zellen gross, bis 15 μ.
3. Weinsaures Ammoniak $^1/_2$ %. Gute Entwickelung, wie vorhin. Schwache Säuerung. Zellen gross, bis 15 μ.
4. Salpetersaures Natron $^1/_2$ %. Entwickelung gut, wie vorhin, jedoch ohne Säuerung. Zellengrösse wie beim Versuche ohne Stickstoff.
5. Kohlensaures Ammoniak 1 % einer offic. Lösung. Entwickelung schwach. Zellengrösse wie ohne Stickstoff. Zellen vielfach mit coagulirtem Inhalt.

Prototheca Zopfii.

Die schwach alkalische Grundlösung enthielt 1 % Traubenzucker

und Nährsalze = { 0,2 % PO^4K^2H ; 0,04 „ SO^4Mg ; 0,02 „ $CaCl$

Geimpft wurde mit einer 13 Tage alten Kultur. Das Ergebniss der bei Zimmertemperatur gehaltenen Versuche war nach 62 Tagen (2./12. 92—2./2. 93) folgendes:

1. Kontrollversuch. Ohne Zusatz einer Stickstoffverbindung. Vermehrung mittelmässig bis gut. Zellen klein, bis 9 μ. Inhalt sehr fettreich, meist ein grösserer und mehrere kleine Fetttropfen in einer Zelle. Später Säuerung.

---

1) Leider wurden bei der vorhergehenden Versuchsreihe mit *Pr. moriformis* keine Messungen vorgenommen. Hier wie auch weiterhin beziehen sich dieselben auf die grössten in den untersuchten Präparaten vorgefundenen Zellen resp. Sporangien.

2. Pepton 1 %. Vermehrung mittelmässig bis gut. Grösse der Zellen bis 13 μ. Säuerung.
3. Asparagin $^1/_2$ %. Entwickelung gut. Zellen bis 20 μ., also von beträchtlicher Grösse. Säuerung.
4. Weinsaures Ammoniak $^1/_4$ %. Entwickelung gut. Zellen ebenfalls bis 20 μ. Säuerung.
5. Salpetersaures Ammoniak $^1/_4$ %. Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ. Säuerung.
6. Salpetersaures Kali $^1/_4$ %. Entwickelung und mikroskopischer Befund ganz den Kulturen ohne Stickstoffgaben entsprechend. Auch hier war beim Abschluss des Versuchs wie dort noch keine Säuerung eingetreten, doch wurde dieselbe später bei länger bewahrten Kulturen bemerkt.
7. Schwefelsaures Ammoniak $^1/_4$ %. Entwickelung gut. Zellen ebenfalls gross, bis 20 μ. Säuerung.

Nachträglich wurde mit *Prototheca moriformis* auch noch eine andere Versuchsreihe angestellt, welche der eben für *Pr. Zopfii* angegebenen in allen Punkten entsprach. Das Resultat war folgendes:

1. Kontrollversuch. Entwickelung ziemlich gut. Zellen klein, jedoch ohne Fetttropfen. Keine Säuerung.
2. Pepton 1 %. Entwickelung sehr reichlich. Zellen gross. Säuerung.
3. Weinsaures Ammoniak $^1/_4$ %. Entwickelung mässig. Zellen gross. Säuerung.
4. Salpetersaures Ammoniak $^1/_4$ %. Entwickelung mässig, ähnlich wie beim weinsauren Ammoniak. Zellen gross. Säuerung.
5. Schwefelsaures Ammoniak $^1/_4$ % desgl.
6. Salpetersaures Kali $^1/_4$ %. Wie ohne Verabreichung von Stickstoff, d. h. Entwickelung ziemlich reichlich; Zellen klein und keine Säuerung.

Ziehen wir nun die Schlüsse aus diesen Versuchen, so ist zunächst hervorzuheben, dass eine ziemlich gute Entwickelung selbst ohne Verabreichung von Stickstoffverbindungen erfolgt, es ist daher höchst wahrscheinlich, dass der Stickstoff aus der Atmosphäre genommen wird. Nähere Prüfungen dieses Punktes wurden nicht ausgeführt. Fasst man neben der Quantität aber auch die Qualität der Zellen ins Auge, so ist diese jedenfalls eine andere, wenn Pepton, Asparagin, weinsaures, salpetersaures und schwefelsaures Ammoniak zur Verwendung kommen, als wenn Stickstoffzusatz fehlt oder der Stickstoff in Salzen nur in Form von Salpetersäure verabreicht wird, denn erstens werden die Zellen grösser und zweitens zeigen sie eine andere Inhaltsbeschaffenheit.

2. Einfluss der Concentration verschiedener nährender Verbindungen auf das Wachsthum der Prototheca-Arten.

Prototheca moriformis.

Als Grundlösung diente:

Asparagin $^1/_2$ %
Fleischextrakt $^1/_2$ %,

die durch kohlensaures Natron schwach alkalisch gemacht und filtrirt wurde. Nach Zusatz der entsprechenden Menge der zu prüfenden Substanzen in prozentischer Steigerung wurde die Lösung in je 4 Reagirgläser mit je 10 ccm gefüllt und nach der Sterilisation mit einer halben Platinöse voll des 46 Tage alten Materials geimpft. Versuchsdauer vom 25./8. bis 19./9., also 25 Tage. Temperatur: Zimmertemperatur. Untersuchung auf Reinheit und Beschaffenheit der Kulturen durch mikroskopische Prüfung. Während wir bei den Versuchen unter 1 mit *Pr. moriformis* die Flüssigkeiten wiederholt schüttelten, unterblieb dies bei dieser und der folgenden Versuchsreihe. Es bildeten sich dann im Falle der Entwickelung weisse schleimige Ringe am Rande der Flüssigkeit und auf der unteren Seite der schräg gelegten Gläser schleimige Anflüge, die sich nach und nach an der tiefsten Stelle des Glases zu compakteren Massen häuften. Den Befund der Versuche beim Abschluss derselben findet man in folgender Tabelle zusammengestellt.

Substanz	10 %	20 %	30 %
Traubenzucker	Entwickelung gut. Zellen mässig gross, 13 μ. Schwache Säuerung.	Entwickelung mässig. Zellen mittelgross, 10 μ. Keine Säuerung.	Entwickelung sehr gering. Zellen klein, 7 μ. Inhalt vielfach coagulirt. Keine Säuerung.
Milchzucker	Entwickelung und Zellbildung gut. Zellen bis 15 μ. Keine Säuerung.	Entwickelung etwas geringer. Zellen mittelmässig gross, bis 12 μ. Keine Säuerung.	Entwickelung sehr gering. Zellen klein, 7 μ. Keine Säuerung.
Dextrin	Entwickelung gut. Keine Säuerung. Zellbildung kräftig, bis 14—15 μ.	Entwickelung und Zellbildung mittelmässig. Zellen bis 12 μ. Keine Säuerung.	Entwickelung schwach. Zellen etwas kleiner, bis 9 μ. Keine Säuerung.
Glycerin	Entwickelung gering. Keine Säuerung. Zellen mittelgross, bis 11 μ.	Entwickelung zweifelhaft. Zellen klein, 7 μ. Vielfach mit coagulirtem Inhalt; später fast alles abgestorben.	—

Prototheca Zopfii.

Diese Art ist nach dieser Richtung hin etwas eingehender geprüft, und zwar sind hier nicht allein einige nährende Kohlenstoffverbindungen, sondern auch Stickstoffverbindungen und ein Nährsalzgemisch geprüft

worden. Das Alter der Kultur, welche zur Impfung verwandt wurde, betrug 30 Tage. Die Versuche dauerten 60 Tage, nämlich vom 31./1. bis 31./3. 93. Die schwach alkalisch gemachte Grundlösung enthielt:

Pepton 1 %
Nährsalze { 0,2 % PO^4K^2H ; 0,04 „ SO^4Mg ; 0,02 „ $CaCl^2$

a. Stickstofffreie Verbindungen.

Substanz	10 %	20 %	30 %
Traubenzucker	Entwickelung mässig. Zellen gut entwickelt, normal, bis 13 μ.	Entwickelung sehr gering. Zellen kleiner, bis 9 μ.	Entwickelung sehr gering oder = 0. Zellen klein bis 8 μ., fettreich.
Milchzucker	Entwickelung gering. Ausbildung der Zellen mässig, bis 9 μ. Inhalt körnig.	Entwickelung sehr gering. Zellen wie vorhin. Inhalt theils fettreich, theils körnig.	Keine Entwickelung. Zellen sehr fettreich, durchgängig kleiner.
Dextrin	Entwickelung mässig-gut. Zellen gut entwickelt, 13—14 μ. Inhalt körnig.	Entwickelung mässig. Zellen im allgemeinen etwas kleiner, bis 12 μ.	Entwickelung gering. Zellen theils oberflächlich schwimmend, bis 12 μ. Inhalt körnig, vakuolenhaltig.
Glycerin	Entwickelung mässig. Zellen kräftig und gut entwickelt, bis 16 μ.	Entwickelung gering. Zellen etwas kleiner, bis 13 μ., theils fettreich.	Keine Entwickelung. Zellen klein, bis 9 μ., fettreich.

b. Stickstoffhaltige Verbindungen.

Hier diente als schwach alkalisch gemachte Grundlösung:

Traubenzucker 1 %
Nährsalze { 0,2 % PO^4K^2H ; 0,04 „ SO^4Mg ; 0,02 „ $CaCl^2$

Substanz	1 %	2½ %	5 %
Asparagin	Entwickelung gut. Zellbildung sehr üppig. 20—24 μ. Inhalt gleichmässig gekörnt. Säuerung.	Wie bei 1 % Asparagin.	Entwickelung weniger reichlich. Zellen im allgemeinen etwas kleiner. Säuerung.
Weinsaures Ammoniak	Entwickelung mässig. Zellen gross, 17 bis 20 μ., theils mit Fetttropfen. Säuerung.	Entwickelung noch etwas geringer. Zellbildung wie vorhin. Säuerung.	Entwickelung sehr gering. Zellen etwas kleiner, bis 16 μ., sonst wie vorhin. Säuerung schwach.

Substanz	1 %	2½ %	5 %
Salpetersaures Ammoniak	Entwickelung mässig. Zellen gross, bis 20 μ. Säuerung.	Entwickelung gering. Zellen etwas kleiner, sonst wie vorhin.	Entwickelung äusserst gering oder Null. Zellen kleiner, bis 13 μ., fettreich.
Schwefelsaures Ammoniak	Entwickelung gut. Zellen üppig, 20 bis 21 μ.	Entwickelung mässig. Zellen etwas kleiner, 18—19 μ., sonst wie vorhin.	Entwickelung gering, sonst wie vorhin.

c. Nährsalze.

Als Grundlösung diente:

1 % Pepton
1 % Traubenzucker.

Nährsalzgemisch[1]	Entwickelung gut. Zellbildung gut, 16 μ.	Entwickelung geringer. Zellen etwas kleiner, 13 μ.	Entwickelung sehr gering. Zellen klein, 9 μ., fettreich.

Aus diesen Versuchen ergiebt sich also, dass mit zunehmender Concentration der nährenden Verbindungen die Grösse der Zellen resp. Sporangien abnimmt und dass die Säuerung, wo solche überhaupt aufzutreten pflegt, unterbleibt. Ferner hat sich gezeigt, dass die Concentrationsgrenze hinsichtlich des Wachsthums gegenüber anderen Pilzen, insbesondere dem Hormodendron Hordei Bruhne[2] ziemlich niedrig gelegen ist, denn dieselbe ist für Glycerin schon etwa mit 20 %, für Traubenzucker, Milckzucker und Dextrin mit 30 %, für Asparagin, weinsaures, salpetersaures und schwefelsaures Ammoniak schon etwa mit 5 % erreicht.

3. Einfluss der Concentration verschiedener anorganischer Salze auf das Wachsthum, ohne Rücksicht auf ihren Nährwerth.

Prototheca moriformis.

Die Nährlösung enthielt:

½ % Asparagin
1 % Traubenzucker
½ % Fleischextrakt.

Reaktion der filtrirten Lösung schwach alkalisch. Für jeden Versuch dienten 3 Reagirgläschen mit je 10 ccm der entsprechenden Lösung. Material, Impfung, Temperatur, Versuchsdauer und Untersuchung wie unter 1 bei *Pr. moriformis*. Ueber das Ergebniss dieser Versuchsreihe giebt nachstehende Tabelle Aufschluss.

---

1) In dem sonst zur Anwendung gekommenen Verhältniss. Die Lösung wurde nicht neutralisirt.

2) S. Abhandlung I d. Heftes.

Substanz	1 %	5 %	10 %
ClK	Säuerung. Entwickelung reichlich. Ausbildung der Zellen normal und kräftig, 13—15 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung weniger reichlich. Zellen wie vorhin. Später (nach 4 Monaten[1]) ganz schwache Säuerung.	Keine Säuerung. Entwickelung zweifelhaft oder = 0. Zellen klein, 5 μ. Inhalt coagulirt.
ClNa	Säuerung. Entwickelung wie oben beim ClK, nur etwas weniger reichlich. Zellen mehr zusammenhaltend (Pleurococcus artig), 13—15 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung sehr gering oder = 0. Fast nur grössere und kleinere Dauerzustände, neben wenig kleinen vegetativen Zellen.	Keine Säuerung. Keine Entwickelung. Nur vereinzelte Zellen noch vorhanden, sonst grösstentheils abgestorben. Später alle Zellen vollständig zerfallen.
$ClNH^4$	Entwickelung mässig, nicht ganz so reichlich wie beim ClK, sonst wie dort, 13—15 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung gering oder = 0. Zellen klein, vielfach mit coagulirtem Inhalt, 5 μ.	Keine Säuerung. Keine Entwickelung, nur kleine Zellen mit coagulirtem Inhalt.
ClMg	Säuerung und Entwickelung kräftig, sonst wie beim ClK. Zellen 13 μ.	Entwickelung und Säuerung schwächer, doch gut, sonst wie vorhin, nur Zellen etwas kleiner, mittelgross, 9 μ.	Keine Säuerung und Entwickelung. Zellinhalt theils coagulirt. Zellen mittelgross.
Cl^2Ca	Entwickelung und Säuerung wie beim Cl^2Mg. Zellen 13 μ.	Keine Säuerung (später schwach). Entwickelung gering. Zellen klein bis mittelgross, 6—7 μ.	Keine Säuerung. Keine Entwickelung. Zellen deutlich abgestorben oder mit glänzendem, coagulirtem Inhalt, 5—7 μ.
Cl^2Ba	Keine Säuerung (später schwach). Entwickelung gut. Zellen klein bis mittelgross, reichlich in länglicher Form.	Keine Säuerung. Entwickelung gering oder = 0. Inhalt der meisten Zellen coagulirt, 8 μ.	Keine Entwickelung, sonst wie vorhin.
SO^4K^2	Säuerung. Reichliche Entwickelung. Zellbildung üppig, 13 μ.	Säuerung etwas schwächer, sonst wie vorhin. Zellen 10—11 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung bedeutend schwächer. Zellen kleiner, 9 μ. (Später Säuerung.)
SO^4Na^2	Schwache Säuerung. Gute Entwickelung. Zellbildung kräftig, Zellen 13 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung mittelmässig. Zellen etwas kleiner, 12 μ. Nach 4 Monaten Säuerung.	Keine Säuerung. Entwickelung etwas schwächer. Zellen noch kleiner, 9—11 μ. (Später ganz schwache Säuerung.)

1) Einzelne Gläser wurden noch nach Abschluss dieser Versuchsreihe bewahrt, an ihnen wahrgenommene Erscheinungen sind in der Zusammenstellung unter „später“ aufgeführt.

Substanz	1 %	5 %	10 %
SO^4Mg	Entwickelung und Zellbildung kräftig, Zellen bis 13 μ. Säuerung.	Wie bei 1 %, Zellen bis 11 μ.	Wie vorhin, doch Zellen kleiner, 8 μ.
PO^4K^2H (nicht neutralisirt)	Entwickelung sehr gut. Zellbildung üppig, 13 μ.	Entwickelung weniger reichlich. Zellen durchweg kleiner, mittelgross, 9 μ.	Entwickelung sehr gering, wohl = 0. Zellinhalt glänzend und vielfach coagulirt. Reichlich Dauerzustände.
PO^4Na^2H	Keine Säuerung. Entwickelung reichlich. Ueppige Zellbildung, Zellen bis 15 μ. (Später Säuerung.)	Entwickelung weniger reich, doch ebenso üppige Zellbildung, bis 16 μ.	Fast ganz wie vorhin. Zellen jedoch kleiner, bis 11 μ.
NO^3Na	Schwache (später stärkere) Säuerung. Entwickelung und Zellbildung gut, bis 16 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung gering. Zellen mittelgross, bis 11 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung fast 0. Zellen klein, bis 5 μ. Zellinhalt später theils coagulirt.

Prototheca Zopfii.

Die zur Verwendung gelangte schwach alkalisch gemachte Nährlösung enthielt:

Traubenzucker	1 %	
Pepton	1 %	
Nährsalze	0,2 %	PO^4K^2H
	0,04 „	SO^4Mg
	0,02 „	$CaCl^2$

Die Lösungen wurden mit 11 Tage altem Material geimpft und die Versuche nach 40 Tagen (24./2. — 5./4. 93) abgeschlossen. Das Ergebniss war wie folgt:

Substanz	1 %	5 %	10 %
ClK	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung mässig. Zellen gut entwickelt, bis 16 μ.	Keine Säuerung. Keine oder äusserst geringe Entwickelung. Zellen vereinzelt, klein, bis 7 μ.
ClNa	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen wie bei 1 % ClK.	Keine Säuerung. Entwickelung sehr gering. Zellen wenig reichlich, bis 9 μ.	Keine Säuerung. Keine oder äusserst geringe Entwickelung. Zellen bis 7 μ., nur noch wenige vorhanden.

Substanz	1 %	5 %	10 %
$ClNH^4$	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen gut entwickelt, 16 μ. (ja bis 26 μ.)	Keine Säuerung. Entwickelung sehr gering oder 0. Wenige wohl meist abgestorbene, kleine Zellen.	Keine Säuerung. Keine Entwickelung. Zellinhalt körnig, sonst wie vorhin.
Cl^2Mg	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen bis 16 μ.	desgl.	Keine oder sehr schwache Säuerung. Zellen normal bis 13 μ.
Cl^2Ca	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ.	Säuerung. Entwickelung mässig—gut. Zellen bis 11 μ., theils fettreich.	Keine Säuerung. Entwickelung sehr gering oder 0. Zellen bis 8 μ., sonst wie vorhin.
Cl^2Ba	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung mässig. Zellen bis 13 μ., grösstentheils abgestorben. Später Säuerung.	Keine Säuerung. Entwickelung gering oder 0. Nur wenig kleine meist abgestorbene Zellen sind vorhanden.
SO^4K^2	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen bis 16 μ.	Säuerung schwächer. Entwickelung gut bis sehr gut. Zellen wie vorhin.	Keine Säuerung. Entwickelung gering. Zellen wie vorhin, theils fettreich.
SO^4Na^2	Sauerung. Entwickelung gut. Zellbildung wie bei 1 % SO^4K^2.	desgl.	Säuerung schwach. Entwickelung ziemlich gut. Zellen wie vorhin.
SO^4Mg	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen bis 16 μ., theils fettreich.	desgl.	Säuerung. Entwickelung ziemlich gut. Zellen etwas kleiner, bis 12 μ., sonst wie vorhin.
PO^4K^2H (Lösung nicht neutralisirt)	Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ.	Entwickelung mässig bis gering. Zellen theils fettreich, bis 11 μ.	Entwickelung gering. Zellen meist fettreich, klein, bis 9 μ.
PO^4Na^2H	Säuerung schwach. Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ.	Keine oder sehr schwache Säuerung. Entwickelung gut. Zellen wie vorhin.	Keine Säuerung. Entwickelung gering. Zellen bis 11 μ., wenig zahlreich, theils fettreich, theils mit coagulirtem Inhalt, im allgemeinen wenig günstig im Aussehen.
NO^3Na	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen bis 16 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung mässig. Zellen bis 12 μ.; weniger normal aussehend.	Keine Säuerung und Entwickelung. Nur wenige kleine, bis 7 μ. grosse Zellen vorhanden.

Da die Kontrollversuche mit den obigen Nährlösungen ohne Zugabe der geprüften Salze reichliche Vermehrung bei guter Ausbildung der Sporangien neben eintretender Säuerung ergab, so sind die davon abweichenden Befunde bei obigen Versuchen auf Kosten der beigegebenen Salze zu setzen. Mit Ausnahme der SO^4Mg möchte bei allen zur Verwendung gekommenen Salzen die für das Gedeihen von Prototheca moriformis und Zopfii zulässige Concentration der Lösungen mit 10 % theils überschritten, theils erreicht sein, denn nur bei einigen wenigen findet dabei noch eine minimale Entwickelung statt. Auch bei diesen Versuchen zeigt sich, dass bei zunehmender Concentration die Zellen im Allgemeinen kleiner werden und dass die Säuerung schliesslich ganz unterbleibt. Uebrigens liegt die Concentrationsgrenze für Chloride noch niedriger als für Phosphate und Sulfate.

D. Zur Ausscheidung kommende Stoffwechselprodukte.

In dieser Beziehung ist hauptsächlich nur die Bildung einer Säure, deren Natur ich bis jetzt noch nicht feststellen konnte, bemerkenswerth.

Weder auf den verschiedenartigen im Laufe der Untersuchung zur Verwendung gekommenen Gelatinenährböden, noch auf einer speciell für diesen Zweck präparirte Gelatine ohne Peptonzusatz trat Peptonisirung ein, so dass also kein Gelatine peptonisirendes Ferment zur Abscheidung kommt.

Ferner wurde mit Hülfe einer Stärkemehl enthaltenden, aber von nährenden stickstofffreien Kohlenstoffverbindungen freien Gelatine erwiesen, dass auch kein Stärke lösendes, diastatisches Ferment gebildet wird. Entwickelung auf einem solchen Substrat blieb vollständig aus, mochte dasselbe nun schwach sauer, neutral oder schwach alkalisch sein.

II. Ueber zwei aus Saftflüssen rein gezüchtete Algen.

Hierzu Tafel V.

Bei meinen Bemühungen, die Verbreitung von *Protothecа*-Arten in den Saftflüssen der verschiedenen Laubbäume festzustellen, traten mir noch zahlreiche andere Organismen entgegen. Unter diesen nahmen mein Interesse vor allen Dingen die chlorophyllhaltigen in Anspruch, also die Algen.

Es gelang mir nämlich im August 1892 in Gelatineschalenkulturen, welche mit Material eines Saftflusses der Silberpappel *(Populus alba)* angesetzt waren, chlorophyllgrüne und mehr gelbgrüne Kolonien aufzufinden, die sich als zwei verschiedenen Algen angehörig erwiesen. Da meine Versuche, sie in Reinkultur weiter zu züchten, alsbald glückten, ausserdem aber bei vorläufiger mikroskopischer Prüfung sich eine auffällige Aehnlichkeit besonders der einen Art mit den im vorhergehenden Abschnitte dieser Abhandlung charakterisirten *Protothecа*-Arten herausstellte, so nahm ich Veranlassung, auch diese Algen in

morphologischer und physiologischer Beziehung etwas näher zu untersuchen.

Algenreinzuchten sind bisher nur von Seiten Beyerinck's,[1] da nun meine Objekte, wie ich zeigen werde, nicht mit denen von Beyerinck identisch sind, so lässt sich hoffen, dass die Reinzuchtmethode sich auf eine grössere Anzahl niederer Algen ausdehnen lassen wird.[2] Dieselbe wird sicherlich nicht allein für die Physiologie, sondern auch für die Morphologie derselben von Bedeutung werden.

Von den beiden untersuchten Algen stelle ich die eine auf Grund der Verwandtschaft mit den von Beyerinck untersuchten Chlorellen in die Gattung *Cheorella* und bezeichne sie als *Chlorella protothecoides;* für die andere habe ich, da ich sie sonst nicht unterzubringen vermochte, die neue Gattungsbezeichnung *Chlorothecium* gewählt und nenne sie *Chlorothecium saccharophilum.*

Was das Vorkommen und die Verbreitung dieser beiden Algenarten betrifft, so habe ich sie ganz ebenso wie *Prototheca moriformis* und *Pr. Zopfii* bis jetzt nur in den Saftflüssen der Laubbäume nachweisen können, niemals aber ausserhalb derselben, etwa im Wasser oder auf dem Boden etc. Im Flusse der Silberpappel kamen sie beide nebeneinander vor, desgleichen in demjenigen der Schwarzpappel.[3] In dem Saftfluss einer Ulme bei Raschewitz[4] in Schlesien, sowie in einem Ulmenflusse bei Döllnitz an der Elster, ferner in einem solchen des landwirthschaftlichen Instituts und der Rabeninsel zu Halle fand ich eine Alge, die morphologisch nicht von *Chlorella protothecoides* zu unterscheiden war.

Die morphologischen Eigenschaften der untersuchten Algen.

Chlorella protothecoides.

Bezüglich der Art und Weise der Kolonienbildung und des Wachsthums auf festen Nährsubstraten ist nach dem bei *Prototheca Zopfii* Mitgetheilten nicht viel mehr hinzuzufügen, als dass sich die Kolonien von denen jener durch eine gelbgrüne, später bei Erschöpfung des Nährbodens dunkler grüne Färbung unterscheiden (Taf. V, Fig. 1). Auch der mikroskopische Unterschied dieser beiden, verschiedenen Pflanzengruppen angehörigen Organismen ist derartig gering, dass nur die blassgelbe Farbe eine Unterscheidung zulässt, häufig tritt diese

1) M. W. Beyerinck: Kulturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen Algen. Botanische Zeitung 1890. Desgl. Bericht über meine Kulturen niederer Algen auf Nährgelatine. Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde. Band XIII. 1893.

2) Ich selbst habe bereits noch andere Arten, und zwar etwa 7, als die oben genannten in Reinkultur erhalten. Die hier zur Behandlung kommenden legte ich schon in einer Novembersitzung der Naturforschenden Gesellschaft 1892 vor. (S. Anmerkung Seite 69.)

3) So z. B. auf einer Silberpappel der Peissnitz bei Halle a. S. und auf Schwarzpappeln an den zu dieser Saaleinsel führenden Wegen.

4) Das Material danke ich der freundlichen Vermittelung des Herrn Dr. K. Bruhne.

jedoch so zurück, dass es schwer ist, Bilder dieser von solchen jener zu unterscheiden, ja in Gemischen beider würde es unmöglich sein, einzelne Individuen sicher zu identificiren. Das Vorhandensein oder Fehlen des Chlorophylls ist überhaupt der einzig durchgreifende Unterschied dieser beiden Organismen, denn auch in sonstiger physiologischer Beziehung verhalten sie sich, was ich hier hervorheben will, vollständig übereinstimmend.

Vorstehendes gilt hauptsächlich für Material, welches unter günstigen Ernährungsbedingungen erwachsen ist, d. h. wo den Organismen neben assimilirbaren Stickstoffverbindungen irgend eine aufnehmbare Kohlenstoffverbindung (Traubenzucker, Glycerin etc.) gegeben wird. Hier tritt, weil die Zellen keine Kohlensäure zu assimiliren brauchen, da sie ja andere Kohlenstoffquellen haben, die Bildung des Chlorophylls zurück. Anders verhält sich die Sache dagegen, wenn assimilirbare Kohlenstoffverbindungen nicht dargeboten werden, dann findet bei *Prototheca Zopfii* keine Entwickelung statt, während bei *Chlorella protothecoides,* wenn auch unter bedeutender Verringerung der Vermehrung reichlich Chlorophyll gebildet wird (Taf. V, Fig. 31—36).

Die Zellen besitzen einen körnigen, sich mit Jod-Jodkalium goldgelb färbenden Inhalt. Zellen, die einen Chlorophor deutlich erkennen lassen, besitzen einen mehr homogenen Inhalt. Mit Hämatoxylin nach Grenacher gefärbte, genügend ausgewaschene und in Glycerin-Alaun aufgehellte Präparate lassen den kleinen Zellkern leicht erkennen. Ferner treten und zwar besonders reichlich bei gewissen Ernährungen z. B. ohne Stickstoffgaben oder aufnehmbare Stickstoffverbindungen ganz wie bei *Pr. Zopfii* Fetttröpfchen auf, die eine ziemliche Grösse erreichen können und in den erwähnten Fällen das Innere der Zelle fast ausfüllen (Tafel V, Fig. 54). Endlich färbt sich ein Theil des Inhalts besonders dann, wenn leicht aufnehmbare Kohlenstoffverbindungen (Traubenzucker, Glycerin) dargeboten werden, mit Jod-Jodkalium rothbraun, es wird also auch derselbe bei *Prototheca Zopfii* aufgefundene Körper gebildet. In nährstoffarmen oder schlecht nährenden Medien (Maltose, Milchzucker, Dextrin) erwachsenes Material ist vakuolenreich. Der Chlorophor, der hier wie bei *Chlorothecium saccharophilum* nur dann scharfbegrenzt zur Wahrnehmung gelangt, wenn die Alge darauf angewiesen ist, ihren Kohlenstoffbedarf mit Hülfe des Chlorophylls aus der Kohlensäure zu decken, besitzt ausgesprochene Mantelform. In jungen Kulturen, z. B. auf Bierwürzegelatine, die im Strich anfangs vollständig blassgelb gefärbt erscheinen und erst später an der Oberfläche in chlorophyllgrün übergehen, kann man in den Zellen nur vereinzelt die Lage des Chlorophors an einer nicht scharfbegrenzten gelbgrünen Färbung wahrnehmen. Erst mit Erschöpfung des Nährsubstrates bei Zutritt von Licht hebt sich der Chlorophor auch hier deutlicher vom Inhalt ab (Taf. V, Fig. 42 u. 48). Die Zellhaut, mit nur schwachem Schleimhof versehen, scheint sich leicht zu lösen, denn im Gegensatz zu *Prototheca moriformis* nimmt man hier ähnlich wie bei *Pr. Zopfii* weniger reichlich leere Sporangienhäute wahr. Wie auffallend die Ernährung auf die Ausbildung der Zellen resp. Sporangien von Einfluss ist, möge aus

einer Vergleichung der Fig. 31 mit Fig. 41 entnommen werden, man hat hier Zustände der *Chlorella protothecoides* vor sich, deren Zusammengehörigkeit man ohne Kulturexperiment wohl kaum vermuthen dürfte.

Der Entwickelungsgang der Zellen bis zur Ausbildung des fertigen Sporangiums unterscheidet sich von dem bei *Pr. Zopfii* in Nichts (Taf. V, Fig. 45—53).

Chlorothecium saccharophilum.

Auch diese Alge zeichnet sich durch grösste Einfachheit im Bau und Entwickelungsgang aus. Die Zellen (Sporangien) sind im Gegensatz zu *Chlorella protothecoides* ellipsoidisch oder eiförmig, seltener kugelrund, bohnen- oder birnförmig und ähneln in ihrer Gestalt der im vorigen Abschnitt beschriebenen *Prototheca moriformis* (Taf. V, Fig. 3a bis 30). Ganz besonders häufig sind bei dieser Alge auf gut nährenden Substraten abnormale Zellformen, besonders aber solche, die sich durch einen kleinen Fortsatz auszeichnen, so dass man birnförmige bis kaulquappenartige Gestalten zu Gesicht bekommt (Taf. V, Fig. 20).

Bei der Prüfung des Inhalts treten einem ausser dem schwierig nachzuweisenden Zellkern zunächst die schon bei *Chlorella protothecoides* und *Prototheca Zopfii* erwähnten Körperchen entgegen, die sich mit Jod-Jodkalium rothbraun färben. Bei guter Ernährung entschieden weit weniger reichlich, als bei den soeben genannten Pflanzen tritt hier in den Zellen Fett auf. Was endlich den Chlorophor anbetrifft, so zeigt er eine andere Form, als bei *Chlorella protothecoides,* insofern er gestreckter und flacher ist (Fig. 3 — 14 u. 21 — 23). Er tritt am schönsten hervor in solchen Zellen, die ohne Verabreichung von Kohlenstoffquellen erwachsen sind. Bevor die Zellen Theilung eingehen, theilt sich auch der Chlorophor, und zwar in so viele mehr oder weniger unregelmässige Theile, als die Mutterzelle Tochterzellen (Sporen) erzeugt. Während in den Zellen, wo ein Chlorophor scharfumgrenzt wahrnehmbar ist, der Inhalt meist theilweise homogen, theilweise feinkörnig ist, ist der Inhalt bei solchen Zellen, denen bei ihrer Ausbildung reichlich Kohlenstoffnahrung (z. B. Traubenzucker) zur Verfügung stand, wesentlich anders beschaffen, der Inhalt ist grobkörnig und der Chlorophor ist nicht scharf begrenzt, ja oft nur schwierig wahrnehmbar (Fig. 15—20 u. 27—29).

Die Vermehrungsart ist hier ebenfalls einzig und allein die durch in Sporangien erzeugte Sporen. Die Sporen (Gonidien), welche fast ausnahmslos ellipsoidisch sind, vergrössern sich bei günstiger Ernährung ziemlich schnell (Fig. 26b—29), ihr Inhalt theilt sich darauf (Fig. 21—24 u. 30), die einzelnen Theilstücke runden sich ab und endlich durch Sprengung der Membran gelangen die gebildeten Tochterzellen in Freiheit (Fig. 25). Letztere nehmen niemals Schwärmzustand an. Bildung von ausgesprochenen Dauerzuständen konnte ich bei dieser Art nie beobachten, während ich sie bei *Chlorella protothecoides* in der bei *Prototheca Zopfii* geschilderten Weise wahrnahm.

Die Membran der Zellen und Sporangien ist dünn und farblos und weniger schleimig, als bei der vorhin behandelten Alge, *Chlorella protothecoides* und den *Prototheca*-Arten. Die Auflösung der entleerten

Sporangienhaut scheint hier noch weit schneller, als bei beiden zuletzt genannten Organismen vor sich zu gehen, denn Pleurococcus artig verbundene, von der verschleimten Membran umgebene Zellhäufchen findet man hier nicht. Auch wird die Zweischichtigkeit der Membran jener bei *Chlorothecium saccharophilum* nicht bemerkt. Dass aber auch das chemische Verhalten der Membran der hier in Betracht kommenden Alge ein anderes ist, als bei *Chlorella protothecoides* und *Prototheca Zopfii* möge folgende Tabelle lehren:

Reagenz	*Prototheca Zopfii*	*Chlorella protothecoides*	*Chlorothecium saccharophilum*
Chlorjodzink	Keine Färbung der Membran.	Keine Färbung der Membran.	Keine Färbung der Membran.
Jod und Schwefelsäure	Membran schwach gelb und gequollen.	Membran schwach gelb gefärbt, gequollen.	Membran schwach gelb gefärbt.
Jod-Jodkalium	Keine Färbung der Membran. Quellung.	Keine Färbung der Membran. Quellung.	Keine Membranfärbung.
Kupferoxyd-Ammoniak	Keine Lösung, sondern nur Quellung der Membran.	Keine Lösung, sondern nur Quellung der Membran.	Membran nicht lösend.
Methylenblau in Wasser	Membran schwach blau.	Membran schwach blau.	Membran nicht gefärbt.
Methylenblau u. Kali			
Säurefuchsin	Membran schön roth	Membran gefärbt.	Membran nicht gefärbt (oder doch nur sehr schwach?)
Haematoxylin n. Grenacher	Membran violett.	Membran violett.	Membran nicht gefärbt.
Dahlia	Membran gefärbt.	Membran nicht gefärbt.	desgl.
Gentianaviolett	Membran schön violett.	Membran violett.	desgl.
Methylviolett	desgl.	desgl.	desgl.
Congoroth	Membran schwach rosa gefärbt.	Membran schwach gefärbt.	Membran schwach rosa.

Nigrosin, Vesuvin, Bismarckbraun und Corallin färben bei allen drei Organismen die Zellhaut nicht.

Wenn wir den Entwickelungsgang von *Chlorothecium saccharophilum* und *Chlorella protothecoides* mit dem Entwickelungsgange der im ersten Abschnitte dieser Arbeit charakterisirten *Prototheca*-Arten in näheren Vergleich ziehen, so ergiebt sich eine ausgesprochene Aehnlichkeit. Jede Zelle wird nach vorheriger Vergrösserung zu einem Sporangium, indem der Inhalt successive Zweitheilung eingeht. Die Theilstücke runden sich schliesslich ab und werden aus der sich öffnenden Sporangienmembran entleert. Schwärmstadien treten niemals auf. Dieser Entwickelungsgang wiederholt sich dann, so oft als die Ernährungsverhältnisse es gestatten, bis endlich Entwickelungszustände auftreten, die man vielleicht als Dauerstadien auffassen dürfte, in Rücksicht

auf die etwas grössere Membrandicke und den reicheren Inhalt. Der einzige durchgreifende morphologische Unterschied zwischen genannten beiden Algen einerseits und den *Prototheca*-Arten andererseits liegt in der Bildung von Chlorophoren. Aber unter gewissen Ernährungsverhältnissen tritt die Ausbildung von Chlorophoren bei jenen Algen, namentlich bei *Chlorella protothecoides* so stark zurück, dass auch dieses Unterscheidungsmerkmal nicht mehr stichhaltig bleibt. Wie gross die Aehnlichkeit zwischen *Prototheca Zopfii* und *Chlorella protothecoides* unter Umständen werden kann, geht wohl daraus hervor, dass Prof. Zopf, der diese beiden Objekte doch genau kennt, dieselben mikroskopisch nicht zu unterscheiden vermochte, wenn die genannte Alge in fast chlorophyllloser Form vorlag und ich ihm absichtlich nicht gesagt hatte, welches der Pilz und welches die Alge sei.

Aus dieser auffallenden morphologischen Aehnlichkeit dürfte die Berechtigung abzuleiten sein, die hier in Betracht kommenden Algen, sowie die anderen sich morphologisch anschliessenden Algenformen (z. B. die von Beyerinck l. c. untersuchten) als eine Parallelgruppe zu den *Prototheca*-artigen Pilzen aufzufassen, was ich auch bereits in der vorausgehenden Mittheilung betont habe.

Einige physiologische Eigenschaften der Algen.

Die mit den aus den Saftflüssen der Bäume in Reinkultur erhaltenen Algen eingeleiteten physiologischen Versuche sind in derselben Weise und Ausdehnung vorgenommen, als solche bei den beiden *Prototheca*-Arten, besonders *Pr. Zopfii* zur Ausführung kamen, ja meist sind die Versuche mit *Pr. Zopfii* mit denen der Algen gleichlaufend.

Sie erstrecken sich nämlich auf die Grenzen der Lebensfähigkeit und die Grenzen der Wachsthumsthätigkeit, dort kamen Temperatur und Austrocknung, hier Temperatur und Sauerstoffbedürfniss in Betracht. Ferner wurde die Nährtüchtigkeit gewisser Substanzen, als auch der Einfluss der Concentration verschiedener organischer und anorganischer Verbindungen auf das Wachsthum geprüft. Endlich war das Augenmerk auf etwaige Stoffwechselprodukte gerichtet.

A. Die Grenzen der Lebensfähigkeit.

1. Temperaturgrenzen der Lebensfähigkeit.

α. Obere Temperaturgrenze.

a. Feuchte Wärme. Einleitung der Versuche wie bei *Prototheca*.

Chlorella protothecoides.

Alter der Kultur. Tage	Dauer der Anwärmung. Minuten	Temperatur. ° C.	Ergebniss der Kultur:
		Versuchsreihe 1.	
8	11	$53-53^1/_2$	Keine Entwickelung.
8	11	$50-50^1/_2$	desgl.

Alter der Kultur. Tage	Dauer der Anwärmung. Minuten	Temperatur. ° C.	Ergebniss der Kultur:
		Versuchsreihe 2.	
45	8	45	Reichliche Entwickelung.
48	15	47	Keine Entwickelung.
57	12	46	desgl.
		Versuchsreihe 3.	
21	14	45	Keine Entwickelung.
21	9	46	desgl.

Der Wärmetod bei Anwendung feuchter Wärme liegt also für *Chlorella protothecoides* bei **45—46°**, und zwar wie es scheint näher an 45° als an 46°, da jüngeres Material bei längerer Anwärmung bei dieser Temperatur bereits abgetödtet wird.

Chlorothecium saccharophilum.

Alter der Kultur. Tage	Dauer der Anwärmung. Minuten	Temperatur. ° C.	Ergebniss der Kultur:
		Versuchsreihe 1.	
9	13	$51^1/_2-52$	Keine Entwickelung.
9	12	$50-50^1/_2$	desgl.
		Versuchsreihe 2.	
27	7	$46^1/_2$	desgl.
27	8	$45-45^1/_2$	desgl.
		Versuchsreihe 3.	
48	11	$44-44^1/_2$	desgl.
48	13	$42^1/_2$	Reichliche Entwickelung.
54	9	38	desgl.
56	8	40	desgl.
		Versuchsreihe 4.	
21	7	43	desgl.
21	10	44	Entwickelung reichlich, doch verzögert.

Chlorothecium saccharophilum wird demnach durch feuchte Wärme bei **44—45°** C. abgetödtet.

2. Trockene Wärme. Versuchsanordnung ebenfalls wie bei *Prototheca.*

Chlorella protothecoides.

Temperatur	Zeit der Anwärmung	Ergebniss der Kultur:
	Versuchsreihe 1. Alter der Kultur 20 Tage.	
65°	13	Keine Entwickelung nach 17 Tagen.
70°	16	desgl.

Temperatur	Zeit der Anwärmung	Ergebniss der Kultur
	Versuchsreihe 2. Alter der Kultur 39 Tage.	
63°	10	Reichliche Entwickelung nach 14 Tagen.
64°	14	desgl. „ „ „
65°	14	Keine Entwickelung „ „ „
66°	11	desgl. „ „ „

Der Wärmetod von *Chlorella protothecoides* bei Anwendung trockener Wärme liegt daher bei **64—65°**.

Chlorothecium saccharophilum.

Versuchsreihe 1. Alter des Materials, auf Bierwürzegelatine erwachsen, 33 Tage.

Dauer der Anwärmung. Minuten	Temperatur. °	Ergebniss der Kultur
12	80	Keine Entwickelung.
16	70	desgl.
18	67	desgl.
15	63	Reichliche Entwickelung.
	Versuchsreihe 2. Alter der Kultur 19 Tage.	
14	64	Entwickelung, jedoch weniger reichlich und verzögert.
15	65	desgl.
17	66	desgl.
	Versuchsreihe 3. Alter der Kultur 38 Tage.	
16	66	Ganz schwache Entwickelung.
15	67	Keine Entwickelung.
16	68	desgl.
17	69	desgl.

Bei dieser Algenart liegt der Wärmetod bei Anwendung trockener Wärme also bei **66—67°**.

β. Untere Temperaturgrenze.

Die diesbezüglichen Versuche wurden in derselben Weise wie bei *Prototheca* ausgeführt.

Art.	Alter der Kultur.	Art der Entwickelung:
Chlorella protothecoides . . .	41 Tage	reichlich
Chlorothecium saccharophilum	12 „	sehr reichlich
	142 „	desgl.

Demnach vermögen auch die vorliegenden Algen eine Kälte von mindestens —83° bei 4stündiger Einwirkung zu überstehen.

In übersichtlicher Darstellung lauten die Resultate der vorstehenden Versuche bezüglich der Temperaturgrenzen der Lebensfähigkeit wie folgt:

Es liegt:		Bei Anwendung feuchter Wärme	Bei Anwendung trockener Wärme
Die obere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit für	*Chlorella protothecoides*	bei 45—46°	bei 64—65°
	Chlorothecium saccharophilum	bei 44—45°	bei 66—67°
Die untere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit für	*Chlorella protothecoides*	bei —83° (4stündige Dauer) nicht erreicht.	
	Chlorothecium saccharophilum	desgl.	

Die obere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit dieser Algen liegt also im Vergleich zu andern Organismen verhältnissmässig niedrig.

2. Die Grenzen der Lebensfähigkeit in Bezug auf Austrocknung.

In Wasser fein vertheiltes, auf Objektträger gebrachtes Material der Austrocknung im Schwefelsäureexsiccator ausgesetzt, verhielt sich in Bezug auf Lebensfähigkeit wie folgt:

Nach 3 Tagen „ 5 „ „ 7 „	Keine Entwickelung.
Nach 3 Tagen	Entwickelung von Kolonien spärlich.
„ 5 „	desgl.
„ 7 „	Nur vereinzelte Kolonien.

Gegen Austrocknen erweisen sich also die vorliegenden Algen ebenfalls äusserst empfindlich, denn während die Lebensfähigkeit bei *Chl. protothecoides* schon nach 3 Tagen unter den obigen Verhältnissen erloschen war, sie sich daher in dieser Beziehung ganz der *Pr. Zopfii* anschliesst, erreicht dieselbe bei *Chlorothecium saccharophilum* ihre Grenze nach etwa 8tägiger Austrocknung, ähnlich wie bei *Pr. moriformis.*

B. Die Grenzen der Wachsthumsthätigkeit.

1. Temperaturgrenzen der Wachsthumsthätigkeit.

Der Nährboden hatte folgende Zusammensetzung:

Agar-Agar 1 %, Traubenzucker 1 %, Fleischextrakt 1 %, Gelatine 1 % und Pepton 1 %.

Die Versuche wurden gleichzeitig mit denjenigen bei *Prototheca,* die dort über die Grenzen der Wachsthumsthätigkeit Auskunft geben sollten, ausgeführt und in derselben Weise gehandhabt.

Temperatur	*Chlorella protothecoides*	*Chlorothecium saccharophilum*
25°	Entwickelung etwas reichlicher als bei Zimmertemperatur (17°).	desgl.
27°	Entwickelung nach 4 Tagen bedeutend reichlicher als bei Zimmertemperatur (20°).	desgl.
29°	Entwickelung nach 4 Tagen geringer als bei Zimmertemperatur (20—21°).	desgl.
30—31°	Keine Entwickelung nach 8 Tagen.	desgl.

Aehnlich wie bei *Pr. Zopfii* liegt bei den untersuchten Algen das Optimum des Wachsthums bei 27°, das Maximum bei 30—31° und endlich das Minimum höher als 5—6°, denn Kulturen im Eisschrank kamen bei der angegebenen Temperatur in 14 Tagen nicht zur Entwickelung.

2. Wachsthumsthätigkeit in Beziehung zum Sauerstoff.

Sowohl aus Stichkulturen wie auch aus Mischkulturen in Reagirgläsern geht hervor, dass die vorliegenden Organismen ein grosses Luftbedürfniss besitzen und sich fast ganz wie die Arten der Gattung *Prototheca* verhalten. Während bei Stichkulturen nur an der Mündung und bis zu einer sehr geringen Tiefe des Stiches eine Entwickelung eintritt, hört bei Mischkulturen in tieferen Schichten der Gelatine die Entwickelung der Kolonien bald auf, dagegen kommen diese an der Oberfläche oder dicht unter derselben zur besten Ausbildung.

C. Ernährungsversuche.

Die Anordnung bezw. Durchführung der Versuche ist, wo nicht anders vermerkt, der bei *Prototheca* angegebenen entsprechend. Da die Versuche mit *Protetheca Zopfii* gleichlaufend mit den der hier zur Behandlung kommenden Algen sind, wurden dieselben an dieser Stelle der besseren Vergleichung wegen wiederholt.

1. Art der nährenden Substanzen.

a. Kohlenstoffquellen.

In der verwendeten Grundlösung war enthalten:

Pepton 1 %

Nährsalze { 0,2 % PO^4K^2H ; 0,04 „ SO^4Mg ; 0,02 „ $CaCl^2$

Diese Lösung wurde schwach alkalisch gemacht und nach Herstellung der Lösung der zu prüfenden Stoffe und Sterilisation am 2. Dec. 1892 geimpft. Die Impfung geschah bei *Prototheca Zopfii* mit Material einer 13 Tage alten Kultur, bei den Algen mit Material einer solchen im Alter von 17 Tagen. Beim Abschluss der Versuchs-

reihe am 2. Februar 1893, also nach 62 Tagen, war das Ergebniss wie folgt:

Substanz	*Prototheca Zopfii*	*Chlorella protothecoides*	*Chlorothecium saccharophilum*
1. Kontrollversuch. Ohne Stickstofffreie Stoffe,	Augenscheinlich keine Entwickelung. Keine Säuerung. Zellen klein, bis 8 μ.	Entwickelung schwach. Keine Säuerung. Zellen klein, bis 7 μ., chlorophyllgrün.	Entwickelung schwach. Keine Säuerung. Masse dunkelgrün. Zellen klein, bis 11 μ., schön chlorophyllgrün und meist oval.
2. Traubenzucker 1 %	Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ. Säuerung.	Entwickelung gut. Masse gelblichgrün. Zellen bis 11 μ., blass. Schwache Säuerung.	Entwickelung kräftig. Masse gelbgrün. Zellen bis 16 μ., blassgelb. Flüssigkeit neutral.
3. Galactose 1 %	Entwickelung gut. Grösse der Zellen bis 13 μ., Zellen mässig fettreich. Säuerung.	Entwickelung gut. Masse gelbgrün. Zellen bis 12 μ., blass und sehr fettreich. Schwache Säuerung.	Entwickelung schwach, doch etwas stärker als beim Rohrzucker. Masse weniger grün als dort. Zellen bis 13 μ., nicht grüner als beim Traubenzucker. Keine Säuerung.
4. Rohrzucker 1 %	Ganz wie ohne Verabreichung einer Stickstoff-freien Kohlenstoffverbindung. (S. Kontrollversuch.)	Ganz wie ohne Verabreichung einer Stickstoff-freien Kohlenstoffverbindung. (S. Kontrollversuch.)	Ganz wie ohne Verabreichung einer Stickstoff-freien Kohlenstoffverbindung. (S. Kontrollversuch.)
5. Milchzucker 1 %	Entwickelung vorhanden, aber schwach. Zellen mittelgross, bis 11 μ. Keine Säuerung.	Entwickelung mittelmässig. Zellen klein, bis 8 μ., etwas weniger grün als beim Rohrzucker.	Entwickelung fast wie beim Rohrzucker, nur wenig stärker.
6. Maltose 1 %	Entwickelung vorhanden, aber mässig. Grösse der Zellen bis 11 μ. Säuerung zweifelhaft.	Entwickelung mittelmässig. Farbe der Masse weniger grün als beim Rohrzucker (zwischen Rohr- und Traubenzucker die Mitte haltend). Zellen bis 11 μ. Ganz schwache Säuerung.	Entwickelung schwach, doch etwas stärker als beim Rohrzucker. Zellen bis 16 μ., weniger grün als dort. Keine Säuerung.
7. Dextrin 1 %	Entwickelung schwach. Grösse der Zellen bis 11 μ. Keine Säuerung.	Entwickelung mittelmässig. Zellen klein, bis 8 μ., etwas weniger grün als beim Rohrzucker. Keine Säuerung.	Entwickelung etwas stärker als beim Rohrzucker. Zellen bis 16 μ., weniger grün. Keine Säuerung.

Substanz	*Prototheca Zopfii*	*Chlorella protothecoides*	*Chlorothecium saccharophilum*
8. Inulin 1 %	Augenscheinlich keine Entwickelung. Zellen bis 8 μ. Keine Säuerung (also wie ohne Stickstoff-freie Kohlenstoffverbindungen).	Wie beim Rohrzucker und ohne Verabreichung einer Stickstoff-freien Kohlenstoffverbindung.	Wie beim Rohrzucker und ohne Verabreichung einer Stickstoff-freien Kohlenstoffverbindung.
9. Mannit 1 %	Augenscheinlich keine Entwickelung. Zellen klein, bis 8 μ. Keine Säuerung.	Wie beim Rohrzucker und ohne Verabreichung einer Stickstoff-freien Kohlenstoffverbindung.	Entwickelung gut. Masse gelb. Zellen bis 13 μ., blassgelb. Keine Säuerung.
10. Glycerin 1 %	Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ., theils fettreich, theils mit sehr granulosem Inhalt. Keine Säuerung.	Entwickelung gut. Masse noch weniger gelbgrün als beim Traubenzucker. Zellen blass, bis 13 μ. Inhalt ziemlich fettreich und stark körnig. Keine Säuerung.	Wie ohne Verabreichung einer Stickstoff-freien Kohlenstoffverbindung und wie beim Rohrzucker.

Eine Deckung des Kohlenstoffbedarfs auf Kosten des Peptons findet also auch bei den vorliegenden Algen nicht statt. Die Deckung geschieht hier entweder unter mässiger Entwickelung durch die Assimilation der Kohlensäure, weit ausgiebiger jedoch durch gewisse Kohlenstoffverbindungen, deren Verabreichung eine kräftige und schnelle Entwickelung zur Folge hat. Von diesen Kohlenstoffverbindungen erweisen sich für *Chlorella protothecoides* wie bei *Prototheca Zopfii* besonders geeignet Traubenzucker, Galactose und Glycerin, augenscheinlich weniger dagegen — was aus der Entwickelung und Färbung der Masse so wie der Grösse der Sporangien ersichtlich ist — Maltose, Dextrin und Milchzucker, während dem Rohrzucker, Inulin und Mannit in dieser Beziehung kein Werth beizumessen ist. Auf *Chlorothecium saccharophilum* üben die günstigsten Wirkungen aus Traubenzucker und Mannit, weniger gut nähren Maltose, Dextrin, Galactose und Milchzucker, Rohrzucker, Inulin und Glycerin dagegen gar nicht.

b. Stickstoffquellen.

Die Zusammensetzung der mit kohlensaurem Natron schwach alkalisch gemachten Grundlösung war wie folgt:

Traubenzucker 1 %

Nährsalze { 0,2 „ PO^4K^2H ; 0,04 „ SO^4Mg ; 0,02 „ $CaCl^2$

Die Versuche sind mit denjenigen unter a. gleichzeitig zur Ausführung gekommen. Impfung, Material und Versuchsdauer ganz wie dort. Der Abschluss dieser Versuchsreihe ergab:

Substanz	*Prototheca Zopfii*	*Chlorella protothecoides*	*Chlorothecium saccharophilum*
1. Kontrollversuch. Ohne Zusatz einer Stickstoffverbindung	Vermehrung mittelmässig bis gut. Zellen klein, bis 9 μ. Inhalt sehr fettreich, meist ein grösserer und mehrere kleine Fetttropfen in einer Zelle. Später Säuerung.	Entwickelung gering, jedoch deutlich. Inhalt sehr fettreich, wie bei *Prototheca Zopfii*. Zellen klein, bis 9 μ. Masse gelblichweiss bis schwach grün, später rein weiss. Keine Säuerung.	Entwickelung sehr gering. Zellen klein, bis 9 μ., fettreich. Keine Säuerung.
2. Pepton 1 %	Entwickelung mittelmässig bis gut. Grösse der Zellen bis 13 μ. Säuerung.	Entwickelung gut. Masse gelbgrün. Zellen blass, 11 bis 12 μ. Säuerung.	Entwickelung gut. Zellen bis 16 μ., blassgelb. Masse gelbgrün. Keine Säuerung.
3. Asparagin 0,50 %	Entwickelung gut. Zellen bis 20 μ., also von beträchtlicher Grösse. Säuerung.	Entwickelung gut. Masse gelblichgrün. Zellen bis 13 μ., blass. Säuerung kräftig.	Entwickelung gut. Masse gelbgrün. Zellen bis 16 μ., blassgelb. Keine Säuerung.
4. Weinsaures Ammoniak 0,25 %	Entwickelung gut. Zellen ebenfalls bis 20 μ. Säuerung.	Entwickelung gut. Masse schmutzig gelb. Zellen bis 13 μ., theils farblos, theils gelbgrün. Säuerung.	Entwickelung kräftig. Masse gelbgrün. Zellen bis 20 μ., blassgelb. Säuerung.
5. Salpetersaures Ammoniak 0,25 %	Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ. Säuerung.	Entwickelung gut. Masse schmutzig gelb. Zellen bis 13 μ., theils farblos, theils gelbgrün. Säuerung kräftig.	Entwickelung kräftig. Masse gelbgrün. Zellen bis 16 μ., blassgelb. Säuerung.
6. Schwefelsaures Ammoniak 0,25 %	Entwickelung gut. Zellen ebenfalls gross, bis 20 μ. Säuerung.	Entwickelung gut. Masse schmutzig gelb. Zellen bis 13 μ. Kräftige Säuerung.	Entwickelung gut. Masse gelbgrün. Zellen bis 20 μ., blassgelb. Säuerung.
7. Salpetersaures Kali 0,25 %	Entwickelung und mikroskopischer Befund ganz den Kulturen ohne Stickstoffgaben entsprechend. Auch hier war beim Abschluss des Versuchs wie dort noch keine Säuerung eingetreten, doch wurde dieselbe später bei länger bewahrten Kulturen bemerkt.	Ganz wie ohne Verabreichung von Stickstoffverbindungen. (S. Kontrollversuch.)	Entwickelung gut. Masse gelbgrün. Zellen bis 20 μ., blassgelb. Säuerung fraglich.

Als bemerkenswerth ist aus den vorstehenden Versuchen hervorzuheben die reichliche Bildung von Fett bei den Versuchen ohne Stickstoffgaben, worin sich alle drei untersuchten Organismen gleich verhalten. Ein Unterschied zeigt sich jedoch unter diesen Verhältnissen in der Entwickelung, nämlich derartig, dass bei *Prototheca Zopfii* eine ziemlich gute Entwickelung vor sich geht, während dieselbe bei *Chlorella protothecoides* weniger reichlich und endlich bei *Chlorothecium saccharophilum* äusserst gering oder fast Null ist.

Ein weiterer Unterschied der drei Organismen macht sich ferner in dem Verhalten zu den verabreichten Stickstoffverbindungen bemerkbar; *Prototheca Zopfii* und *Chlorella protothecoides* können, wie aus der Grösse und dem Inhalt der Sporangien hervorgeht, salpetersaure Salze nicht assimiliren, wohl ist dieses dagegen der Fall bei *Chlorothecium saccharophilum.* Die jedenfalls auf Kosten des Traubenzuckers eintretende Säuerung tritt um so eher hervor, je ausgiebiger die Entwickelung sich auf Kosten der beigegebenen Stickstoffverbindungen vollzieht, also je geeigneter die letzteren sich für die Ernährung erweisen.

Hervorzuheben ist ferner noch, dass bei *Chlorella protothecoides* in Flüssigkeiten sowohl, wie auf festen Nährböden ohne assimilirbaren Stickstoff, also auch bei Verabreichung salpetersaurer Salze die entwickelte Masse mit der Zeit vollständig farblos wird.

c. Verhalten zu verschiedenen festen und flüssigen Nährsubstraten.[1]

Hier kamen eine Reihe theils künstlicher Nährboden zur Verwendung.

Substrat	*Prototheca Zopfii*	*Clorella protothecoides*	*Chlorothecium saccharophilum*
Nährsalzgelatine[2] $(NO^3)^2Ca$ 1 % SO^4Mg 0,1 „ PO^4K^2H 0,1 „ F^2Cl^6 Spur Gelatine 10 %	Entwickelung gering. Zellen klein, bis 7 μ., vakuolenreich.	Entwickelung äusserst gering. Masse dunkelgrün. Zellen wie in Lösungen ohne Stickstofffreie Kohlenstoffverbindungen oder mit Rohrzucker.	Wie bei *Chlorella protothecoides.*
Asparagingelatine[2] (wie oben + ½ % Asparagin)	Entwickelung etwas ausgiebiger, sonst wie vorhin.		
Bierwürzegelatine (Bierwürze + 10 % Gelatine)	Aeusserst massenhafte Entwickelung.		

1 Ich habe diese Versuche hier mitgetheilt, theils um zu zeigen, auf welchen Substraten man die Species mit Vortheil züchten kann, theils weil man daraus ihre Vorliebe auch für noch andere natürliche Substrate ersieht, als die Saftflüsse der Laubbäume es sind.

2) Nach zwei Monaten (vom 6. Dec. 92 bis 6. Februar 93).

Substrat	*Prototheca Zopfii*	*Chlorella protothecoides*	*Chlorothecium saccharophilum*
Rohrzucker-gelatine 10 % Gelatine 1 % Pepton 1 % Fleischextrakt 1 % Rohrzucker	Entwickelung gering. Zellen klein.	Entwickelung gering. Zellen klein, chlorophyllgrün.	Wie bei *Chlorella protothecoides.*
Fleischextrakt-lösung 1 %[1]	—	Entwickelung mässig. Neben blassen Zellen reichlich chlorophyllgrüne. Zellen bis 9 μ., anfangs gelbgrün, später chlorophyllgrün.	Entwickelung mässig. Zellen bis 13 μ., licht-grün. Offenbar Aufnahme von Kohlenstoffverbindungen.
Milch[1]	Entwickelung mässig. Zellen bis 9 μ. Substanz augenscheinlich ungünstig.	Entwickelung gut. Zellen grösser als in reinem Milchzucker.	Wie bei *Chlorella protothecoides.*
Kartoffeln	Schon nach wenigen Tagen kräftige Entwickelung.		
Möhren	Schon nach wenigen Tagen äusserst üppige Entwickelung.		

2. Einfluss der Concentration nährender Substanzen auf das Wachsthum.

Dauer der Versuche: 60 Tage (vom 31./1.—31./3. 93); geimpft mit 30 Tage alten Kulturen.

1. Stickstofffreie Verbindungen.

Als Grundlösung diente:

Pepton 1 %[2]

Nährsalze { 0,2 % PO^4K^2H ; 0,04 „ SO^4Mg ; 0,02 „ $CaCl^2$

Traubenzucker.

%	*Prototheca Zopfii*	*Chlorella protothecoides*	*Chlorothecium saccharophilum*
10	Entwickelung mässig. Zellen gut entwickelt, normal, bis 13 μ.	Entwickelung ziemlich gut. Masse gelbgrün. Zellen 13—14 μ., blass.	Entwickelung gut. Zellen üppig, bis 22 μ., gelbgrün.
20	Entwickelung sehr gering. Zellen kleiner bis 9 μ.	Entwickelung sehr gering, sonst wie oben.	Entwickelung geringer. Masse gelbgrün. Zellen vielfach einseitig zugespitzt (birnförmig) bis 17 μ.

1) Siehe die Anmerkung 2 auf voriger Seite.

2) Die Versuche mit Glycerin, Nährsalzen und 10 % Traubenzucker enthielten $1^2/_7$ % Pepton.

%	*Prototheca Zopfii*	*Chlorella protothecoides*	*Chlorothecium saccharophilum*
30	Entwickelung sehr gering oder fehlend. Zellen klein, bis 8 μ., fettreich.	Entwickelung fehlend. Zellen blass, klein, bis 8 μ.	Entwickelung gering, sonst wie bei 20 %
	Rohrzucker.		
10	Entwickelung wohl sehr gering. Zellen jedoch normal, bis 12 μ.	Entwickelung gering. Masse dunkelgrün. Zellen klein, bis 8 μ., grün.	Entwickelung sehr gering. Masse dunkelgrün. Keine Säuerung. Zellen meist oval, bis 11 μ. Chlorophor schön grün.
20	Entwickelung sehr gering. Zellen kleiner, bis 9 μ.	Ganz wie oben.	Entwickelung geringer, sonst wie vorhin.
30	Entwickelung sehr gering oder Null. Zellen sehr klein, bis 7 μ.	Entwickelung fehlend oder äusserst gering, sonst wie oben.	Entwickelung wie bei 20 %, sonst wie vorhin.
	Milchzucker.		
10	Entwickelung gering. Ausbildung der Zellen mässig, bis 9 μ. Inhalt körnig.	Entwickelung gering. Zellen klein, bis 8 μ., theils grün, theils blass. Masse daher in Färbung die Mitte zwischen Rohr- und Traubenzuckerlösungen haltend.	Entwickelung mässig. Masse dunkelgrün, fast wie beim Rohrzucker, doch Entw. etwas stärker und neben ovalen dunkelgrünen Zellen solche mit blassgrünem Inhalt, bis 13 μ.
20	Entwickelung sehr gering. Zellen wie vorhin, Inhalt theils fettreich, theils körnig.	Entwickelung gering, sonst wie vorhin.	Entwickelung mässig, sonst wie vorhin.
30	Entwickelung fehlend. Zellen sehr fettreich, durchgängig kleiner.	Entwickelung gering. Zellen wie vorhin, doch theils fett-, theils vakuolenhaltig und weniger grün.	Entwickelung gering. Nur wenige, kleine Zellen vorhanden.
	Dextrin.		
10	Entwickelung mässig bis gut. Zellen gut entwickelt, 13—14 μ. Inhalt körnig.	Entwickelung ziemlich gut. Masse gelbgrün. Zellen üppig, bis 13 μ., blass. Masse abgesetzt.	Entwickelung ziemlich gut. Zellbildung üppig, bis 17 μ., blassgrün.
20	Entwickelung mässig. Zellen im allgemeinen etwas kleiner, bis 12 μ.	Entwickelung mässig bis gut, ausschliesslich an der Oberfläche der Flüssigkeit. Inhalt körniger Wandbelag und grosse Vakuolen. Zellen blass, bis 20 μ.	Entwickelung mässig, sonst wie vorhin. Masse später oberflächlich und Entwickelung reichlicher.

%	*Prototheca Zopfii*	*Chlorella protothecoides*	*Chlorothecium saccharophilum*
30	Entwickelung gering. Zellen theils oberflächlich schwimmend, bis 12 μ. Inhalt körnig, vakuolenhaltig.	Entwickelung mässig. Masse blass, oberflächlich. Zellen blass, üppig, bis 13 μ.	Entwickelung geringer. Zellen kleiner, bis 13 μ., sonst wie vorhin, späterer Befund wie bei 20 %.
		Glycerin.	
5	Entwickelung mässig. Zellen kräftig entwickelt, bis 16 μ.	Entwickelung mässig bis gut. Masse blassgelb. Zellbildung üppig, bis 17 μ., theilweise fettreich und ganz weiss.	Entwickelung gering. Masse dunkelgrün, überhaupt ganz wie beim Rohzucker.
10	Entwickelung gering. Zellen etwas kleiner, bis 13 μ., theils fettreich.	Entwickelung äusserst gering. Zellen kleiner, bis 13 μ., fettreicher.	desgl.
20	Keine Entwickelung. Zellen klein, bis 9 μ., fettreich.	Entwickelung wohl fehlend. Zellen sehr klein, fettreich und theils abgestorben.	desgl.

2. Stickstoffhaltige Verbindungen.

Als Grundlösung diente:

Traubenzucker 1 %

Nährsalze { 0,2 % PO^4K^2H ; 0,04 „ SO^4Mg ; 0,02 „ $CaCl^2$

Asparagin.

%	*Prototheca Zopfii*	*Chlorella protothecoides*	*Chlorothecium saccharophilum*
1	Säuerung. Entwickelung gut. Zellbildung sehr üppig, 20, ja bis 24 μ. Inhalt gleichmässig gekörnt.	Säuerung. Entwickelung gut. Masse blass. Zellbildung üppig. Zellen fast farblos, bis 17 μ. Inhalt körnig.	Säuerung. Gute Entwickelung.
$2^1/_2$	desgl.	desgl., doch Entwickelung reichlicher.	desgl., äusserst üppige Zellbildung, Zellen bis 25 μ.
5	Entwickelung weniger reichlich. Zellen im allgemeinen etwas kleiner. Säuerung.	Zellen theils gelblich, sonst wie oben.	Wie bei $2^1/_2$ %.

Weinsaures Ammoniak.

%	*Prototheca Zopfii*	*Chlorella protothecoides*	*Chlorothecium saccharophilum*
1	Säuerung. Entwickelung mässig. Zellen gross, bis 20 μ., theils mit Fetttropfen.	Säuerung. Entwickelung mässig. Masse schmutzig-gelb. Zellen theils gelblich, bis 16 μ.	Entwickelung und Zellbildung gut. Zellen bis 20 μ.
2½	Säuerung. Entwickelung noch etwas geringer. Zellen wie vorhin.	Entwickelung gering. Zellen etwas kleiner, bis 12 μ., sonst wie vorhin.	Entwickelung schwächer. Vorkommen von gebräunten Zellen, sonst wie vorhin.
5	Säuerung schwach. Entwickelung sehr gering. Zellen etwas kleiner, bis 16 μ., sonst wie vorhin.	Säuerung schwach. Entwickelung sehr gering. Zellen fast sämmtlich blass, sonst wie vorhin, 11—12 μ.	Entwickelung sehr gering. Zellen weniger normal im Aussehen.

Salpetersaures Ammoniak.

1	Entwickelung mässig. Zellen gross, bis 20 μ., sonst wie weinsaures Ammoniak.	Säuerung. Entwickelung mässig. Masse schmutzig-gelb. Zellen blass, bis 13 μ. Inhalt körnig.	Entwickelung gut. Masse gelbgrün. Zellbildung üppig, bis 25 μ.
2½	Entwickelung gering. Zellen etwas kleiner, sonst wie vorhin.	Entwickelung etwas geringer, sonst ganz wie oben.	Entwickelung gut. Zellen fettreich, sonst wie vorhin.
5	Entwickelung äusserst gering oder Null. Zellen kleiner, bis 13 μ., fettreich.	Keine oder sehr geringe Entwickelung.	Keine Entwickelung. Vorhandene Zellen wenig günstig im Aussehen, vielfach gelbbraun. Inhalt körnig und fettreich.

Schwefelsaures Ammoniak.

1	Entwickelung gut. Zellen üppig, bis 21 μ.	Entwickelung mässig, wie bei 1 % salpeters. Ammoniak.	Entwickelung gut. Zellbildung üppig, bis 22 μ.
2½	Entwickelung mässig. Zellen etwas kleiner, bis 18 μ.	desgl.	Entwickelung gut. Vereinzelt gebräunte Zellen. Zellbildung üppig, Zellen bis 22 μ.
5	Entwickelung gering, sonst wie vorhin.	Entwickelung gering. Masse schmutzig gelbgrün. Zellen meist blass, gut entwickelt, bis 13 μ.	Entwickelung mässig. Gebräunte Zellen zahlreicher, Zellen bis 20 μ.

3. Nährsalze.

Als Grundlösung diente:

Traubenzucker 1 % und Pepton 1 %.

Nährsalzgemisch[1]
(bestehend aus 0,2 % PO^4K^2H, 0,04 % SO^4Mg und 0,02 % $CaCl^2$).

%	*Prototheca Zopfii*	*Chlorella protothecoides*	*Chlorothecium saccharophilum*
1	Entwickelung gut. Zellen gross, bis 16 μ.	Entwickelung sehr gut. Masse gelbgrün. Zellen blass, gross, bis 13 μ.	Entwickelung gut. Ueppige Zellbildung, bis 20 μ.
$2^1/_2$	Entwickelung geringer. Zellen etwas kleiner, bis 13 μ.	Entwickelung gut. Zellen kleiner, bis 9 μ., Inhalt körnig, sonst wie vorhin.	Entwickelung gut. Zellbildung üppig, Zellen bis 20 μ.
5	Entwickelung sehr gering. Zellen klein, bis 9 μ., fettreich.	Entwickelung gering. Zellen klein, bis 7 μ., sonst wie vorhin, doch wenig günstig im Aussehen.	Entwickelung geringer. Zellen kleiner.

Aus diesen Versuchen ergiebt sich also, dass mit zunehmender Concentration die Masse und Grösse der Algen-Zellen resp. Sporangien abnimmt, und dass die Säuerung, wo solche überhaupt aufzutreten pflegt, allmählich schwächer wird und zuletzt ganz unterbleibt. Eine Ausnahme bildet das Asparagin, wo die Algen in concentrirter Lösung sich noch reichlich entwickeln und das Dextrin, wo die Zellen vakuolenreich werden, an die Oberfläche gelangen und hier wahrscheinlich Kohlensäure assimiliren. Von den geprüften Salzen, nämlich weins. Ammoniak, salpeters. Ammoniak und schwefels. Ammoniak, sowie von dem angewandten Nährsalzgemisch vertragen die Algen bis 5 % oder höchstens etwas mehr. Da auf Zuckerlösungen mit zunehmender Concentration, speciell auf Lösungen des nicht nährenden Rohrzuckers (bei *Chlorothecium* auch des Glycerins) die Algenmasse lebhaft grün wird, so ist Verdacht vorhanden, dass die Entwickelung hier auf Kosten der Kohlensäureassimilation stattfindet, so dass keine Rückschlüsse auf die Concentrationsgrenze des Wachsthums zulässig sind.

3. Einfluss der Concentration verschiedener organischer Salze auf das Wachsthum ohne Rücksicht auf ihren Nährwerth.

Die zur Verwendung gelangte Nährlösung enthielt:

Traubenzucker 1 %
Pepton 1 %
Nährsalze 0,26 % { 0,2 % PO^4K^2H ; 0,04 „ SO^4Mg ; 0,02 „ $CaCl^2$

Die Lösungen wurden am 24. Februar mit einer Kultur vom 13. Februar, also 11 Tage altem Material geimpft. Abgeschlossen wurden die Versuche am 5. März, also nach 40 Tagen.

1) Lösung nicht neutralisirt.

Substanz %		*Prototheca Zopfii*	*Chlorella protothecoides*	*Chlorothecium saccharophilum*
Kontrollversuch ohne Zusatz anorganischer Salze		Säuerung. Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ.	Säuerung. Entwickelung gut. Masse gelbgrün. Zellen blass, bis 15 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung kräftig. Masse gelbgrün. Zellen bis 17 μ., blassgelb.
Cl K	1	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ.	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen blass, bis 16 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung sehr gut. Zellen gelbgrün, bis 18 μ.
	5	Keine Säuerung. Entwickelung mässig. Zellen gut entwickelt, bis 16 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung mässig. Zellen mehr grün, bis 16 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung mässig. Zellen durchschnittlich kleiner und lebhafter grün.
	10	Keine Säuerung. Keine oder äusserst geringe Entwickelung. Zellen vereinzelt, klein, bis 7 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung äusserst gering oder Null. Nur wenige kleine Zellen, bis 7 μ.	Keine Säuerung. Keine Entwickelung. Zellen wie vorhin. Inhalt theils körnig, theils fettreich.
Cl Na	1	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen wie bei 1 % Cl K.	Säuerung schwach. Entwickelung gut. Zellen blass, bis 16 μ., doch im allgemeinen weniger üppig als beim Cl K.	Keine Säuerung. Entwickelung mässig. Zellen sehr blass, bis 13 μ.
	5	Keine Säuerung. Entwickelung sehr gering. Zellen wenig reichlich, bis 9 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung sehr gering oder Null. Zellen blass, bis 9 μ., wenig zahlreich.	Keine Säuerung. Entwickelung sehr gering. Zellen lebhafter grün, theils körnig, theils fettreich, bis 13 μ.
	10	Keine Säuerung. Keine oder äusserst geringe Entwickelung. Zellen bis 7 μ., nur noch wenige vorhanden.	Keine Säuerung und Entwickelung. Nur wenige, kleine, bis 5 μ. grosse, wohl meist abgestorbene Zellen vorhanden.	Keine Säuerung. Keine oder äusserst geringe Entwickelung. Zellen wie vorhin, doch nur in geringer Anzahl.
Cl NH^4	1	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen gut entwickelt, 16 μ. (ja bis 26 μ.)	Säuerung schwach. Entwickelung gut. Zellen blass, theilweise jedoch mehr grün, bis 16 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung gut. Zellbildung üppig, bis 16 μ.
	5	Keine Säuerung. Entwickelung sehr gering oder Null. Wenige, wohl meist abgestorbene, kleine Zellen.	Keine Säuerung. Entwickelung sehr gering oder Null. Zellen wenig zahlreich, blass, bis 8 μ., wohl meist abgestorben.	Keine Säuerung. Keine Entwickelung. Die wenig vorhandenen Zellen mit körnigem oder fettreichem Inhalt, bis 12 μ.
	10	Keine Säuerung. Keine Entwickelung. Zellinhalt körnig, sonst wie vorhin.	Keine Säuerung. Keine Entwickelung. Zellen wie vorhin.	desgl.

Substanz	%	*Prototheca Zopfii*	*Chlorella protothecoides*	*Chlorothecium saccharophilum*
Cl^2Mg	1	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen bis 16 μ.	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen blass, bis 13 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung gut. Zellbildung üppig, bis 20 μ.
	5	desgl.	desgl.	Keine Säuerung. Entwickelung gut. Zellbildung üppig, 20, vereinzelt bis 24 μ.
	10	Keine oder sehr schwache Säuerung. Entwickelung gering. Zellen normal, bis 13 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung gering. Zellen wie vorhin.	Keine Säuerung. Entwickelung mässig. Zellen bis 13 μ.
Cl^2Ca	1	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ.	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen blass, bis 13 μ., im allgemeinen jedoch kleiner.	Keine Säuerung. Entwickelung gut. Zellen bis 16 μ.
	5	Säuerung. Entwickelung mässig bis gut. Zellen bis 11 μ., theils fettreich.	Säuerung schwächer. Entwickelung mässig bis ziemlich gut. Zellen wie vorhin.	Keine Säuerung. Entwickelung ziemlich gut. Zellen wie vorhin.
	10	Keine Säuerung. Entwickelung sehr gering oder Null. Zellen bis 8 μ., sonst wie vorhin.	Keine Säuerung. Entwickelung sehr gering oder Null. Zellen bis 11 μ., sonst wie vorhin.	Keine Säuerung. Entwickelung gering. Zellen kleiner, bis 13 μ.
Cl^2Ba	1	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ.	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen wie 1 % Cl^2Ca.	Keine Säuerung. Entwickelung ziemlich gut. Zellen kleiner, bis 13 μ., sonst wie 1 % $CaCl^2$, sehr blass.
	5	Keine Säuerung. Entwickelung mässig. Zellen bis 13 μ., grösstentheils abgestorben. Später Säuerung.	Keine Säuerung. Entwickelung mässig. Zellen bis 13 μ., doch nur vereinzelt, meist kleiner, blass. Später Säuerung und stärkere Entwickelung.	Keine Säuerung. Entwickelung mässig. Zellen wie vorhin.
	10	Keine Säuerung. Entwickelung gering oder Null. Nur wenig kleine, meist abgestorbene Zellen sind vorhanden.	Keine Säuerung. Entwickelung gering oder Null. Zellen bis 9 μ., sonst wie vorhin.	Keine Säuerung. Entwickelung gering. Zellen wie vorhin.
SO^4K^2	1	Säuerung. Entwickelung gut bis sehr gut. Zellen bis 16 μ.	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen blass, bis 16 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung gut. Zellen gelbgrün, bis 18 μ.
	5	Säuerung schwächer. Entwickelung gut bis sehr gut. Zellen wie vorhin.	Säuerung schwächer. Entwickelung gut. Zellen blass, bis 13 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung gut. Zellbildung wie vorhin.
	10	Keine Säuerung. Entwickelung gering. Zellen wie vorhin, theils fettreich.	Keine Säuerung. Entwickelung gering. Zellen mehr grün, bis 13 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung geringer. Zellen kleiner, bis 14 μ. lebhafter grün.

Substanz %		*Prototheca Zopfii*	*Chlorella protothecoides*	*Chlorothecium saccharophilum*
SO^4Na^2	1	Säuerung. Entwickelung gut. Zellbildung wie bei 1 % SO^4K^2.	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen wie bei 1 % SO^4K^2, theils fettreich.	Keine Säuerung. Entwickelung gut. Zellen wie bei 1 % SO^4K^2.
	5	desgl.	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen etwas kleiner, sonst wie vorhin.	Keine Säuerung. Entwickelung gut. Zellen wie vorhin.
	10	Säuerung schwach. Entwickelung ziemlich gut. Zellen wie vorhin.	Säuerung schwächer. Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ., mehr grün, sonst wie vorhin.	Keine Säuerung. Entwickelung geringer. Zellen lebhafter grün, sonst wie vorhin.
SO^4Mg	1	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen bis 16 μ., theils fettreich.	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen blass, bis 16 μ., theils fettreich.	Keine Säuerung. Entwickelung gut. Zellen wie bei 1 % SO^4K^2.
	5	desgl.	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen wie vorhin, sehr fettreich.	Keine Säuerung. Entwickelung gut. Zellen theils grüner, sonst wie vorhin.
	10	Säuerung. Entwickelung ziemlich gut. Zellen etwas kleiner, bis 12 μ., sonst wie vorhin.	Säuerung. Entwickelung ziemlich gut. Zellen etwas kleiner, bis 12 μ., sonst wie vorhin.	Keine Säuerung. Entwickelung geringer. Zellen wie vorhin, doch im allgemeinen kleiner, bis 15 μ.
PO^4K^2H Lösung nicht neutralisirt	1	Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ.	Entwickelung gut. Zellen blass, bis 13 μ.	Entwickelung gut. Zellbildung wie beim SO^4K^2.
	5	Entwickelung mässig bis gering. Zellen theils fettreich, bis 11 μ.	Entwickelung mässig. Zellen kleiner, bis 11 μ., ungünstig im Aussehen, theils fettreich, theils mit coagulirtem Inhalt.	Entwickelung mässig. Zellen wie vorhin, doch weniger üppig.
	10	Entwickelung gering. Zellen meist fettreich, klein, bis 9 μ.	Entwickelung sehr gering. Nur wenige, theils fettreiche und kleine Zellen, bis 8 μ.	Entwickelung gering. Zellen kleiner, bis 13 μ., etwas grüner.
PO^4Na^2H	1	Säuerung schwach. Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ.	Säuerung schwach. Entwickelung gut. Zellen bis 13 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung gut. Zellen wie bei 1 % SO^4K^2.
	5	Keine oder sehr schwache Säuerung. Entwickelung gut. Zellen wie vorhin.	Säuerung sehr schwach. Entwickelung gut. Zellen blass, bis 13 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung gut. Zellen grüner, sonst wie vorhin.
	10	Keine Säuerung. Entwickelung gering. Zellen bis 11 μ., wenig zahlreich, theils fettreich, theils mit coagulirtem Inhalt, im allgemeinen wenig günstig im Aussehen.	Keine Säuerung. Entwickelung mässig bis ziemlich gut. Zellen kleiner, bis 11 μ. Zellen grüner.	Keine Säuerung. Entwickelung ziemlich gut. Zellen wie vorhin.

Substanz %	*Prototheca Zopfii*	*Chlorella protothecoides*	*Chlorothecium saccharophilum*
NO^3Na 1	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen bis 16 μ.	Säuerung. Entwickelung gut. Zellen blass, bis 16 μ., theils fettreich.	Keine Säuerung. Entwickelung gut. Zellbildung üppig, Inhalt blass, Zellen bis 20 μ.
5	Keine Säuerung. Entwickelung mässig. Zellen bis 12 μ., weniger normal aussehend.	Säuerung schwach. Entwickelung mässig. Zellen theils fettreich, bis 13 μ.	Keine Säuerung. Entwickelung mässig. Zellen kleiner und etwas mehr grün.
10	Keine Säuerung und Entwickelung. Nur wenige kleine, bis 7 μ. grosse Zellen vorhanden.	Keine Säuerung und Entwickelung. Nur wenige, theils fettreiche und kleine Zellen, bis 8 μ., vorhanden.	Keine Säuerung und Entwickelung. Nur wenige Zellen mit körnigem und fettreichem Inhalt vorhanden, klein bis 11 μ.

Die entwickelte Masse zeigte sich in allen Versuchen bei den beiden Algen gelblich bis gelblichgrün, wie wir es auch sonst bei Ernährung mit Traubenzucker schon kennen gelernt haben. Am wenigsten gefärbt und dabei fast rein gelb war dieselbe bei *Chlorella protothecoides,* während sie bei *Chlorothecium saccharophilum* mehr eine gelbgrüne Farbe hatte.

Es ergiebt sich also bezüglich der angewandten anorganischen Salze, dass die Concentrationsgrenze des Wachsthums der beiden Algen mit 10 % theils erreicht, theils schon überschritten ist. Eine Ausnahme bildet die schwefelsaure Magnesia, in deren 10procentiger Lösung die Algen noch ziemlich gut gedeihen. Im Vergleich zu anderen niederen Organismen zeigt sich, dass die Concentrationsgrenze des Wachsthums der untersuchten Algen ziemlich niedrig gelegen ist.[1] Die Concentrationsgrenze der Chloride liegt übrigens noch niedriger, als die der Phosphate und Sulfate. Ferner ersieht man, dass mit zunehmender Concentration die Zellen und Sporangien im allgemeinen kleiner werden und die Säuerung, wo sie überhaupt auftritt, schliesslich unterbleibt.

D. Zur Ausscheidung kommende Stoffwechselprodukte.

In dieser Beziehung ist hier ebenfalls nur die in Zuckerlösungen (Traubenzucker, Galactose) auftretende Bildung einer Säure, deren Natur ich bis jetzt noch nicht feststellen konnte, hervorzuheben. Dagegen trat weder auf den verschiedenartigen im Laufe der Zeit zur Verwendung gekommenen Gelatinenährböden, noch auf einer speciell für diesen Zweck präparirten Gelatine ohne Peptonzusatz Peptonisirung ein, so dass die Annahme gerechtfertigt erscheint, dass kein Gelatine peptonisirendes Ferment von den untersuchten Algen abgeschieden wird.

1) Bezüglich der Vergleiche verweise ich auf die Angaben von Bruhne in der Abhandlung I dieses Heftes.

Aber auch kein diastatisches Ferment wird gebildet, denn wenn man eine neben Pepton und Nährsalzen Stärkemehl enthaltende saure oder neutrale Gelatine in Schälchen ausgiesst, und dieselbe mit den Algen impft, so lässt sich zu keiner Zeit, wie man mit Jodlösung in bekannter Weise nachweisen kann, eine Umwandlung der Stärke erhalten. Also in Bezug auf Peptonisirung und Bildung von Diastase verhalten sich die vorliegenden Algen ganz so negativ wie *Pr. moriformis* und *Pr. Zopfii.*

Wenn ich nun zum Schluss die wichtigsten Resultate der vorstehenden physiologischen Versuche zusammenstellen soll, so würde in erster Linie die Thatsache hervorzuheben sein, dass *Chlorella protothecoides* und *Chlorothecium saccharophilum* sich von organischen Substanzen zu ernähren im Stande sind, und dass diese Ernährung einen besonders günstigen Einfluss auf das Wachsthum auszuüben vermag, während die Kultur in blossem Wasser mit Nährsalzen bei weitem kein so günstiges Ergebniss liefert. Zu einem ähnlichen Resultat ist auch Beyerinck in Beziehung auf andere Algenvertreter gelangt. — Was nun die Frage anbelangt: Welchen Nährwerth haben die einzelnen organischen Substanzen? so sind folgende Resultate gewonnen worden.

Von Kohlehydraten und mehrwerthigen Alkoholen ernähren am besten bei *Chlorella protothecoides* Traubenzucker, Galactose und Glycerin,

bei *Chlorothecium saccharophilum* Traubenzucker und Mannit.

Weniger gut

bei *Chlorella protothecoides* Dextrin, Maltose und Milchzucker,

bei *Chlorothecium saccharophilum* Dextrin, Maltose, Galactose und Milchzucker.

Gar nicht

bei *Chlorella protothecoides* Rohrzucker, Mannit und Inulin,

bei *Chlorothecium saccharophilum* Rohrzucker, Glycerin und Inulin.

Beyerinck dagegen fand für seine Algen *(Scenedesmus acutus* Meyen, *Chlorella vulgaris* Beyerinck, *Chlorosphaera limicola* B und *Cystrococcus humicola* aus *Physcia parietina)*, dass nicht allein Glycose, Laevulose und Maltose, sondern selbst Rohrzucker aufgenommen wird.

Wie für gewisse Beyerinck'sche, so ergab auch für meine Objekte die Ernährung mit Kohlenstoffverbindungen auffällige Vergrösserung der Zellen und Sporangien, die etwa bis aufs Doppelte bis Dreifache des Durchmessers stieg, desgleichen trat die Intensität der Chlorophyllbildung in gut nährenden Verbindungen dieser Art bedeutend zurück.

Die Ernährung mit Stickstoffverbindungen in verschiedener Form ergab Folgendes:

bei *Chlorella protothecoides* findet ohne Verabreichung von Stickstoff nur eine mässige,

bei *Chlorothecium saccharophilum* nur eine äusserst geringe Entwickelung statt.

Die Zellen werden dabei auffallend klein und fettreich.

Ihren Stickstoffbedarf können decken

Chlorella protothecoides aus Pepton, Asparagin und Ammoniaksalzen,

Chlorothecium saccharophilum aus den genannten Stoffen und Nitraten.

Die Versuche Beyerinck's, die leider nur mit Gelatinemischungen und nicht mit Nährflüssigkeiten angestellt, also nicht ganz exakt sind, ergaben, dass für die oben genannten vier Species nur Peptone als Stickstoffnahrung in Betracht kommen, er führt noch an, dass *Scenedesmus acutus* und *Chlorella vulgaris* durch Ammoniaksalze und Nitrate nicht ernährt werden, für letztere Species auch Asparagin nicht nährend wirke.

Auch der sonstige Inhalt veränderte sich unter diesen Verhältnissen ziemlich auffällig, insofern er grobkörnige Beschaffenheit annahm. Die Gelatine sich als Nährstoff durch Peptonisirung nutzbar zu machen, wie zwei der Beyerinck'schen Algen es thaten, vermochten die von mir untersuchten Species nicht, auch wenn sie keine sonstige Stickstoffquelle zur Verfügung hatten.

Als eine anaerobische Form, wie sie Beyerinck in seiner *Chlorosphaera limicola* gefunden hat, ist keine meiner beiden Algen anzusprechen. Auch ein diastatisches Ferment wird nicht abgeschieden.

Ich darf zum Schluss vielleicht noch darauf hinweisen, dass ich aus dem Saftfluss der Laubbäume noch verschiedene andere, niedere Organismen isolirt habe, die vom physiologischen Standpunkt aus ein gewisses Interesse besitzen und die ich daher, falls die Verhältnisse es gestatten sollten, weiter zu untersuchen gedenke.

Schliesslich habe ich noch die angenehme Pflicht, Herrn Prof. Zopf, der mich in die Kulturmethoden der niederen Organismen einführte, für seine Unterstützung mit Rath und That meinen ergebenen Dank auszusprechen.

Erklärung der Abbildungen von Tafel IV.

Fig. 1—13. *Prototheca moriformis* und *Pr. Zopfii;* 1000fach.

Fig. 1 u. 2. Habitusbilder von Impfstrich-Kolonien der *Pr. moriformis* (1) und *Pr. Zopfii* (2), die auf derselben Zucker- und Pepton-haltigen Nährgelatine unter gleichen Bedingungen gezüchtet waren, in nat. Gr. Die Kolonie von *Pr. moriformis* erscheint dick schleimig, glatträndrig, die von *Pr. Zopfii* dagegen flach, am Rande crenulirt und gezont.

Fig. 3. Zellen von *Pr. moriformis* aus 6tägiger Kultur auf zuckerhaltigem Nähragar, sämmtlich noch vor der Sporangienbildung stehend, auf verschiedenen Altersstufen.

Fig. 4. Zellen derselben Species, derselben Kultur entnommen, aber etwas älter. Ihr Inhalt ist bereits in Theilung begriffen. Die Theilungsstadien in der Reihenfolge der Buchstaben *a*—*h*.

Fig. 5. Entwickelte Sporangienzustände aus einer etwa 8 Tage alten Kultur auf zuckerhaltigem Nähragar, theils 2, theils 4, theils mehrere, bereits in Abrundung begriffene Sporen enthaltend.

Fig. 6. Eine entleerte und eine zum Theil entleerte Sporangienhaut.

Fig. 7. Mit Haematoxylin gefärbte Sporangien-Membranen. Die stärkere Färbung der Pole ist durch die dunkel gehaltenen Stellen angedeutet.

Fig. 8. Dauersporen-artige Zustände (?) aus einer alten Fleischextractkultur mit dicker Membran und Fetttröpfchen im Inhalt.

Die Figuren 9—13 beziehen sich auf *Pr. Zopfii.*

Fig. 9. Zellen aus einer jungen Agarkultur, verschieden alt und noch nicht in Sporangienbildung begriffen.
Fig. 10. In Sporangienbildung (Theilung des Inhalts) begriffene Zellen, *a* von oben, *b*—*d* im optischen Durchschnitt gezeichnet.
Fig. 11. Reife Sporangien mit theils noch geschlossener (*a*), theils bereits gesprengter (*b*—*d*), theils völlig entleerter Membran (*e*).
Fig. 12. Sporangien mit fettreichen Sporen, wie sie z. B. in Agarkulturen nach einigen Wochen auftreten.
Fig. 13. Dauerzustände mit dicker Membran aus einer alten Agarkultur.

Tafel V.

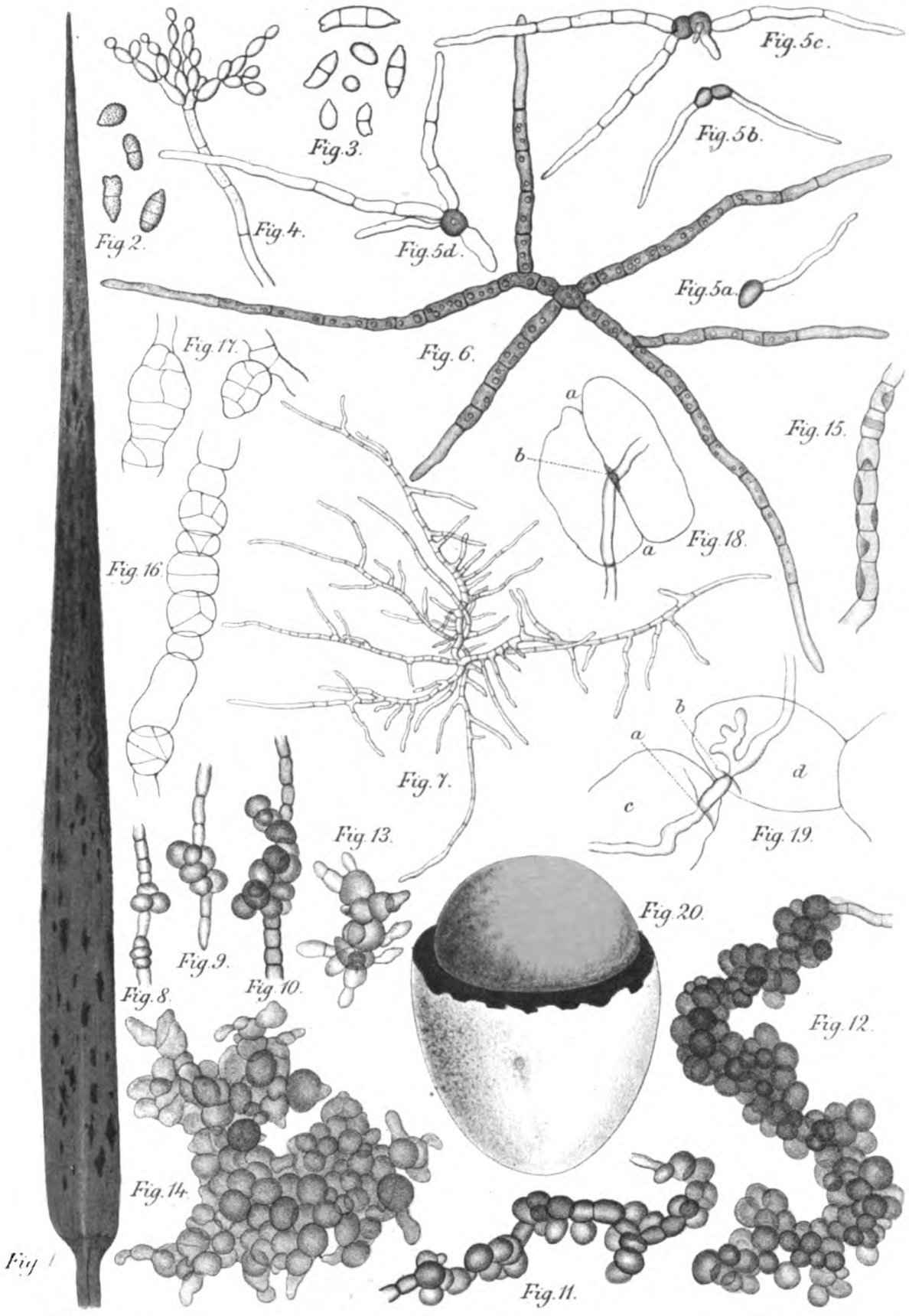
Chlorothecium saccharophilum und *Chlorella protothecoides.*

Mit Ausnahme der beiden Habitusbilder sind alle Figuren 1410fach vergrössert.

Fig. 1. Reinkultur von *Chlorella protothecoides* auf Bierwürze-Gelatine in natürlicher Grösse.
Fig. 2. Reinkultur von *Chlorothecium saccharophilum* auf Bierwürze-Gelatine in natürlicher Grösse.
Fig. 3—14. *Chlorothecium saccharophilum* aus einer Reinkultur in Wasser, welches nur Salze und etwas Pepton, aber keine Kohlehydrate enthielt.
Fig. 3—6. Zellen von verschiedener Grösse mit noch einfachen Chlorophoren, bei 6 vom Scheitel gesehen.
Fig. 7—14. Verschiedene Stadien der Sporangienbildung; bei 7 ist nur erst der Chlorophor, bei 8—12 auch der Inhalt getheilt, bei 13 und 14 sind die Gonidien in Abrundung begriffen, bei 14 hat sich das Sporangium bereits geöffnet.
Fig. 15—26a. *Chlorothecium saccharophilum* aus einer älteren Reinkultur auf Bierwürze-Gelatine!
Fig. 15—20. Noch vor der Sporangiumbildung stehende Zellen mit undeutlichen Chlorophoren und grobkörnigem Inhalt, 20 von abnormer Gestalt.
Fig. 21—23 Beginn der Sporangienbildung, Theilungszustände des Chlorophors.
Fig. 24. Halbreifes Sporangium.
Fig. 25. Reifes Sporangium, es hat einige Gonidien bei *a* entleert.
Fig. 26a. Gonidie in Entwickelung begriffen.
Fig. 26b—30. *Chlorothecium saccharophilum* aus einer jungen (erst 8 Tage alten) Kultur auf Bierwürze-Gelatine! Stadien von der Gonidie Fig. 26b bis zum Sporangium Fig. 30.
Fig. 31—36. *Chlorella protothecoides* aus einer Reinkultur in Wasser, welches nur Salze und etwas Pepton, aber keine Kohlehydrate enthielt. Die Chlorophoren überall scharf begrenzt und ausgesprochen chlorophyllgrün, bei 33—36 in Sporangienbildung.
Fig. 37—53. *Chlorella protothecoides.* Reinkultur auf Bierwürze-Gelatine (acht Tage alt)! Die Zellen bilden das Chlorophyll in so schwacher Weise aus, dass sie unter dem Mikroskop bei starken Vergrösserungen fast völlig oder völlig farblos erscheinen. Ausserdem werden sie stärker körnig, als in der Wasserkultur und erheblich grösser.
Fig. 37. Ein eben entleertes Sporangium.
Fig. 38—39. Ein kleinerer und ein grösserer Gonidienballen.
Fig. 40—44. In Vergrösserung begriffene, zur Sporangienbildung sich vorbereitende Zellen, bei 43 mit einem Oeltropfen, bei 42 mit Chlorophyllspuren versehen.
Eig. 45—53. Sporangien in verschiedenen Stadien der Ausbildung, bei 48 mit wahrnehmbarem Chlorophyll.
Fig. 54. Stark fetthaltige Zellen, wie man sie in Nährlösungen erhält, denen Stickstoff ganz fehlt oder in Form von salpetersaurem Kali beigegeben ist.

Halle a. S., Buchdruckerei des Waisenhauses.

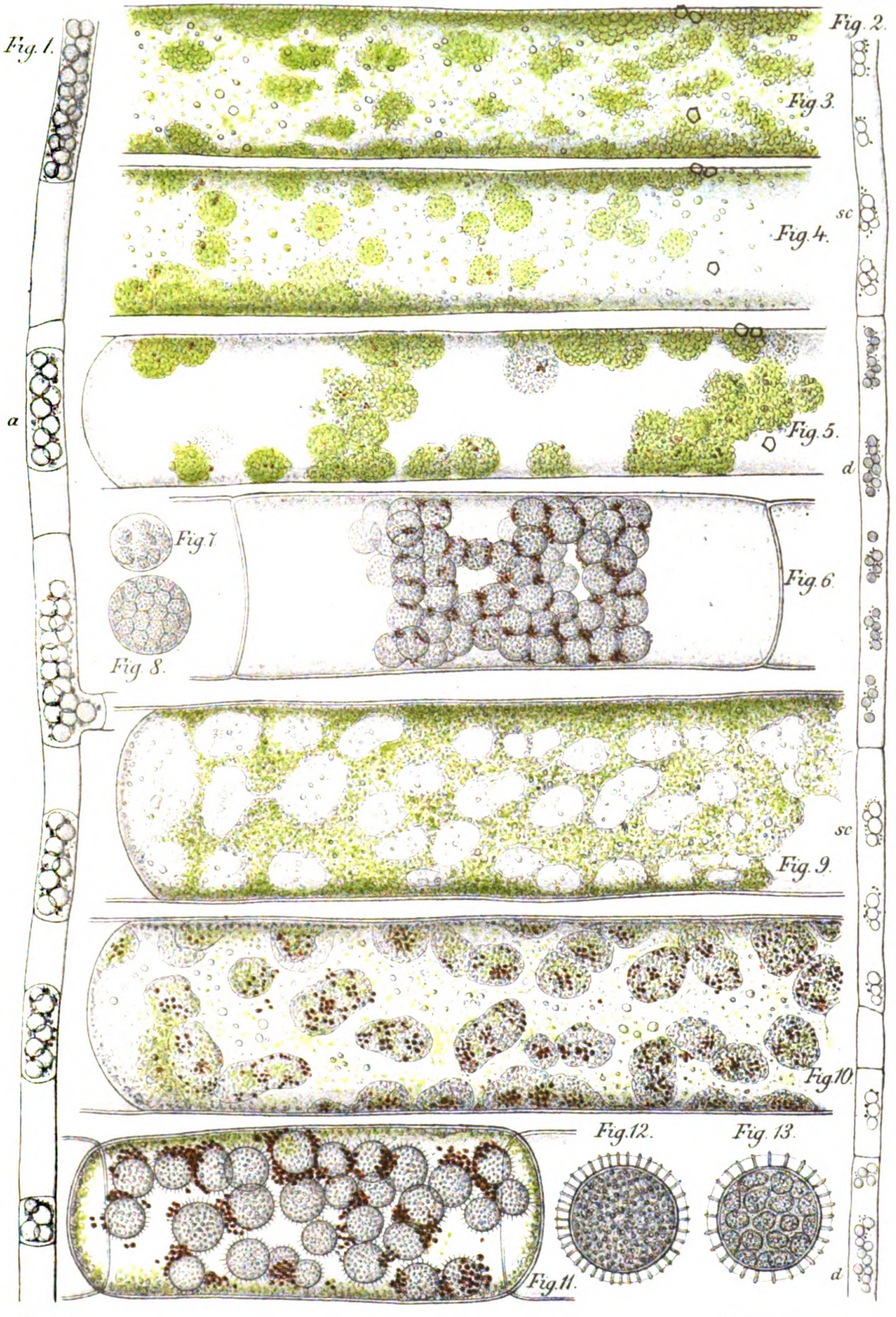
Taf. I.



K. Bruhne del.

E. Laue lith. Berlin

Taf. II.



W. Lopf del.

E. Laue lith. Berlin

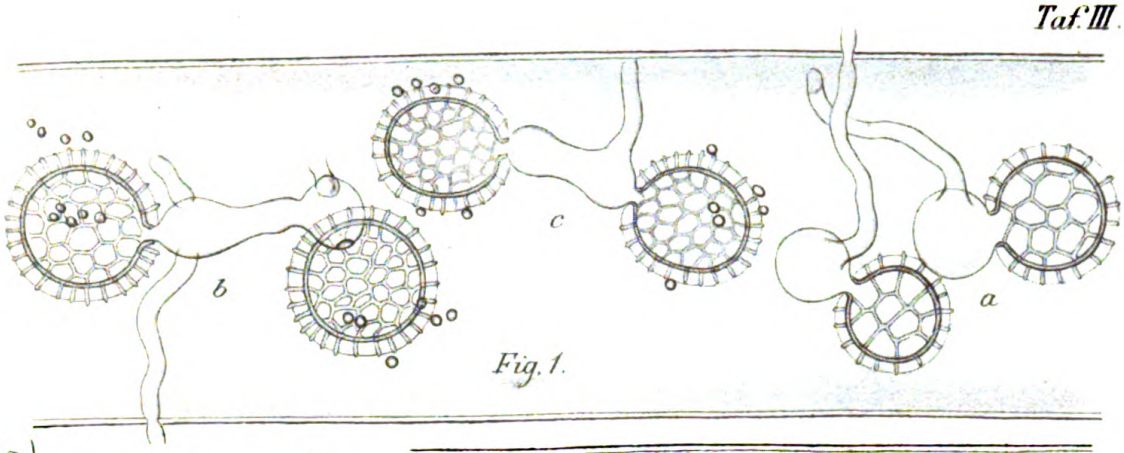


Fig. 1.

Fig. 2.

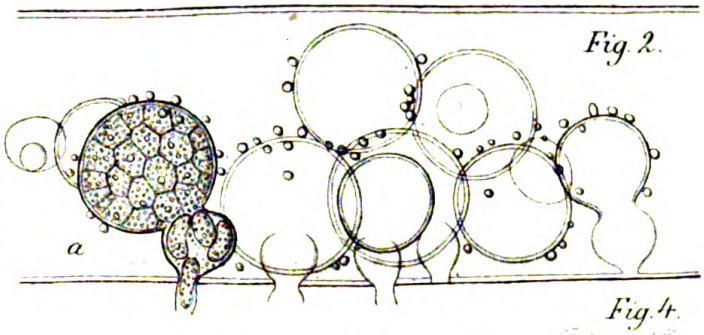


Fig. 4.

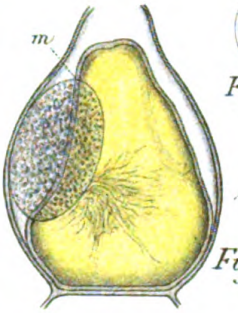


Fig. 6.



Fig. 5.

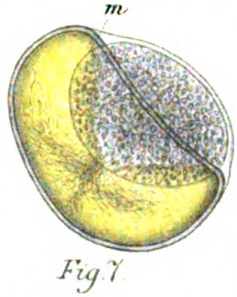


Fig. 7.



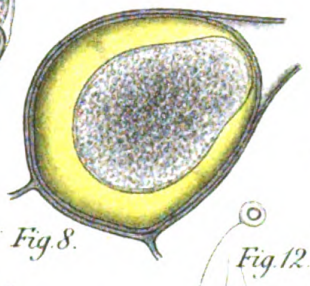


Fig. 8.

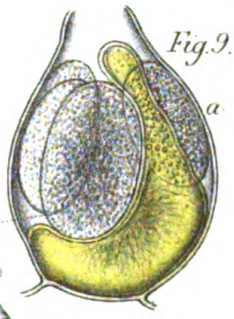


Fig. 9.

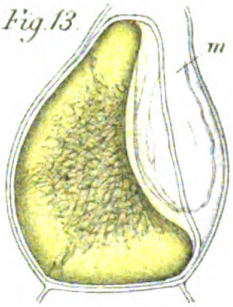


Fig. 13.

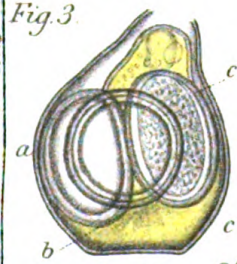


Fig. 15.

Fig. 3.



Fig. 12.



Fig. 11.

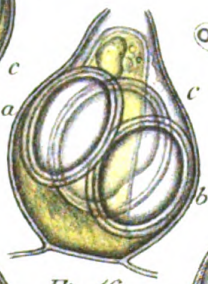


Fig. 16.



Fig. 10.

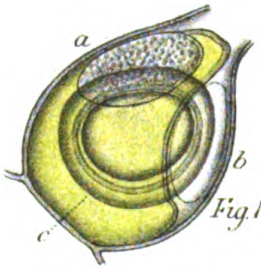


Fig. 14.

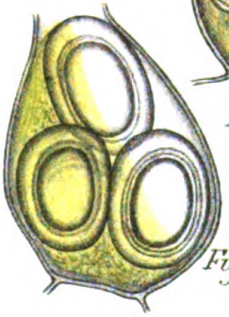


Fig. 17.

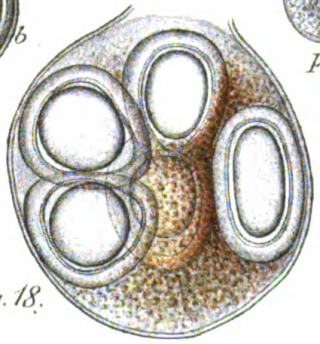


Fig. 18.

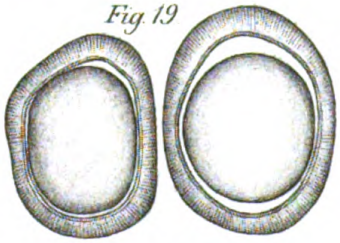


Fig. 19.

W. Zopf del.

E. Laue lith. Berlin

Fig. 3.

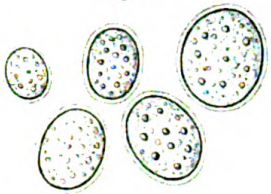


Fig. 4.

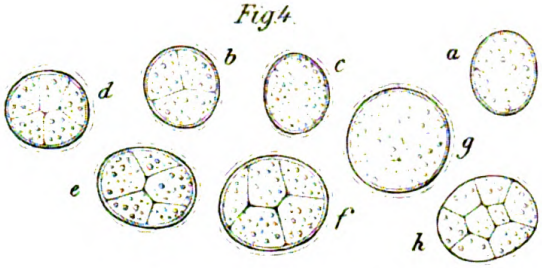


Fig. 5.

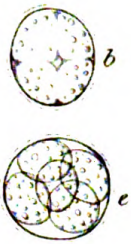
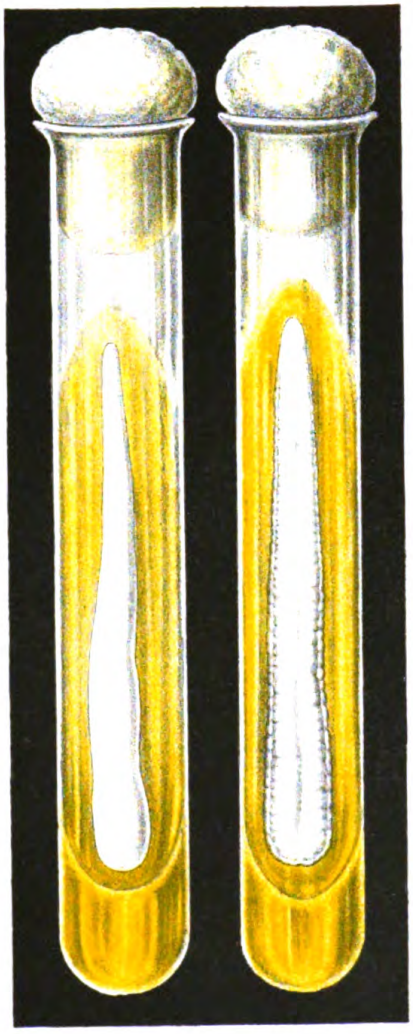


Fig. 6.



Fig. 1.

Fig. 2.



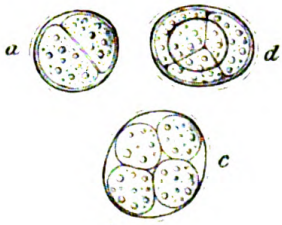


Fig. 7.



Fig. 8.

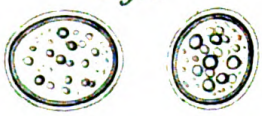


Fig. 9.

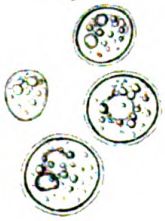


Fig. 11.

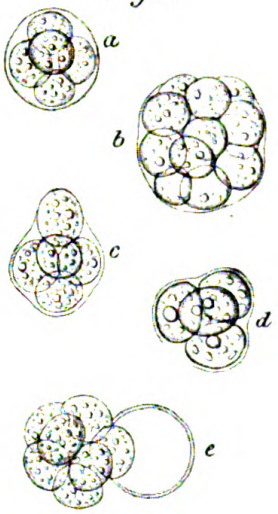


Fig. 10.

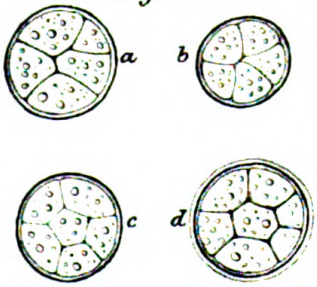
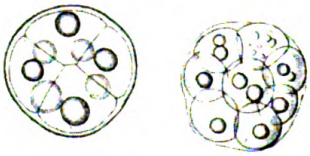
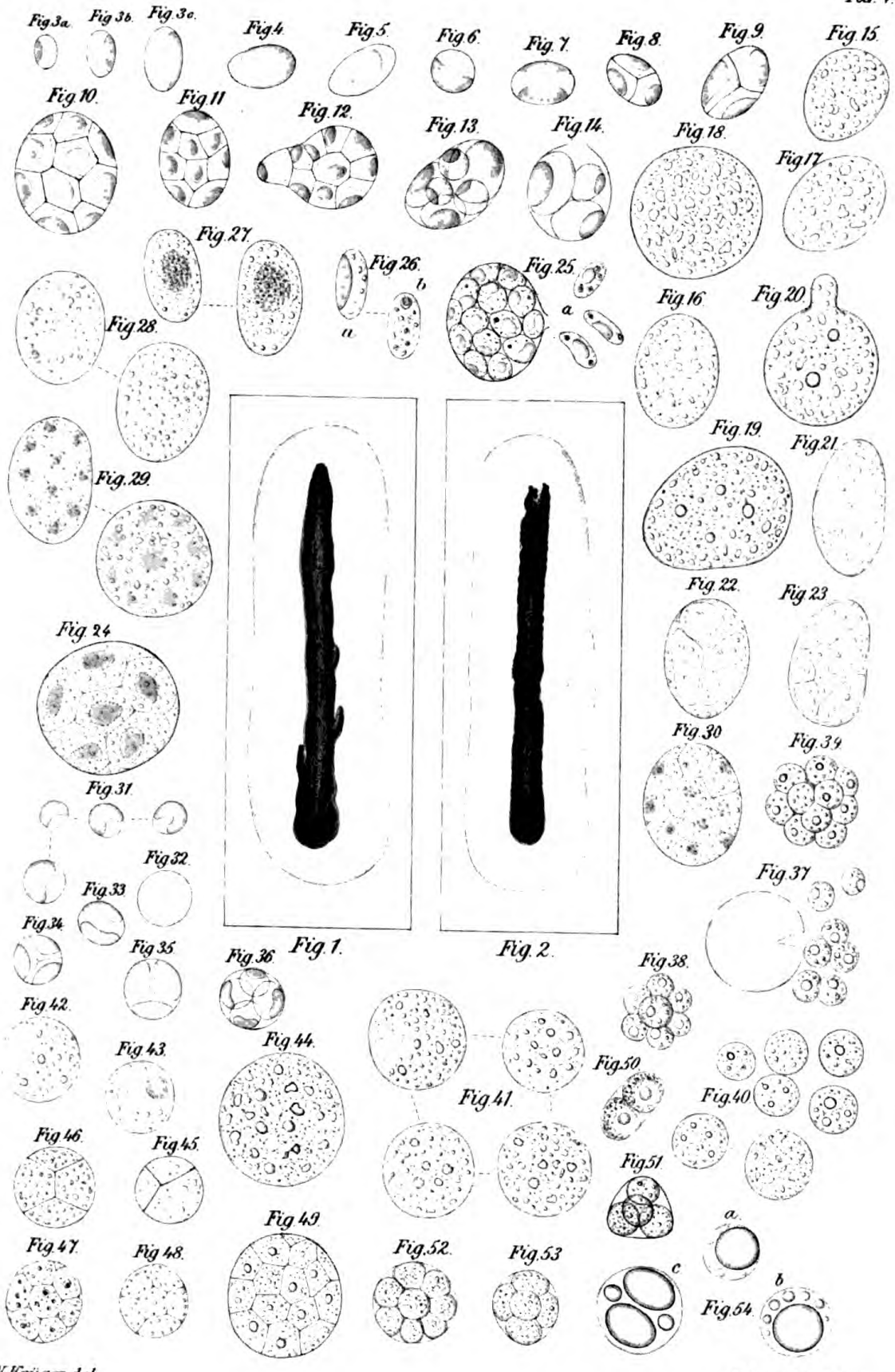


Fig. 13.



Fig. 12.





W. Krüger del.

E. Laue lith. Berlin

Beiträge

zur

Physiologie und Morphologie

niederer Organismen.

Aus dem Kryptogamischen Laboratorium der Universität Halle a. S.

Herausgegeben

von

Professor **Dr. W. Zopf,**
Vorstand des Kryptogamischen Laboratoriums der Universität Halle.

Fünftes Heft.

Mit zwei lithographirten Tafeln, einer Lichtdrucktafel und drei Textfiguren.

Leipzig.
Verlag von Arthur Felix.
1895.

Inhaltsverzeichniss zum fünften Heft.

	Seite
Vergleichende Untersuchungen über landwirthschaftlich wichtige Flugbrandarten von Dr. P. Herzberg	1—36
Erklärung der Abbildungen	34
Zur Kenntniss des regressiven Entwicklungsganges der Beggiatoen nebst einer Kritik der Winogradski'schen Auffassung betreffs der Morphologie der rothen Schwefelbacterien von W. Zopf	37—44
Zur Kenntniss der Stoffwechselproducte der Flechten von W. Zopf . .	45—72
I. Vorkommen und Verbreitung von Pulvinsäure-Derivaten bei Flechten	45
II. Über zwei neue krystallisirende Flechtensäuren	65

Vergleichende Untersuchungen über landwirthschaftlich-wichtige Flugbrandarten.

Von

Dr. phil. P. Herzberg.

Je mehr sich unsere Kenntniss von den Lebewesen in morphologischer und physiologischer Beziehung erweitert, desto mehr macht sich die Nothwendigkeit geltend, eine schärfere Unterscheidung der Formen vorzunehmen.

Auf dem Gebiete der Botanik tritt diese Forderung wohl am stärksten bei den niederen Kryptogamen hervor, speziell bei den Pilzen und Bakterien. Die Zahl der alten Arten, die sich bei näherer Untersuchung als sogenannte Sammelspezies erweisen, wächst daher von Tag zu Tage. So lehrte z. B. Emil Chr. Hansen durch seine bekannten Untersuchungen über die Hefepilze, dass das, was man bis dahin als *Sacharomyces Cerevisiae* (Bierhefe) bezeichnet hatte, eine Kollektivspezies darstellt, die mindestens 3 verschiedene Arten umfasst. Ein Gegenstück hierzu bildet die von de Bary aufgefundene Thatsache, nach welcher die alte Pringsheim'sche Spezies *Saprolegnia ferax,* die bekanntlich unsere Fische abzutöten vermag, mindestens sieben durchaus verschiedene Arten repräsentirt.

Auch solche Pilzspezies, welche Pflanzenkrankheiten hervorrufen, haben in neuerer Zeit vielfach in zwei oder mehrere Arten gespalten werden müssen. Dahin gehört vor allen Dingen der landwirthschaftlich so wichtige, als Zerstörer der Früchte unserer Kulturgräser auftretende Flugbrand, *Ustilago Carbo* D. C.

Nach neueren Untersuchungen soll diese alte Art eine ganze Reihe von wohl unterscheidbaren Spezies in sich begreifen, von denen auf dem europäischen Kontinent bereits 7 aufgefunden worden sind.

Den Anfang mit der Spaltung der de Candolle'schen Art machte 1888 Brefeld.[1] Er fand, dass der Flugbrand von Weizen und von Gerste im Gegensatz zum Flugbrand des Hafers und des französischen Raigrases conidienlose Mycelien bildete und Haferpflanzen nicht zu infiziren vermochte, und trennte auf Grund dieses Befundes die die beiden erst-

---

1) Neue Untersuchungen über die Brandpilze etc. II. Nachrichten aus dem Klub der Landwirthe 1888.

genannten Gräser bewohnenden Formen als *Ust. Hordei* von *Ust. Carbo* ab.

Zwei Jahre später zeigte dann der bekannte dänische Pflanzenpathologe E. Rostrup,[1] dass jene Weizen und Gerste bewohnenden Flugbrandformen nicht, wie Brefeld annahm, als einheitliche Spezies betrachtet werden dürften, sondern drei verschiedene Spezies darstellten: eine Weizen bewohnende, eine Gerste bewohnende, bei der Keimung keine Konidien bildende und eine ebenfalls aus der Gerste lebende, aber Konidien bildende Art. Die erstere nannte er *Ust. Tritici*, die dritte *Ust. Jensenii*, während er für die zweite den Namen *Ust. Hordei* beibehielt.

Ferner trennte er den Hafer bewohnenden Flugband als *Ust. Avenae* von dem das französische Raigras bewohnenden ab, welchem letzteren er den Namen *Ust. perennans* gab.

Bald darauf gab N. Wille[2] bekannt, dass aus dem Hafer ausser der bewarzten Art *Ust. Avenae*, noch eine zweite Flugbrandspezies mit glatten Sporen vorkomme, die er als *Ust. Kolleri* bezeichnete.

Ganz neuerdings hat dann E. Biedenkopf[3] auf Gerste noch eine bewarzte Konidien abschnürende Flugbrandart beobachtet. Dieselbe wurde von ihm *Ust. medians* genannt.

Es fragt sich nun aber, ob eine so weit gehende Spaltung, wie sie die genannten Autoren vorgenommen haben, auch wirklich berechtigt ist, oder ob etwa gewisse der neuen Species, wie z. B. die auf dem Hafer und dem französischen Raigrase vorkommenden oder die unsere Gerste bewohnenden, nicht doch vielleicht nur blosse Formen einer und derselben Spezies sind.

Eine eingehende Prüfuug dieser Frage ist bisher noch nicht versucht worden; namentlich hat sich noch niemand damit befasst, jene verschiedenen neuen Spezies in Reinkulturen zu züchten und mit Hilfe derselben die Morphologie dieser Pilze in vergleichender Weise zu studiren. Es fehlt auch noch gänzlich an vergleichenden physiologischen Versuchen.

Da es nun für den Landwirth von Wichtigkeit ist festgestellt zu sehen, mit wieviel verschiedenen Flugbrandarten er es auf seinem Acker zu thun hat, und ob sie biologisch so weit differiren, dass gegen eine jede derselben eine besondere Bekämpfungsweise in Anwendung gebracht werden muss, so habe ich auf Anregung des Herrn Professor Zopf im hiesigen kryptogamischen Laboratorium vergleichende Untersuchungen in der angegebenen Richtung vorgenommen.

Ich ergreife gern diese Gelegenheit Herrn Professor W. Zopf meinen Dank dafür auszusprechen, dass er mich mit den Untersuchungsmethoden der Pilze vertraut gemacht und mir bei dieser Arbeit durch Rath und That fördernd zur Seite gestanden hat.

---

1) E. Rostrup, Nogle Undersogelser angaende Ustilago carbo. Kopenhagen 1890. (V. Danske Vidensk. Selsk. Forh. 1890.)

2) N. Wille, Mycologische Notiser. Sep. aus Botaniska Notiser 1893 (Ref. in Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten Bd. IV. Heft 3 1894).

3) Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten Bd. IV.

Da beim Beginn meiner Arbeit im Herbst 1892 *Ust. Kolleri* Wille und *Ust. medians* Biedenkopf überhaupt noch nicht bekannt waren, so beschränkten sich meine Studien auf diejenigen fünf Arten, die ich um Halle zu sammeln und zu beobachten Gelegenheit hatte, nämlich: *Ust. Jensenii* Rostr., *Ust. Avenae* Pers., *Ust. perennans* Rostr., *Ust. Tritici* Pers.-Rostr. und *Ust. Hordei* Rostr. [Ust. Hordei (Brefeld ex parte)].

Von allen diesen Arten wurden zunächst in der später anzuführenden Weise Reinkulturen hergestellt, die dann den Ausgangspunkt für die morphologische und physiologische Untersuchung bildeten.

I. Morphologischer Abschnitt.

A. Beschaffenheit der Dauersporen.

Die Dauersporen sämmtlicher fünf Spezies sind der Regel nach von kugelförmiger Gestalt. Ausnahmsweise kommen kurz elipsoïdische oder eiförmige Formen vor.

Die Membran ist bei allen fünf Spezies olivenbraun. Während sie bei *Ust. Jensenii* glatt erscheint, ist sie bei allen übrigen Arten mit wärzchenförmiger Skulptur versehen. Bei stärkerer Vergrösserung erweist sich die eine Hälfte der Sporenmembran nicht unbeträchtlich stärker verdickt als die andere kleinere und daher entsprechend dunkler gefärbt. Bei Behandlung mit konz. Schwefelsäure tritt dieses noch deutlicher hervor.

Bei den Sporen von *Ust. Jensenii* sind übrigens Verdickung und Bräunung häufig auf eine breite Zone beschränkt, so dass man zwei den beiden Polen entsprechende helle Kalotten gewahrt, von denen die eine grösser ist als die andere. Wo eine Wärzchenbildung überhaupt auftritt, pflegt sie an dem weniger verdickten Theile stärker hervorzutreten als an dem andern.

Wie ich gleich an dieser Stelle hervorheben will, erfolgt an dieser weniger verdickten Stelle der Sporenhaut, die gewissermassen einem breiten Keimporus entspricht, die Auskeimung.

Was die Grösse der Sporen anbetrifft, so lieferten von mir an frischem Materiale vorgenommene Messungen folgende Resultate:

Die Grösse der Sporen schwankte, wenn abnorm kleine wie abnorm grosse unberücksichtigt blieben, bei

Ust. Jensenii	zwischen	5,2	und 7,8	μ,
Ust. Avenae	„	5,2	und 7,5	μ,
Ust. perennans	„	3,9	und 5,2	μ,
Ust. Hordei	„	5,2	und 6,5	μ,
Ust. Tritici	„	5,2	und 7,5	μ.

Hiernach besitzt von den fünf Spezies *Ust. Jensenii* die grössten, *Ust. perennans* die kleinsten Sporen; doch bietet die Grösse der Sporen keinerlei sichere Anhaltspunkte für die Bestimmung der Pilze.

B. Keimung und Mycelbildung.

Bezüglich der Auskeimung und Mycelbildung, die ich zunächst in verdünntem Pflaumendekokt studirte, lassen sich die hier in Be-

tracht kommenden fünf Brandspezies in 2 Gruppen bringen, die man als „Mycelkeimer“ und „Promycelkeimer“ unterscheiden kann.

Die ersteren, zu denen *Ust. Tritici* und *Hordei* gehören, keimen nämlich, wie auch schon Brefeld und Rostrup beobachteten, in der Weise aus, dass sie einen gegliederten Keimfaden entwickeln, welcher durch fortgesetztes Spitzenwachsthum weiter wächst und in akropetaler Reihenfolge Seitenzweige bildet, die sich dann ihrerseits verästeln. Auf diese Weise werden allmählich typische Mycelien gebildet.

Die Mycelsysteme von *Ust. Tritici* und *Ust. Hordei* weichen indessen nicht unerheblich von einander ab. Während nämlich bei *Ust. Hordei* Haupt- und Seitenäste die gewöhnliche Richtung einschlagen, d. h. im Ganzen und Grossen einen geraden Verlauf nehmen (cf. Taf. I Fig. 2 u. 4), machen sich bei denen von *Ust. Tritici* sehr bald mehr oder minder auffällige Krümmungen in meist horizontaler Richtung geltend (Taf. I Fig. 16—18). Diese merkwürdige Erscheinung ist, wie ich ausdrücklich hervorheben muss, unter den obigen Nährbedingungen ganz konstant. Mit der Zeit werden die gekrümmten Zweige so zahlreich, dass das Mycel gewissermassen ein knäulförmiges Ansehen bekommt, wovon Fig. 18 auf Taf. I eine Andeutung giebt. Da Rostrup diese Art der Mycelbildung bei seiner *Ust. Tritici* nicht beobachtet hat — er bildet nämlich in der schon erwähnten Mittheilung auf Taf. I Fig. 5 das Mycel mit gradläufigen Fäden ab —, so wäre es möglich, dass meine *Ust. Tritici* von der Rostrup'schen Art doch verschieden ist. Ich hätte deshalb gern die Rostrup'sche Spezies in Bezug auf die Mycelbildung mit der meinigen verglichen, allein das Material, welches Herr Prof. Rostrup an das kryptogamische Laboratorium zu senden die Güte hatte, war trotz aller Bemühungen nicht zur Keimung zu bringen.

Hat ein solches Mycelsystem eine gewisse Ausdehnung erreicht, so wachsen einzelne Zweigenden in mehr gerader Richtung weiter, und es entwickeln sich an einzelnen Stellen dieser langen Zweige und zwar in einiger Entfernung von dem centralen Mycelknäuel wiederum Verzweigungssysteme mit eben solchen gekrümmten Aesten, wie ich sie eben beschrieb. Auf festen Substraten, wie z. B. zuckerhaltiger Nährgelatine, wo die Mycelien entsprechend grösser werden, treten diese Erscheinungen in besonders charakteristischer Form zu Tage. Es erscheinen in diesem Falle die sekundären Mycelknäuel um das centrale Knäuelmycel der Regel nach etwa in konzentrischen Kreisen gruppirt.

Bei der zweiten mycelbildenden Art, *Ust. Hordei*, sind die Mycelien im Gegensatz zu der vorigen Art, mit gewöhnlichen, d. h. nicht auffällig gekrümmten Fäden versehen (Taf. I Fig. 2—4). Züchtet man sie auf festem Substrat wie z. B. auf Zucker und peptonhaltiger Nährgelatine, so entwickeln sich mehr oder minder starke Mycelstränge, welche sich zum Theil in die Luft erheben und dann schmal kegelförmige oder auch pinselförmige Gebilde darstellen (Taf. I Fig. 6). Diese Bildungen geben den Mycelien von *Ust. Hordei* ein äusserst charakteristisches Gepräge. Beiläufig soll noch erwähnt werden, dass ab und zu Schnallenbildung an den Mycelien beobachtet wurde (Taf. I Fig. 1 u. 3 bei *s*).

Es ist hervorzuheben, dass weder an den Mycelien von *Ust. Tritici* noch an denen von *Ust. Hordei* in irgend einer Periode der Entwicklung Konidienbildung auftritt, mag nun die Kultur in flüssigen oder auf festen Substraten erfolgen. Diese Thatsache ist übrigens auch schon von Brefeld (l. c.) und Rostrup gefunden worden. Zwar habe ich bei der Kultur von *Ust. Hordei* in verdünntem Pflaumendekokt im hängenden Tropfen zuweilen Bilder erhalten, wie das in Taf. I Fig. 5 dargestellte, wo an kurzgliedrigen Keimschläuchen sehr kurze bauchig werdende und meist einzellig bleibende Seitenästchen auftraten, die auf den ersten Blick entfernt den Eindruck von Konidien machen könnten, allein da diese Zellen mit den übrigen stets in typischem Mycelverbande blieben, also nicht abgeschnürt wurden, so ist selbstverständlich ihre Auffassung als Konidien unzulässig.

Eine brauchbare Darstellung der Mycelbildung von *Ust. Hordei* und *Tritici* fehlte bisher.

Von Brefeld sind überhaupt keine Bilder veröffentlicht und die Rostrup'schen Darstellungen der ersten Stadien der Keimung entsprechen nicht der Natur, woran aber wohl mehr der Lithograph als der Autor Schuld haben möchte.

Im Gegensatz zu *Ust. Tritici* und *Hordei* gehören *Ust. Jensenii, Avenae* und *perennans* zu den Promycelkeimern. Aus ihren Sporen entwickelt sich nämlich, wenn dieselben in zuckerhaltigen Nährflüssigkeiten gezüchtet werden, in der Regel ein nur rudimentäres Mycel (Promycel im Sinne de Bary's). Dasselbe besteht aus ein bis mehreren kurzen in nur wenige Zellen sich gliedernden Keimschläuchen, die ihr Spitzenwachsthum sehr bald einstellen, meist keine Verzweigungen bilden und an ihrer Endzelle wie an den Binnenzellen sehr bald Konidien abschnüren (Taf. I Fig. 25 u. 26, Taf. II Fig. 1, 2, 13).

Ab und zu treten an den Promycelien aller drei Spezies Schnallenbildungen auf. Mitunter fehlen sie gänzlich, mitunter sind sie häufig zu finden, ohne dass sich eine bestimmte Erklärung dafür finden liesse (Taf. I Fig. 24 *s*, Taf. II Fig. 3 *s*). Es ist nun hervorzuheben, dass diese Promycelschläuche bei genügender Ernährung ihr Spitzenwachsthum fortsetzen d. h. zu gewöhnlichen Mycelschläuchen weiter wachsen können. Ich habe diese Erscheinung für *Ust. Avenae* in Taf. II Fig. 2 und für *Ust. perennans* in Taf. II Fig. 12 zur Darstellung gebracht. Auch Brefeld hat Aehnliches für eine promycelbildende *Ustilago* beobachtet, die er als *Ust. Carbo* (also noch mit dem alten Sammelnamen) bezeichnete und die vielleicht *Ust. Avenae* war. Aus diesen Beobachtungen geht, wie schon W. Zopf[1] betont hat, hervor, dass die Promycelschläuche myceliale Bildungen sind und nicht, wie Brefeld neuerdings angenommen, Basidien-Bildungen.

Endlich ist noch eine Thatsache besonders zu betonen, die bisher nicht bekannt zu sein scheint, nämlich dass in gewissen nährenden Substraten eine Konidienbildung bei den genannten drei Spezies über-

1) W. Zopf, Kritische Bemerkungen zu Brefelds Pilzsystem; diese Beiträge Heft 3, pag. 5.

haupt nicht stattzufinden scheint. Dies war z. B. der Fall bei Kulturen, in welchen der Stickstoff in Form von schwefelsaurem Ammoniak gegeben worden war. (Vergleiche den Abschnitt über Ernährung.) Hier wurden stets konidienlose Mycelien beobachtet (Taf. I Fig. 28 u. 29).

Von Belang ist auch die Temperatur, bei welcher die Züchtung erfolgt. So trat z. B. in Deckglaskulturen von *Ust. Avenae*, die mit verdünnter Pflaumendekoktlösung angestellt waren, bei einer Temperatur von 30° C. nur Mycelbildung ohne Konidienbildung auf (Taf. II Fig. 3 u. 4).

Gehen wir nun von dieser allgemeinen Betrachtung des konidienbildenden Promycels zu dem Verhalten der einzelnen Arten über.

Die Spore von *Ust. Jensenii* treibt in verdünntem Pflaumendekokt, so weit meine Beobachtungen reichen, immer nur einen Promycelschlauch. Sehr häufig erfolgt dann noch die Bildung einer Konidie an einer andern Auskeimungsstelle (Taf. I Fig. 24—26). Da, wo Schnallenbildung erfolgt, treten häufig Verschiebungen der Zellen gegeneinander ein, so dass sie unter stumpfen Winkeln gegeneinander zu liegen kommen (Taf. I Fig. 24), eine Erscheinung, die übrigens auch bei den anderen Spezies zu beobachten ist.

Gewöhnlich trennt sich das Promycel bald von der Spore, mitunter runden sich auch die Glieder desselben bis zur völligen Trennung gegeneinander ab. Die an der Endzelle wie an den Seitenzellen zuweilen auf feinen kurzen Fortsätzen entstehenden Konidien fallen leicht ab und vermehren sich durch fortgesetzte Sprossung. Sie sind gestreckt ellipsoïdisch (Taf. I Fig. 27).

Das Promycel von *Ust. Avenae* ist im Vergleich zu dem von *Ust. Jensenii* etwas schlanker (Taf. II Fig. 1 u. 2). Das Gleiche gilt von den an demselben in der gleichen Weise wie bei *Jensenii* entstehenden Konidien. Dieselben trennen sich jedoch weniger leicht vom Promycel ab wie bei jener Spezies und wachsen daher, mit dem Mycel im Zusammenhang bleibend, oft zu langen Fäden aus. Die abgefallenen Konidien zeigen zum Theil die gleiche Erscheinung, zum Theil sprossen sie.

Das Promycel von *Ust. perennans* ist an den Querwänden in der Regel etwas tiefer eingeschnürt als dasjenige der eben behandelten Spezies (Taf. II Fig. 12). Ferner erscheint die Endzelle etwas dicker und kürzer als die übrigen und verjüngt sich oft nach dem Scheitel zu plötzlich (Taf. II Fig. 12 u. 13). Auch hier werden unterhalb wie oberhalb der Querwände und an der Spitze des Promycels Konidien abgeschnürt. Oftmals wachsen auch sie zu Mycelfäden aus.

Die Konidien sind im Ganzen etwas kleiner als die der vorher behandelten Spezies und meist an den Polen stark verjüngt, so dass sie alsdann eine spindelförmige Gestalt besitzen (Taf. II Fig. 13 u. 16). Dies gilt besonders von den Sekundärkonidien. Nach lebhafter Sprossung keimen die Konidien zu relativ dünnen mehr oder minder gekrümmten Fäden aus (Taf. II Fig. 17), was bei den anderen beiden Spezies nicht der Fall ist.

Wie aus den vorausgehenden Darlegungen zur Genüge erhellt und wie ja eigentlich schon durch Rostrup bekannt war, sind *Ust. Jensenii,*

Avenae und *perennans* durch die Fähigkeit ausgezeichnet, konidientragende Mycelien zu erzeugen, während *Ust. Hordei* und *Tritici* diese Fähigkeit nicht besitzen.

Es dürfte sich daher vielleicht empfehlen, diesen wichtigen morphologischen Unterschied in der Weise zum Ausdruck zu bringen, dass man die beiden letztgenannten Spezies gänzlich von der Gattung *Ustilago* abtrennt und für sie ein neues Genus kreirt.

Ich schlage für dasselbe den Namen *Ustilagidium* vor.

C. Gemmenbildung.

Sowohl von Seiten derjenigen Arten, welche konidienlose Mycelien bilden *(Ustgd. Tritici* und *Hordei)* als auch seitens der Konidienbildner *(Ust. Jensenii, Avenae* und *perennans)* werden gemmenartige Zustände erzeugt. Diese Bildungen konnten auf den verschiedensten Substraten, flüssigen wie festen, erhalten werden. Bei den erstgenannten Arten entstehen diese Bildungen in der Weise, dass gewisse Zellen sehr plasmareich werden (auf Kosten benachbarter Zellen, welche ihren Plasmainhalt verlieren) und in Folge dessen mehr oder weniger aufschwellen, häufig nach vorhergehender Theilung in kurze Glieder. Dazu kommt, dass die Membran sich allmählich verdickt und im Inhalt mehr oder minder reiche Fettbildung auftritt. Wenn schliesslich die Häute der entleerten Zellen aufgelöst werden, so gelangen die Einzelgemmen wie die Gemmenketten in Freiheit und runden sich meistens noch stärker ab, unter Umständen bis zur Kugelform. Von *Ustgd Tritici,* von welchem Gemmenformen auf Taf. I Fig. 20 u. 21 abgebildet sind, ist es mir gelungen, auf mit Bierwürze getränktem Fliedermark sehr dickwandige und dabei olivenbraune Gemmen zu erhalten. Allerdings gingen die meisten nach längerer Zeit wieder zu Grunde, aber eine Anzahl blieb vollkommen lebenskräftig. Diese Gemmen, die theils endständig, theils intercalar entstanden waren, zeigten in ihrer elipsoidischen bis kugeligen Gestalt sowie in ihrer Färbung grosse Aehnlichkeit mit den auf der Nährpflanze gebildeten Dauersporen (Taf. I Fig. 21), nur waren sie theilweise erheblich grösser. Allein die charakteristische Wärzchenskulptur trat auch an den ältesten Zuständen niemals auf. Man ist daher nicht berechtigt, diese Gemmenbildungen trotz ihrer sonstigen Aehnlichkeit mit echten Dauersporen zu identifiziren. Brachte ich solche braune Gemmen in verdünntes Pflaumendekokt, so keimten sie zu Mycelien aus (Taf. I Fig. 22 u. 23), was übrigens auch seitens der nicht gebräunten Zustände geschah. Eine Konidienbildung war an den aus den Gemmen hervorgegangenen Mycelien ebensowenig zu konstatiren wie an den aus Dauersporen entstandenen.

Was nun *Ustgd. Hordei* anbetrifft, so wurden auch von dieser Art Gemmenbildungen in den verschiedensten Substraten erhalten. Im Gegensatz zu *Ustgd. Tritici* sind sie aber vielfach ausserordentlich lang gestreckt (Taf. I Fig. 8—12), während auf der anderen Seite auch kurze und mehr rundliche Formen vorkommen (Taf. I Fig. 13). Dabei tritt vielfach Bräunung auf, namentlich an den langgestreckten Gemmen.

Hervorzuheben ist, dass auf mit Zucker und Peptonlösung getränktem Fliedermark einzelne rundliche Gemmen auftraten, welche an der gebräunten Membran eine besondere Skulptur in Form von Wärzchen erkennen liessen. Sie waren in Folge dessen den gewöhnlichen Dauersporen, wie sie auf der Wirthspflanze gebildet werden, sehr ähnlich (Taf. I Fig. 13).

Uebrigens erfolgte in allen Gemmenbildungen schliesslich eine so starke fettige Degeneration, dass sie keimungsunfähig wurden.

Die Bildung dieser Zustände trat auf allen Nährsubstraten, welche Pepton enthielten, so massig auf, dass die Mycelien schliesslich stark olivenbraun gefärbt erschienen. Das war z. B. der Fall auf zuckerhaltiger Pepton-Gelatine, ferner auf Fliedermark, welches mit peptonhaltiger Nährflüssigkeit durchtränkt war.

Für *Ustgd. Tritici* und *Hordei* waren bisher Gemmenbildungen noch nicht beobachtet.

Was nun die Konidien bildenden Arten *Ust. Jensenii, Avenae* und *perennans* anlangt, so können die Gemmen auf zweierlei Wegen entstehen: einmal als Glieder der Mycelfäden und andererseits als direkte Umwandlungsprodukte der Konidien.

Die Entstehung der Gemmen aus Konidien findet überall in der Weise statt, dass die Letzteren sich allmählich mehr oder minder stark vergrössern, ihre Form etwas verändern und ihre Membran allmählich verdicken, während im Inhalt Fettbildung auftritt, die mit der Zeit stärker und stärker wird. Dieser Vorgang ist ganz analog der Gemmenbildung aus Konidien und Sprosskonidien, wie sie Zopf[1] für *Fumago* resp. *Capnodium* durch kontinuirliche Beobachtungen festgestellt hat. Später hat Brefeld für einige Konidien bildende Ustilago-Arten ebenfalls Gemmenbildung aus Konidien beobachtet.[2]

Bezüglich der Gestaltsveränderung der Konidien bei dem Uebergang in den Gemmenzustand ist, wenigstens bei *Ust. Jensenii* und *Avenae,* zu beobachten, dass die ursprünglich ellipsoïdische Form der Konidien in den meisten Fällen in eine etwa bisquitförmige übergeht (Taf. I Fig. 30—34, Taf. II Fig. 5—7, 9 u. 10). Der Einschnürungsstelle entsprechend tritt bei *Ust. Jensenii* der Regel nach eine Querwand auf, während dies bei *Avenae* meist unterbleibt.

Die Gemmen sind daher im ausgebildeten Zustande bei *Jensenii* meist zweizellig (semmelförmig), bei *Avenae* meist einzellig (bisquitförmig).

Bei der Gemmenbildung von *Ust. perennans* wird die ursprüngliche (ellipsoïdische) Form der Konidien im wesentlichen beibehalten (Taf. II Fig. 18*c*). In Folge dieser Gestaltsverschiedenheiten kann man bei einiger Erfahrung diese drei Spezies nach ihren Konidiengemmen ziemlich sicher unterscheiden.

Bezüglich der an den Fadentheilen von *Ust. Jensenii, Avenae* und *perennans* entstehenden Gemmen ist irgendwelcher wesentlicher

---

1) Zopf: Konidienfrüchte von Fumago. Nova acta Bd. 40, Taf. 25 u. 26.
2) O. Brefeld, Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze Heft V. Brandpilze.

Unterschied gegenüber den an den Mycelfäden von *Ustgd. Tritici* und *Hordei* beobachteten Gemmenformen nicht zu konstatiren (Taf. I 33*m*, Taf. II 8, Taf. II 18*m* u. 19). Stark gebräunte Zustände habe ich nur bei *Ust. Jensenii* erhalten, z. B. auf Fliedermark, welches mit Bierwürze durchtränkt war. Die Auskeimung der Gemmen jener drei Konidienbildner erfolgte, soweit meine Beobachtungen reichen, immer in der Weise, dass Konidien abgeschnürt wurden (Taf. II Fig. 11).

Die gebräunten Zustände von *Ust. Jensenii* konnte ich nicht zur Keimung bringen.

D Reinzucht der Pilze und ihr Verhalten auf festen und flüssigen Substraten

Die Reinzucht der Ustilagineen von der einzelnen Spore aus kann bekanntlich auf zwei verschiedenen Wegen bewirkt werden; einmal, indem man die Sporen in Wasser so vertheilt, dass auf jeden Tropfen eine Spore kommt, und nun je ein Tropfen in ein Gefäss mit sterilisirter Nährlösung gebracht wird, oder so, dass man eine Quantität von Dauersporen mit passender Nährgelatine mischt und diese in Kulturschalen ausgiesst. Der erstere Weg, der von Brefeld gewählt wurde, ist mindestens schwierig, wenn nicht unzuverlässig, ich habe daher den sicheren und leichteren zweiten gewählt.

Als Nährgelatine erwies sich zunächst Bierwürze-Gelatine (Gelat. 7—10%) für diesen Zweck günstig. Die Sporen jeder Spezies wurden in Wasser aufgeschwemmt und die Verdünnung so gemacht, dass sich in einem Tropfen nur wenige Sporen befanden.

Ein solcher Tropfen wurde dann in je ein Gläschen mit verflüssigter Gelatine gebracht und das Ganze nach sorgfältigem Mischen in Petri'sche Schälchen ausgegossen. Aus jeder Spore von *Ustgd. Tritici* und *Hordei* entwickelte sich ein typisches Mycel, während aus jeder Spore von *Ust. Jensenii, Avenae* und *perennans* eine etwa hefeartig aussehende Kolonie hervorging. Bei einer Temperatur von 15—20° sind die Vegetationen in wenigen Tagen soweit entwickelt, dass sie mit blossem Auge deutlich wahrgenommen werden können. Später geht dann die Entwicklung noch rascher vor sich.

Das Mycel von *Ustgd. Hordei* ist auf jedem Substrat in sofern sehr charakteristisch, als es nach einer Kultur von ein paar Wochen ein radiär streifiges, durch Strangbildung hervorgerufenes Aussehen gewinnt ähnlich wie (in Taf. III, Phot. II 5) und vom Centrum her meist zahlreiche in die Luft wachsende Stränge entstehen, die an ihren Enden entweder zugespitzt oder verbreitert, im letzteren Falle häufig wie zerschlitzt erscheinen (vergl. pag. 4 Abs. 4). Die Theile des Mycels hängen dicht zusammen, eine zäh-elastische Masse bildend, von der sich mit der Nadel schwer etwas ablösen lässt.

Im Gegensatz hierzu lässt das Mycel von *Ustgd. Tritici* nach einiger Zeit einen dichteren centralen Theil erkennen, um den konzentrisch gruppirte Fadenknäuel liegen, auf deren Entstehung schon (pag. 4) hingewiesen wurde. *Ustgd. Hordei* und *Tritici* sind also schon durch die habituelle Beschaffenheit des Mycels auf jenem Substrat sofort zu unterscheiden

Die aus den Sporen von *Ust. Jensenii, Avenae* und *perennans* hervorgehenden Kolonien stellen zunächst glashelle schleimige Tröpfchen dar. Vom Rande derselben aus entwickeln sich sodann feine franzenartige Bildungen. Späterhin ändert sich nun das Wachsthum der Kolonien. Diejenigen von *Ust. Jensenii* werden matt und ihr Rand erhebt sich wallförmig, so dass sie ein schüsselartiges Aussehen gewinnen. Dabei treten auf der Oberfläche Faltenbildungen auf.

Die Kolonien von *Ust. Avenae* zeigen dagegen diesen Charakter nicht; ihre Oberfläche bleibt mehr gleichartig und nimmt meist ein mehlartiges Aussehen an, hervorgerufen dadurch, dass die Konidien zu in die Luft wachsenden Fäden auskeimen.

Die Oberfläche der Kolonien von *Ust. perennans* wird bald matt, ähnlich wie bei *Ust. Avenae,* aber es erheben sich später von ihr Mycelstränge, welche dem Ganzen ein struppiges Aussehen verleihen.

Aus dem Gesagten ersieht man, dass auch die drei Konidienbildner *Ust. Jensenii, Avenae* und *perennans* in den Schälchenkulturen mit Bierwürze-Gelatine deutliche habituelle Differenzen zeigen.

Ausser Bierwürze-Gelatine habe ich für die Schälchenkulturen auch noch eine Zucker-Pepton-Gelatine verwandt (Gelatine 7%, Pepton 1%, Fleischextrakt 1%, Traubenzucker 1—2%). Hier nahmen die Mycelien von *Ustgd. Hordei* und *Tritici* ganz denselben gestaltlichen Charakter an wie auf Würzegelatine; nur ist bemerkenswerth, dass das Mycel von *Ustgd. Hordei* bald eine tief olivengrüne Färbung aufwies, welche in dieser Intensität auf Würzegelatine niemals auftrat. Dagegen waren die gestaltlichen Differenzen der drei Konidienbildner *Ust. Jensenii, Avenae* und *perennans* auf Pepton-Gelatine weniger ausgeprägt als auf Bierwürze-Gelatine. So zeigten z. B. die Kolonien von *Ust. Jensenii* die erwähnte charakteristische Schüsselform oft wenig deutlich oder gar nicht; bei *Ust. Avenae* trat oft nicht der mehlartige Ueberzug auf, sondern die Kolonien blieben mehr schleimig, *Ust. perennans* bildete Kolonien, die an der Oberfläche glatt blieben.

Zwecks Weiterzüchtung des erhaltenen Reinmaterials impfte ich die Pilze mittelst Impfstrichs auf die schräge Fläche von Nährgelatinen und Nähr-Agar-Agar in Reagenzgläschen.

Es kamen folgende Gelatine- bez. Agararten zur Verwendung (wo die Reaktion geändert wurde, ist dieses angegeben): Bierwürze-Gelatine (7% Gelat.), saure wie neutrale Pepton-Gelatine (7% Gelat., 1% Pepton, 1 oder 2% Traubenz., 1% Fleischextrakt), Asparagin-Gelatine (für Pepton ½% Asparagin), saure Bierwürze-Agar-Gelatine (½ Agar, 4 Gelatine), Pepton-Agar-Gelatine (½ Agar, 4 Gelat. u. 1 Pept.), Gelat.-Pepton-Agar (1 Ag.). Die beiden letzten Substrate enthielten die übrigen Nährstoffe in gleicher Menge wie die Pepton-Gelatine.

Die auf diese Weise gewonnenen Reinmaterialien der fünf Pilze bildeten nun den Ausgangspunkt für alle morphologischen und physiologischen Untersuchungen.

Es soll nun des Weiteren hervorgehoben werden, dass im Impfstrich auf der schrägen Oberfläche von Nährgelatine und Agar die Vegetation der einzelnen Pilze wiederum im Ganzen sehr charak-

teristisch ausfällt, zum Theil noch charakteristischer als in den Schälchenkulturen.

Fassen wir zunächst die Bierwürze-Gelatine-Kulturen ins Auge:

Was die Mycelbildner *Ustgd. Hordei* und *Tritici* anbetrifft, so entwickeln sie sich nicht in wesentlich anderer Weise wie in den Schälchenkulturen. Nur ist zu bemerken, dass das Mycel von *Ustgd. Tritici* die Gelatine binnen kurzer Zeit (cf. pag. *13*) sehr stark verflüssigt und da es in der verflüssigten Masse untersinkt, sich kaum weiter entwickelt. In Folge dessen eignet sich dieses Substrat für die Weiterzüchtung des Pilzes nicht und man muss daher zu Agar-Kulturen greifen.

Bei den Konidienbildnern entwickeln sich die Kolonien zunächst als eine schleimige Masse. Erst später machen sich zwischen den drei Spezies ziemlich charakteristische Unterschiede bemerkbar. Für *Ust. Jensenii* ist bezeichnend, dass auf den Kolonien mehr oder minder stark ausgeprägte Faltenbildung eintritt (Taf. III Phot. II Nr. 1 u. Phot. III). Ziemlich charakteristisch wächst auch *Ust. perennans*. Zu beiden Seiten des Impfstriches entwickelt sich eine etwas dichtere Masse, von der aus rechts und links fransenartige Ausläufer ausgehen. Dabei nimmt die Kolonie bald ein mehr trockenes Aussehen an (Taf. III Ph. II 3, Taf. VII Ph. IV 2). Späterhin treten zu beiden Seiten des ursprünglichen Impfstriches in die Luft ragende Mycelstränge auf, ähnlich wie auf der Oberfläche der Schälchenkulturen (cf. pag. *10*).

Ust. Avenae dagegen behält mehr schleimigen Charakter. Die Schleimmasse pflegt von der schrägen Fläche der Gelatine allmählich herabzufliessen; späterhin bildet sich oft auf der Masse ein mehlartiger Ueberzug (Taf. III Ph. II 2). Wenn hier und da Fransenbildungen auftreten, so sind dieselben im Vergleich zu den an den Kolonien von *Ust. perennans* spärlich und undeutlich. Erwähnen will ich noch, dass, als ich von mehrmonatlichen Möhrenkulturen auf Bierwürze-Gelatine überimpfte, ich eine sehr breite Kolonie von ausgeprägterem mehlartigem Charakter erhielt, als wenn ich von jungen Schälchenkulturen übergeimpft hatte (Taf. III Phot. II 4).

Bezüglich des Wachsthums auf Zucker-Pepton-Gelatine ist Folgendes zu bemerken:

Die Mycelbildner *Ustgd. Hordei* und *Tritici* entwickeln sich auf diesem Substrat in nicht wesentlich anderer Weise wie auf Bierwürze-Gelatine. Dagegen zeigen die Konidienbildner kein so charakteristisches Wachsthum, in Folge dessen keine so ausgeprägten Unterschiede wie man sie in Würzekulturen beobachtet. So ist bei *Ust. Jens.* die Faltenbildung sehr zurücktretend. Die für *Ust. perennans* auf Bierwürze-Gelatine so charakteristische Fransenbildung wurde hier niemals beobachtet und bei *Ust. Avenae* zeigt sich auf der Oberfläche der Kultur oft kein mehlartiger Ueberzug. Im letzteren Falle ist es daher schwer *Ust. Avenae* und *perennans* scharf von einander zu unterscheiden.

Auf Agar-Gelatinen überwuchern *Ust. Jensenii, Avenae* und *perennans* die ganze schräge Fläche. Bei der ersteren Spezies treten

in mehr oder weniger starkem Maasse Faltenbildungen auf (ähnlich wie Taf. III Ph. I 2). Dagegen bilden *Ust. Avenae* und *Ust. perennans* eine gleichmässig schleimige Masse, sind daher auf diesem Substrat nicht scharf zu unterscheiden.

Der *Ust. Avenae* eigenthümliche mehlartige Ueberzug wurde hier von mir nur sehr selten beobachtet.

Ustgd. Hordei entwickelt sich auf diesen Substraten wie auf den Nährgelatinen.

Die Entwicklung von *Ustgd. Tritici* führt hier zu kleinen, etwa stecknadelknopfförmigen, meist mit einer kleinen Vertiefung in der Mitte versehenen Mycelien, die anscheinend unverbunden neben einander liegen oder auf einander gehäuft sind. Wenn es gelang, das Impfmaterial gleichmässig längs des Striches zu vertheilen, was nicht immer der Fall ist, da sich die Myceltheilchen oft schwer von einander trennen lassen, so gewann die Kultur ein ähnliches Aussehen, wie die auf Phot. I 4 der Taf. III abgebildete auf Agar erhaltene Kultur.

Das Wachsthum der fünf Spezies auf Agar ist durch Phot. I der Taf. III veranschaulicht. *Ust. Jensenii, Ustgd. Hordei* und *Tritici* weisen unter sich wie den beiden andern Spezies gegenüber grosse Verschiedenheiten auf, während *Ust. Avenae* und *perennans* hier wie auf den Agar-Gelatinen kein differentes Wachsthum aufweisen.

Als Resultat der Strichkulturen auf den genannten Gelatine- und Agarböden ergiebt sich demnach, dass es mit Hilfe der genannten Substrate möglich ist, für eine jede der fünf Spezies eine ganz charakteristische Vegetationsform zu erzielen und auch auf diesem Wege brauchbare Unterscheidungsmerkmale zu erlangen. Bisher wusste man das nicht, da noch Niemand die fünf Spezies in jener Weise auf festen Substraten gezüchtet hat.

Für *Ust. Jensenii* sind die Faltenbildungen, für *Ustgd. Hordei* das zähe hautartige Mycel mit aufgerichteten Mycelsträngen, für *Ustgd. Tritici* die Körnchenform charakteristisch. *Ust. Avenae* zeichnet sich in der Regel durch den mehligen Ueberzug ihrer Kolonien aus. *Ust. perennans* zeigt, wenigstens auf Bierwürze-Gelatine, wiederum einen anderen Charakter als alle übrigen Spezies.

Das Wachsthum auf Gelatine-Stichkulturen.

Zur Verwendung kam saure Gelatine (1 % Fleischextrakt, 1 % Traubenzucker, 7 % Gelatine) und Gelatine ohne Nährstoffe (7 % Gelatine).

Die Kulturen wurden in der Weise hergestellt, dass in eine 3—4 cm hohe im Reagenzgläschen befindliche Gelatine mit einer starken Platinnadel, an deren Spitze sich das Impfmaterial befand, ein bis zum Boden des Gefässes reichender Stich gemacht wurde.

Bei *Ust. Jensenii* entstand in saurer Gelatine bald eine lochförmige Einstülpung, deren Wände sich mit Pilzmycel auskleideten. Nach vierzehn Tagen trat Verflüssigung ein. In der Gelatine fand keine nennenswerthe Entwicklung statt.

Ust. Avenae und perennans entwickelten sich ebenfalls nur an der Oberfläche. Es bildete sich bald in der Gelatine ein schräger

Spalt, dessen Wände von Mycel überwuchert wurden. Eine Verflüssigung trat nicht ein.

Bei Ustgd. Hordei fand die Entwicklung ebenfalls nur an der Oberfläche statt, und zwar in Gestalt des dieser Spezies eigenthümlichen Mycels. Später entstand eine muldenförmige Einsenkung. Nach sechs Wochen trat Verflüssigung der Gelatine ein.

Ustgd. Tritici entwickelte sich nur höchst spärlich und zwar in Form körnchenförmiger Gebilde. Dieselben sanken in wenigen Tagen unter die Oberfläche der Gelatine, worauf die Verflüssigung der letzteren begann.

Die gleichen Erscheinungen traten in saurer, sonstige Nährstoffe nicht enthaltender Gelatine auf.

Auch bei Verwendung von Stichkulturen sind mithin *Ust. Jensenii, Hordei* und *Tritici* leicht zu erkennen. Dagegen weisen hier *Ust. Avenae* und *perennans* keine Unterschiede bezüglich ihres Wachsthums auf.

Das Wachsthum auf festen natürlichen Substraten.

Sämmtliche Spezies wurden gezüchtet auf gekochten Kartoffeln, gekochten Möhren und auf mit Bierwürze getränktem Fliedermark. *Ustgd. Hordei* und *Tritici* wurden ausserdem auf mit Nährlösung getränktem Fliedermark kultivirt.

Auf Kartoffeln hatten die Konidienbildner nach vier Wochen einen schleimigen Ueberzug gebildet. Bei *Ust. Jensenii* war derselbe etwas dunkel gefärbt, bei den übrigen von schmutzig weisser Farbe. *Ustgd. Hordei* hatte sich in Gestalt eines zähen etwas gebräunten Mycels auf der Oberfläche des Substrats entwickelt. Das Wachsthum von *Ustgd. Tritici* bestand dagegen in den oben besprochenen kleinen stecknadelknopfförmigen Mycelien von schmutzig weisser Farbe.

Hinsichtlich der Züchtung auf Möhren ist folgendes Bemerkenswerthe anzuführen:

Ust. Jensenii hatte sich auf im April 1893 geeimpften Möhren in Gestalt eines schleimigen Ueberzuges von schmutzig gelber Farbe entwickelt, der die früher erwähnte, für diese Spezies charakteristische Faltenbildung zeigte. Bei einer im Juli desselben Jahres angesetzten Kultur trat diese Faltenbildung nur andeutungsweise auf, ebenso auf den Mitte März dieses Jahres geimpften Möhren.

Die Entwickelung von *Ust. Avenae* hatte auf den im April 1893 angesetzten Kulturen in Gestalt einer schleimigen Masse stattgefunden, die überdeckt war mit dem dieser Spezies eigenthümlichen mehlartigen Ueberzuge. Auf den im Juli 1893 und März 1894 infizirten Möhren war dagegen nur eine schleimige Masse aufgetreten ohne jenen Ueberzug. Mit dem diesen beiden letzteren Kulturen entnommenen Materiale stellte ich Strichkulturen auf Bierwürze-Gelatine her. Die Entwickelung erfolgte in ausserordentlich üppiger Weise und die Masse war in beiden Fällen mit einem mehlartigen Ueberzuge bedeckt, wie dies aus Phot. II 4 d. Taf. III ersichtlich ist.

Die Entwicklung von *Ust. perennans* war in allen Fällen in Gestalt einer schleimigen Masse erfolgt.

Die mit *Ustgd. Hordei* geimpften Möhren waren in kurzer Zeit mit einem weisslichen pelzartigem Ueberzuge bedeckt, auf dem sich jene oft erwähnten Mycelstränge in grosser Anzahl erhoben. Der Ueberzug nahm später eine tief olivgrüne Färbung an.

Die Entwicklung von *Ustgd. Tritici* erfolgt in Gestalt der bekannten kleinen Mycelien. Die Vegetation war auch hier eine ausserordentlich üppige.

Auf mit Bierwürze getränktem Fliedermark hatten die Konidienbildner einen schleimigen Ueberzug erzeugt. *Ust. Jensenii* zeichnete sich vor den übrigen durch eine tief olivengrüne Färbung aus. Das Mycel von *Ustgd. Hordei* trug auch hier den bekannten pelzigen Charakter und war etwas gebräunt. *Ustgd. Tritici* hatte sich nur in einem Falle in Gestalt von dunkel gefärbten Mycelien entwickelt. Bei späteren Versuchen waren dieselben entweder farblos oder aber sie entwickelten sich zu kleinen am Fliedermark sitzenden becherförmigen Gebilden. Dies letztere war vorzüglich der Fall, wenn das Fliedermark nicht übermässig mit dieser Nährlösung getränkt war.

Auf Fliedermark, das mit den erwähnten künstlichen Nährlösungen getränkt war, hatte sich das Mycel von *Ustgd. Hordei* wie auf den vorbesprochenen Substraten entwickelt. Dasselbe war gewöhnlich etwas gebräunt. Viel stärkere Bräunung trat in allen Fällen auf, wo die Lösung den Stickstoff in Form von Pepton enthielt. Die Mycelien von *Ustgd. Tritici* besassen hier ebenfalls die schon früher beschriebene Form. Dieselbe war schmutzig weiss, nur die mit der Nährflüssigkeit in unmittelbare Berührung gekommenen wiesen eine dunkle Färbung auf.

Das Wachsthum auf flüssigen Substraten.

Es kommt hier nur das Wachsthum von *Ust. Jensenii*, *Avenae* und *perennans* in Betracht; denn *Ustgd. Hodei* und *Tritici* wurden aus später anzuführenden Gründen auf mit Nährlösung getränktem Fliedermarke gezüchtet.

Ust. Jensenii und *perennans* entwickelten sich nur dann an der Oberfläche der Lösungen, wenn denselben zusagende Stickstoffnahrung, insbesondere Pepton geboten wurde. Bei Verwendung von Lösungen, welche eine ihnen nicht zusagende Stickstoffquelle wie schwefelsaures Ammoniak und salpetersaures Natron enthielten, fand die Entwicklung immer nur in der Flüssigkeit statt.

Im Gegensatz zu diesen beiden Spezies entwickelte sich *Ust. Avenae* vorzüglich an der Oberfläche und zwar in Gestalt einer Decke, die meist den oft erwähnten mehlartigen Ueberzug trug. In den Gefässen, welche Asparagin neben Traubenzucker enthielten, war dieselbe von schön olivengrüner Farbe. Wenn bei den pag. *18* u. *19* angeführten Versuchen in den schwefelsaures Ammoniak enthaltenden Gefässen ausnahmsweise keine Deckenbildung auftrat, so möchte dies auf zufällige Erschütterung dieser Gefässe zurückzuführen sein.

Bei der Vegetation in der Nährflüssigkeit entstand bei diesen drei Spezies meist eine fadenziehende schleimige Masse. Beim Schütteln

trübten sich die Lösungen in Folge der reichen Konidienbildung sehr stark. Dagegen bildeten sich in den schwefelsaures Ammoniak und salpetersaures Natron enthaltenden Nährlösungen stets konidienlose Mycelien, die meist wie zusammengewebt erschienen. Beim Schütteln fand daher auch keine Trübung der Flüssigkeit statt.

II. Physiologischer Abschnitt.

Zunächst habe ich mit allen fünf Spezies Ernährungsversuche angestellt, wobei folgende Fragen in Betracht kamen:

1) aus welchen Stoffen können die Pilze ihren Stickstoff- und Kohlenstoffbedarf gleichzeitig decken?
2) aus welchen können dieselben ihren Stickstoffbedarf,
3) aus welchen können sie ihren Kohlenstoffbedarf decken?

Sodann prüfte ich, in wie weit die Pilze Säurebildung, Alkalisirung, Fermentabscheidung bewirken.

Drittens suchte ich für diese Organismen die Kardinalpunkte der Temperatur mit Bezug auf Auskeimung und Wachsthum zu ermitteln.

Endlich stellte ich Untersuchungen an über ihre Widerstandsfähigkeit gegen feuchte Wärme und gewisse Gifte mit besonderer Berücksichtigung der landwirthschaftlichen Praxis.

A. Ernährungsversuche.

Dieselben wurden durchweg mit abgewogenen Mengen der einzelnen Nährstoffe angestellt und zwar diente allgemein als Grundlösung:

KH_2PO_4	0,2%
$MgSO_4$	0,1%
$ClNa$	0,1%
Cl_2Ca	0,1%

weil diese sich bei Vorversuchen als geeignet erwiesen hatte, den Bedarf an anorganischen Nährstoffen zu decken Dieser Lösung wurden dann die zu prüfenden organischen Nährstoffe zugefügt. Als Kulturgefässe dienten möglichst gleich grosse bei 160° steril gemachte Reagiergläschen, die mit 9 cbcm der betreffenden Gesammtlösung beschickt wurden. Die Sterilisation der Letzteren geschah durch je einstündiges an drei Tagen wiederholtes Erhitzen im Dampftopfe, wobei die Anwärmungszeit nicht angerechnet wurde. Zu jedem Versuch dienten neben einem Probegefäss 3 Reagierröhrchen, die mit möglichst gleich grossen Mengen von Reinmaterial geimpft wurden. Das Impfmaterial für je eine ganze Versuchsreihe wurde stets ein und derselben Reinkultur entnommen.

Um dem ausgesprochenen Sauerstoffbedürfnisse der in Rede stehenden Brandpilze Rechnung zu tragen, wurde der Nährlösung eine möglichst grosse Oberfläche gegeben durch Schräglagerung der Gläschen auf einem besonderen Gestell. In Bezug auf die Mycelbildner, *Ustilagidium Hordei* und *Tritici*, ist dann noch eine besondere Modifikation

	Ust. Jensenii.	*Ust. Avenae.*	*Ust. perennans.*	*Ustgd. Hordei.*	*Ustgd. Tritici.*
Pepton	mässig reichliche Entwicklung, in Form eines schleimigen, schmutzig weisslichen bis bräunlichen Ueberzuges des schrägen Reagirglases; Ansatz einer Deckenbildung am Rande des Gefässes.	mässig reichliche Entwicklung, in Form einer schleimigen, schmutzig weissen, an der unteren Wandung des schrägen Gefässes lagerndenMasse; schwache Ringbildung.	schwacheEntwickelung, in Form einer lockeren, schleimigen, am Boden lagernden Masse von schmutzig weisser Farbe.	schwache Entwicklung, in Form kleiner runder auf dem Fliedermark sitzender Mycelien von intensiv dunkelolivengrüner Farbe.	sehr schwache Entwicklung, in Form kleiner Fliedermark v. schmutzig weisser Farbe.
Asparagin	etwas schwächer als in Pepton, in Form einer lockeren z. T. etwas schleimigen austheilweise gelbbräunlich gefärbten Mycelien bestehenden Masse.	mässig reichliche Entwicklung, in Form einer aus kleinen schneeweissen Mycelien an der unteren Wandung lagernden Haut.	schwache Entwicklung, in Form eines schleimigen weissenHäutchens.	= Null.	= Null.

dieser Versuchsanordnung gewählt worden. Diese Arten sinken nämlich in der Nährflüssigkeit leicht unter und entwickeln sich dann auch in der besten Nährflüssigkeit schlecht genug. Bietet man ihnen aber einen Anhalt an der Oberfläche der Flüssigkeit in Form eines Glaswollbäuschchens oder eines Fliedermarkstückchens etc., so geht die Entwicklung besser vor sich.

Am geeignetsten erwies sich die Verwendung von Fliedermark. Dasselbe war vorher mit heissem Wasser ausgelaugt und wieder getrocknet worden.

Es wurde jedem Gefäss ein ungefähr 5 cm langes Stück hiervon beigegeben, nachdem es an der einen Seite eine glatte Fläche erhalten hatte. Auf diese wurde und zwar dicht über der Oberfläche der Flüssigkeit das Impfmaterial gebracht.

Man könnte nun einwenden, dass durch die Verwendung dieses Substrats eine Fehlerquelle gegeben sei, insofern ja dasselbe nicht stickstoff- und kohlenstofffrei sei. Allein besondere Vorversuche hatten ergeben, dass der Gehalt des so behandelten Fliedermarkes an verwerthbaren stickstoffhaltigen und kohlenstoffhaltigen Verbindungen ein äusserst minimaler sein muss, da auf bloss mit anorganischer Nährlösung getränktem Fliedermark ein Wachsthum gar nicht oder doch kaum zu bemerken war.

Die Versuchsdauer betrug für alle fünf Spezies vier Wochen. Die Konidienbildner *(Ust. Jensenii, Avenae* und *perennans)* wurden bei circa 24°, *Ustgd. Hordei* bei circa 20° und *Ustgd. Tritici* bei 25° gehalten.

Die ursprünglich schwach saure Reaktion der Nährlösungen war beibehalten worden, weil sich eine solche als günstig für die Entwicklung der genannten Pilze erwiesen hatte. Zunächst prüfte ich, aus welchen Verbindungen die fünf Pilze ihren Stickstoff- und Kohlenstoffbedarf gleichzeitig decken können. Verwandt wurde Pepton (1%) und Asparagin (0,5%).

Wie vorhergehende Uebersicht zeigt, sind nur *Ust. Jensenii* und *Avenae* im Stande ihren Stickstoff- und Kohlenstoffbedarf aus Pepton und Asparagin zu decken, wenn sie dabei auch nicht besonders üppig gedeihen. *Ust. perennans* besitzt diese Fähigkeit nur in sehr geringem Maasse. *Ustg. Hordei* und *Tritici* können ihren Stickstoff- und Kohlenstoffbedarf aus Asparagin gar nicht, aus Pepton nur sehr unzureichend decken.

Sodann wurde untersucht, aus welchen stickstoffhaltigen Stoffen die Pilze ihren Stickstoffbedarf decken können, wenn als Kohlenstoffquelle Traubenzucker (2%) geboten wird.

Es kamen zur Verwendung ausser Pepton und Asparagin, weinsaures Ammoniak, schwefelsaures Ammoniak und salpetersaures Natron.

Wie man aus umstehender Tabelle ersieht, ist für alle fünf Spezies unter den obigen Bedingungen Pepton die beste, salpetersaures Natron die schlechteste Stickstoffquelle. Was die Konidienbildner *(Ust. Jensenii, Avenae, perennans)* anbetrifft, so steht dem Pepton am nächsten das Asparagin, diesem das weinsaure Ammoniak. Wir bekommen also für die Konidienbildner folgende von besseren zu schlechteren Stickstoffquellen führende Reihe:

Pepton + Traubenzucker,
Asparagin + Traubenzucker,
weinsaures Ammoniak + Traubenzucker,
schwefelsaures Ammoniak + Traubenzucker,
salpetersaures Natron + Traubenzucker.

Für die Mycelbildner, *Ustgd. Hordei* und *Tritici* aber gilt bemerkenswerther Weise diese Reihe nicht; denn für *Tritici* sind sowohl Asparagin als weinsaures Ammoniak, als schwefelsaures Ammoniak ebenso gute Stickstoffquellen als Pepton, während *Hordei* bei Verabreichung dieser Stoffe nur höchst mangelhaft ernährt wird.

Sodann wurde geprüft, aus welchen kohlenstoffhaltigen Verbindungen die genannten fünf Pilze ihren Kohlenstoffbedarf decken können und zwar erstreckte sich die Prüfung auf die gewöhnlichen Kohlehydrate der Rohr-, Traubenzucker, und Dextrinreihe, sowie auf die mehrwerthigen Alkohole Glycerin und Mannit. Als Stickstoffquelle diente schwefelsaures Ammoniak 0,5%, als anorganische Grundlösung die früher angegebene. Die Versuchsdauer war drei Wochen, die Temperatur für die *Konidienbildner* und *Tritici* c. 25° C., für *Ustgd. Hordei* 20° C. Das Ergebniss gestaltete sich in der Weise, wie in der auf Seite 20 befindlichen Tabelle angegeben († bezeichnet sehr schwache Entwicklung †† ein wenig bessere, ††† die beste Entwicklung.

	Ust. Jensenii.	*Ust. Avenae.*
Pepton + Traubenzucker.	reichliche Entwicklung, theils in Form eines dunkelbraunen Randes an der Wandung in der Höhe der Oberfläche der Flüssigkeit, theils in Form eines schleimigen häutigen schwach bräunlichen Ueberzuges an der unteren Wandung.	sehr reichliche Entwicklung, in Form einer häutigen schleimigen Decke von gelblicher Farbe.
Asparagin + Traubenzucker.	reichliche Entwicklung, schwächer als in Pepton + Traubenzucker, theils in Form eines weisslichen Ringes an der Wandung in der Höhe der Oberfläche der Flüssigkeit, theils in Form eines gelblichen schleimigen Ueberzuges an der unteren Wandung.	reichliche Entwicklung, in Form einer schönen aus olivengrünen bis bräunlichen Mycelien zusammengesetzten Decke. Die Flüssigkei war intensiv gelb.
Weinsaures Ammoniak + Traubenzucker.	Entwicklung schwächer als in Asparagin + Traubenzucker, in Form eines gelblichen schleimigen Ueberzuges an der unteren Wandung.	spärliche Entwicklung, bestehend in einer lockeren Masse am Boden, auf der Flüssigkeit schwimmen einzelne Mycelien mit theilweis mehlig weissem Ueberzuge.
Schwefelsaures Ammoniak + Traubenzucker.	spärliche Entwicklung, bestehend in winzigen Mycelien auf dem Boden locker zusammengehäuft, etwa an einen krystallinischen Niederschlag erinnernd. Ueberstehende Flüssigkeit klar.	schwache Entwicklung, in Form von winzigen rein weissen Mycelien, die sich etwa nach Art eines krystallinischen Niederschlages auf dem Boden zusammensetzen, während die überstehende Flüssigkeit klar bleibt.
Salpetersaures Natron + Traubenzucker.	sehr spärliche Entwicklung, in ähnlicher Form wie in schwefelsaurem Ammoniak + Traubenzucker, nur sind die Mycelien etwas gelb gefärbt.	Entwicklung fast noch schwächer als in schwefelsaurem Ammoniak, in Form von kleinen weissen Mycelien, die zum Theil zu einem Häutchen vereinigt sind.

Anmerkung: Die Entwicklung von *Ust. Jensenii*, *Avenae* und *perennans* bestand in den einem zusammenhängenden dicht verästelten konidienlosen Mycel.

Ust. perennans.	*Ustg. Hordei.*	*Ustg. Tritici.*
sehr reichliche Entwicklung, in Form einer mächtigen schleimigen häutigen Decke von gelblicher Farbe.	reichliche Entwicklung, in Form auf dem Fliedermark sitzender Mycelien von der dieser Spezies eigenthümlichen Gestalt und intensiv olivgrüner Farbe.	reichliche Entwicklung, in Form auf dem Fliedermark sitzender Mycelien von der dieser Spezies eigenthümlichen knöpfchenförmigen Gestalt und weisslicher Farbe.
mässig reichliche Entwicklung, in Form einer lockeren zum Theil schleimigen Masse an der unteren Wandung, oben schwache Randbildung von schwach gelblicher Farbe.	schwache Entwicklung, sonst wie in Pepton + Traubenzucker, nur waren die Mycelien von schmutzig weisser Farbe.	reichliche Entwicklung, Form wie in Pepton + Traubenzucker.
mässig reichliche Entwicklung, in Form eines dünnen schleimigen Häutchens von schwach gelblicher Farbe; überstehende Flüssigkeit sehr trübe.	schwache Entwicklung, Form wie in Asparagin + Traubenzucker.	reichliche Entwicklung, Form wie in Asparagin + Traubenzucker.
wenig reichliche Entwicklung, bestehend in kleinen am Boden ähnlich einem krystallinischen Niederschlage locker zusammengehäuften Mycelien. Ueberstehende Flüssigkeit klar.	schwache Entwicklung, Form wie in Asparagin + Traubenzucker.	reichliche Entwicklung, Form wie in Asparagin + Traubenzucker.
schwache Entwicklung, in Form von winzigen weissen Mycelien, die zum Theil zu Häutchen vereinigt sind.	sehr schwache Entwicklung, Form wie in Asparagin + Traubenzucker.	schwache Entwicklung, Form wie in Asparagin + Traubenzucker.

Nährlösungen, welche den Stickstoff in Form von schwefelsaurem Ammoniak enthielten, aus

	Ust. Jensenii.	*Ust. Avenae.*	*Ust. perennans.*	*Ustgd. Hordei.*	*Ustgd. Tritici.*
Rohrzucker 3%	††	††	††	†††	†††
Milchzucker 1%	†	†	†	0	0
Maltose 1%	†††	†††	†††	kaum †	0
Traubenzucker 3%	†††	†††	†††	†††	†††
Galaktose 1%	0	0	0	0	0
Dextrin 2%	†	††	††	†	††
Inulin 0,25%	†††	†	†	†	††
Stärke 1%	†	†	†	0	0
Glycerin 2%	†††	††	††	†	†††
Mannit 1%	††	††	††	kaum †	0
Ohne C.	0	0	0	0	0

Aus vorstehender Versuchsreihe würden sich folgende Resultate ergeben: Keine von den fünf Spezies ist im Stande Galaktose zu assimiliren. Auch Milchzucker und Stärke scheinen nicht verwerthet werden zu können. Sämmtliche fünf Arten können ihren Kohlenstoffbedarf decken aus Traubenzucker und Rohrzucker. Traubenzucker ist für sämmtliche fünf Spezies eine gute Kohlenstoffquelle. Rohrzucker ernährt die Mycelbildner besser als die Konidienbildner.

Bei Verabreichung von Maltose entwickeln sich die Konidienbildner gut, *Ustgd. Hordei* und *Tritici* dagegen so gut wie gar nicht.

Dextrin ernährte *Ust. Avenae, perennans* und *Ustgd. Tritici* mässig, die beiden übrigen schwach.

Inulin ernährt *Ust. Jensenii* gut, *Ust. Tritici* mässig, die übrigen mangelhaft.

In Glycerin gestaltete sich das Wachsthum von *Ust. Jensenii* und *Ustgd. Tritici* gut, von *Ust. Avenae* und *perennans* mässig, dasjenige von *Ustgd. Hordei* wenig günstig. Mannit bietet nur für die Konidienbildner eine mässig gute Kohlenstoffquelle.

B. Fermentbildung, Säurebildung, Alkalisirung.

I. Fermentbildung.

1) Zunächst wurde geprüft, ob die in Rede stehenden Pilze im Stande sind, Gelatine zu peptonisiren.

Es wurden zu diesem Zweck verschieden zusammengesetzte Gelatinen verwendet und zwar: saure Pepton-Zucker-Gelatine (Gelat. 7%, Pept. 1%, Traubenz. 2%, Fleischextr. 1%), neutrale Pepton-Zucker-Gelatine (von der gleichen Zusammensetzung), Bierwürze-Gelatine (Gelat. 7%, Reaktion sauer), saure Zucker-Gelatine (ohne Peptonzusatz, sonst wie oben zusammengesetzt) und reine Gelatine d. h. eine solche ohne jeden Nährstoffzusatz.

Diese Substrate wurden theils durch Impfstrich, theils durch Impfstich geimpft. Die Dauer der Versuche war 8 Wochen, die Temperatur = Zimmertemperatur.

Die Resultate sind aus beifolgender Tabelle ersichtlich:

	Eine Verflüssigung trat ein bei:				
	Strichkultur auf schräger Fläche			Stichkultur	
	saure Pepton-Gelat.	Bierwürze-Gelat.	neutrale Pepton-Gelat.	peptonfreie saure Gelat.	reine Gelat.
Ust. Jensenii	nach 2 Wochen	nach 2 Wochen	nach 6 Wochen	nach 2 Wochen	nach 1 Woche
Ust. Avenae	nach 4 Wochen	nach 4 Wochen	keine Verfl.	nach 6 Wochen	keine Verfl.
Ust. perennans	keine Verfl.	nach 5 Wochen	keine Verfl.	keine Verfl.	keine Verfl.
Ustgd. Hordei	nach 3 Wochen	nach $2^1/_2$ Wochen	nach $2^1/_2$ Wochen	nach 6 Wochen	keine Verfl.
Ustgd. Tritici	nach 1 Woche	nach 1 Woche	nach 1 Woche	nach 1 Woche	nach 1 Woche

Es sind somit sämmtliche fünf Spezies unter den obigen Bedingungen im Stande ein Gelatine peptonisirendes Ferment abzuscheiden. Bezüglich des Grades dieser Fähigkeit treten jedoch zwischen den verschiedenen Arten gewisse Unterschiede hervor. Am stärksten verflüssigt unstreitig *Ustgd. Tritici.* Schon wenige Tage nach der Impfung sinken die Mycelien in der verflüssigten Masse unter. Da es ihnen nunmehr an Sauerstoff fehlt, so gestaltet sich das weitere Wachsthum zu einem recht kümmerlichen. Daher sind für die Züchtung dieser Spezies Nährgelatinen überhaupt nicht brauchbar. Man verwendet besser ein Gemisch von 1% Agar und 1% Gelatine.

Ustgd. Tritici am nächsten steht im Allgemeinen *Ust. Jensenii.* Auffallend dürfte es sein, dass dieser letztere Pilz neutrale Pepton-Gelatine erst nach 6 Wochen verflüssigte, während *Ustgd. Hordei,* welcher sonst nicht die gleiche Verflüssigungsenergie zeigt, das gleiche Substrat schon nach $2^1/_2$ Wochen zu verflüssigen begann. Trotz des starken Peptonisirungsvermögens lässt sich *Ust. Jensenii* dennoch ausgezeichnet auf Gelatine züchten; denn ein schnelles Einsinken des Mycels, wie es bei *Ustgd. Tritici* der Fall ist, findet hier nicht statt.

Ustgd. Hordei verflüssigt zwar ebenfalls alle gewöhnlich zur Verwendung kommenden Gelatinen, aber meist nicht mit gleicher Intensität wie *Ust. Jensenii.* Verhältnissmässig schwaches Peptonisirungsvermögen der Gelatine gegenüber besitzt *Ust. Avenae*, ein noch schwächeres *Ust. perennans,* bei welchem letzteren von mir bis zu dieser Zeit nur eine Verflüssigung, nämlich die von Bierwürze-Gelatine beobachtet wurde.

2) Sodann prüfte ich, ob die Pilze ein Labferment ausscheiden können.

In Reagirgläser gefüllte und durch diskontinuirliche Sterilisation keimfrei gemachte und mit Lakmus gefärbte Magermilch wurde mit Reinmaterial aller fünf Pilze geimpft. Es trat zu keiner Zeit eine Ausfällung des Kaseins ein. (Die ursprünglich amphotere Reaktion wurde durch die Konidienbildner allmählich in eine deutlich alkalische verwandelt.)

3) Was nun die Bildung eines Cellulose lösenden Ferments anbetrifft, so ist ja aus der Litteratur bekannt, dass alle Ustilagineen ein solches abscheiden und auf diese Weise die Cellulosemembran der Wirthspflanzen zu durchdringen vermögen. Dass auch die in Rede stehenden fünf Arten Cellulosemembranen durchbohren können, das kann man z. B. bei der Kultur auf Kartoffelscheiben, Möhren und Fliedermark etc. beobachten. Auf feinen Schnitten durch diese Substrate sieht man, wie die Fäden dieser Pilze quer durch die Mem-

branen hindurch wachsen, um sich im Innern der Zellen reich zu verzweigen oder ev. Sprosskonidien zu treiben, welch' letztere Erscheinung ich z. B. sehr schön für *Ust. Avenae* auf Schnitten durch Kartoffelscheiben beobachten konnte. Bei der Kultur auf Fliedermark nehmen die Pilzfäden ihren Weg gewöhnlich durch die Tüpfel hindurch.

II. Alkali- und Säurebildung.

Es hat sich bei den diesbezüglichen Versuchen herausgestellt, dass keiner der fünf Pilze im Stande ist, in irgendwelcher neutraler Nährlösung, mag dieselbe auch die bestnährenden Kohlehydrate enthalten, irgend welche Säuerung hervorzurufen. Vielmehr trat in allen von mir verwandten neutralen Nährlösungen, sofern dieselben überhaupt nährend wirkten, stets eine Umwandlung der neutralen Reaktion in eine mehr oder minder auffällig alkalische ein.

Der Inhalt der Gefässe roch mehr oder minder stark nach Ammoniak, die beim Aufkochen entwickelten Dämpfe riefen an befeuchtetem Kurkumapapier eine starke Bräunung hervor. Die Alkalibildung wird, namentlich wenn Pepton als Stickstoffquelle geboten wird, oft so stark, dass auch ursprünglich deutlich saure Nährlösungen schliesslich kräftig alkalisch werden.

Das Auftreten von Ammoniak rührt offenbar von einer Spaltung des Peptons her.

C. Die Kardinalpunkte der Temperatur mit Bezug auf Auskeimung und Mycelbildung.

Bei diesen Versuchen wurden, so weit sie sich auf die Auskeimung erstreckten, Deckglaskulturen (Glaszellen) benutzt. Als Substrat verwandte ich verdünnte Pflaumendekoktlösung, weil in dieser die Auskeimung leicht zu erfolgen pflegt. Das für die Aussaat verwandte Sporenmaterial war 1894 geerntet worden, also ganz frisch.

Bei Vorversuchen erwies es sich vorzüglich keimungsfähig. Die Resultate sind in folgenden Versuchsreihen zusammengestellt. Abgesehen von den beiden ersten Kolumnen, wo es sich um Temperaturen von 3—5° C. und 9—11° C. handelt, fanden die Beobachtungen 2, 4, 6, 8, 12, 24 und 48 Stunden nach der Aussaat statt. Die genannten beiden ersten Kolumnen wurden nach 1, 2 und 3 Tagen beobachtet. Es schien mir nicht überflüssig zu sein auch anzugeben, nach welcher Zeit die Mehrzahl der Sporen ausgekeimt waren.

	3—5°	9—11°		14—15°		22—23°		29—30°		35°
		Beginn der Auskeimung innerhalb	Mehrzahl ausgekeimt nach	Beginn der Auskeimung innerhalb	Mehrzahl ausgekeimt nach	Beginn der Auskeimung innerhalb	Mehrzahl ausgekeimt nach	Beginn der Auskeimung innerhalb	Mehrzahl ausgekeimt nach	
Ust. Jensenii	nicht ausgekeimt	24 St.	48 St.	2 u. 4 St.	6 St.	2 u. 4 St.	4 St.	1—2 St.	4 St.	nicht ausgekeimt
Ust. Avenae	„	24 u. 48	48	8 u. 12	24	2 u. 4	8	2 u. 4	6	„
Ust. perennans	„	24 u. 48	72	12 u. 24	24	6 u. 8	12	6 u. 8	12	„
Ustgd. Hordei	„	24 u. 48	48	12 u. 24	24	8 u. 12	24	4 u. 6	8	„
Ustgd. Tritici	„	24 u. 48	72	6 u. 8	12	2 u. 4	8	4 u. 6	6	„

Die Kardinalpunkte der Auskeimungstemperatur würden demnach für alle fünf Spezies im Wesentlichen die gleichen sein, nämlich:

	Minimum.	Optimum.	Maximum.
zwischen	5 u. 11°	22 u. 30°	30—35°

Für die Feststellung der Kardinalpunkte der Temperatur mit Bezug auf Wachsthum resp. Mycelbildung wurden Kulturen auf Agar-Gelatine (Ag. 1, Gel. 1, Pepton 1, Extrakt 1, Traubenzucker 2) benutzt. Die Impfung geschah mittelst Impfstriches auf die schräge Oberfläche dieses Substrats. Die Dauer der Versuche betrug 8 bis 14 Tage.

Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

	Die Entwicklung war bei						
	$6^1/_2$—$7^1/_2$°	15—16°	16—18°	18—20°	24—26°	28—30°	33—34°
Ust. Jensenii	sehr schwach	schwach	mässig	gut	gut	mässig	sehr schwach oder Null
Ust. Avenae		schwach	mässig	gut	gut	mässig	
Ust. perennans		schwach	mässig	mässig bis gut	gut	mässig	
Ustgd. Hordei		mässig	mässig gut	gut	mässig	sehr schwach	
Ustgd. Tritici	= Null	sehr schwach	ziemlich schwach	ziemlich schwach	gut	gut	

Somit dürften die Kardinalpunkte der Wachsthumstemperatur für die fünf Spezies die folgenden sein:

	Minimum.	Optimum.	Maximum.
Ust. Jensenii	wenig unter 6°	zwischen 18 u. 26°	zwischen 30 u. 34°
Ust. Avenae	„	„ 18 u. 26°	„ 30 u. 34°
Ust. perennans	„	„ 20 u. 26°	„ 30 u. 34°
Ustgd. Hordei	„	„ 16 u. 20°	30°
Ustgd. Tritici	6°	„ 24 u. 30°	zwischen 30 u. 34°

Für die Kultur von *Ustgd. Hordei* wählt man daher am besten Zimmertemperatur. Temperaturen von über 20° verträgt es nicht gut. Die Konidienbildner brauchen etwas höher gehende Temperaturen zu ihrer Entwicklung. Viel höher liegt das Optimum für *Ustgd. Tritici*. Man thut gut bei der Kultur dieser Spezies eine Temperatur zu wählen, die über 25° liegt.

D. Die Widerstandsfähigkeit der Pilze gegen Wasser von höheren Temperaturen und gegen gewisse Gifte.

Bei dem grossen Schaden, welchen der Flugbrand den Landwirthen durch die Vernichtung der Körner zufügt, haben schon vor geraumer Zeit Männer der Theorie und der Praxis auf Mittel gesonnen, um jener Kalamität Herr zu werden.

Die wichtigsten der in dieser Hinsicht angestellten Prüfungen sollen hier besprochen werden.

Exakte Versuche hat wohl zuerst J. Kühn[1] im Jahre 1871 angestellt. Dieser Forscher prüfte die Widerstandsfähigkeit der Brand-

1) J. Kühn, Die Anwendung des Kupfervitriols als Schutzmittel etc., Zeitschrift des Landwirthsch. Central-Vereins in d. Prov. Sachsen 1872, No. 9 und 10.

sporen vorzüglich dem Kupfervitriol und der rohen englischen Schwefelsäure gegenüber. Schon nach einstündiger Behandlung der Sporen mit $^1/_2$% Kupfervitriollösung fand keine Auskeimung mehr statt, während nach 15stündiger Behandlung mit Schwefelsäure von gleicher Konzentration noch einige Brandsporen auskeimten. Er empfahl jedoch eine 12—16stündige Behandlung des Saatgutes mit $^1/_2$% Kupfervitriollösung, da so die Keimfähigkeit der Sporen mit grosser Sicherheit zerstört und das Saatgut nach seinen Versuchen hierdurch nicht geschädigt wurde.

Im Jahre 1888 empfahl J. L. Jensen[1] ein anderes Abtödtungsverfahren, und zwar für Haferbrand ein fünf Minuten langes Untertauchen der Haferkörner in Wasser von 52—56° C. Der Gerstenbrand sollte dagegen vernichtet werden, wenn man das Saatgut fünf Stunden lang in feuchter Luft einer Temperatur von 52,5° aussetzte.

Gegen dieses Verfahren wandte sich J. Kühn.[2] Bei seinen Versuchen zwecks Ermittlung der Einwirkung von warmem Wasser auf die Keimfähigkeit der Gerste hatte sich nämlich herausgestellt, dass nach einer fünf Minuten langen Behandlung mit Wasser von 52,5° C. einzelne Sporen des Pilzes lebenskräftig blieben und die Keimfähigkeit der Gerste andererseits erheblich gelitten hatte. Er rieth daher den Landwirthen, die alte Einbeizungsmethode beizubehalten. Zur Abschwächung der schädigenden Wirkung des Kupfervitriols auf das Saatgut empfahl er eine nachherige Behandlung desselben mit Kalkmilch.

In Deutschland wurden in Folge dessen vor der Hand keine Versuche hinsichtlich des Warmwasserverfahrens angestellt. Dagegen schenkte man im Auslande demselben um so grössere Beachtung.

So brachte der Schwede Erikson[3] die Jensen'sche Methode bei Saatgut von Hafer mit gutem Erfolge in Anwendung. Die Temperatur des benutzten Wassers schwankte zwischen 52 und 55° C.

Linhart und Mezey[4] sollen auch bei der Gerste mit der Behandlung derselben mit Wasser, dessen Temperatur zwischen 52,8° bis 45° C. schwankte, gegenüber der Kupfervitriolbeize gute Resultate erzielt haben.

Ferner stellten die Amerikaner Kellermann und Swingle[5] ausgedehnte Versuche bezüglich einer geeigneten Behandlung des Hafers vor der Saat an und kamen hierbei zu dem Resultate, dass die Brandpilze durch ein 15 Minuten währendes Eintauchen des Saatgutes in Wasser von 132° F. (= $55^5/_6$° C.) vollständig vernichtet wurden, ohne dass die Keimfähigkeit desselben dadurch Schaden litt.

Von Deutschen hat in jüngster Zeit Kirchner[6] die Einwirkung von warmem Wasser auf die Keimfähigkeit der Sporen von Ust. Avenae

---

1) Jahresbericht des Markfrökontors für 1887, Kopenhagen 1888.

2) J. Kühn, Zur Bekämpfung des Flugbrandes. Mittheilungen des landwirthsch. Instituts der Universität Halle vom 31. März 1889.

3 u. 4) Cf. O. Kirchner: Die Behandlung des Saatgetreides mit warmem Wasser etc. in Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Herausgegeben v. P. Sorauer. III. Bd. Jahrg. 1893. (Die Originalabhandlungen waren mir wegen Unkenntniss der Sprache nicht zugänglich.)

5) Aus O. Kirchner, Die Behandlung etc., Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Herausgegeben von P. Sorauer. III. Bd. 1893. (Das Original war mir trotz aller Bemühungen nicht zugänglich.)

6) O. Kirchner, Die Behandlung etc.

studirt. Er hielt ein Reagirgläschen, in dem sich in Wasser vertheilte Sporen befanden, fünf Minuten lang in Wasser, welches eine Temperatur von 54,5—56° C. besass. Die Sporen keimten nicht mehr. Dagegen hatten solche Sporen, welche fünf Stunden lang feuchter Luft von 51 bis 52,6° C. ausgesetzt worden waren, keine Einbusse in Bezug auf die Keimfähigkeit erlitten.

Sodann hat noch Klebahn[1] diesbezügliche Versuche angestellt. Bei diesen hat sich eine 15 wie 10 Minuten lange Behandlung des Hafers mit Wasser von 56° C. und eine solche von 5 Minuten mit Wasser von 62° C. als wirksam und unschädlich für das Saatgut erwiesen. Nicht so gute Resultate erzielte er mit Weizen, weshalb er für dieses Getreide die Beibehaltung des Beizverfahrens mit Kupfervitriol anrieth.

Angesichts dieses theilweisen Widerstreits der Meinungen und in Rücksicht darauf, dass seit der Spaltung der alten Ustilago Carbo in 5 (und mehr) Spezies noch niemand geprüft hat, wie sich die neuen Arten gegen die genannten Abtödtungsmittel verhalten, hielt ich es nicht für überflüssig, eine solche Prüfung vorzunehmen.

a) Widerstandsfähigkeit der Dauersporen gegen Wasser von höherer Temperatur.

Bei Prüfung dieser Frage kam folgendes Verfahren in Anwendung:

Von den Dauersporen der zu prüfenden Spezies wurde eine möglichst grosse Anzahl in Wasser vertheilt und hiervon etwa 1 ccm mittelst einer Pipette entnommen. Nachdem die der Aussenfläche der Pipette etwa anhaftenden Sporen sorgfältig abgespritzt waren, wurde die Spitze der Pipette in etwa 5 ccm Wasser, mit dem ein schmales Reagirglas beschickt war, getaucht und nun erst die Sporenaufschwemmung einfliessen gelassen. Hierdurch wurde erreicht, dass die Sporen wirklich benetzt wurden.[2] In das auf diese Weise mit Sporen beschickte Reagirglas wurde nun ein Thermometer eingeführt und mittelst Kork so befestigt, dass das Quecksilbergefäss in das Wasser hineinhing. Den ganzen Apparat tauchte ich sodann in ein mit Wasser (von etwa 20 bis 25° C.) nahezu gefülltes Becherglas und hielt ihn mittelst eines durchbohrten Korkes etwa 2 cm vom Boden entfernt. Das Becherglas setzte ich hierauf auf ein Bad, dessen Wasser bereits bis zum Kochen erhitzt war. Sobald die gewünschte Temperatur erreicht war, was gewöhnlich binnen 4 bis 8 Minuten geschah, wurde dieselbe genau 5 Minuten lang einwirken gelassen. Letzteres liess sich durch eine passende Regulirung der Flamme recht gut ausführen. Nach Beendigung des Versuchs wurde das Reagirglas sofort aus dem Becherglas herausgenommen und abgekühlt.

---

1) Dr. H. Klebahn, Bremen: Einige Versuche betreff. etc. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Herausgeg. von P. Sorauer. III. Bd. 1893. pag. 64.

2) Dieser Umstand ist sehr wichtig, da nicht benetzte Sporen durch Wärmegrade, welche für benetzte tödtlich sind, noch nicht alterirt zu werden brauchen.

Es kann kein Zweifel sein, dass bei besprochener Versuchsanordnung die allergrösste Zahl der Dauersporen wirklich vollständig benetzt wird und daher auch die betreffende Temperatureinwirkung erfährt. Allein es ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass bei einer kleineren Anzahl der Sporen, die etwa an der Wand des Reagirglases hängen bleiben, keine vollständige Benetzung und in Folge dessen auch nicht die gewünschte Temperatureinwirkung eintritt. Um nun solche etwa nicht benetzten Sporen möglichst nicht mit aus dem Gefäss herauszunehmen, verfuhr ich in der Weise, dass ich eine oben zugehaltene Pipette bis auf den Grund des Reagirgläschens führte und nun einen Theil der Sporenaufschwemmung darin aufsteigen liess. Zur Prüfung auf Keimfähigkeit wurde nun eine gewisse Quantität ($^1/_2$ resp. 1 ccm) mit Nährgelatine gemischt und damit Rollkulturen im Reagirglase angestellt.

Selbstverständlich war vor Anstellung jedes Versuches von der Sporenaufschwemmung im Versuchsgläschen die gleiche Quantität (also $^1/_2$ resp. 1 ccm) zu einem Kontrollversuche verwendet worden, da bekanntlich die Keimfähigkeit der Ustilagineensporen grossen Schwankungen unterliegt.

Ausserdem möchte ich hervorheben, dass die Sporenaufschwemmung stets unmittelbar vor jedem Versuch erfolgte. Bei längerem Liegen im Wasser würden nämlich unter Umständen die Sporen schon in das erste Stadium der Auskeimung treten und dann natürlich ein anderes Verhalten zur Temperatur zeigen als im Ruhezustande.

Die Resultate sind aus folgenden Tabellen ersichtlich:

älteres Material (7—9 Monate alt). frisches Material.

Ust. Jensenii.

Versuchstemperaturen	Zeit der Anwärmung von 30°[1] an in Minuten	Resultate		Versuchstemperaturen	Zeit der Anwärmung von 30° an in Minuten	Resultate	
		Kontrollgefäss	Versuchsgefäss			Kontrollgefäss	Versuchsgefäss
45—46	$2^1/_4$	∞[2]	∞	45—$45^1/_2$	$3^1/_2$	∞	∞
$46^3/_4$—47	$3^3/_4$	∞	∞	$46^1/_2$—47	$4^1/_4$	∞	∞
$49^1/_2$-$50^1/_2$	$4^1/_4$	∞	0	49—50	$4^1/_2$	∞	sehr viele
52—$52^1/_2$	$3^3/_4$	∞	0	$52^1/_2$—53	6	∞	0
				55—56	4	∞	0

Ust. Avenae.

43—44	$3^3/_4$	∞	∞	45—$45^1/_2$	$4^1/_4$	∞	∞
45—$45^1/_2$	$2^1/_4$	∞	einige	$47^1/_2$-$46^3/_4$	$3^1/_2$	∞	∞
47—$47^1/_2$	$2^3/_4$	∞	0	$49^1/_2$-$50^1/_2$	$5^1/_2$	∞	viele
				$52^1/_2$-$53^1/_4$	$6^1/_2$	∞	0
				55—$55^1/_2$	$7^1/_2$	∞	0

1) Weil mit dieser Temperatur warmes Wasser die Keimfähigkeit der Sporen zu schädigen beginnt, cf. pag. 23.

2) = unzählige.

älteres Material (7—9 Monate alt). frisches Material.

Ust. perennans.

Versuchstemperaturen	Zeit der Anwärmung von 30° an in Minuten	Resultate: Kontrollgefäss	Resultate: Versuchsgefäss	Versuchstemperaturen	Zeit der Anwärmung von 30° an in Minuten	Resultate: Kontrollgefäss	Resultate: Versuchsgefäss
37—37½	1¾	viele	viele	40—40½	3	∞	∞
40—40½	2¼	viele	viele	42½-43½	2½	∞	∞
42—42¾	2	viele	0	45—46	4¾	∞	sehr viele
44—44½	2½	viele	0	47½—47	4½	∞	mehrere
				50—50½	6¼	∞	0

Ustgd. Hordei.

41—41½	2¾	∞	∞	42½-43¼	2½	∞	∞
43—43½	4½	∞	mehrere	45—45½	3	∞	∞
44½—45	3½	∞	0	47½-47¾	4	∞	0
				49½-50½	3¾	∞	0
				52—53	4	∞	0

Ustgd. Tritici.

45—46	2	∞	viele	42½—43	3¼	∞	∞
46½-47½	2¾	∞	0	45—45¼	3¾	∞	sehr viele
				47½-47¾	4¾	∞	0
				50—50½	5¾	∞	0
				52—53	5¼	∞	0

Die Abtödtungstemperaturen liegen somit für:

	Ust. Jensenii	*Ust. Avenae*	*Ust. perennans*	*Ustgd. Hordei*	*Ustgd. Tritici*
älteres Materialzwischen:	47 u. 50½°	45½ u. 47½°	40½ u. 42¾°	43½ u. 45°	46 u. 47½°
frisch. Materialzwischen.	50 u. 53°	50½ u. 53¼°	47½ u. 50½°	45½ u. 47¾°	45¼ u. 47¾°

Hieraus folgt:

Die Empfindlichkeit der Dauersporen der fünf Spezies gegen Wasser von höherer Temperatur nimmt mit dem Alter zu (nur *Ustgd. Tritici* scheint eine Ausnahme zu bilden). Weniger empfindlich gegen Wasser von höherer Temperatur als die übrigen Spezies zeigte sich *Ust. Jensenii* und wenigstens, was frisches Material anbetrifft, auch *Ust. Avenae.* Für *Ust. Jensenii* und *Avenae* dürfte demnach eine Behandlung der Sporen mit Wasser von 54°, für *Ustgd. Hordei* und *Tritici* eine solche von 48°, für *Ust. perennans* eine solche von 51° zur Abtödtung der Dauersporen genügen.

b) Die Widerstandsfähigkeit der Sporen gewissen Giften gegenüber.

Es wurden zunächst solche Gifte in Betracht gezogen, welche den Landwirthen vielfach als Abtödtungsmittel empfohlen worden sind und von diesen auch angewandt werden, nämlich Kupfervitriol und rohe englische Schwefelsäure. Ausserdem wurde noch Quecksilberchlorid verwandt. Als Versuchsobjekt diente sowohl älteres ($^1/_2$—$^3/_4$ Jahr altes) als ganz frisches Sporenmaterial.

Sollten die Versuche einwandfrei sein, so durfte das Sporenmaterial nicht auf der Oberfläche der Giftlösung schwimmen, sondern musste von derselben vollständig benetzt werden. Ich erreichte dies durch folgende Manipulation:

Reagirgläschen wurden mit 4 ccm der betreffenden Giftlösung gefüllt, deren Konzentration $^5/_4$ der gewünschten betrug. Die Sporen wurden nun kurz vor der Versuchsanstellung in destillirtem Wasser vertheilt. Von diesem sog ich darauf mit Hilfe einer Pipette genau 1 ccm auf und fügte dieses Quantum nach sorgsamem Abspülen der Pipette mit destillirtem Wasser in der bereits pag. 25 angegebenen Weise zu der in dem Reagirgläschen befindlichen Giftlösung hinzu. Die letztere hatte damit die gewünschte Konzentration erhalten.

Die Sporen blieben 15 bis 16 Stunden in der Giftlösung. Nach Ablauf dieser Zeit wurde eine oben zugehaltene Pipette bis auf den Boden des Reagirgläschens geführt, alsdann ungefähr 4 ccm davon aufgesogen und die darin enthaltenen Sporen abfiltrirt. Nach vielfachem Auswaschen mit destillirtem Wasser durchstiess ich das Filter und spülte die Sporenmasse in ein Reagirglas, worin sich etwa 4 ccm flüssige Nährgelatine befand. Mit dieser wurde eine Rollkultur hergestellt. Nach drei Wochen wurden die Versuche als abgeschlossen betrachtet.

Es ist noch zu bemerken, dass zu jeder Versuchsreihe ein Kontrollversuch kam, durch welchen der Grad der Keimfähigkeit der zu verwendenden Sporen geprüft wurde. Die Kontrollversuche wurden in genau der gleichen Weise angestellt, wie die Giftversuche, nur dass das Gift dabei fehlte.

Hier muss einer Arbeit von Wüthrich[1] gedacht werden. Derselbe untersuchte neben anderen Pilzen auch eine Ustilago auf Hafer (ob Ust. Avenae oder Kolleri, ist zweifelhaft) auf die Grenze ihrer Keimfähigkeit in Giftlösungen. Der Landwirth will jedoch nicht wissen, ob die Pilze in den Giftlösungen auskeimen, sondern ob dieselben nach der Behandlung mit solchen Lösungen noch keimfähig sind und die Pflanzen zu infizieren vermögen. Deshalb dürften jene Versuche einen mehr theoretischen als praktischen Werth besitzen.

Zunächst mögen die mit **roher englischer Schwefelsäure** angestellten Versuche hier besprochen werden.

Die Temperatur während der Dauer der Einbeizung betrug bei den Versuchen mit altem Materiale 15—18°, bei denen mit frischem 23°. Die Resultate sind aus nachfolgender Zusammenstellung ersichtlich.

1) Wüthrich, Ueber die Einwirkung von Metallsalzen und Säuren etc. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten III. Bd. Jahrg. 1893.

Konzentration der Lösung	*Ust. Jensenii*		*Ust. Avenae*		*Ust. perennans*		*Ustgd. Hordei*		*Ustgd. Tritici*	
	älteres Mat.	frisches Mat.	älteres Mat.	frisches Mat.	älteres Mat.	frisches Mat.	älteres Mat.	frisches Mat.	älteres Mat.	frisches Mat.
0 (Kontrollgefäss)	∞	∞	∞	∞	viele	∞	∞	∞	∞	∞
0,01		∞		∞	viele	∞		∞		∞
0,1		∞		∞	viele	∞	∞	∞		∞
0,25		∞		s. viele	0	s. viele		∞		∞
0,5		∞	einige	s. viele	0	0	∞	s. viele	mehrere	0
0,75	∞	∞	0	0		0	0	0	0	0
1	viele	∞		0		0	0	0		0
1,5	wenige	∞		0		0	0	0		0
2	wenige	viele		0		0	0	0		0
4 u. 8		0								

Die Abtödtung erfolgte somit durch Lösungen, deren Konzentrationsgrad liegt für:

	älteres Material zwischen	frisches Material zwischen
Ust. Jensenii	1 u. 1,5%	2 u. 4%
Ust. Avenae	0,5 u. 0,75%	0,5 u. 0,75%
Ust. perennans	0,1 u. 0,25%	0,25 u. 0,5%
Ustgd. Hordei	0,5 u. 0,75%	0,5 u. 0,75%
Ustgd. Tritici	0,5 u. 0,75%	0,25 u. 0,5%

Die grösste Widerstandsfähigkeit gegen Schwefelsäure besitzt nach diesen Versuchen unstreitig *Ust. Jensenii*, die geringste *Ust. perennans*. Auffallen muss es, dass das ältere Material von *Ustgd. Tritici* eine höhere Konzentration ertragen hat als das jüngere. Vielleicht hat hierbei die höhere Temperatur (23° statt 15—18°) eine gewisse Rolle gespielt. Uebrigens stimmen die mit *Ust. Avenae* und *Ustgd. Hordei* angestellten Versuche mit den Beobachtungen J. Kühn's[1] ziemlich überein. Derselbe hat nämlich durch Versuche im Grossen konstatirt, dass eine Beizung mit Schwefelsäure (1 : 150) sich gegen den Flugbrand auf Gerste und Hafer wirksam erweist.

Eine Verwendung von Schwefelsäure als Mittel gegen Ust. Jensenii erscheint jedenfalls ausgeschlossen, da durch eine 3% Lösung das Saatgut zu sehr geschädigt würde.

Was die mit **Quecksilberchlorid** angestellten Versuche anbetrifft, so betrug auch hier bei den Versuchen mit altem Material die Temperatur während der Einbeizungsdauer 15—18°, bei denen mit frischem circa 23°. Die Resultate sind in nachfolgender Tabelle zusammengestellt:

1) J. Kühn, Die Verwendung des Kupfervitriols etc. Zeitschrift des Landw. Centralvereins der Prov. Sachsen 1872. No. 9 u. 10.

Konzentration der Lösung	*Ust Jensenii.*		*Ust. Avenae*		*Ust. perennans*		*Ustgd. Hordei*		*Ustgd. Tritici*	
	älteres Mat.	frisches Mat.	älteres Mat.	frisches Mat.	älteres Mat.	frisches Mat.	älteres Mat.	frisches Mat.	älteres Mat.	frisches Mat.
0 (Kontrollgefäss)	∞	∞	∞	∞	viele	∞	viele	∞	∞	∞
0,0001		∞		∞		∞		∞		∞
0,001		∞		∞	viele	∞		∞		∞
0,005	∞	mehrere	∞	0	0	0	viele	0	∞	0
0,01	0	0	0	0		0	einige wenige	0	0	0

Die Abtödtung erfolgte somit durch Quecksilberchloridlösungen, deren Konzentrationsgrad liegt für:

	älteres Material zwischen	frisches Material zwischen
Ust. Jensenii	0,005 u. 0,01 %	0,005 u. 0,01 %
Ust. Avenae	0,005 u. 0,01 %	0,001 u. 0,005 %
Ust perennans	0,001 u. 0,005 %	0,001 u. 0,005 %
Ustgd. Hordei	0,005 u. 0,01 %	0,001 u. 0,005 %
Ustgd. Tritici	0,005 u. 0,01 %	0,001 u. 0,005 %

Auch diesem Gifte gegenüber scheint *Ust. Jensenii* eine etwas grössere Widerstandsfähigkeit zu besitzen als die übrigen, während *Ust. perennans*, wenigstens älteres Material, die geringste aufweist. Bei den übrigen drei Spezies genügten zur Vernichtung des frischeren Materials schwächere Lösungen als zur Abtödtung des älteren. Es ist möglich, dass dieses Resultat durch die bei den Versuchen mit frischem Material herrschenden höheren Temperaturen (23° statt 15 bis 18) veranlasst ist.

Als Mittel gegen die Flugbrandarten dürfte aber freilich das Quecksilberchlorid schon wegen der damit verbundenen Vergiftungsgefahr nicht in Betracht kommen.

Von den mit **Kupfervitriol** angestellten Versuchen sollen zunächst die das ältere Material betreffenden angeführt werden.

Die Temperatur betrug etwa 15—18°, bei den im Juni angestellten Versuchen etwa 17—20°. Es ergab sich bei diesen Versuchen, dass bei *Ust. Avenae* und *Ustgd. Tritici* eine fünfzehnstündige Behandlung mit 0,25 %, bei *Ustgd. Hordei* eine solche mit 0,1 % und bei *Ust. perennans* eine solche mit 0,01 % Lösung genügte, um die Sporen abzutödten. Auch gegen dieses Gift erwies sich somit *Ust. perennans* als am wenigsten widerstandsfähig.

Die mit *Ust. Jensenii* angestellten Versuche ergaben eigenthümliche und zum Theil anscheinend sich widersprechende Resultate. So erwiesen sich im April mit 0,25, 0,5, 0,75 und 1 % Lösung behandelte Sporen als nicht minder keimfähig wie die nicht behandelten.

Ein im Mai angestellter Versuch lieferte folgendes Resultat:

Konzentration d. Lösung	0 (Kontrollgef.)	0,25 %	0,5 %	1 %	1,5 %
Resultate	∞	0	einige	einige	viele

Es hatten sich somit stärkere Lösungen als weniger wirksam erwiesen wie solche von geringerer Konzentration. Dieses Ergebniss sollte durch folgende drei im Juni angestellte Versuche bestätigt werden:

Konzentrat. d. Lösungen	0 (Kontrollgef.)	0,01 %	0,1 %	0,25 %	0,5 %	0,75 %	1 %	2 %	3 %	4 %	8 %	16 %	32 %
Resultate	∞		0	einige	einige	viele	∞	∞	∞				
	∞	∞	wenige	wenige	wenige (mehr als in 0,25)	viele	viele	nach 2 T. mehrf. Ausk.		wie in 2 %			
	∞									s. viele		einige	0

Es konnte nun nicht mehr bezweifelt werden, dass schwächere Lösungen, solche von 0,1 %, eine bedeutend schädlichere Wirkung auf die Sporen von *Ust. Jensenii* ausübten als stärkere, ja wie solche von 4 und 8 %.

Die Gründe für diese Erscheinung glaubte ich in Folgendem suchen zu müssen: Die Sporen treten bei längerem Liegen in einer sehr schwachen Giftlösung in den Keimungszustand, wenn auch nur in das erste Stadium derselben, in die Anschwellung. In diesem Zustande könnte schon eine schwache Konzentration von Kupfervitriol genügen, eine Vernichtung der Keimfähigkeit herbeizuführen. Stärkere Konzentrationen werden dagegen eine mehr oder minder starke plasmolytische Wirkung auf die Sporen ausüben und dadurch verhindern, dass die letzteren in jenes Keimstadium treten. Entferne ich nun die Sporen nach nicht allzulanger Zeit aus der Giftlösung und mische sie nach sorgfältigem Abspülen mit Wasser mit Nährgelatine, so wird ev. jene Plasmolyse rückgängig gemacht und die Sporen können dann auskeimen.

Wenn nun diese Erklärung für jene Erscheinung richtig war, so musste, da bei den Sporen die Keimungsschnelligkeit mit der Höhe der Temperatur innerhalb gewisser Grenzen wächst, eine um so geringere Konzentration der Lösung zur Abtödtung genügen, je mehr die Temperatur der Beizflüssigkeit sich dem Keimungsoptimum näherte. Bei niederen Temperaturen dagegen, d. h. solchen, die unter dem Auskeimungsminimum lagen, durften die Sporen auf jenes Gift nur wenig reagiren. Dies zu prüfen, setzte ich fortan für jede Spezies zwei Versuche an. Bei dem einen Versuche wurden die Sporen während der Einbeizungsdauer einer Temperatur von über 23° ausgesetzt, bei dem andern die Gefässe in einen Eisschrank gestellt, wo die Temperatur möglichst 5° nicht überstieg.

Die Resultate dieser Versuche, bei denen übrigens stets frisches Material verwandt wurde, sind aus folgender Tabelle ersichtlich:

a) Versuche bei niederen Temperaturen:

Konzentration der Lösungen	*U. Jensenii* (6—8°)	*U. Avenae* unter 5°	*U. perennans* unter 5°	*U. Hordei* unter 5°	*U. Tritici* unter 5°
0 (Kontrollgefäss)	∞	∞	∞	∞	viele
0,01	∞	sehr viele	∞	viele	viele
0,1	∞	sehr viele	∞	viele	viele
0,5	∞	sehr viele	∞	∞	viele
1	∞	sehr viele	∞	∞	viele
2	∞	sehr viele	∞	∞	viele
4	∞	sehr viele	mehrere	∞	viele
8	mehrere	einige	mehrere	∞	viele

b) Versuche bei höheren Temperaturen:

Konzentration der Lösung	*U. Jensenii* 25—26°	*U. Arenae* 23—25°	*U. perennans* 24—25°	*U. Hordei* 24—25°	*U. Tritici* 23—24°
0 (Kontrollgefäss)	∞	∞	sehr viele	∞	∞
0,01	wenige	mehrere	0	mehrere	einige
0,1	0	0	0	0	0
0,25	0	0	0	0	0
0,5	0	0	0	0	0
0,75	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0
2	einige	0	0	0	0
4	viele	0	0	0	0
8	mehrere	viele	0	0	0

Es haben sich somit meine Vermuthungen im Wesentlichen bestätigt. Während bei Temperaturen unter oder nahe dem Auskeimungsminimum die Giftlösungen, starke wie schwache, fast wirkungslos blieben, genügten, wenn während der Einbeizungsdauer eine dem Keimungsoptimum nahe Temperatur herrschte, ganz schwache Konzentrationen, nämlich eine solche von 0,1 % um die Sporen keimungsunfähig zu machen, ja schon Kupfervitriollösungen von 0,01 % waren im Stande die Keimfähigkeit einer grossen Anzahl von Sporen zu vernichten.

Bemerkenswertherweise haben auch bei hohen Temperaturen starke Lösungen dieses Giftes die Dauersporen von *Ust. Jensenii* nicht völlig zu vernichten gemocht. Auch von *Ust. Avenae* blieben nach einer Behandlung mit 8 % Vitriollösung noch eine grössere Zahl keimfähig.

Ich habe nun wenigstens mit einer Spezies *(Ust. Jensenii)* auch Versuche angestellt, bei denen die Dauersporen während der Dauer der Einbeizung Temperaturen von 10° und 14°, also mittleren Wärmegraden ausgesetzt wurden.

Die Resultate waren folgende:

Konzentration der Lösung	10—10½°	14°
0 (Kontrollgefäss)	∞	∞
0,01	sehr viele	∞
0,1	sehr viele	mehrere
0,5	sehr viele	mehrere
1	sehr viele	mehrere
2	sehr viele	mehrere
4	sehr viele	viele
8	sehr viele	viele

Während also bei einer Temperatur von 10° die Kupfervitriollösungen durchweg keine vernichtende Wirkung auf die Keimfähigkeit der Sporen von *Ust. Jensenii* ausübten, erwiesen sich bei einer Temperatur von 14° die Giftlösungen, wenigstens die schwächeren, als entschieden etwas wirksam.

Wenn somit die Landwirthe bei der Behandlung des Saatgutes mit ½prozentiger Kupfervitriollösung zuweilen keine Resultate erzielten, so dürfte dies dadurch zu erklären sein, dass die Temperatur während der Dauer der Einbeizung eine zu niedrige war; denn auf dem Schüttboden, wo die Einbeizung in den meisten Fällen vorgenommen wird, herrscht im Frühjahr wohl meist keine höhere Temperatur als 12 höchstens 14° C.

Bei der Verwendung von Kupfervitriol als Schutzmittel gegen die genannten Brandarten *(Ust. Jensenii, Avenae, perennans, Ustgd. Hordei* und *Tritici)* ist mithin auf zweierlei zu achten:

Einmal darf die Lösung eine nicht zu starke Konzentration besitzen, da starke Lösungen, wie meine Versuche zeigen, unter Umständen jenen Pilzen weniger gefährlich sind als schwache; sodann muss man sich hüten die Einbeizung bei einer zu niedrigen Temperatur vorzunehmen.

Es dürfte somit als Schutzmittel gegen besagte Brandarten zu empfehlen sein die 15stündige Behandlung des Saatgutes mit einer 0,1prozentigen Kupfervitriollösung, welche eine Temperatur von über 20° C. besitzt. Die Lösung eine so lange Zeit bei dieser verhältnissmässig hohen Temperatur zu erhalten, möchte allerdings mit nicht geringen Umständen und auch Kosten verknüpft sein; denn es müsste die Einbeizung ev. in einem geheizten Raume stattfinden.

Vielleicht erreicht man jedoch seinen Zweck auch mit einer kürzeren Einbeizungsdauer. Nach jüngst in dieser Richtung von mir angestellten Versuchen ist dies nicht ganz unwahrscheinlich.

Erklärung der Abbildungen.

Vergrösserung = $\frac{600}{1}$ ausser bei Fig. 6 der Taf. I, wo dieselbe $\frac{48}{1}$ beträgt.

Tafel I.

Ustilagidium Hordei.

Figur 1—5. Dauersporen in verschiedenen Stadien der Mycelbildung in verdünntem Pflaumendekokt.

Fig. 1. Ganz junges Mycel (48 St. alt) aus einem kurzen Keimschlauch und einem Seitenast desselben gebildet; letzterer zeigt bei *s.* Schnallenbildung.

Fig. 2. Junges Mycel (48 St. alt) ebenfalls nur aus einem Keimschlauch und einem dicht an der Spore abgehenden Seitenast gebildet.

Fig. 3. Junges Mycel (48 St. alt) bestehend aus dem Keimschlauch und zwei von demselben abgehenden Seitenästen. Der untere *s.* anastomosirt mit der Endzelle des Keimschlauchs.

Fig. 4. Etwas weiter entwickeltes Mycel, etwa 3 Tage alt, aus 2 nach entgegengesetzter Richtung von der Spore ausgehenden Keimschläuchen hervorgegangen.

Fig. 5. Junges Mycel, 3 Tage alt, mit zwei kurzgliedrigen Keimschläuchen und kurzen bauchigen meist einzellig bleibenden Seitenästen, die auf den ersten Blick den Eindruck von Konidien machen (eine Erscheinung, die in gewöhnlichen Kulturen nicht häufig auftritt).

Fig. 6. Oberes Ende eines in die Luft ragenden pinselförmigen Mycelstranges, der sich aus einer 20 Tage alten Schälchenkultur auf Pepton-Zucker-Gelatine erhoben hat.

Fig. 7. Fragment eines auf gekochten Möhren erzogenen 3 Monate alten Mycels mit halbreifen, noch nicht gebräunten Gemmen, welche sich theils im Verlaufe, theils am Ende der Mycelfäden entwickelten.

Fig. 8—12. Verschiedene Formen von Gemmenbildungen aus einer Kultur auf Fliedermark, das mit einer Pepton- und zuckerhaltigen Nährlösung getränkt war. Bemerkenswerth sind die rundlichen mit Skulptur versehenen Formen der Fig. 13, welche lebhaft an echte Dauersporen erinnern.

Ustilagidium Tritici.

Fig. 14—18. Verschiedene Stadien der Keimschlauch- und Mycelentwicklung in verdünntem Pflaumendekokt (14—17 nach 16—20 St., 18 nach 36 St.). Auffallend im Vergleich zu *Ustg. Hordei* sind die eigenthümlichen hakenförmigen Krümmungen der Myceläste.

Fig. 19. Keimschlauch mit Schnallenbildung.

Fig. 20. Halbreife ungebräunte Gemmen aus einer 3monatlichen Kultur auf mit Bierwürze getränktem Fliedermark und Möhren.

Fig. 21. Reife gebräunte Gemmen auf mit Bierwürze getränktem Fliedermark.

Fig. 22 u. 23. Auf dem gleichen Substrat entstandene gebräunte Gemmen in verschiedenen Stadien der Auskeimung zu Mycelien in ver dünntem Pflaumendekokt

Ustilago Jensenii.

Fig. 24. Dauersporen nach 24stündiger Kultur in verdünntem Pflaumendekokt mit kurzem, Schnallenbildung (*s*) zeigenden, noch konidienlosen Promycel.
Fig. 25. Dauersporen mit einem Konidien bildenden Promycel an einer und mit direkter Konidienbildung an einer andern Stelle nach 24stündiger Kultur in verdünntem Pflaumendekokt.
Fig. 26. Eine Dauerspore mit Auskeimung an der kleineren der beiden hellen Polstellen nach 24stündiger Kultur in verdünntem Pflaumendekokt.
Fig. 27. Promycel mit abgefallenen und sprossenden Konidien.
Fig. 28 u. 29. Zwei kleine Mycelien aus einer fünftägigen Traubenzucker-Kultur, in welcher der Stickstoff in Form von schwefelsaurem Ammoniak gegeben worden war. Es kommt hier theilweise, wie in Fig. 6 angedeutet ist, zur Bildung konidienartiger Zellen, dieselben fallen aber niemals wie echte Konidien ab, sondern wachsen weiter.
Fig. 30. Konidien und ein Promycelstück *(ps)* nach 24 St. in verdünntem Pflaumendekokt. Die Konidienformen werden bauchig.
Fig. 31. Aehnliche Objekte nach 3tägiger Kultur in Pflaumendekoktlösung im deutlichen Uebergange zur Gemmenbildung begriffen.
Fig. 32. Aus Konidien in 4tägiger Kultur in Pflaumendekokt entstandene Gemmen, zwei davon keimend.
Fig. 33. Aeltere aus Konidien und vielleicht auch aus Myceltheilen (bei *m*) hervorgegangene fettreiche Gemmen.
Fig. 34. Gemmen aus 12tägiger Bierwürze-Gelatine-Kultur. Die Glieder der links liegenden Gemmenkette treiben Konidiensprosse.
Fig. 35. Abnorm grosse mit Vakuolen versehene, in hefeartiger Sprossung begriffene Gemmen, wie sie bei 2tägiger Kultur in verdünntem Pflaumendekokt bei 30° C. erhalten wurden.

Tafel II.

Ustilago Avenae.

Fig. 1. Dauerspore in verdünntem Pflaumendekokt an dem einen Pole direkt mit Konidien, an dem andern mit einem Konidien bildenden Promycel und ausserdem, wie es scheint, noch direkt mit Konidien auskeimend.
Fig. 2. Junges Mycel in verdünntem Pflaumendekokt erzogen, hervorgegangen aus einem Konidien bildenden Promycel durch fortgesetztes Spitzenwachsthum desselben und Bildung von Seitenästen. Von den Konidien des ursprünglichen Promycelstadiums sind noch 2 zu sehen, die übrigen sind abgefallen. Solche Zustände beweisen, dass zwischen Mycel- und Promycelbildung nur ein gradueller Unterschied besteht.
Fig. 3 u. 4. Junge Mycelien ohne Konidienbildung, wie sie sich in Deckglaskulturen mit verdünntem Pflaumendekokt bei 30° C. entwickeln. Auch in späterem Stadium treten bei dieser Temperatur keine Konidien auf.
Fig. 5. Konidien von dem nebenstehenden Promycel stammend, welche sich anschicken in Gemmenbildung überzugehen (in verd. Pflaumendekokt nach 48 St.).
Fig. 6. Konidien nach 3tägiger Kultur in verdünntem Pflaumendekokt, in etwas fortgeschrittnerem Stadium der Gemmenbildung und daher auch die „Bisquit"form und den Fettgehalt schon etwas stärker zeigend.
Fig. 7. Kleines Mycel mit beginnender Gemmenbildung nach 3tägiger Kultur in verdünntem Pflaumendekokt.
Fig. 8. In Gemmenbildung begriffene Myceltheile von einer 7tägigen Kultur in verdünntem Pflaumendekokt.
Fig. 9. Konidien aus 7tägiger Strichkultur auf Bierwürze-Gelatine ins erste Stadium der Gemmenbildung eingetreten, z. Th. schon wieder ausgekeimt.
Fig. 10. Aehnliche Stadien wie die der vorigen Figur aus 13tägiger Schälchenkultur auf Bierwürzegelatine.
Fig. 11. Eine Gemme *(g)* in verdünntem Pflaumendekokt, an beiden Polen in Auskeimung zu etwa konidienartig aussehenden ihrerseits sprossenden Zellen begriffen.

Ustilago perennans.

Fig. 12. Dauerspore in verdünntem Pflaumendekokt nach 24 St., mit mindestens 4 Promycelien auskeimend.

Fig. 13. Dauerspore mit nur einem Promycel auskeimend, Konidien, zum Theil Sekundärkonidien treibend, nach 24 St. in verdünntem Pflaumendekokt.

Fig. 14 u. 15. Dauersporen mit nicht mehr Konidien abschnürenden Mycelien, welche aus Konidien abschnürenden Promycelien hervorgegangen sind. Ihre Glieder sind z. Th. in Gemmenbildung begriffen. Aus mehrere Tage alten Kulturen in verdünntem Pflaumendekokt.

Fig. 16. Konidien nach 48 St. in Pflaumendekokt-Wasser, im Gegensatz zu *Ust. Jensenii* und *Avenae* von spindelförmiger Gestalt.

Fig. 17. Dieselben einer 24 St. älteren Kultur, ausgekeimt.

Fig. 18. Aus Konidien *(c)* und Myceltheilen *(m)* hervorgegangene, in 3wöchentlicher Kultur in verdünntem Pflaumendekokt erhaltene Gemmen.

Fig. 19. Entwickelte Gemmen aus einer $2^1/_2$monatlichen Kultur einer Nährlösung, welche den Stickstoff und Kohlenstoff in Form von Asparagin enthielt.

Tafel III.

Photogr. I. Kulturen von *U. Avenae* (1), *Jensenii* (2), *Hordei* (3), *Tritici* (4), *perennans* (5) auf der schiägen Fläche von Pepton-Agar (Pept. 1, Traubenzucker 2, Fleischextrakt 1, Agar 1), erhalten bei Zimmertemperatur innerhalb 18 Tagen Die schräge Fläche war mittelst Impfstrich geimpft worden.

Man sieht, dass die Vegetationen der fünf Spezies im Allgemeinen wesentliche habituelle Differenzen zeigen. Nur zwischen *Ust. Avenae* und *perennans* herrscht eine gewisse Aehnlichkeit.

Photogr. II. Kulturen von *Ust. Jensenii* (1), *Avenae* (2 u. 4), *perennans* (3) und *Ustgd. Hordei* (5) auf Bierwürze-Gelatine 18 Tage alt, bei Zimmertemperatur erhalten. Auch aus diesen Bildern ersieht man, dass die genannten Spezies bei gleicher Kultur auf dem gleichen Substrat ganz verschiedenen habituellen Charakter aufweisen. *Avenae* und *perennans*, die, wie wir aus Photogr. I ersahen, auf Nähragar keine ausgesprochene Differenz erkennen liessen, sind hier deutlich von einander zu unterscheiden. Die Kolonie von *Avenae* hat ein mehliges Aussehen, die von *perennans* mehr schleimig häutiges. Letztere lässt am Rande deutliche Fransen- oder Faltenbildungen erkennen. Zu bemerken ist noch, dass die Kultur von *Ustgd. Hordei* (5) dadurch erhalten wurde, dass ich ein kleines Mycelstückchen auf die Mitte der schrägen Oberfläche impfte, während die übrigen Kolonien im Impfstrich der schrägen Nährfläche erwachsen sind.

Zu der Kultur von *Avenae* in No. 2 habe ich noch eine zweite von dieser Spezies in No. 4 zur Darstellung gebracht. Letztere, viel üppiger entwickelt als erstere, war dadurch erhalten worden, dass man das Impfmaterial von Möhren entnahm.

Photogr. III. Objektträgerkultur von *Ust. Jensenii* auf Bierwürzegelatine im oberflächlichen Impfstrich gezüchtet, 18 Tage alt, bei Zimmertemperatur. Die charakteristische Faltenbildung ist auch hier zu sehen. Am Rande bemerkt man Fransen.

Photogr. IV. Objektträgerkulturen von *Ust. Avenae* (1) und *perennans* (2) auf Bierwürze-Gelatine, 18 Tage alt, bei Zimmertemperatur. Die Unterschiede zwischen beiden Spezies treten bei dieser Art der Kultur ganz besonders scharf hervor. Namentlich ist es die ausgezeichnete Fransenbildung, durch welche sich *perennans* von *Avenae* unterscheidet.

Nachträglich ist noch anzuführen, dass J. L. Jensen (Om Kornsorternes Brand, Kopenhagen) bereits 1888 unterschieden hat: *Ustilago segetum* var. *Tritici*, *U. segetum* var. *Avenae*, U. s. var. *Hordei* f. *nuda* u. U. s. var. *Hordei* f. *tecta*. Letztere beiden entsprechen *U. Hordei* u. *U. Jensenii* im Sinne dieser Abhandlung.

Zur Kenntniss des regressiven Entwickelungsganges der Beggiatoen nebst einer Kritik der Winogradski'schen Auffassung betreffs der Morphologie der rothen Schwefelbacterien.

Von **W. Zopf.**

Im Frühjahr 1893 stellte sich in einer Flasche, welche Herr Dr. W. Krüger zuvor mit dem Abwasser eines Küchenabflusses nahezu gefüllt und zur Gewinnung gewisser Algen stehen gelassen hatte, eine eigenthümliche rothe Vegetation ein. Der genannte Herr machte mir davon Mittheilung mit dem Bemerken, dass es sich dem Anscheine nach um eine Reinkultur einer rothen Beggiatoa handele. Die Sache hatte insofern ihre Richtigkeit, als ausser feinen rothgefärbten und schwefelhaltigen Beggiatoafäden von durchaus gleichartigem Aussehen die Kultur bei genauer Untersuchung keinen anderen fädigen Spaltpilz aufwies, wohl aber waren einzelne farblose und schwefelfreie Stäbchen in der Flüssigkeit zu finden. Jene Beggiatoenfäden sassen sämmtlich den kleinen pflanzlichen Fragmentchen (Gefässbündelresten, Bastfasern, Parenchymzellgruppen) an, wie sie in solchen Küchenwässern vorkommen.

Ich habe nun von diesen in Masse pfirsichrothen Fäden von Tag zu Tag eine Probe herausgenommen und im Verein mit Dr. Krüger bei stärkerer Vergrösserung näher untersucht, um festzustellen, welche Veränderungen im Laufe der Zeit an den Fäden auftreten würden. Am ersten Tage der Beobachtung zeigten sie sämmtlich gleichartige, schlank cylindrische Form und waren gegen das basale, angeheftete Ende hin kaum merklich verschmälert (Fig. 1a). Ihre Dicke schwankte etwa zwischen 1,7 u. 2,2 m. Sie erschienen durch zarte Querwände in cylindrische Zellchen gegliedert, deren Längsdurchmesser etwa das Doppelte bis dreifache des Querdurchmessers betrug. Jene Querwände waren an den Stellen des Fadens, wo sich grössere Schwefelkörnchen befanden, ohne besondere Präparation nur undeutlich oder auch gar nicht zu erkennen, um so besser traten sie hervor an schwefelfreien Partieen, welche vielfach der Basis der Fäden entsprachen (Fig. 1a). In den nächsten Tagen boten die Fäden das nämliche Bild, nur dass die Schwefelkörnchen zahlreicher und grösser erschienen und schwefelfreie Stellen im Verlaufe der Trichome überhaupt nicht mehr zu sehen waren.

Nach Verlauf von etwa 6—8 Tagen indessen machten sich eigenthümliche Veränderungen bemerkbar, welche sich auf alle Fäden der Kultur erstreckten. Dieselben prägten sich in Folgendem aus: Erstens erschienen die Trichome in sehr kurze Zellchen gegliedert (Fig. 1b); zweitens

hatten die Letzteren sich gegen einander mehr oder minder stark abgerundet, mithin an Stelle der cylindrischen Form eine ellipsoidische angenommen; drittens zeigte jede Zelle eines jeden Fadens ausnahmslos ein Schwefelkörnchen-Paar; viertens waren die Zellchen gegen einander mehr oder minder stark verschoben (Fig. 1b). Die letzteren beiden Eigenschaften prägten sich übrigens am freien Ende der Fäden in der Regel früher und deutlicher aus, als an dem basalen, noch angehefteten Ende (Fig. 1b).

Infolge dieser Veränderungen erschienen die Fäden nicht mehr glatt- und gleichmässig-cylindrisch, mit geradlinig-parallelen Contouren versehen, sondern von mehr oder minder unregelmässigem Umriss (Fig. 1b). Beachtenswerth ist das regelmässig gepaarte Auftreten der Schwefelkörnchen in den Fadengliedern, das entfernt an die sogenannte Diplococcus-Form mancher Spaltpilze erinnert, mit der es natürlich sonst nicht verglichen werden darf. Dass diese stark lichtbrechenden und daher sehr dunkel contourirten, fast schwarz aussehenden Gebilde Schwefel sind, geht schon aus ihrer Löslichkeit in Schwefelkohlenstoff hervor.

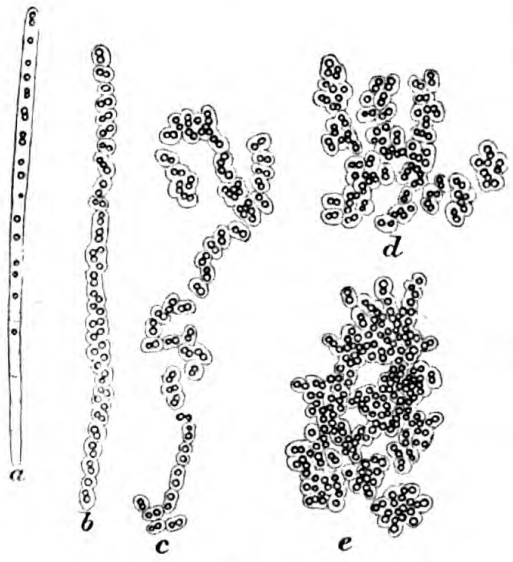


Fig. 1.

Trotz der genannten Veränderungen blieb die gestreckte Form der Fäden im Allgemeinen noch gewahrt, auch waren, wie bereits bemerkt, die Fäden noch an den im Wasser befindlichen Pflanzentheilchen festgeheftet.

Einige Tage später nun fanden wir das Bild der Fäden um ein Erhebliches weiter verändert, und zwar in dem Sinne, dass die Zellchen sich beträchtlich gegen einander verschoben hatten und damit der Verlauf der Fäden ein auffällig unregelmässiger geworden war (Fig. 1c). Sie erschienen jetzt nämlich vielfach hin und hergebogen und theilweis konnte man eine Zusammenhäufung der Zellchen sehen, wie sie bereits in Fig. 1c (am Ende) angedeutet ist. (Es sei hier bemerkt, dass man beim Herausnehmen solcher Zustände sehr behutsam verfahren muss, damit die Anordnung der Zellchen nicht zerstört wird. Es wurde daher als Pipette eine nicht zu enge Glasröhre benutzt, in die ich die Objecte aufsteigen und dann langsam auf den Objectträger gleiten liess.)

Noch einige Tage später und das Bild war wiederum ein anderes. Der fädige Character, wie ihn Zustände nach Art der Fig. 1c trotz aller Verschiebungen der Zellelemente immerhin noch deutlich erkennen liessen, war mehr oder minder vollständig verwischt (Fig. 1d), die Zellchen erschienen in unregelmässige Gruppen zusammengelagert, ent-

sprachen aber vielfach noch in ihrer Anordnung zusammengeknickten Fäden. Diese Verschiebung und Gruppenbildung der Zellchen ging später noch weiter (Fig. 1e). Sie ist offenbar so zu erklären, dass die Zellchen sich beständig strecken und theilen. Sie finden dabei im Fadenverbande nicht mehr Platz und müssen sich seitlich hinaus und gegeneinander vorbeischieben. Dass sie sich dabei nicht leicht trennen, vielmehr an einander hängen bleiben, ist dem Umstande zuzuschreiben, dass ihre Membranen gallertige Beschaffenheit zeigen. Vierzehn Tage vom Beginn der Beobachtung des Fadenstadiums (Fig. 1a) gerechnet waren sämmtliche Fäden der Beggiatoa in Kolonieen vom Charakter der Fig. 1e übergeführt.

Aus vorstehenden Beobachtungen, denen man den Werth von entwickelungsgeschichtlichen nicht wird absprechen können, geht mit Sicherheit hervor, dass der offenbar zu den Beggiatoen gehörige Organismus aus dem Fadenzustande übergeht in ein Stadium, welches aus rundlichen (kurz-ellipsoidischen) Zellchen besteht. (Ich habe solche Zustände früher als „Coccenartige" bezeichnet und möchte diesen kurzen Ausdruck, zumal er eingebürgert ist, festhalten.)

Hierdurch werden meine vor zwölf Jahren publicirten Beobachtungen[1] des gleichen regressiven Entwickelungsganges, gemacht an farblosen wie an rothen Beggiatoen, vollauf bestätigt. Diese Beobachtungen bedeuteten zu jener Zeit einen wesentlichen Fortschritt in der Kenntniss der Beggiatoen-Morphologie.

Zu einem ganz anderen Resultate ist Winogradski[2] gekommen. Er hat diese Beobachtungen nicht zu bestätigen vermocht. Er erklärt sie sogar als auf vollkommener Täuschung beruhend und macht mir den schlimmsten Vorwurf, den man einem Naturforscher machen kann, dass ich nämlich den geschilderten Entwickelungsgang, der vom Fadenzustande ausgehend zur Erzeugung von rundlichen Zellchen führt, einfach erfunden oder, was dasselbe ist „construirt" hätte. Sagt er doch p. 27 wörtlich: „Was die eigentliche Micrococcenbildung anbetrifft, so hat Zopf meiner Ueberzeugung nach, diesen Entwickelungsvorgang construirt aus dem Vergleiche theils lebender, theils todter Fadenzustände, welche er zudem ununrichtig gedeutet hat: Zopf's Fäden im Micrococcenzustand sind nichts anderes, als dicht mit gleich grossen Schwefelkörnchen gefüllte Fäden."

Als ich diesen Satz las, legte ich mir sofort die Frage vor, wie es denn nur möglich sei, dass W. den von mir gefundenen regressiven Entwickelungsgang (wie ich ihn soeben an dem neuerlichen Object wiederum schildern konnte) niemals hat zu Gesicht bekommen können. Sollte er nicht dieselben Objecte benutzt haben, wie ich; sollte er die Endproducte der Entwickelung gar nicht erhalten, oder sollte er sie übersehen haben? Wenn jemand die Beobachtungen eines Andern zu kritisiren unternimmt, so müsste er doch, sollte man meinen,

---

1) Zur Morphologie der Spaltpflanzen (Spaltpilze und Spaltalgen) Leipzig (Veit & Comp.) 1882.

2) Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bacterien, Leipzig (Felix) 1888.

vor allen Dingen dieselben Objecte studirt haben, welche dem Andern vorlagen. Allein über diese billige Forderung hat sich W. einfach hinweggesetzt. So hat er notorisch von der rothen *Beggiatoa roseo-persicina* Z., die freilich zu den selteneren Wasserspaltpilzen gehört, auch nicht einen Faden gesehen, wie schon aus seiner Aeusserung p. 57 hervorgeht[1]; er konnte daher auch keine Beschreibung dieser Pflanze geben, während er sonst alle Beggiatoen, die er gesehen, mehr oder weniger characterisirte. Wenn er auf p. 101 den Leser glauben machen will, dass die auf Taf. IV Fig. 11 abgebildeten Zustände von *Rhabdochromatium*, die von ihm als „Abnormitäten" bezeichnet werden, „höchstwahrscheinlich" meine *Beggiatoa roseo-persicina* darstellen, so kann ich nur versichern, dass diese sonderbaren Bildungen absolut nichts mit den von mir abgebildeten Fäden dieses Spaltpilzes zu thun haben. Da nun W. meine *B. roseo-persicina* nicht zu Gesicht bekommen hat, so konnte er natürlich auch betreffs des regressiven Entwickelungsganges derselben gar kein Urtheil haben.

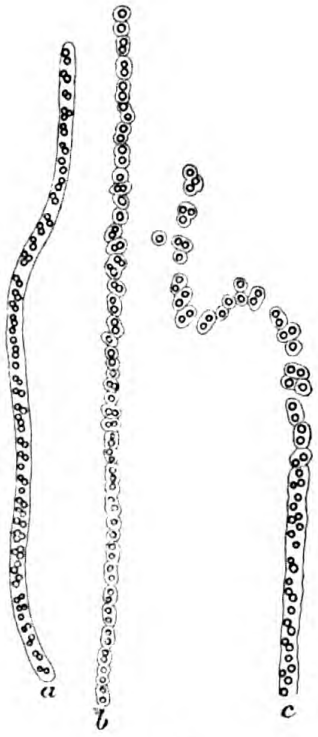


Fig. 2.

Damit der Leser sogleich sieht, dass ich bei dieser Species ganz ähnliche Entwickelungsstadien beobachtet habe wie bei dem eingangs dieser Mittheilung behandelten Object setze ich eine Copie der betreffenden Zeichnungen meiner Abhandlung hierher.

Aber auch die von mir untersuchten weissen Beggiatoen hat Winogradski nur zum Theil vor sich gehabt. Ganz entschieden behaupte ich dies für die in Fig. 16, 17 und 18 meiner Tafel IV abgebildeten Formen, deren Gliederung bei der Behandlung mit sehr verdünnter Fuchsinlösung eine so prägnante und so weitgehende ist, dass sie kein Mensch bei diesen Objecten übersehen kann. Da W. sagt, dass er dergleichen Gliederungen nie gesehen hat, so drückt er damit selbst aus, dass ihm diese meine allerdings seltenen Objekte überhaupt nicht zu Gesicht gekommen sind. Warum W. bei den von ihm untersuchten weissen Beggiatoen die Gliederung in Coccenartige Zellchen nicht gefunden hat, kann ich nicht beurtheilen, da ich seine Objecte nicht gesehen habe. Es giebt aber wohl nur drei Möglichkeiten einer Erklärung: entweder hat W. Species vor sich gehabt, die ihren Entwickelungsgang thatsächlich nicht mit Coccenbildung abschliessen; oder aber er vermochte diese Bildung nicht zu erzielen vermöge seines — wie im

1) W. bezweifelt hier förmlich, dass *B. roseo-persicina* Fäden bildet!!

Folgenden gezeigt werden soll — höchst einseitigen Kulturverfahrens; oder endlich er hat sie ganz übersehen.

Was die Behauptung W.'s anbetrifft, dass mir besonders schwefelreiche Fäden Coccenbildung vorgetäuscht hatten, so muss ich sie entschieden zurückweisen mit dem Bemerken, dass das, was ich sowohl für die vorliegende als für die früher untersuchten Beggiatoen als „Coccen", d. i. als kurze rundliche Zellchen bezeichnet habe, nicht Schwefelkörner waren, sondern wirkliche Zellen mit Membran und Inhalt, und dass man diese ihre Zellnatur durch die Plasmolyse nachzuweisen im Stande ist.

Da sich hieran eine Beobachtung anschliesst, die ich an vorliegender Beggiatoa gemacht habe, so will ich dieselbe noch besonders anführen. Die Coccenhäufchen, die zunächst wie die ursprünglichen Fäden an den oben erwähnten, in der Kultur befindlichen Pflanzentheilchen ansassen, resp. diese bedeckten, waren nach Verlauf von etlichen Wochen nicht mehr an dieser Stelle zu finden, sondern sämmtlich nach der belichteten Seite des Kulturgefässes hingewandert, diese mit einem intensiv pfirsichrothen Ueberzuge bedeckend. Schwefelkörner sind hierzu nicht befähigt, es muss sich um wirkliche und zwar schwärmfähig gewordene Zellen handeln.[1]

Da der regressive Entwickelungsgang der hier behandelten Beggiatoa vom Fadenzustande zu rundlichen kleinen Zellchen (Coccenzustand) führt, so muss es natürlich auch einen progressiven Entwickelungsgang geben, der von dem Coccenzustande ausgehend mit der Fadenbildung endigt.

Ich habe mich daher bemüht, auch diesen Abschnitt der Entwickelung der rothen Beggiatoa zu erhalten. Zu diesem Zwecke stellte ich Culturen der Coccen mit verschiedenen schwefelwasserstoffhaltigen Flüssigkeiten mit oder ohne Zusatz des von W. empfohlenen Schwefeleisens an: mit schwefelwasserstoffhaltigem Leitungswasser, mit Sumpfwasser, mit Nährlösungen sowie mit Aufgüssen von Pflanzentheilen, welche durch Spaltpilzentwickelung Schwefelwasserstoffgehalt angenommen hatten. Dabei wurde darauf gesehen, dass der Letztere in den künstlichen Lösungen bald sehr gering, bald stark, bald mittelstark war.

Es gelang nun zwar, die Zellchen in einigen dieser Nährmedien zu Vermehrung zu bringen, aber niemals wurde ein Auswachsen zu Fäden constatirt. Ich bin also nicht im Stande gewesen, die Kulturbedingungen so einzurichten, dass das Auswachsen der Zellchen zu Fäden eintreten konnte: Es scheint ausserordentlich schwierig zu sein, die chemischen und insbesondere die physikalischen Bedingungen hierfür zu treffen.

Bei gewissen fädigen Spaltalgen, wo der regressive Entwickelungsgang ebenfalls zur Coccenbildung führt, wie z. B. bei meiner

---

1) Die Lichtbedürftigkeit ähnlicher rother und Schwefel führender Zellen hat bekanntlich Engelmann ausführlich dargethan.

Tolypothrix amphibica, sind die Schwierigkeiten der Erzielung von Fäden aus dem Coccenzustande ganz die nämlichen.

Selbst bei den Pilzen treffen wir ähnliche Verhältnisse. Es ist bekanntlich ziemlich leicht, von den Schlauchsporen gewisser Ascomyceten ausgehend Conidienfructificationen zu erhalten, während es dem Züchter bisher nicht gelungen ist, aus den Conidien derselben Pilze Schlauchfrüchte zu erzielen, was die Natur spielend zustande bringt.

Die von mir als Product der regressiven Entwickelung erhaltenen Coccen-Aggregate sind nun offenbar das morphologische Homologon derjenigen Bildungen, welche Winogradski als „rothe Schwefelbacterien" beschrieb.

Auch W. machte den Versuch, diese Aggregate mit Hülfe von schwefelwasserstoffhaltigen Nährmedien zu fädigen Formen zu erziehen, aber gleichfalls mit völlig negativem Resultate.

W. hätte aus diesen Ergebnissen ruhig den Schluss ziehen sollen, dass seine Methode der Kultur zur Erreichung des gedachten Zweckes unzureichend sei. Statt dessen folgert er etwa so: Da ich bei meinen Versuchen die kleinen rothen Zellchen zu züchten immer nur wieder die gleichen Bildungen erhalten habe, so ist daraus zu schliessen, dass sie nicht in den Entwickelungsgang von fädigen Beggiatoen gehören können, mithin ist die Behauptung Zopf's, der regressive Entwickelungsgang der rothen Beggiatoen führe zu Coccenartigen Bildungen, vollständig aus der Luft gegriffen.

Die rothen Zellchen werden daher von W. als durchaus selbstständige Organismen aufgefasst und in Consequenz dieser Auffassung als zahlreiche besondere Species in besonderen Gattungen aufgeführt.

Warum ist denn nun aber die Winogradski'sche Züchtungsweise unzureichend für die Lösung der obigen Frage? Die Antwort ergiebt sich, wie ich glaube, aus W.'s eigenen Worten: Er sagt p. 59 wörtlich: „Nur die lückenlose Verfolgung der Entwickelungsvorgänge in mikroscopischen Kulturen kann hier Licht in diese verwickelten Verhältnisse bringen. Ich habe mir demnach zur Aufgabe gemacht, einige Formen möglichst lange in mikroscopischen Kulturen unter meinen Augen wachsen zu lassen und nur die direct beobachteten Entwickelungsvorgänge als für eine bestimmte Form characteristisch anzunehmen. Einer sauberen, langen Beobachtung von Einzelformen in mikroscopischen Kulturen scheinen von Anfang an unüberwindliche Schwierigkeiten im Wege zu stehen, da fast immer ein sehr gemischtes Material zu Gebote steht und die Isolirung von Einzelformen Sache der Unmöglichkeit ist. Eine solche Isolirung ist hier auch aber ganz unnöthig. Es genügt vollkommen, wenn es gelingt, sich ein weniger gemischtes Material zu verschaffen. Richtet man sich, wie schon oben beschrieben, eine mikroscopische Kultur ein, so ist es vor allem Hauptsache, sich genau in derselben orientiren zu können, was man am besten durch Herstellung eines Diagrammes oder Planes erreicht. Dann wählt man sich eine Anzahl von Exemplaren oder Gruppen, welche besonders günstig, d. h. frei liegen zur continuirlichen Beobachtung. Da diese Organismen

verhältnissmässig sehr langsam wachsen, auch keine störenden Verunreinigungen der Kultur durch fremde Organismen stattfinden, so kann die Beobachtung von eingestellten Exemplaren und deren Nachkommenschaft, wenn nöthig, ungehindert Monate lang fortdauern. Hat man einmal den ganzen Entwickelungskreis an einem und demselben Individuum von Anfang bis zu Ende verfolgt, so hat man ein sicheres Kriterium, um andere mehr fragmentarische Beobachtungen zu beurtheilen; sie lassen sich dann gut einreihen, und die Konstanz des beobachteten Entwickelungsganges für eine bestimmte Form lässt sich überall leicht an Hunderten von Exemplaren constatiren. Sieht man weiter diese Formen neben einander, unter vollkommen gleichen Bedingungen, immer den gleichen Entwickelungskreis durchmachen, so kann kein Zweifel mehr über ihre Selbständigkeit bestehen." Soweit Winogradski.

W. meint also, dass nur die lückenlose Verfolgung des Entwickelungsvorganges in mikroscopischen Kulturen betreffs jener Frage zum Ziele führe. Ich bezweifele dies ganz entschieden. Die Kultur unter dem Deckglas ist für manche die rothen Zellchen betreffenden Einzelfragen gewiss von Nutzen — das hat W. selbst gezeigt — aber sie ist sehr einseitig. Man ist hierbei offenbar auch nicht entfernt im Stande, die physikalischen wie die chemischen Bedingungen nachzuahmen, wie sie diese Organismen draussen im Freien in fliessenden Gewässern oder in Tümpeln vorfinden und wie sie zu einer Erzielung von Fadenbildungen aus den Coccenartigen Bildungen nöthig sind.

Es fällt desshalb für mich auch gar nicht ins Gewicht, dass für W. „die Isolirung der Einzelformen Sache der Unmöglichkeit" war, denn ich bin überzeugt, dass, selbst wenn er als Ausgangspunkt seiner Beobachtungen das Einzelindividuum gewählt hätte, mit anderen Worten die Reinkultur, seine Ergebnisse dieselben negativen gewesen wären, wie er sie bei seinen Mischkulturen erhalten hat.

Das Ergebniss Winogradski's ist also kein positives gewesen, wie er meint, sondern ein völlig negatives.

Ich hoffe bestimmt, dass wenn die schon von Cohn, Lankaster, Warming, mir und W. in Wort und Bild dargestellten rothen Schwefel führenden Zellchen erst einmal wirklich isolirt, und dann zu Massenreinkulturen in passenden Nährflüssigkeiten und mit möglichster Nachahmung der natürlichen physikalischen Bedingungen verwandt werden, es auch gelingen wird, die eine oder die andere Form, vielleicht auch alle, zur Fadenbildung zu bringen. Diese meine Hoffnung basirt auf den eingangs dargelegten entwickelungsgeschichtlichen Beobachtungen.

Zum Schluss möchte ich noch eine höchst interessante Beobachtung mittheilen, die ich vor mehreren Jahren, gelegentlich eines Aufenthaltes in einem Ostseebade (Niendorf) an einer rothen Brakwasser-Beggiatoa gemacht habe. Sie bildete etwas dickere und dabei erheblich intensiver roth gefärbte Fäden, als das oben behandelte Object,

zeigte auch grössere Schwefelkörner, war im übrigen ebenfalls scheidenlos und nur undeutlich gegliedert.

Ich war im Begriff einen solchen Faden mit Hülfe der Camera zu zeichnen und hatte eben den Contour desselben sowie die Schwefelkörnchen scizzirt, als der ganze Faden plötzlich einknickte und sich in cylindrische Zellen auflöste, welche sofort hinwegschwärmten. Sie erschienen ziemlich gestreckt, etwa 4 mal so lang als dick, und äusserst lebhaft beweglich. Es befanden sich noch andere Fäden von genau derselben Beschaffenheit im Präparat, aber sie waren auch nach öfterer Erneuerung des Brakwassers nicht zu bewegen, sich in solche Schwärmzustände aufzulösen. Meine Bemühungen, dieses merkwürdige Object für weitere Studien wieder zu erlangen, waren damals wie auch später vergeblich. Vielleicht gelingt es einem Besucher der biologischen Stationen dasselbe wieder aufzufinden und das Schicksal jener Schwärmer weiter zu verfolgen.

Bisher ist meines Wissens ein Zerfall von Beggiatoenfäden in cylindrische Schwärmer noch von Niemand direct beobachtet worden.

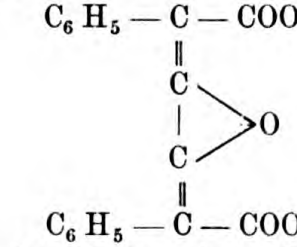
Zur Kenntniss der Stoffwechselproducte der Flechten.

Von **W. Zopf.**

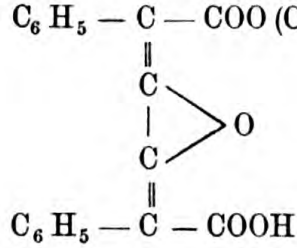
Es kömmt mir zunächst darauf an, eine Darlegung der bisher unbekannten Thatsache zu geben, dass seitens der Lichenen vielfach Substanzen producirt werden, welche in gewissen Verwandtschaftsverhältnissen stehen zur Pulvinsäure. Ausserdem möchte ich die Aufmerksamkeit auf ein paar neue schön krystallisirende und prächtig gefärbte Substanzen lenken, welche aus intensiv gelb oder roth gefärbten Flechten isolirt wurden. Betreffs der rein chemischen Seite habe ich grossentheils bereits an anderer Stelle[1] Mittheilungen gemacht; hier soll auch das botanische Moment zur Berücksichtigung kommen.

I. Vorkommen und Verbreitung von Pulvinsäure-Derivaten bei Flechten.

Die durch Spiegel[2] und Volhard[3] genauer untersuchte, von Letzterem bekanntlich auf synthetischem Wege dargestellte Pulvinsäure hat nach Volhard folgende Konstitution:



Denkt man sich das H der einen Carboxylgruppe ersetzt durch Methyl CH_3, so erhält man die sogenannte Vulpinsäure, welche also nichts anderes ist, als der Methylester der Pulvinsäure:

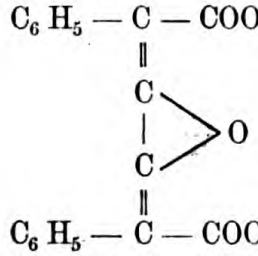


1) Zur Kenntniss der Flechtenstoffe. Annalen der Chemie Bd. 284. 1894.

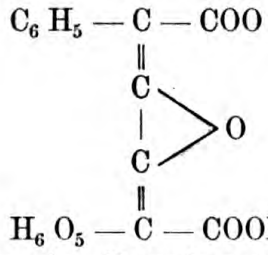
2) Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft **13,** 1629. 2041. 2219; **14,** 1686.

3) Synthese und Constitution der Vulpinsäure. Annalen der Chemie Bd. 284. (1894) und Abhandlungen der naturf. Gesellschaft zu Halle Bd. XVII Heft 3 (1892).

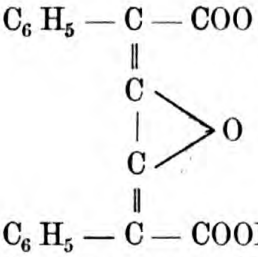
Tritt anstatt der Methylgruppe die Aethylgruppe $C_2 H_5$ an jener Stelle ein, so entsteht der durch Spiegel und Volhard bekannte Aethylester der Pulvinsäure:



Ferner hat H. Schenck[1] durch Einführung der Propylgruppe die Propylpulvinsäure:



sowie durch Einführung der Benzylgruppe die Benzyl-Pulvinsäure erhalten:



Alle diese Ester besitzen saure Eigenschaften und sind sämmtlich gelb gefärbt.

Von ihnen war bisher nur ein einziger als Flechtenstoff bekannt, nämlich die Methylpulvinsäure (Vulpinsäure), die übrigens mit Sicherheit nur in der *Evernia vulpina* nachgewiesen wurde. Alle übrigen hat man seither bloss auf synthetischem Wege gewonnen.

Indem ich nun in den letzten Jahren eine grössere Anzahl von gelben Flechten auf den Gehalt an gelben krystallisirenden Verbindungen untersuchte, habe ich das Glück gehabt, einen dieser, wie gesagt in der Natur noch niemals beobachteten Ester in gewissen Krustenflechten aufzufinden, nämlich die Aethylpulvinsäure.

Ferner wurde aus mehreren Lichenen ein unzweifelhaftes Pulvinsäurederivat isolirt, welches bisher überhaupt noch nicht bekannt war und vielleicht als eine Resorcinverbindung der Aethylpulvinsäure aufzufassen ist. Ich bezeichnete dasselbe als „Rhizocarpsäure". Sodann

1) Ueber Pulvinaminsäuren und über Pulvinsäureester. **Annalen** der Chemie Bd. 284. 1894 und Dissertation Halle 1894.

konnte die Methylpulvinsäure in mehreren Flechten nachgewiesen werden.

Endlich habe ich eine grössere Verbreitung des bisher als sehr selten geltenden Calycins innerhalb der Flechtengruppe gefunden, eines Körpers, der nach O. Hesse ebenfalls in die Verwandtschaft der Pulvinsäure gehört und speciell zur Vulpinsäure in näherer Beziehung zu stehen scheint.

Im Folgenden sollen diese Angaben näher begründet werden.

1. Der Aethylester der Pulvinsäure.

(Callopisminsäure Zopf.)

Ich habe die gelbe Aethylpulvinsäure bisher in zwei Vertretern der Krustenflechten, speciell der Familie der Lecanoreen aufgefunden und zwar in *Physcia medians* Nylander, einer seltenen gelben Kalkflechte, welche ich durch Herrn Dr. Arnold aus der Umgegend von Treuchtlingen im fränkischen Jura in grösserer Menge erhielt, sowie auch in dem auf Steinen und Holz überall gemeinen citronengelben *Callopisma vitellinum* (Ehrh.) (*Candelaria vitellina* Mass.), das ich in ansehnlicher Quantität selbst sammelte, theils an Porphyr bei Halle, theils an Sandstein bei Oberthal im nördlichen Schwarzwald, theils an Holzplanken bei Hüttenrode im Harz.

Zur Gewinnung des Körpers erschöpfte ich die Flechten jede für sich mit Chloroform. Nachdem das Lösungsmittel bis auf einen geringen Rest abdestillirt war, liess ich auskrystallisiren und saugte hierauf die von harzartigen Theilen und Chlorophyll sehr dunkel gefärbte Mutterlauge an der Wasserluftpumpe ab. Auf dem Filter verblieb eine gelbe aber mit deutlichem Stich ins Rothe versehene Krystallmasse. Sie wurde aus 95 procentigem Alcohol umkrystallisirt. Beim Erkalten und längeren Stehen schied sich zunächst ein rothes Krystallpulver ab, das in einem der folgenden Abschnitte erwähnte Calycin. Was in Lösung blieb war im Wesentlichen Aethylpulvinsäure. Nach dem Einengen der Lösung krystallisirte dieselbe in citronengelben polygonalen glasglänzenden Platten aus. Durch wiederholtes Umkrystallisiren aus kochendem Alcohol gereinigt schmolz sie glatt bei 127—128°. Ein von Dr. Schenck im Volhard'schen Laboratorium dargestelltes Präparat der Säure zeigte denselben Schmelzpunkt. Die von Spiegel dargestellte Aethylpulvinsäure (Ausgangsmaterial natürliche Vulpinsäure) schmolz ebenfalls bei dieser Temperatur, die von Volhard aus der synthetischen Pulvinsäure gewonnene nach einmaligem Umkrystallisiren bei 125—127°.

Beim Vergleich mit einem Volhard'schen Präparat ergab sich ferner völlige Uebereinstimmung in Bezug auf Form, Farbe und Löslichkeitsverhältnisse der Krystalle (leicht löslich in Chloroform und Benzol, schwer in Alcohol und Aether, mässig leicht in Eisessig).

Schon hiernach war grösste Wahrscheinlichkeit vorhanden, dass der von mir aus jenen Flechten gewonnene Stoff mit Aethylpulvinsäure identisch sei.

Völlige Gewissheit hierüber gab der Umstand, dass man durch Kochen des Körpers mit Essigsäureanhydrit am Rückflusskühler (etwa $^3/_4$ Stunden lang) ein Acetylproduct erhält, welches nach wiederholtem Umkrystallisiren aus Alcohol absolutus eine rein weisse seidenglänzende, aus feinen langen Prismen und Nadeln bestehende Krystallmasse darstellt, die bei 143—144° schmilzt. Genau dieselbe Beschaffenheit und den nämlichen Schmelzpunkt wies nämlich auch die Acetylverbindung auf, die ich mir wie oben aus einer von Herrn Prof. Volhard erhaltenen Probe der Aethylpulvinsäure darstellte.

Somit kann es als sicher gelten, dass die bisher nur als künstliches Product bekannte Aethylpulvinsäure auch auf natürlichem Wege gebildet wird.

Uebrigens stellt der citronengelbe Körper, den ich schon früher aus *Callopisma vitellinum* gewann und als Callopisminsäure beschrieb, nichts anderes dar, als eben Aethylpulvinsäure, wovon ich damals noch keine Ahnung hatte.[1]

Die Aethylpulvinsäure ist in den genannten beiden Flechten nicht eben reichlich vorhanden. Aus 100 g der holzbewohnenden Form des *Callopisma vitellinum* z. B. erhielt ich 0,54 g, also etwa $^1/_2$ Prozent (in Wirklichkeit ist der Gehalt etwas höher, da beim Abschaben der Krusten unvermeidlich die wenn auch sehr dünne Humusschicht mit abgelöst wird). *Physcia medians* dürfte nach Schätzung kaum mehr enthalten; eine genaue quantitative Bestimmung wurde nicht ausgeführt.

Die Aethylpulvinsäure hat wie andere Flechtensäuren den Werth eines zur Ausscheidung kommenden Stoffwechselproducts, und zwar wird sie sowohl seitens des Thallus als auch der Früchtchen (Apothecien) abgeschieden.

An feinen Querschnitten durch den Thallus von *Physcia medians* wie auch von *Callopisma vitellinum* überzeugt man sich leicht, dass die Rindenschicht an ihrer Aussenseite bedeckt ist mit einer Kruste feinster Kryställchen, die im Polarisationsmikroscop bei gekreuzten Nikols mit intensiv goldgelber Farbe leuchten. Diese Krystallschicht repräsentirt die Stätte, wo sowohl die gelbe Aethylpulvinsäure abgelagert ist, als auch das in geringer Menge vorhandene Calycin, dessen Kryställchen ebenfalls gelb erscheinen, während sie in Masse und bei makroscopischer Betrachtung roth aussehen. In der Markschicht der beiden Flechten wird weder Aethylpulvinsäure noch Calycin ausgeschieden, wie man schon aus dem Mangel einer Gelbfärbung ersieht.

Aber auch seitens der Früchtchen beider Flechten wird Aethylpulvinsäure im Verein mit Calycin producirt. So kömmt die Krystallschicht zustande, mit der man sowohl die Schlauchschicht als auch die thallodische Fruchthülle auf Vertikalschnitten bedeckt sieht. Die Aethylpulvinsäure lässt sich durch 95 procentigen Alcohol ausziehen, das hierin sehr viel schwerer lösliche Calycin bleibt zurück und kann mittelst der

1) Vergl. Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen Heft I p. 49. In Folge eines Versehens ist dort der Schmelzpunkt um ca. 100 Grad zu hoch angegeben, in den verschickten Separata wurde der Fehler z. Th. verbessert

weiter unten angegebenen „Calycinreaction“ nachgewiesen werden. Da die Aethylpulvinsäure mit Alkalien, Säuren oder sonstigen Reagentien keine besondere Farbenreactionen giebt, so lässt sie auch nicht unmittelbar in jener Krystallschicht als Begleiter des Calycin erkennen.

Das gleichzeitige Vorkommen beider Stoffe dürfte wohl auf einen genetischen Zusammenhang hinweisen.

2. Rhizocarpsäure.

Der krustige Thallus des auf allerlei Gestein so häufigen *Rhizocarpon geographicum* (L.), einer Lecidee, ist bekanntlich ausgezeichnet durch gelbes oder grünes Colorit. In der Hügel- und Bergregion herrschen mehr gelbgrüne oder grüne Töne vor, im Hochgebirge dagegen mehr schwefel- bis citronengelbe. Ausserordentlich intensiv gelb — leuchtend citronengelb — erscheint die Flechte in der hochalpinen Region der Alpen, in Höhen von etwa 2200 m an, was ich selbst an den nördlichen Gneisswänden des Wirth bei St. Christoph am Arlberg in Tirol sowie im oberen Malfon- und Rendelthale beobachtet habe.

Im Riesengebirge, wo das *Rhizocarpon*, wie auch vielfach in den Alpen und den scandinavischen Gebirgen, ganze grosse Felswände schwefel- bis citronengelb färbt (z. B. zwischen grossem und kleinem Teich) wird dasselbe nach Stein[1] als „Schwefelmoos“ bezeichnet.

Auch von dieser Lichene kennt man die Färbungsursachen noch nicht. Zu ihrer Ermittelung sammelte ich die Flechte in grösseren Mengen zunächst an Quarzgängen der Sandsteinfelsen des Regensteins am Harz. Es handelte sich dabei um die forma *lecanorina* Flörcke, welche ausgezeichnet ist dadurch, dass die schwarzen Früchtchen von stark geschwollenen Thallusschüppchen umgeben sind, wodurch sie etwa entfernt an eine *Lecanora* erinnern. Die Thalli zeigten gelbgrüne Färbung. Da sie sich nicht ablösen liessen, so nahm ich die ganzen Quarzplatten mit, im Ganzen 15 Kilo.

Aus diesem Material habe ich nun eine neue, schön citronengelbe und prächtig krystallisirende Säure isolirt, die ich als „Rhizocarpsäure“ bezeichnen will.

Die die Thalli tragenden Quarzplatten wurden in hohen Porzellangefässen über einander geschichtet und wiederholt mit Chloroform extrahirt, bis alles Gefärbte daraus entfernt war. Das Lösungsmittel wurde von den vereinigten Auszügen abdestillirt und der Rückstand wiederholt aus kochendem Alcohol absolutus umkrystallisirt, um Chlorophyll, harzartige Stoffe und zwei weisse krystallisirende Körper hinwegzuschaffen, die als schwer löslich in Alcohol, zuerst ausfallen.

Es resultirte eine Masse von citronengelben, glänzenden, mehrere Millim. langen Prismen, welche unter dem Mikroscop durchaus einheitlich aussahen und bei 177—179° glatt schmolzen. Aus Aether sehr langsam umkrystallisirt, erreichten sie eine Länge von 2—3 cm!

1) Kryptogamenflora von Schlesien. Bd. II, zweite Hälfte Flechten p. 228.

Herr Prof. O. Luedecke, dem ich kleinere gut ausgebildete Krystalle (aus Alcohol erhalten) zur Untersuchung vorlegte, theilte mir Folgendes mit: „Die gelben Krystalle zeigen die rohmbische Kombination eines Prismas mit einem Pinakoïd aus der Zone des ersteren und einer Pyramide. Im parallelen polarisirten Licht löschen sie gerade aus (parallel der Zonen-Achse des Prismas)".

Die Substanz ist sehr schwer löslich in kaltem Alcohol, leichter in kochendem, schwer in Aether und Eisessig, besser in Benzol, reichlich in Chloroform und Schwefelkohlenstoff. In Aetzalkalien und kohlensauren Alkalien löst sie sich mit gelber Farbe, in Letzterer bei gewöhnlicher Temperatur sehr schwer. Aus der Lösung in Natriumkarbonat ist sie durch Salzsäure und auch schon durch Essigsäure fällbar, nicht aber durch Kohlensäure. Concentrirte Schwefelsäure wie Salpetersäure lösen mit gelber Farbe, letztere in der Kälte schwer.

Indem ich etwa 0,2 g der Rhizocarpsäure mit Essigsäureanhydrid am Rückflusskühler ca. $1^1/_2$ Stunde lang kochte, erhielt ich einen Körper, der nach Krystallform, Farbe, Schmelzpunkt (128°) und Löslichkeitsverhältnissen mit Aethyl-Pulvinsäure übereinstimmte.

Als ich nun diese wiederum mit Essigsäureanhydrid wie oben angegeben behandelte, bekam ich dann auch die Acetyl-Aethylpulvinsäure (weisse seidenglänzende Nadeln vom Schmelzpunkt 143—144°).

Die Ueberführung der Rhizocarpsäure in Aethylpulvinsäure gelingt aber nur dann, wenn man wenig Essigsäureanhydrid verwendet; nimmt man mehr hiervon, so entsteht, wie Herr Dr. Henke fand, Pulvinsäureanhydrid (Schmelzpunkt 222 bis 223°) und ein weisser bei 88° schmelzender Körper. Indem ich den letzteren Versuch wiederholte, habe ich diese beiden Spaltungsproducte ebenfalls erhalten.

Aus diesen Ergebnissen folgt, dass die Rhizocarpsäure ein Pulvinsäurederivat darstellt.

Die Analyse ergab die Formel $C_{13}H_{10}O_3$.

0,1204 g geben 0,3205 CO_2, entsprechend 0,0874 C und 0,0540 H_2O, entsprechend 0,006012 H.

Berechnet für $C_{13}H_{10}O_3$	Gefunden
C = 72,88	72,59
H = 4,68	4,99

Die Rhizocarpsäure könnte hiernach eine Resorcinverbindung der Aethylpulvinsäure, $C_{20}H_{16}O_5$ sein. Nimmt man nämlich die Formel der ersteren zu $C_{26}H_{20}O_6$ an, so wäre die Differenz zwischen ihr und der Aethylpulvinsäure C_6H_4O. Durch Eintritt des Resorcinrestes C_6H_5O in die Aethylpulvinsäure würde also die Rhizocarpsäure sehr wohl entstehen können.

Ausser der lecanorinischen Varietät des *Rhizocarpon geographicum* wurde noch die gewöhnliche Form untersucht. Ich sammelte sie an Gneissblöcken der Rosannaschlucht bei St. Anton am Arlberg (1300 m).

Sie zeigte mehr gelbe, blass-citronengelbe oder schwefelgelbe Färbung. Durch mühsames Abschaben der Blöcke an Regentagen oder in den Thaustunden wurde die relativ ansehnliche Menge von 140 g (lufttrocken) gewonnen. Hieraus erhielt ich, in obiger Weise, 1,2 g Rhizocarpsäure, also ca. 1 Procent.

Die Färbung der mehr gelben Varietäten der Flechte beruht, wie es scheint, ausschliesslich auf Gegenwart der Rhizocarpsäure. Der mehr grünliche Ton der lecanorinischen und anderer Formen ist zurückzuführen auf die Bildung eines grünlichen Harzes, das man bei der Extraction der Flechte mit Chloroform reichlich mit erhält. Die so höchst intensiv citronengelbe hochalpine Form dürfte einen entsprechend reicheren Gehalt an Rhizocarpsäure aufweisen.

Den nämlichen Körper konnte ich aus einer zweiten Lecideacee isoliren, nämlich aus *Arthrorhaphis flavovirescens* (Borr.) Th. Fr. *(Raphiospora flavovirescens* [Borr.] Mass.), einer mit unscheinbarem, ebenfalls gelbgrün bis citronengelb gefärbten, körnigen oder staubigen Thallus versehenen Flechte, die sich auf humosem oder auch sandigem Boden am liebsten über verrotteten Moosen sowie auch auf anderen Flechten ansiedelt. Einen Theil der Materialien erhielt ich von Herrn Dr. Arnold aus der Gegend von München, die Hauptmenge sammelten wir gemeinschaftlich an Gneissblöcken im unteren Fervallthale bei St. Anton am Arlberg. Da die übrigens sehr intensiv gelbgrüne Flechte reichlich fructificirte, war eine leicht mögliche Verwechselung mit der im Thallus sehr ähnlichen *Coniocybe furfuracea* ausgeschlossen.

Zur Extraction verwendet man bei diesem Object am besten Aether, vereinigt die Auszüge und destillirt das Lösungsmittel bis auf einen sehr geringen Rest ab. Hierbei krystallisirt ein gelber Körper reichlich aus, während Chlorophyll und Harz in der sehr dunklen Mutterlauge bleibt. Nach Absaugen des Letzteren an der Wasserluftpumpe wurde der gelbe Stoff mit etwas Aether ausgewaschen, bis er rein citronengelb erschien. Unter dem Mikroscop gewahrte man indessen noch geringe Beimengungen eines weissen krystallisirenden Körpers. Um Letzteren zu entfernen und gleichzeitig noch anhängende Chlorophyll- und Harztheile zu beseitigen, wurde aus kochendem 95proc. Alcohol umkrystallisirt.

Die so gewonnene glänzend citronengelbe Masse schmolz glatt bei 177—178. Hierin sowie in der Krystallform, Löslichkeit, Farbe stimmte sie mit Rhizocarpsäure überein. Da ich ferner bei $1^1/_2$ stündigem Kochen von etwa 0,1 g der Säure mit viel Essigsäureanhydrid am Rückflusskühler Pulvinsäureanhydrit vom Schmelzpunkt 222 bis 223° sowie auch den oben genannten weissen Körper (Schmp. 88°) erhielt, so kann an der Identität mit Rhizocarpsäure kein Zweifel obwalten.

Die vorstehende Flechte ist entschieden reicher an Rhizocarpsäure als die von mir untersuchte Rhizocarpon-Form. Denn während ich um 1,2 g zu gewinnen 140 g *Rhizocarpon* brauchte, erhielt ich die gleiche Menge aus einer bedeutend geringeren *Arthrorhaphis*-Quantität.

Eine genaue quantitative Bestimmung war nicht möglich, weil sich die staubigen Thalli nicht von dem Substrat ablösen lassen.[1]

Indem ich wie bei Rhizocarpon verfuhr, habe ich noch aus einer dritten gelben Lecideacee, nämlich *Biatora lucida* (Ach.) — von Sandstein durch Dr. Arnold gesammelt — einen gelben Körper gewonnen, der in Bezug auf Schmelzpunkt (177—178°), Krystallform, Farbe und Löslichkeitsverhältnisse ebenfalls durchaus mit Rhizocarpsäure übereinstimmte. Von dem Versuche seiner Ueberführung in Aethylpulvinsäure oder in Pulvinsäureanhydrit musste ich aus Mangel an Material Abstand nehmen.

Im Laufe der weiteren Untersuchung glückte es mir, die Rhizocarpsäure auch noch in einem Vertreter der Lecanoreen aufzufinden, nämlich in *Pleopsidium chlorophanum* (Wahlbg.) Körber *(Acarospora chlorophana* Mass., *Lecanora flava β-chlorophana* Schaerer). Thallus und Früchtchen dieser an Urgestein wachsenden Flechte sind ausgezeichnet durch eine meist intensiv citronengelbe, bisweilen auch mehr ins Gelbgrüne gehende Färbung. In den Alpen ist die Flechte nicht selten, nur muss man, um sie in Menge zu erlangen, ziemlich hoch hinauf. An glatten Felswänden der scandinavischen Gebirge siedelt sie sich nach Th. Fries bisweilen so reichlich an, dass diese schon von weitem durch ihre gelbe Färbung auffallen.

Grössere Mengen erhielt ich durch die freundlichen Bemühungen des Herrn Dr. Arnold, der sie an der Jamthalhütte bei Galtür in Tirol sammelte. Später lernte ich unter seiner Führung Standorte der Flechte im oberen Malfonthal, im Rendelthal und an den Albonseen bei St. Anton kennen (in Höhen von etwa 2200) und nahm mir die Flechte von diesen Lokalitäten zu nochmaliger Untersuchung reichlich mit.

---

1) *Coniocybe furfuracea*, eine winzige Calyciee, ist in der gelbgrünen Färbung ihres ebenfalls staubigen, leprösen Thallus der *Raphiospora flavovirescens* ausserordentlich ähnlich, sodass man beide nur im fructificativen Zustande sicher unterscheiden kann. Es war daher ebenfalls Rhizocarpsäure-Bildung zu vermuthen. Meine diesbezüglichen Untersuchungen, welche an fructificirendem und daher sicher bestimmbaren, bei Krummhübel im Riesengebirge an Steinen einer Mauer und auf Erde gesammeltem Material gemacht wurden, haben indessen zu einem anderen Resultate geführt.

Allerdings erzeugt die Flechte auch einen prächtig gelben Körper, den man durch Extraction mit Chloroform erhalten und durch Umkrystallisiren aus Alcohol reinigen kann, aber derselbe krystallisirt nicht in den schönen Prismen der Rhizocarpsäure, sondern in citronengelben Nadeln, die in Masse seidenglänzend erscheinen. Ihr Schmelzpunkt lag bei 154—155°, also um ca. 20 Grad tiefer als der der Rhizocarpsäure, nach dem Erkalten krystallisirt sie sofort wieder in Nadelbüscheln aus. In Alcohol und Aether ist sie ziemlich schwer löslich, in Chloroform dagegen sehr leicht, in Toluol, Benzol, Schwefelkohlenstoff mässig leicht. Kaustische Alkalien lösen mit gelbgrüner Farbe, kohlensaure selbst in der Wärme sehr schwer. Aus allen diesen Lösungen wird die Substanz durch Salzsäure wie durch Essigsäure gefällt, ist also eine Säure. Conc. Schwefelsäure löst mit gelber Farbe. Da bisher keine Flechtensäure von obigem Schmelzpunkt bekannt zu sein scheint, so will ich sie als Coniocybsäure bezeichnen. Zu einer Analyse reichte die Substanz leider nicht aus. Ich werde versuchen die Flechte später in etwas grösserer Menge zu erhalten, was freilich schwierig ist.

Die Art der Darstellung und Reinigung war die nämliche wie die bei *Rhizocarpon geographicum* angegebene, nur habe ich zur Entfernung eines in farblosen Tafeln krystallisirenden Stoffes verdünntes kohlensaures Natron mit benutzt, in welchem die Rhizocarpsäure, im Gegensatz zu jenem Körper, in der Kälte ziemlich schwer löslich ist.

Der in *Pleopsidium* enthaltene gelbe Stoff stimmte mit Rhizocarpsäure nicht bloss nach Schmelzpunkt (177—178°), Krystallform, Farbe und Löslichkeitsverhältnissen überein, sondern auch in Bezug auf das durch Kochen mit wenig Essigsäureanhydrid erhaltene Product, das sich nach Schmelzpunkt (128°) und Beschaffenheit seiner Krystalle (citronengelbe Platten) als Aethyl-Pulvinsäure erwies und welches weiterhin durch Kochen mit Essigsäureanhydrid in Acetyl-Aethylpulvinsäure (weisse seidenglänzende Nadeln vom Schmelzpunkt 143—144°) übergeführt werden konnte.

Ich bin überzeugt, dass das Vorkommen des in Rede stehenden Körpers sich nicht auf jene Lecideaceen und diese Lecanoree beschränkt, vielmehr noch andere Krustenflechten von ähnlicher gelber Färbung sich als Rhizocarpsäure-Bildner erweisen werden. Speciell dürften *Catocarpus alpicolus* und *Rhizocarpon viridiatrum* hierher gehören, von denen ich leider nicht die nöthigen grösseren Materialien erlangen konnte.

Wie alle anderen Pulvinsäure-Derivate, so wird auch die Rhizocarpsäure von den Flechten zur Ausscheidung gebracht, und zwar an den peripherischen Theilen des Thallus, sowie der thallodischen Hülle und der Oberfläche der Schlauchschicht der Apothecien von *Pleopsidium,* niemals im Mark, das stets farblos erscheint. Die gelbe Färbung der Thallus- und Apothecien-Oberfläche beruht daher im Wesentlichen auf der Anwesenheit der Rhizocarpsäure. Wo wie bei *Raphiospora flavovirescens* der Thallus lepröse Form annimmt, da wird die Rhizocarpsäure an der Oberfläche aller die Algen umspinnenden Hyphen abgeschieden.

3. Methylpulvinsäure (Vulpinsäure Spiegels).

Das Interesse, welches sich seit den bekannten Untersuchungen Spiegels an die Vulpinsäure knüpft, ist in der Neuzeit noch dadurch erhöht worden, dass einerseits J. Volhard (l. c.) diesen Körper auf synthetischem Wege dargestellt hat, und andererseits R. Kobert's[1] Experimente an Warm- und Kaltblütlern die stark giftigen Wirkungen desselben dargethan haben.

Bisher war das Vorkommen dieses Giftstoffes mit Sicherheit nur für die Abtheilung der sogenannten Strauchflechten konstatirt worden, speciell für die *Evernia vulpina* (L.). Zwar gaben Stein[2] und

1) Ueber Giftstoffe der Flechten. Sitzungsber. der Dorpater Naturforscher-Gesellschaft 1892. p. 157—172.

2) W. Stein, Ueber einen neuen Pflanzenstoff der gelben Laubflechte. Journ. f. pract. Chemie. Bd. 91. 1864. p. 100.

Bolley[1] an, dass Vulpinsäure (Chrysopikrin Steins) auch seitens einer zur Gruppe der Laubflechten gehörigen Lichene, nämlich unserer gemeinen gelben Wandflechte, *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. producirt werde, allein aus den neuerlichen Untersuchungen von Kobert (l. c.) und Lilienthal[2] geht sicher das Irrige dieser Ansicht hervor, und ich selbst konnte weder in der steinbewohnenden noch in der rindenbewohnenden Form dieser Species jemals Vulpinsäure auch nur in Spuren nachweisen.

Indem ich nun eine grössere Anzahl von gelben Flechten auf gelbe krystallisirende Substanzen näher untersuchte, habe ich auch einige neue Vulpinsäurebildner darunter gefunden, nämlich:

1. Das gelbgrüne *Cyphelium chrysocephalum* (Turn.) (*Calycium chrysocephalum* Ach.), das ich in grösserer Quantität und reichlich fructificirend von Herrn Dr. Arnold erhielt (von Kiefernrinde bei Schleissheim unweit München).
2. Die gelbgrüne bis citronengelbe *Lepra chlorina* Ach. von Sandstein; nach Körber's Auffassung, die aber noch zu bestätigen ist, das sterile lepröse Stadium von *Calycium chlorinum* Körb., nach Nylander (Lich. scand. p. 172) der sterile Thallus von *Haematomma coccineum* (Dicks.) Körber. Ich untersuchte die Flechte in grösseren Mengen von mehreren Standorten: a) von Sandsteinblöcken bei Oberthal im nördlichen Schwarzwald b) von den Sandsteinfelsen der Teufelsmauer und des Regensteins bei Blankenburg am Harz c) von den Sandsteinfelsen des Königsteins in der sächsischen Schweiz.
3. Die gelbgrüne bis citronengelbe *Lepra chlorina* Stenh. von Glimmerschiefer resp. Gneiss. Wird von den Lichenologen zu *Calycium chlorinum Stenhammar* gezogen. Die Materialien stammten a) von Glimmerschiefer der Rosanna-Schlucht bei St. Anton am Arlberg, woselbst Herr Dr. Arnold und ich die Flechte sammelten, b) vom Gneiss der Nordseite des Wirth bei St. Christoph (2200 m).

Zur wiederholten Extraction jeder der Flechten bediente ich mich des besten Lösungsmittels für Vulpinsäure, des Chloroforms. Nachdem die Auszüge vereinigt waren, detsillirte ich das Lösungsmittel bis auf ein geringes Quantum ab und liess nun auskrystallisiren. Beim Absaugen der schwarzgrünen Mutterlauge an der Wasserluftpumpe verblieb auf dem Filter eine Krystallmasse, welche nach Auswaschen mit wenig Aether bereits goldgelb oder rothgelb aussah. Soweit es sich um die genannten Lepra-Arten handelt, ist derselben noch Calycin beigemengt, welches beim Kochen der Krystallmasse mit wenig Alcohol als ein feines rothes Pulver zurückbleibt. Um die letzten Calycinreste

---

1) Ueber die gelben Flechtenfarbstoffe aus Parmelia parietina und Cetraria vulpina. Journ. f. pract. Chemie. Bd. 93. 1864 p. 354.

2) Ein Beitrag zur Chemie des Farbstoffs der gemeinen Wandflechte (Physcia parietina Körb.). Diss. Dorpat 1893.

zu entfernen, kann man öfter wiederholtes Umkrystallisiren aus Alcohol anwenden, am geeignetsten aber erwies sich Auflösung des fein zerriebenen Krystallgemisches in einer zur Lösung nicht ganz ausreichenden Menge von verdünntem kohlensauren Natron, in welchem das Calycin unlöslich ist, während die Vulpinsäure in Lösung geht. Man filtrirt ab und behandelt den Rückstand nochmals mit kohlensaurem Natron, bis der letzte Rest des gelben Körpers in Lösung geht. Aus den vereinigten Filtraten fällte ich den gelben Körper durch Salzsäure aus, filtrirte ihn ab, wusch aus, trocknete und krystallisirte ihn aus Alcohol um.

Die so gereinigte Substanz zeigte jetzt rein gelbgrüne Farbe und schmolz glatt beim Schmelzpunkt der Vulpinsäure (147—149°). Für die aus *Cyph. chrysocephalum* gewonnene fand ich 147—148°, für die aus den *Lepra*-Arten erhaltene 148—149°. Eine Probe der synthetischen Vulpinsäure, die mir Herr Prof. Volhard freundlichst zur Verfügung stellte, schmolz ebenfalls bei 148—149° meines Thermometers. Spiegel giebt als Schmelzpunkt 148°, Volhard 146—148° an.

Auch in der Krystallform, sowie in den Löslichkeitsverhältnissen (schwer löslich in Alcohol und Aether, leicht in Benzol, sehr leicht in Chloroform wie in Schwefelkohlenstoff) stimmte meine Substanz aus jeder der 3 Flechten vollständig mit Vulpinsäure überein.

Die Identität mit diesem Ester wurde des Weiteren dadurch erwiesen, dass es gelang, die aus *Cyphelium* sowie die aus den *Lepren* gewonnene gelbe Substanz durch je etwa einstündiges Kochen mit Essigsäureanhydrid am Rückflusskühler in einen Körper umzuwandeln, der nach wiederholtem Umkrystallisiren aus kochendem Alkohol eine reinweisse Masse seidenglänzender Nadeln darstellte. Den Schmelzpunkt derselben fand in allen drei Fällen bei 155—156° liegend. Die auf dem nämlichen Wege von Volhard dargestellte aus synthetischer Vulpinsäure erhaltene Acetylverbindung, die ich zu vergleichen Gelegenheit hatte, sieht genau ebenso aus und hat nach V. ihren Schmelzpunkt gleichfalls bei 155—156°.

Es kann also kein Zweifel sein, dass ich aus den obigen drei Flechten die ächte Vulpinsäure gewonnen habe.

Nach Spiegel und Volhard „wird die Vulpinsäure durch Kochen mit Kalkmilch verseift, aus der so erhaltenen Lösung fällt auf Zusatz von überschüssiger Salzsäure Pulvinsäure heraus in Form von gelben Flocken, die beim Erwärmen ölig zusammenfliessen, um beim Kochen nach kurzer Zeit zu festen krystallinischen, orangegelben Bröckchen zu erstarren."

Was ich auf demselben Wege aus der Lepra-Vulpinsäure erhielt, stimmte vollständig mit Pulvinsäure überein, namentlich auch in dem characteristischen Verhalten gegen Alcohol: „Mit wenig Alcohol angerieben geht die Pulvinsäure leicht in Lösung; nach einigen Augenblicken scheidet diese Lösung die Säure in Verbindung mit Alcohol als gelbes Krystallpulver wieder ab. Von heissem Alcohol wird die Säure in grosser Menge aufgenommen; beim Stehen über Nacht krystallisirt sie zum weitaus grössten Theil wieder aus in glänzenden durch-

sichtigen Prismen, sehr ähnlich dem Natriumplatinchlorid, nur etwas heller in der Farbe. Die Krystalle verwittern allmählich."

Die von mir erhaltene Pulvinsäure schmolz bei 216—217°.

Spiegel giebt 214—215° an, Volhard 215—216°.

Für die *Lepra chlorina* von Sandstein (*Calycium chlorinum* Körb.) sowie für die *Lepra chlorina* von Gneiss (*C. Stenhammari*) habe ich den Prozentgehalt näher ermittelt; selbstverständlich wurde zu diesem Zwecke auch die noch in den Mutterlaugen vorhandenen Reste der Säure möglichst vollständig herausgeholt. Der Gehalt schwankt bei der einzelnen Species mehr oder minder beträchtlich je nach den verschiedenen Localitäten. Was die Sandstein bewohnende *Lepra chlorina* anbetrifft, erwiesen sich die am Königstein gesammelten, recht intensiv citronengelb gefärbten Materialien ziemlich reich an Vulpinsäure, denn aus 67 g der lufttrocknen Flechte wurden erhalten 5,58 g Säure, also $8^1/_4$ Prozent! In 200 g der minder intensiv gelben Schwarzwaldflechte (bei Oberthal aufgenommen) waren dagegen nur etwas über 6 g, also nur reichlich 3 Prozent, in 92 g der Flechte von Blankenburg (Teufelsmauer und Regenstein) nur 2,28, also nur $2^1/_2$ Prozent enthalten.

Aus der Gneiss bewohnenden *Lepra chlorina* vom Wirth erhielt ich $3^1/_2$ Prozent der Säure.

Wenn ich nicht sehr irre, so liegt in der *Lepra chlorina* von den Sandsteinfelsen des Königsteins die nämliche Flechte vor, aus welcher der Chemiker Stein seine Vulpinsäure (er nannte sie Chrysopikrin) so reichlich gewonnen hat. Er sprach sie, offenbar wegen ihrer pulverigen Beschaffenheit, irrthümlicher Weise für einen unentwickelten Zustand von *Parmelia (Physcia) parietina* (L.) an, trotzdem der Botaniker Reichenbach in Dresden eine Probe der Stein'schen, übrigens ebenfalls von Sandstein der sächsischen Schweiz stammenden Flechtenmasse ausdrücklich als nicht identisch mit *Physcia parietina* erklärt hatte. Man darf Stein indessen keinen Vorwurf hieraus machen, denn zu jener Zeit neigten sich auch Botaniker dahin, solche oder ähnliche gelbe Lepraformen, wie die in Rede stehende, als ein Entwickelungsstadium von *Physcia parietina* aufzufassen. So liest man z. B. in der zweiten Auflage von Leunis' Synopsis der Botanik, bearbeitet von Frank, p. 1708: „*Lepra candelaris* Ehrh. *(Lepraria flava* Ach.) kommt von *Candelaria vitellina* Ehrh. und *Physcia parietina* L."

Aehnliche starke Schwankungen im Vulpinsäure-Gehalt weist *Evernia vulpina* auf, denn in der scandinavischen Flechte fanden Möller und Strecker bis 12 Prozent, während Spiegel aus der bei Pontresina gesammelten nicht mehr als 1,5 Prozent erhielt.

Wie schon oben erwähnt, hat Nylander die *Lepra chlorina* Ach. von Sandstein aufgefasst als ein steril gebliebenes und leprös gewordenes Stadium von *Haematomma coccineum* (Dicks.) Eine nähere Begründung dieser Annahme fehlt allerdings; ich verstehe indessen sehr wohl, wie N. zu derselben kommen konnte. Wenn man nämlich die verschiedenen Wachsthumsformen des *Haematomma* an ausgedehnten Sandsteinmassen studirt, wie ich das in den Pfingstferien 1894 am

Regenstein gethan, so findet man zuweilen lepröse Stadien dieser Flechte, welche mit der in der Nähe wachsenden *Lepra chlorina* bezüglich der Färbung und der sonstigen habituellen Erscheinung in der That eine gewisse Aehnlichkeit darbieten. Ich würde daher die Auffassung Nylanders sofort acceptiren, wenn sich *Haematomma coccineum* als vulpinsäurehaltig erweisen sollte. Um dies zu prüfen, habe ich an der genannten Localität grössere Mengen der Flechte gesammelt und sie in der oben besprochenen Weise auf Vulpinsäure untersucht, aber auch nicht eine Spur dieses Körpers zu gewinnen vermocht. Auf Grund dieses Befundes kann ich der Nylander'schen Annahme nicht beipflichten, komme vielmehr zu dem Urtheil von Th. Fries (das dieser freilich nicht auf Grund chemischer Untersuchung abgegeben hat): „*Lepraria chlorina* Ach. a. *H. coccineo* minime ducit originem." (Lichenographia scand. p. 299.)

4. Calycin.

Aus einer Krustenflechte — es handelt sich angeblich um *Calycium chrysocephalum* Ach., in Wirklichkeit um *Lepra candelaris* Schaerer, — hat der Chemiker O. Hesse[1] im Jahre 1880 einen krystallisirenden Körper von der Zusammensetzung $C_{18}H_{12}O_5$ gewonnen, den er mit dem Namen Calycin belegte. Diese Substanz krystallisirt in feinen Nädelchen oder Prismen, die in Masse schön ziegelroth, chromroth oder auch wie Kaliumbichromat aussehen, unter dem Mikroscop bei durchfallendem Licht gelb erscheinen, bei etwa 240° C (uncorr.) schmelzen und bei höherer Temperatur anscheinend unverändert in morgenrothen Prismen sublimiren. Das Calycin ist in kaltem Alcohol, Aether, Petroläther, Ligroïn, Eisessig, Essigsäureanhydrid sehr wenig löslich, etwas mehr lösen Chloroform und Benzol schon in der Kälte, noch reichlicher beim Erwärmen, auch heisser Eisessig löst die Substanz recht gut, und es scheidet sich dieselbe beim Erkalten in prächtigen sternförmig gruppirten Nadeln ab. Beim Erhitzen mit gesättigter Kalilauge findet eine Spaltung des Calycins statt, bei welcher Oxalsäure und Alphatoluylsäure entsteht, entsprechend der Gleichung:

$$C_{18}H_{12}O_5 + 3H_2O = 2C_8H_8O_2 + C_2H_2O_4.$$

Hesse fasst daher das Calycin als einen Verwandten der Vulpinsäure auf. Es enthält keine HO-Gruppe, was daraus hervorgeht, dass beim Erhitzen mit Essigsäureanhydrid im geschlossenen Rohr bei 160° kein Acetyl für Wasserstoff eintritt. Dagegen wandelt es sich nach H. beim Erwärmen mit Kalium- oder Natriumcarbonatlösung in Calycinsäure um, was auch geschieht, wenn man die Substanz mit in Wasser vertheiltem kohlensauren Baryum anhaltend kocht. Es bildet sich eine gelbe Lösung, welche beim Verdunsten das Baryumsalz als einen gelben Firniss zurück lässt. Beim Erhitzen jener Lösung mit Salzsäure entsteht indess wieder Calycin; wogegen in der Kälte die Barytlösung durch Salzsäure nur milchig getrübt wird, indem sich

1) Ueber Calycin. Berichte der deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 13 (1880) p. 1816.

Calycinsäure abscheidet, die ein goldgelbes, in Wasser ziemlich leicht lösliches Harz darstellt. Man kann dasselbe mit Aether ausschütteln, aber beim Verdunsten dieser Lösung wird stets mehr oder weniger Calycin regenerirt.

Im Anschluss an diese Ergebnisse Hesse's möchte ich nun zunächst mittheilen, dass der in Rede stehende Körper durch eine ganz characteristische Farbenreaction ausgezeichnet ist.

Löst man nämlich die Krystalle in Chloroform und schüttelt diese gelbe Lösung mit Kali- oder Natronlauge, so entsteht aus dem Calycin ein ziegel- bis purpur- oder blutroth aussehender Körper, der von den emulsionsartig vertheilten Tropfen der Alkalilösung sofort aufgenommen wird, während das Chloroform sich entfärbt. Mit Alkali allein erhält man diesen rothen Körper nicht, er entsteht auch nicht, wenn man das Alkali einer alcoholischen, ätherischen, Toluol- oder Schwefelkohlenstofflösung des Calycins zufügt, dagegen bildet er sich ebenfalls bei Schütteln einer Benzollösung mit Alkali. Statt Kali- oder Natronlauge kann man auch Magnesia, Baryt- oder Kalkwasser, sowie eine Lösung von Chlorkalk verwenden.

Das rothe Product ist ausgezeichnet durch grosse Unbeständigkeit, namentlich in der Wärme; auch in der Kälte pflegt es sich nicht über 12 Stunden zu erhalten, meist verschwindet die Farbe schon viel früher, zumal wenn man Chlorkalklösung oder eine stärkere Alkalilösung verwendet.

Jene Reaction tritt selbst dann noch ein, wenn man ein winziges, mit blossem Auge kaum noch erkennbares Calycinkryställchen verwendet. Man braucht nur ein solches auf dem Objectträger in einem Tropfen Chloroform zu lösen, das Deckglas aufzulegen und vom Rande her etwas verdünnte Natronlauge zufliessen zu lassen, so wird man nach vorherigem Mischen beider Flüssigkeiten, durch Heben des Deckglases, den rothen Körper bei mikroscopischer Betrachtung alsbald auftreten sehen.

Wie es scheint, ist auch die reichliche Gegenwart anderer Substanzen der „Calycinreaction" nicht hinderlich. Versetzt man z. B. eine Lösung von 2 g Vulpinsäure in Chloroform mit 0,05 g ebenfalls in Chloroform gelösten Calycins, so ist schon an kleinen Theilen einer solchen Lösung, die nur Spuren von Calycin enthalten können, die genannte Reaction zu beobachten, wenn nicht mit blossem Auge, so doch jedenfalls unter dem Mikroscop. Reichliche Gegenwart von Aethylpulvinsäure ist derselben ebenfalls nicht hinderlich.

Hiernach durfte erwartet werden, dass rohe Chloroform-Auszüge calycinartiger Flechten diese Reaction ebenfalls geben würden. Das bestätigte sich z. B. sogleich an der oben angeführten gelben Lepra, in der Hesse das Calycin entdeckt hat, und dieser Umstand hat mich weiterhin dazu geführt zu prüfen, ob nicht andere gelbe Lepren sowie sonstige gelbe Flechten ebenfalls Calycin enthalten möchten. Neben manchen negativen habe ich hierbei eine ganze Reihe positiver Resultate erhalten. Es zeigten die Calycinreaction im Chloroform-Auszuge Proben von:

I. Krustenflechten.

A. Calycieen.

1. *Lepra candelaris* Schaerer. Lich. helvetici Nr. 233; Arnold Exs. Nr. 1631. sub *Cyphelium trichiale* f. *candelaris* Schaer.
2. *Lepra chlorina* Ach. von Sandstein der sächsischen Schweiz (= *Calycium chlorinum* Körber, leproese Form).
3. *Lepra chlorina* Stenh. von Gneiss oder Glimmerschiefer, von Arnold erhalten. Wird nach brieflicher Mittheilung Arnold's von den Lichenologen gewöhnlich zu *Calycium chlorinum* Stenhammar gezogen).

B. Lecanoreen.

4. *Gyalolechia reflexa* Nylander in Zwackh. Lich. Nr. 1164 von Sandstede herausgegeben; ferner ein Originalexemplar Nylanders.
5. *G. aurella* (Hoffm.) *Arnold.* Exs. Nr. 490 l.
6. *Callopisma vitellinum* (Ehrh.) = *Candelaria vitellina* Mass.
   α. genuina Th. Fr.
   β. xanthostigma (Pers.) Th. Fr., von Arnold erhalten.
7. *Physcia medians* Nylander, von Arnold erhalten.

II. Laubflechten.

8. Candelaria concolor (Dicks.) = *C. vulgaris* Mass.

Aus diesen Befunden den Schluss ziehen zu wollen, dass alle die genannten Flechten nun wirklich Calycin enthalten, dürfte indessen verfrüht sein. Denn wenn auch bisher thatsächlich kein anderer gefärbter Flechtenstoff aufgefunden wurde, der jene characteristische Reaction zeigt, so wäre doch die Existenz eines solchen in der einen oder anderen Flechtenspecies immerhin denkbar. Jedenfalls dürfte es nöthig sein, aus jeder einzelnen jener Flechten das vermuthete Calycin zu isoliren und zwar in solcher Quantität, dass es möglich wird, die Identität nach Schmelzpunkt, Form und Farbe der Krystalle, Löslichkeitsverhältnissen und womöglich noch nach anderen, von O. Hesse gefundenen Characteren, mit wirklichem Calycin festzustellen.

Dass ich mich dieser Aufgabe unterziehen konnte, verdanke ich hauptsächlich den gütigen Bemühungen des Herrn Oberlandgerichtsraths Dr. Arnold in München, der mich theils direct mit grösseren Materialien versah, theils darauf hinwies, wo und wie ich dieselben am Besten erlangen könnte.

Durch die Gefälligkeit des Herrn Prof. Volhard stand mir ferner zum directen Vergleich eine Originalprobe des Calycins zur Verfügung, welche Herr Dr. Hesse seinerzeit an genannten Herrn gesandt hatte. Zur Darstellung des Körpers zog ich die Flechten mit Chloroform oder Benzol aus, da, wie schon Hesse angiebt, diese Lösungsmittel, besonders in der Wärme, das Calycin reichlich aufnehmen. Das Lösungsmittel wurde abdestillirt und der Rückstand in kochendem Alcohol absolutus gelöst. Da das Calycin hierin sehr schwer löslich ist, so

fällt es beim Erkalten der Lösung als ziegelrothes Krystallpulver aus. Die weitere Reinigung geschah durch wiederholtes Umkrystallisiren aus absolutem Alcohol.[1] Sie wurde als beendigt angesehen, wenn die Substanz bei 242—245° schmolz. Hesse giebt als Schmelzpunkt 240° an, eine Probe seines im Besitz von Herrn Prof. Volhard befindlichen, mir von diesem freundlichst zum Vergleich überlassenen Originalpräparates schmolz ebenfalls bei 242—245°.

Als weitere Vergleichspunkte dienten: die Krystallform (aus Alcohol erhalten feine Nadeln, aus Benzol kleine Prismen) und die Löslichkeitsverhältnisse (nach Hesse ist Calycin sehr wenig löslich in Alcohol, Aether, Petroläther, Ligroïn, Eisessig, Essigsäureanhydrit, etwas mehr lösen Chloroform und Benzol schon in der Kälte, noch reichlicher beim Erwärmen). Ferner wurde als Erkennungszeichen benutzt die Umwandlung in Calycinsäure, wie schon Hesse angiebt, durch anhaltendes Kochen der Substanz mit in Wasser vertheiltem Baryumcarbonat. Es bildet sich eine gelbe Lösung, welche beim Verdunsten das Baryumsalz als einen gelben Firniss zurücklässt. Es wurde auch geprüft, ob beim Erhitzen jener Lösung mit Salzsäure wieder Calycin entsteht, was ebenfalls von Hesse beobachtet ward. Ich muss indessen bemerken, dass ich die Umwandlung des rothen Körpers in Calycinsäure nur für *Lepra chlorina* Ach. von Sandstein, *Lepra candelaris* Schaer., *Callopisma vitellinum* (Ehrh.) und *Physcia medians* Nyl. habe ausführen können, in den übrigen Fällen reichte das gewonnene Calycin-Material hierfür nicht aus. (Die Flechten sind theils sehr winzig und schwer zu beschaffen, theils sehr calycinarm.) Es genügt meiner Meinung nach auch vollkommen, wenn die Identität bezüglich der übrigen Charactere festgestellt wird, und namentlich werden Schmelzpunkt, Krystallform und Löslichkeitsverhältnisse allein schon massgebend sein. Für *Gyalolechia reflexa* Nyl. kann ich nicht den Anspruch machen, das Calycin isolirt zu haben, da mir von dieser höchst seltenen Flechte nur Pröbchen zu Gebote standen. Das einzige Moment, was ich auf Calycingehalt hinweisend anführen kann, ist die „Calycinreaction", die ich mit dem Chloroformauszug von solchen Pröbchen erhielt.

Ich beschränke mich daher darauf zu sagen, dass ich das Calycin in 7 Flechten habe nachweisen können. Bisher war es mit Sicherheit nur für eine Flechte bekannt, nämlich durch O. Hesse für eine gelbe Lepra. Der Angabe E. Bachmann's, nach welcher *Physica medians, Candelaria concolor* und *vitellina* sowie *Gyalolechia aurella* Calycin enthalten sollten, fehlt insofern jede Begründung, als B. gar keinen Versuch gemacht hat, etwa vorhandenes Calycin zu isoliren.

Wahrscheinlicher Weise ist mit den obengenannten Flechten die Zahl der Calycinbildner noch nicht erschöpft.

Der Gehalt an Calycin wechelt bei den untersuchten Arten sehr, was freilich von vorn herein zu erwarten stand. Am reichsten erwies

---

1) Wo grosse Mengen von Vulpinsäure zu beseitigen sind, empfiehlt es sich, dieselbe durch passende Mengen von verdünntem kohlensauren Natron wegzuschaffen, in welchem das Calycin kaum löslich ist.

sich *Lepra candelaris* Schaer mit 2 Prozent; *Callopisma vitellinum* (Ehrh.) (auf Holz gewachsen) gab 0,15 Prozent, *Lepra chlorina* Ach. von Sandstein der sächsischen Schweiz 0,21 Prozent, *Physcia medians* Nyl. 0,4 Prozent.

In *Lepra candelaris* Schaer. fehlen gefärbte Stoffe als Begleiter des Calycins; in *Lepra chlorina* Ach. von Sandstein (*Calycium chlorinum* Körb. und *Lepra chlorina* von Gneiss *(C. Stenhammari)* dagegen tritt die gelbe Vulpinsäure, in *Callopisma vitellinum* (Ehrh.) und *Physcia medians* Nyl. die gelbe Aethylpulvinsäure begleitend auf. Dieses Zusammenvorkommen weist ohne Zweifel darauf hin, dass das Calycin mit solchen Pulvinsäure-Derivaten in irgend welchem genetischen Zusammenhange steht. Bezüglich der Vulpinsäure und des Calycins hat schon O. Hesse (l. c.) sich in diesem Sinne ausgesprochen.

Das in Masse roth aussehende Calycin erscheint in feiner Vertheilung gelb (etwa goldgelb). Daher sehen solche Flechten, welche ausser Calycin keinen gefärbten Stoff enthalten, intensiv goldgelb aus *(Lepra candelaris* Schaer.*)* Wo gleichzeitig Vulpinsäure oder Aethylpulvinsäure vorkommt, da nehmen die Flechten mehr citronengelbe, oder wenn das Calycin an Menge sehr zurücktritt, bloss schwefelgelbe Färbung an *(Callopisma vitellinum, Candelaria concolor, Physcia medians, Lepra chlorina* in der Sandstein- und in der Gneissform).

Das Calycin kömmt bei allen von mir untersuchten differenzirten Krustenflechten an den oberflächlichsten Theilen des Thallus und der Apothecien zur Ausscheidung; da wo Vulpinsäure oder Aethylpulvinsäure vorhanden ist, zugleich mit diesen Stoffen. Es kann bei Anwendung von Chloroform und Alkali nachgewiesen werden in den äussersten Parthien der Thallus-Rinde sowie des Excipulums und der Schlauchschicht der Apothecien. Die genannten Lepra-Arten, die bekanntlich keinen in Rinde und Mark differenzirten Thallus besitzen, sondern nur ein mehr oder minder lockeres Geflecht Algen umspinnender Hyphen darstellen, bringen das Calycin an der Oberfläche der Letzteren zur Ausscheidung.

Zum Nachweis des Calycinsitzes bedient man sich am besten trockner Vertikalschnitte durch Thallus oder Apothecien, bringt diese auf den Objectträger, fügt schnell hinter einander einen oder ein paar Tropfen Chloroform und einen Tropfen verdünnter Natronlauge hinzu, mischt mittelst eines Glasstäbchens und legt das Deckglas auf. Die vorher gelb gefärbten calycinhaltigen Parthien färben sich alsbald ziegel- bis blutroth. Es empfiehlt sich im allgemeinen, diese Manipulationen schnell auszuführen, da bei Verwendung sehr dünner Schnitte der rothe Körper sich unter Umständen leicht zersetzt. Ganze Thallusfragmentchen und Früchtchen, die man am besten in kleinen Uhrschälchen mit Chloroform und Alkali zusammenbringt, sowie auch die besonders stark calycinhaltigen Theile von Lepra candelaris behielten dagegen die Rothfärbung oft eine Stunde und länger.

Die gleichzeitige Anwesenheit anderer gefärbter (gelber) Stoffe (es kommen für die genannten Objecte, wie ich an anderer Stelle ausführlicher begründen werde, Vulpinsäure und Aethylpulvinsäure

in Betracht) hat auf die Calycinreaction nicht den mindesten Einfluss, hindert wenigstens deren Zustandekommen nicht.

Es mögen nun noch einige Bemerkungen über die einzelnen Calycinbildner folgen:

1. Lepra candelaris Schaerer.

Ich habe den Calycingehalt dieser schön goldgelben Flechte zuerst an Materialien festgestellt, welche Herr Dr. Arnold 1893 an Fichtenzweigen im Fervallthale bei St. Anton in Tirol sammelte. Im vergangenen Jahre haben A. und ich die Flechte an der nämlichen Localität einer und derselben Fichte entnommen, er für sein Exsiccaten werk, ich für den Zweck nochmaliger Isolirung des Calycins in grösserer Menge. Ich kann daher ausdrücklich bemerken, dass Nr. 1631 der Arnold'schen Sammlung und das von mir untersuchte Material identisch sind.

Die Flechte ist relativ reich an Calycin, denn aus 5 g des lufttrocknen intensiv goldgelben Pulvers erhielt ich 0,1 g also etwa 2 Procent.

Da mit der gelben Lepra zusammen spärliches *Calycium trichiale* auftrat, so entstand die Vermuthung, dass das Erstere von Letzterem abstammen, also eine sorediale Form desselben darstellen möchte. Für diese Vermuthung würde ein Anhalt gegeben sein, wenn sich in den blass graugrünen Schüppchen des Calyciums ebenfalls Calycin würde nachweisen lassen. Meine Prüfung in dieser Richtung hat aber keinen Anhalt dafür gegeben, denn die Alkali-Chloroform-Reaction fiel gänzlich negativ aus. Das Calycin muss ein sehr beständiger Körper sein, da das ein halbes Jahrhundert alte Exemplar der *Lepra candelaris* in Schaerers Lichenes helvetici Nr. 233 in kleinsten Pröbchen eben so intensive Calycinreaction, wie das von mir gesammelte Material zeigte.

Das Calycin wird, wie man mittelst dieser Reaction feststellen kann, an den Hyphen sehr reichlich ausgeschieden in Form feinster unter dem Mikroscop goldgelb erscheinender Kryställchen, welche die Hyphen oft in förmlichen Ballen bedecken, die sich bei Anwendung von Chloroform und verdünnter Natronlauge roth färben. Ein anderer krystallisirender Flechtenstoff von derselben Farbe ist übrigens in der Flechte nicht vorhanden. Die intensiv goldgelbe Färbung beruht daher einzig und allein auf der Gegenwart des Calycins.

Wie ich in einer früheren Mittheilung (diese Beiträge Heft I p. 51) zeigte, wird seitens einer an Sennhütten und Heuschobern in den Alpen vorkommenden Flechte, welche die Bretterwände mit schön goldgelben staubigen Ueberzügen versieht, ebenfalls reichlich Calycin producirt. Da ich mitten zwischen diesen leprösen Massen das grüngelbe *Acolium tigillare,* eine Calyciee, antraf, und Uebergänge zwischen Beiden wahrzunehmen glaubte, so hielt ich jene für einen Entwickelungszustand des *Acolium.*

Spätere genauere Untersuchungen brachten mich jedoch zu der Einsicht, dass diese Auffassung nicht richtig war: ächtes *Acolium tigillare,* das ich ein Jahr später bei Waidring in Tirol an Fichtenstämmen sammelte, enthält nämlich keine Spur von Calycin, sondern

einen davon ganz verschiedenen Körper mit anderem Schmelzpunkt und anderen sonstigen Eigenschaften. Ein näherer Vergleich jener Lepra mit *Lepra candelaris* Schaer. ergab nun, dass Beide sowohl in der äusseren Form und Farbe, als auch bezüglich der mikroscopischen Beschaffenheit der Hyphen und Algenzellen vollkommen übereinstimmten und daher sehr wahrscheinlich identisch sind.

Hesse hat in seiner oben citirten Publikation die gelbe Flechte, in welcher er das Calycin entdeckte, als *Calycium chrysocephalum* bezeichnet. Auch hier liegt eine unrichtige Bestimmung vor. Denn aus ächtem *Calycium chrysocephalum* (Ach.), welches ich in grösserer Quantität von Herrn Dr. Arnold erhielt, konnte ich kein Calycin in irgend welcher Menge isoliren, wohl aber sehr reichlich Vulpinsäure, worüber ich bereits im Vorausgehenden berichtet habe.[1]

Ich habe nun Gelegenheit gehabt, eine Probe der Originalflechte[2] zu untersuchen, aus der Hesse sein Calycin isolirte, und da zeigte sich, dass es sich ebenfalls um eine goldgelbe Lepra handelt, die von der obigen *Lepra candelaris* habituell und mikroscopisch in nichts verschieden ist, mit *Calycium chrysocephalum* daher nichts zu thun hat. Herr Dr. Arnold, dem ich eine Probe der Hesse'schen Flechte sandte, war derselben Meinung. Die Angabe, dass *Calycium chrysocephalum* reichlich Calycin enthalte, ist übrigens bereits in verschiedene chemische und botanische Handbücher und sonstige Publikationen übergegangen, und schon aus diesem Grunde wollte ich sie hier berichtigen.

2. Lepra chlorina Ach. von Sandstein.

Sie wird, wie gesagt, von Körber aufgefasst als lepröser Zustand eines Calyciums (C. *chlorinum* Körber). Ihre Färbung ist eine schwefelgelbe oder grüngelbe, seltener citronengelbe und wird hauptsächlich durch die sehr reichliche vorhandene Vulpinsäure bedingt (vergl. den vorausgehenden Abschnitt). Der Calycingehalt ist daher bei weitem geringer als bei der *Lepra candelaris*. Ich fand, dass der Sitz dieses Stoffes hauptsächlich in den ältesten, dem Gestein unmittelbar aufsitzenden Parthien des Thallus zu suchen ist, die daher etwas intensiver gelb erscheinen.

Die Flechte lag mir in grösseren Mengen vor a) vom Königstein in der sächsischen Schweiz (von Herrn Lehrer Krieger daselbst gesammelt), b) von Sandstein bei Oberthal im nördlichen Schwarzwald, c) von der Teufelsmauer und dem Regenstein bei Blankenburg am Harz.

Das zuerst genannte Material war absichtlich in zwei Parthien gesammelt, von der die eine ziemlich intensiv citronengelb, die andere mehr grüngelb erschien. Die erstere erwies sich etwas reicher an Calycin. Es wurde 0,21 Procent ermittelt, im Ganzen gewann ich circa 1 g. Aus 92 g der Flechte von der Teufelsmauer erhielt ich 0,18 g, also etwa ebenfalls 0,2 Procent.

---

1) Spuren von Calycin dürften vielleicht vorhanden sein, doch wird man schon recht grosse Mengen der Flechte haben müssen, um dasselbe event. rein darzustellen und auf seine Identität näher zu prüfen.

2) Ich erhielt sie durch die Gefälligkeit des Herrn Prof. Volhard.

3. Lepra chlorina Stenhammar von Gneiss oder Glimmerschiefer.

Wie mir Arnold schrieb, wird die Flechte seitens der Lichenologen gewöhnlich zu *Calycium chlorinum* Stenh. gezogen. Hinsichtlich ihrer Färbung lässt sie sich von der obigen Sandsteinlepra nicht unterscheiden. Ich hatte Gelegenheit, von Herrn Dr. Arnold und mir gesammeltes Material zu untersuchen, welches an Glimmerschiefer in der Rosannaschlucht bei St. Anton sowie an den Nordwänden des Wirth (Gneiss) wuchs, im Ganzen 200 g lufttrocken. Neben nicht viel Vulpinsäure ($3^1/_2$ Procent) war nur sehr wenig Calycin aus der Flechte zu gewinnen. Sie ist entschieden ärmer hieran, als die Lepra von Sandstein, wenn ich auch eine genaue quantitative Bestimmung zu machen unterlassen habe.

4. Callopisma vitellinum (Ehrh.).

Für die steinbewohnende Form habe ich schon früher Calycingehalt nachweisen können neben Callopisminsäure (Aethylpulvinsäure).

Auf Holz wachsend producirt die Flechte die nämlichen Stoffe. Ich führe das ausdrücklich an, weil man vielleicht daran denken könnte, dass eine Aenderung des Substrats auch eine Aenderung in der Qualität der Stoffwechselproducte nach sich ziehen müsse. Nach meinen Erfahrungen, die ich gelegentlich an anderer Stelle mitzutheilen gedenke, ist dies auch für andere Flechten nicht zutreffend.

Aus 100 g des holzbewohnenden *Callopisma vitellinum* (lufttrocken) erhielt ich 0,15 g Calycin. Im Ganzen habe ich aus der stein- und holzbewohnenden Flechte 3 g gewonnen, eine in anbetracht des leichten Gewichts ziemlich ansehnliche Menge.

5. Gyalolechia aurella (Hoffm.)
= G. epixantha (Ach.) Nyl.

Das Material stammte von fichtenen Lattenzäunen bei St. Jakob und Pettneu im Stanzer Thale in Tirol. Die Flechte kann mit *Callopisma vitellinum* (16sporig) verwechselt werden. Ich habe daher jeden einzelnen Holzspan besonders geprüft, ob wirklich die 8sporige *Gyalol. aurella* vorhanden sei. Der Thallus war zum z. Th. leprös geworden. Da es mir nicht möglich war, von dieser winzigen Flechte grössere Mengen zusammenzubringen, was jeder Lichenologe verständlich finden wird, so habe ich gerade nur so viel Calycin rein gewonnen, als zur Bestimmung des Schmelzpunkts (243°) und zur Calycinreaction nöthig war. Auch aus der steinbewohnenden Form, die ich theils auf Rothliegendem bei Wettin, theils auf Urschiefer bei Hüttenrode am Harz sammelte, konnte ich nur minimale Calycinmengen isoliren, weil die Materialbeschaffung auch für diese Form mit fast unüberwindlichen Schwierigkeiten verbunden ist (um nur 50 g der Flechte zu erhalten, würde man vielleicht Jahre hindurch sammeln müssen).

6. Physcia medians Nyl.

Das Material war das schon bei Besprechung der Aethylpulvinsäure erwähnte. Ich gewann aus der lufttrocknen Flechte 0,3 Prozent Calycin. Es tritt hier in Gemeinschaft von Aethylpulvinsäure auf.

7. Candelaria concolor (Dicks.).

Auch von dieser kleinen Flechte, die ich in blosser Form an Chausseebäumen bei Blankenburg am Harz sammelte, liess sich nur soviel zusammenbringen, dass ich eine ganz kleine Menge reinen Calycins erhielt. Schmelzpunkt 241°. Im Gebirge dürfte die Flechte reicher an diesem Stoffe sein, wenigstens finde ich die von mir im Riesengebirge (bei Krummhübel) gesammelten Exemplare viel intensiver gelb gefärbt.

Indem ich die Mittheilung über das Vorkommen von Pulvinsäure-Derivaten schliesse, möchte ich noch die Ueberzeugung aussprechen, dass man bei weiterer Untersuchung gelber Flechten diese Substanzen sicherlich noch häufiger antreffen wird. Diese Ueberzeugung stützt sich auf provisorische Prüfungen, die nur deshalb nicht zu Ende geführt werden konnten, weil mir die Materialbeschaffung (es handelt sich meist um sehr kleine Formen) vorläufig zu grosse Schwierigkeiten bot. Die Zahl derjenigen Flechten, welche Pulvinsäure-Abkömmlinge produciren, dürfte sich besonders auch dann vergrössern, wenn man die ausländischen Formen in den Kreis der Untersuchung hineinziehen würde.

II. Ueber zwei neue krystallisirende Flechtensäuren.

1. Solorinsäure.

Solorina crocea (L.), eine die alpinen Regionen der europäischen und asiatischen Hochgebirge (Alpen, Pyrenäen, Gebirge Schottlands, Riesengebirge, Himalaya) bewohnende, im Norden auch in die subalpine Region herabsteigende und in der ganzen arctischen Zone verbreitete Erdlichene, ist vor allen übrigen sogenannten Laubflechten, soweit dieselben bei uns vorkommen, dadurch ausgezeichnet, dass die der Erde aufliegende Unterseite des Thallus (im Gegensatz zu den unscheinbar graugrünen, im Alter graubräunlichen bis braunen Oberseite) intensive Röthung aufweist, welche in ihrem Tone etwa dem Ziegelroth, Chromroth oder dem Roth der Narben des Safrans *(Crocus sativus)* entspricht und dadurch den obigen Beinamen veranlasst hat.

Während jüngere Thalli diese schöne Rothfärbung auf der ganzen Unterseite zur Schau tragen, weisen ältere Lager ein lebhaftes Roth nur mehr in der peripherischen, also den jüngsten Parthien entsprechenden Zone auf, die aber immerhin, je nach der Grösse der Thalli, zwei bis mehrere Centimeter an Breite betragen kann; an den älteren, mehr centralen Parthien wird man fast stets eine mehr rothbräunliche, ja bis ins schmutzigbraune gehende Umfärbung bemerken. Die von der verzweigt-adrigen Unterfläche des Thallus entspringenden, bis 1 cm und

darüber an Länge erreichenden, zahlreichen wurzelähnlichen Faserbündel (Rhizoiden), mittelst deren sich die Flechte am Boden festheftet, nehmen gleichfalls Rothfärbung, im Alter mehr oder weniger starke Bräunung an.

Obwohl die Flechte durch jenes prächtige Colorit von jeher die Aufmerksamkeit der Botaniker auf sich lenkte, hat doch bis jetzt meines Wissens noch Niemand eine Isolirung der färbenden Principien unternommen. Auf meine Bitte hatte Herr Dr. Arnold die Güte, mir eine grössere Quantität der nicht eben leicht erreichbaren Flechte zu verschaffen und mir im folgenden Jahre vorschiedene Standorte derselben im westlichen Tirol (Malfonthal, Rendelthal, Albonseen bei St. Christoph) zu zeigen, sodass ich in der Lage war, selbst noch eine nicht unbeträchtliche Menge zusammenzubringen. Im Ganzen standen mir 500 g lufttrockener Thalli zur Verfügung.

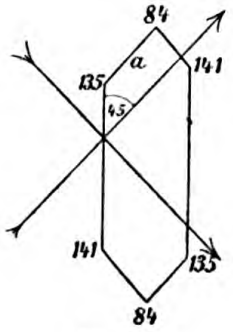


Fig. 3.

Durch Auskochen mit Chloroform lässt sich alles Rothgefärbte leicht und vollständig entfernen. Der Extract sieht sehr dunkel rothbraun aus. Beim Abdestilliren des Lösungsmittels erhält man eine tief und schmutzig rothbraun gefärbte krystallinische Masse. Zur Entfernung von Chlorophyll und harzartigen Substanzen erschien zweimaliges Umkrystallisiren aus Benzol am geeignetsten. Nunmehr erscheint die Krystallmasse dunkelroth. Zwecks weiterer Reinigung wurde sie noch dreimal aus 2 Theilen Benzol und einem Theil absolutem Alcohol umkrystallisirt. Auf diese Weise erhält man eine prächtig rothe, etwa rubinfarbene, aber mit einem kleinen Stich ins Rothbraune versehene Masse kleiner glänzender, gut ausgebildeter Kryställchen, welche bei 199—201° glatt schmolzen.

Herr Prof. O. Lüdecke, der die Güte hatte, sie zu untersuchen, theilte mir Folgendes mit: „Die rothen Krystalle sind tafelig nach einer Fläche; seitlich werden dieselben von Flächen begrenzt, welche vielleicht senkrecht auf der weit ausgedehnten Fläche stehen. Dieselben bilden miteinander die ebenen Winkel von 135°, 84° und 141°.

Die Auslöschung liegt parallel der einen kurzen Kante *a* (vergl. vorstehende Figur). Ist die Richtung dieser Kante parallel dem Polarisator (bei entferntem Analysator), so erscheinen sehr dünne Krystalle tief dunkelbraun, steht dagegen die dazu senkrechte Richtung parallel dem Hauptschnitt des Polarisators, so erscheinen sie hellgelb. Der Pleochroismus ist also ein recht bedeutender; bei dickeren Krystallen ist derselbe schwierig zu beobachten. Vielleicht sind sie monoklin.“ Fällt man die heiss gesättigte und dann erkalten gelassene Benzollösung mit Alcohol, so gewinnt man nicht tafelige Prismen, sondern feinste Nädelchen, welche in Menge rothgelb (statt rubinroth) aussehen, sich auf dem Filter sehr dicht zusammenfügen und zwischen Glasscheiben zu einer etwa papierartig aussehenden Masse zusammendrücken lassen.

Unlöslich in kaltem und heissem Wasser, sehr schwer löslich in Aethylalcohol, Methylalcohol und Aether lösen sich die Krystalle ein wenig besser in Petroläther, noch etwas mehr, aber durchaus nicht leicht, in Chloroform und Benzol. Die Färbung aller dieser Lösungen ist rothgelb bis rothbraun. Kali- und Natronlauge lösen mit violetter Farbe, Aetzammoniak und kohlensaure Alkalien lösen in der Kälte sehr schwer, in der Wärme etwas leichter und mit purpurnvioletter Farbe.

Aus allen diesen Lösungen wird die Substanz durch Salzsäure, Essigsäure, aber auch schon durch Kohlensäure gefällt; sie zeigt also nur schwachen Säurecharacter.

Barytwasser löst auch beim Kochen nichts, färbt dagegen die Krystalle dunkel violett.

In concentrirter Schwefelsäure lösen sich dieselben mit purpurner bis purpurnvioletter Farbe, in conc. Salpetersäure sind sie unlöslich. Fügt man zu der Lösung in Schwefelsäure viel Wasser, so fällt die Substanz als rothes Pulver anscheinend unverändert aus.

Indem ich die Substanz (etwa $^1/_4$ g) $^5/_4$ Stunden mit Essigsäureanhydrid am Rückflusskühler kochte, erhielt ich ein Product, welches nach wiederholtem Umkrystallisiren aus mit etwas Benzol versetztem absoluten Alcohol feinste seidenglänzende, in Masse etwa orangerothe, nach Zusammendrücken zwischen Papier mehr goldgelb aussehende Nädelchen, die bei 147—148° zu einer rothbraunen Flüssigkeit schmolzen. In absolutem Alcohol und Aether sind sie sehr schwer, in Chloroform und Benzol ziemlich leicht löslich.

Die Analyse der Solorinsäure ergab die Formel $C_{15}H_{14}O_5$.

I. 0,1059 g gaben 0,2548 CO_2, entsprechend 0,06949 C u. 0,0488 H_2O, entsprechend 0,005433 H.

II. 0,1192 g gaben 0,2883 CO_2, entsprechend 0,07863 C u. 0,0558 H_2O, entsprechend 0,006212 H.

Berechnet für	Gefunden	
$C_{15}H_{14}O_5$	I.	II
C 65,68	65,61	65,97
H 5,13	5,13	5,21

Die Analyse des Acetylproducts zeigt, dass zwei Acetylgruppen eingetreten sind:

0,1115 g gaben 0,2602 CO_2, entsprechend 0,07096 C und 0,0511 H_2O, entsprechend 0,005689 H.

Berechnet für	Gefunden
$C_{19}H_{18}O_7$	
C 63,68	63,65
H 5,05	5,10

Sitz der Säure. Wie schon Schwendener ermittelte[1] ist der (sterile) Thallus der *Solorina crocea* stets nur in zwei Gewebslagen

1) Schwendener, S., Untersuchungen über den Flechtenthallus. II. Laub- und Gallertflechten, in Nägeli, Beiträge zur wissenschaftl. Botanik, Heft III p. 142 und 177.

differenzirt, eine obere, die Rinde, und eine untere, das Mark. Auf der Grenze zwischen beiden liegt eine Schicht rein chlorophyllgrüner Algen; im Mark dagegen finden sich blau oder blaugrün gefärbte Nester von Spaltalgen. Die Production von Solorinsäure erfolgt nun stets nur im Mark. Hier kommt der rothe Körper zur Ausscheidung und bedeckt die Hyphen in Form winziger rother Körnchen, die sich bei Zusatz von Alkalien mit violetter Farbe lösen und durch Salpetersäure gelb werden.[1] Schon Schwendener hat (l. c.) diese Körnchen, welche übrigens auch an den vom Mark ausgehenden Rhizoiden-Hyphen zu sehen sind, und ihr Verhalten zu genannten Reagentien beobachtet.

Ob und wie etwa die im Mark so reichlich vorhandenen blaugrünen Algenkolonien bei der Solorinsäureproduction betheiligt sind, entzieht sich vorläufig jeder Beurtheilung.

2. Pinastrinsäure.

Die Kiefern-Cetrarie (*Cetraria pinastri* (Scopoli) Fr. *Cetraria juniperina β pinastri* Ach., *Platysma pinastri* Nyl. Arnold.), eine im Gebirge überall häufige, auf Kiefern, Fichten, Tannen, Lärchen, Wachholder, Knieholz wachsende, gelegentlich auch auf Birken, Haidekraut und selbst Steine übersiedelnde Laubflechte, ist durch schön citronengelbes Kolorit ausgezeichnet, das besonders stark auf der Unterseite und an den Rändern hervortritt.

Als Ursache dieser auffälligen Färbung glaubte man früher Vulpinsäuregehalt vermuthen zu dürfen, da die scandinavischen Bauern in früherer Zeit die *Cetraria pinastri* zu denselben Zwecken benutzten, wie die Vulpinsäure-haltige *Evernia vulpina*, nämlich zum Vergiften von Füchsen.[2] Allein eine nähere vor mehreren Jahren angestellte Untersuchung ergab, dass jenes Colorit keineswegs von Vulpinsäure herrührt, sondern durch einen neuen schön goldgelben Körper hervorgerufen wird, der von mir als „Pinastrinsäure" beschrieben wurde.[3]

Da mir später etwas reichlicheres Material der Flechte zur Verfügung stand (ca. 400 g), das ich theils von Herrn Dr. F. Arnold aus Tirol erhielt, theils im nördlichen Schwarzwald und in Tirol selbst zusammenbrachte, so war ich in der Lage, mir die Säure in etwas grösserer Menge darzustellen. Einen Theil derselben übergab ich Herrn Prof. R. Kobert, dessen Thierversuche die Giftigkeit der Substanz darlegten;[4] das Uebrige wurde zu weiterer chemischer Untersuchung benutzt.

---

1) Letztere Reaction gründet sich darauf, dass die Solorinsäurekrystalle mit conc. Salpetersäure behandelt zwei Körper liefern, von denen der eine gelb, der andere farblos erscheint.

2) Die rein botanische Seite wird an anderer Stelle Berücksichtigung erfahren Th. Fries, Lichenographia scandinavica p. 105: „Color thalli luteus e vulpulino (Vulpinsäure) pendere videtur. Vulpibus, non vero lupis canibusque, perniciosum hunc lichenem perhibent rusticolae Herjedalenses."

3) Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen Heft I (1892) p. 41: Ueber die Färbungsursachen einiger Flechten mit gelbem Kolorit.

4) R. Kobert, Ueber Giftstoffe der Flechten. Sitzungsberichte der Dorpater Naturforscher-Gesellschaft 1892.

Zur Gewinnung der Säure bediente ich mich der Extraction der lufttrocknen Flechte mit Aether. Beim Abdestilliren des Lösungsmittels krystallisirte eine goldgelbe Masse aus, die durch zweimaliges Umkrystallisiren aus absolutem Alcohol zunächst von Chlorophyll und harzartigen Theilen befreit wurde. Sie sah jetzt makroscopisch schon ganz einheitlich aus, aber unter dem Mikroscop erwies sie sich als ein Gemisch von schön goldgelben Krystallen (Pinastrinsäure) und ganz blassgrünlichen (Usninsäure). Letztere vollständig abzutrennen war nicht leicht, weil beide Stoffe sich den gewöhnlichen Lösungsmitteln gegenüber etwa gleich verhielten. Schliesslich aber wurde dieser Zweck durch öfteres Umkrystallisiren aus Alcohol absolutus so vollständig erreicht, dass unter dem Mikroscop auch nicht ein einziges Usninsäure-Kryställchen mehr zu entdecken war.

Den Schmelzpunkt der so gereinigten, feine goldgelbe Prismen bildenden Substanz fand ich bei 203—205° liegend. Früher gab ich 178—180° an, offenbar weil ich damals die Usninsäure nicht vollständig genug beseitigt hatte. Dass schon kleinere Mengen der Letzteren den Schmelzpunkt der Pinastrinsäure bedeutend herabsetzen, davon habe ich mich neuerdings durch besondere Versuche überzeugt.

Die Pinastrinsäure ist in kaltem Alcohol und Aether schwer, in heissem leichter, in Chloroform und Benzol leicht löslich. In Aetzalkalien wie in kohlensaurem Natron löst sie sich mit gelber Farbe und wird aus diesen Lösungen durch Säuren, selbst schon durch Kohlensäure, ausgefällt, ist also eine nur schwache Säure. Concentrirte Schwefelsäure löst mit gelber Farbe. Beim Erhitzen mit Kalilauge entsteht kein Orcin.

Indem ich ohngefähr $^1/_2$ g der Säure etwa 1 Stunde lang mit Essigsäureanhydrid am Rückflusskühler kochte, gewann ich einen Körper, der nach wiederholtem Umkrystallisiren aus Alcohol absolutus eine grünlich gefärbte, seidenartig glänzende Masse feiner Nädelchen bildete. Seinen Schmelzpunkt fand ich bei 171—173° liegend.

Die Analyse der Pinastrinsäure ergab die Formel $C_{10}H_8O_3$.

I. 0,1019 g gaben 0,2548 CO_2, entsprechend 0,06949 C u. 0,0418 H_2O, entsprechend 0,00465 H.

II. 0,1159 gaben 0,2897 CO_2, entsprechend 0,07902 C und 0,0464 H_2O, entsprechend 0,005165 H.

Berechnet für	Gefunden	
$C_{10}H_8O_3$	I.	II
C 68,19	68,22	68,17
H 4,55	4,57	4,46

Die Analyse des Einwirkungsproducts von Essigsäureanhydrid auf Pinastrinsäure ergab:

0,1102 g gaben 0,2709 CO_2, entsprechend 0,07387 C und 0,0469 H_2O, entsprechend 0,005222 H.

Berechnet für	Gefunden
$C_{19}H_{16}O_6$	
C 67,07	67,04
H 4,72	4,74

Was den Gehalt der *Cetraria pinastri* an Pinastrinsäure betrifft, so ist derselbe relativ gering. Aus 178 g der bei St. Anton am Arlberg auf Fichten gesammelten und sorgfältig vom Substrat befreiten lufttrocknen Flechte wurden nur 0,7 g gewonnen, also noch nicht ganz $^1/_2$ Prozent.

Der Umstand, dass die im Hochgebirge auf Wachholder wie auf Erde wachsende Wachholder-Cetrarie (*Cetraria juniperina* Ach., *Platysma juniperinum* Nylander, Arnold) eine ganz ähnliche, wenn auch meist weniger intensiv gelbe Färbung aufweist, wie die ihr verwandte Kiefern-Cetrarie, liess auch bei ersterer Pinastrinsäure-Gehalt vermuthen. In der That konnte ich aus dem von Herrn Dr. Arnold bei Wolkenstein in Tirol und von ihm und mir auf dem Almajerjoche bei St. Anton aufgenommenen Material durch Extraction mit Aether eine goldgelbe Substanz gewinnen, welche nach dem oben angegebenen Verfahren gereinigt in Bezug auf Schmelzpunkt, Krystallform, Löslichkeitsverhältnisse, Ort der Ablagerung in der Flechte (im Mark) vollständig mit Pinastrinsäure, übereinstimmte. Ausschlaggebend für die Identität beider Körper war jedenfalls der Umstand, dass die durch Kochen mit Essigsäureanhydrid gewonnene Verbindung den nämlichen Schmelzpunkt (171—173°), dasselbe Aussehen (grünliche Nadeln) und die gleichen Löslichkeitsverhältnisse zeigte, wie das entsprechende Product der aus *Cetraria pinastri* gewonnenen Pinastrinsäure.

Bekanntlich sind die Ansichten darüber, ob *Platysma pinastri* (Scop.) Nyl. und *Platysma juniperinum* (L.) Nyl. als specifisch verschieden zu betrachten seien oder aber nur Varietäten ein und derselben Species, nämlich der *Platysma juniperinum* (L.) Ach. darstellen, unter den Lichenologen getheilt. Th. Fries[1] z. B. ist der letzteren Ansicht, während Nylander, Körber,[2] Arnold und Andere an der ersteren festhalten.

Aus vorstehender Untersuchung dürfte jedenfalls folgen, dass beide Flechten nach der physiologischen Seite hin ziemlich nahe Verwandtschaft zeigen, insofern beide dieselben Stoffwechselproducte bilden: die krystallisirende Pinastrinsäure einerseits und die krystallisirende Usninsäure andererseits; wobei auch noch zu beachten ist, dass die Production dieser beiden Stoffe an derselben anatomischen Stelle erfolgt.

Auf der anderen Seite darf man jedenfalls den physiologischen Standpunkt nicht einseitig betonen. Denn morphologisch und biologisch weichen beide Formen nicht unwesentlich von einander ab. Der Thallus ist bei *P. juniperinum* im Gegensatz zu *P. pinastri* mehr aufrecht, starr, vielfach zerschlitzt, kraus, und dabei ohne Soredienbildungen, welche man an den Thallusrändern letzterer Species so reichlich antrifft. *P. pinastri* hat hat daher ein reiches Vermehrungs- und Verbreitungsmittel zur Verfügung, während *P. juniperinum* im Wesentlichen auf die Schlauchsporen angewiesen ist. Wenn *Pl. juniperinum*

1) Systema lich. Germ. p. 47.
2) Lichenographia scandinavica p. 104.

sich aus den Soredien von *Pl. pinastri* entwickeln könnte, so müsste man Ersteres in höheren Gebirgen wie im Riesengebirge und Schwarzwald, wo sich *Pl. pinastri* in Höhen von 900 m und darüber überall reichlich vorfindet, doch hin und wieder auf *Juniperus* oder auf dem Boden angesiedelt finden, allein es ist in beiden Gebirgen niemals gefunden worden, und ich selbst habe mich in dieser Beziehung vergebens bemüht.

Zu den gelb gefärbten *Platysma*-Arten gehört auch das alpine *Platysma nivale* (L.) Nyl. (*Cetraria nivalis* [L.] Ach.). Allerdings tritt bei ihm das Colorit weniger intensiv hervor, als bei *Pl. pinastri* und *Pl. juniperinum*, aber doch immerhin so deutlich, dass es in den lichenologischen Werken als schwefelgelb, blass strohgelb oder gelblichweiss bezeichnet werden konnte. Es war also nach dieser Färbung die Möglichkeit des Vorhandenseins von Pinastrinsäure nicht von vornherein ausgeschlossen.

Bei der Prüfung hierauf habe ich mit Material gearbeitet, das ich am Gipfel der Schneekoppe in grösserer Menge sammelte. Es sah blass- aber deutlich gelb bis gelbgrünlich aus.

Um etwa vorhandene Pinastrinsäure sicher zu gewinnen, bediente ich mich natürlich desselben Verfahrens, welches bei *Pl. pinastri* und *juniperinum* in Anwendung gekommen war, also Erschöpfung der lufttrockenen Thalli mit heissem Aether, Abdestilliren des Lösungsmittels und Umkrystallisiren des Rückstandes, der übrigens auffälliger Weise nichts von deutlich gelber Farbe zeigte, aus Aether und Alcohol. Es war indessen nicht möglich, auch nur eine Spur von Pinastrinsäure nachzuweisen.

Ebenso habe ich aus dem allerdings mehr graugrünen *Platysma Oakesianum* Tuck., welches ich in reichlicher Menge durch die Gefälligkeit des Herrn Lehrer Schnabl in München, an Fichten bei Oberammergau gesammelt, erhielt, absolut nichts von genannter Säure erhalten.

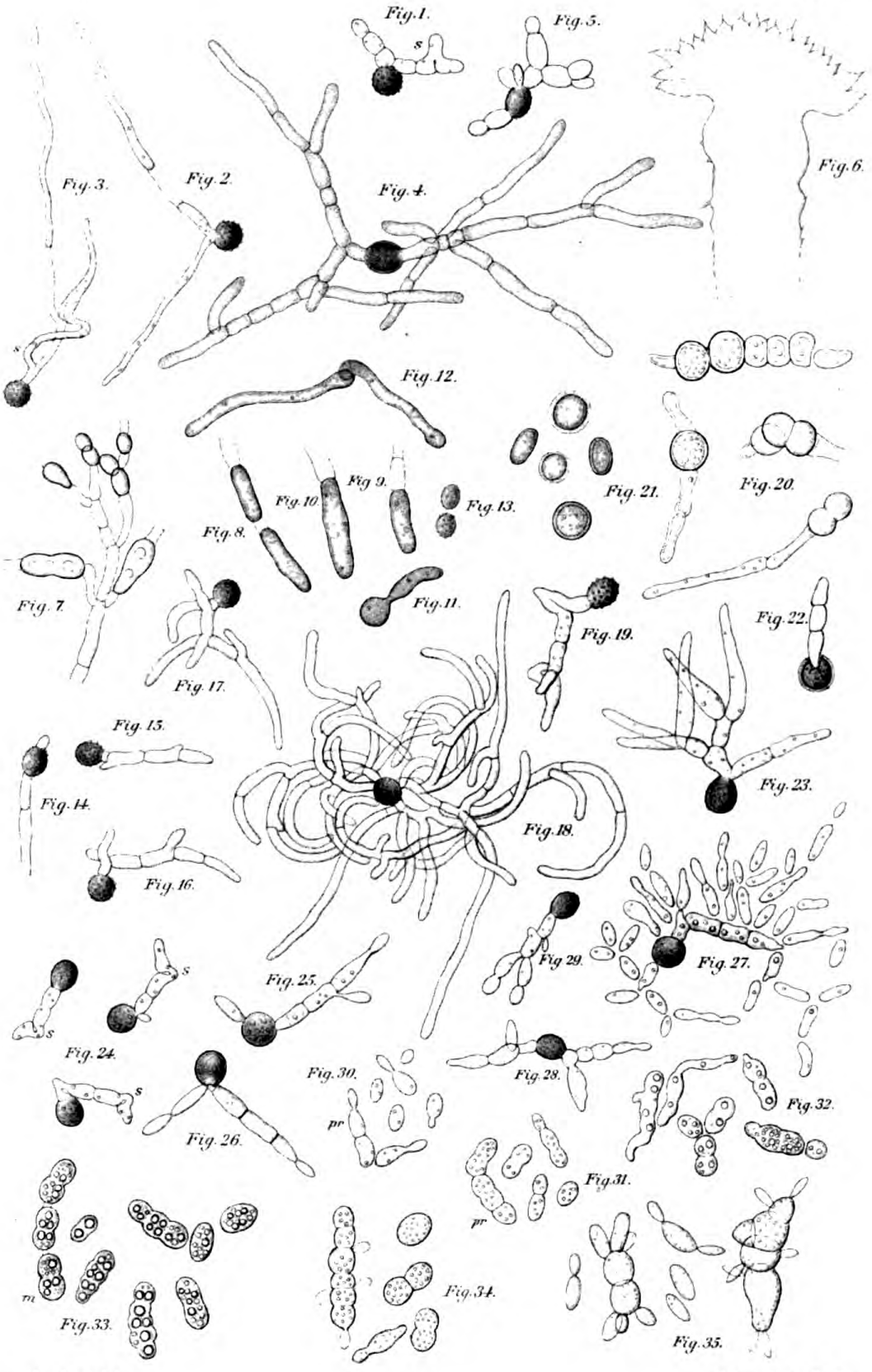
Durch die Güte des Herrn Prof. J. Müller in Genf wurde es mir ermöglicht, auch noch vier ausländische mehr oder weniger gelbe *Platysma*-Arten auf Pinastrinsäure zu prüfen, nämlich *Pl. citrinum* (Tayl.) aus Java, *Pl. aurescens* (Tuck.) aus Nordamerika, *Pl. chrysanthum* (Tuck.) (= *Plat. septentrionale* Nyl.) aus Japan und *Pl. evernielllum* Nyl. (= *Evernia Stacheyi* Bab.) vom Himalaya. Die seltenen Species konnten natürlich nur in Proben untersucht werden und zwar nur mikroscopisch. Aber eine solche Untersuchung genügt in diesem Falle vollständig, weil die Gegenwart von Pinastrinsäure sich sofort auf Querschnitten durch die Gelbfärbung des gesammten Markes verräth. Das Mark der erstgenannten drei Arten ist aber völlig farblos, an den Hyphen desselben kommt ein weisser krystallinischer Körper zur Ausscheidung. Bei der letztgenannten Species ist das Mark im grösseren oberen Theile ebenfalls farblos, im unteren sehr schwach gelblich gefärbt von einer an den Hyphen ausgeschiedenen krystallinischen Substanz, die nichts mit Pinastrinsäure zu thun hat.

Aber nicht bloss in der Gruppe der Laubflechten, sondern auch im Bereiche der Krustenflechten findet Pinastrinsäure-Production statt, und zwar habe ich dieselbe bei einer gelben Lepra nachweisen können, welche mir Herr Dr. Arnold unter dem Namen der *Lepra flava* auct. von Kiefern aus der Umgebung Münchens zusandte. Dieselbe stellt vielleicht den leprösen Zustand eines *Calycium* dar. Sie bildete auf den Rindenstücken intensiv goldgelb gefärbte pulverige Ueberzüge, die in Gesellschaft von *Cyphelium chrysocephalum* auftraten. Nachdem Letzteres sorgfältig hinweggenommen war, zog ich, um nichts von dem Material zu verlieren, gleich die ganzen Rindenstücke mit Aether aus. Der beim Abdestilliren desselben erhaltene Rückstand gab schon nach zweimaligem Umkrystallisiren aus absolutem Alcohol reine Pinastrinsäure vom Schmelzpunkt 202—204°. Die Identität mit derselben wurde noch dadurch sicher gestellt, dass ich beim einstündigen Kochen der Substanz mit Essigsäureanhydrid am Rückflusskühler feine seidenglänzende, in Masse grünliche Nadeln vom Schmelzpunkt 171—173° erhielt, also denselben Körper, der auf gleichem Wege aus der Cetraria-Pinastrinsäure gewonnen worden war.

Ich zweifle nicht, dass sich der in Rede stehende Stoff auch noch bei anderen gelben Flechten auffinden lassen wird.

Zum Schlusse möchte ich noch folgenden Herren meinen besten Dank aussprechen: Dr. F. Arnold in München, dessen gütigen und z. Th. recht grossen Bemühungen ich den weitaus grössten Theil der Materialien zu vorliegender Abhandlung verdanke; unter seiner kundigen Führung hatte ich das Glück, in den letzten grossen Ferien die alpine Flechtenflora der Urgebirgs- und Kalkformation um St. Anton am Arlberg in Tirol kennen zu lernen und gleichzeitig Gelegenheit, noch weitere Materialien für meine Flechtenstoffuntersuchungen zusammenzubringen. Ferner Prof. J. Volhard, der mir mit gewohnter Liberalität die reichen Mittel des chemischen Instituts zur Verfügung stellte; seinem Assistenten, Dr. F. Henke, welcher alle vorstehend mitgetheilten Analysen ausführte; Prof. O. Lüdecke, der einige der neuen Körper krystallographisch untersuchte, sowie endlich den Herren Dr. W. Nylander in Paris, Prof. J. Müller in Genf, Sandstede in Zwischenahn, Lehrer Schnabl in München, die mich mit einigen sehr seltenen Flechten versahen.

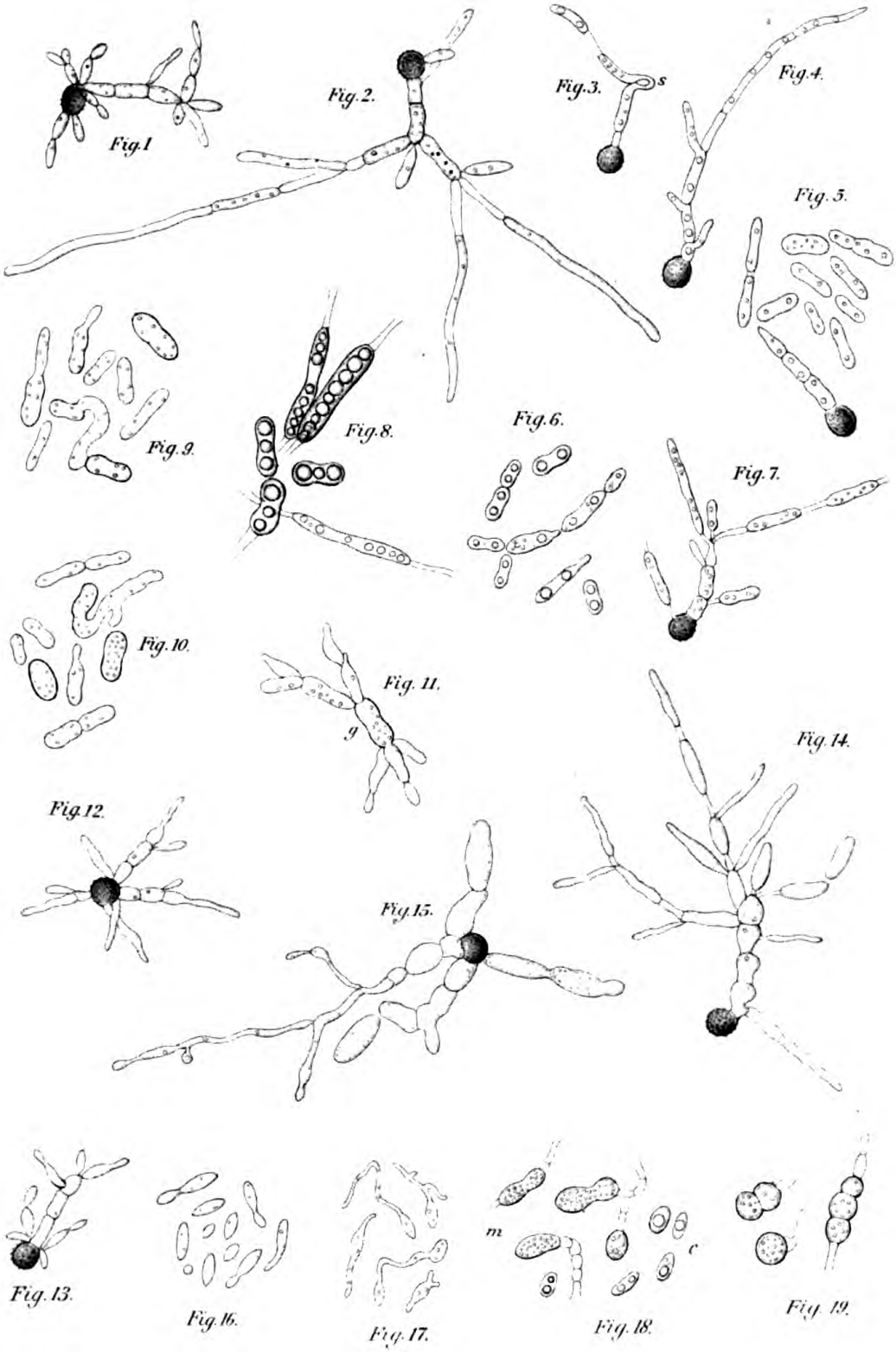
Halle a. S., Buchdruckerei des Waisenhauses.



Herzberg del.

E. Laue lith. Berlin

Taf. II.



Herzberg del.

E. Lauc lith. Berlin







