

**Studien über die Schwefelrasenbildung und
die Schwefelbakterien der Thermen
von Yumoto bei Nikko.**

von

Manabu Miyoshi, Rigakushi, Rigakuhakushi.

Professor der Botanik an der naturwissenschaftlichen Facultät der
Kaiserlichen Universität zu Tokio.

Mit Tafel XIV.

Einleitung.

Als ich im Monate August 1895 mich im Bad Yumoto bei Nikko aufhielt, wurde meine Aufmerksamkeit auf die auffallende Schwefelrasenbildung in diesen thermalen Gewässern gelenkt. An den Stellen, wo das heisse, stark nach Schwefelwasserstoff riechende Wasser aus den am Bergfusse des Yudaké reihenweise gelegenen Schwefelquellen heraussickert, bedecken sich Reservoirbasins, Wasserableiter, Pflanzenreste, Steinfragmente u. A. mit einem feinen Schwefelanflug in Form von bis mehrere Centimeter langen Franzen, Fetzen und Lappen, (Fig. 1), die ich der Kürze halber als Schwefelrasen bezeichne. Diese Rasenbildung kommt dadurch zu Stande, dass aus dem im Wasser reichlich enthaltenen Schwefelwasserstoff sich Schwefel abscheidet, der auf die Gallertsubstanz einer im heissen Wasserstrom vegetirenden Bacterienart sich absetzt und zum völligen Inkrustiren führt. Die Bacteriengallerte, welche mit

der in den Schwefelthermen europäischer Länder vorkommenden „barégine“ genannten Schleimmasse¹⁾ vielleicht identisch sein könnte, hat eine besondere Fähigkeit sich mit dem Schwefelmantel zu bekleiden und zwar so vollständig, dass der Process sich bis auf die dünnsten Fäden erstreckt.

Ausser diesen Gallertbacterien kommen auch gewöhnliche Formen von Schwefelbacterien vor, nämlich *Beggiatoen* und *Thiothrixen* (Winogradsky) (Fig. 13, 14), die in den lauwarmen Abflüssen des Quellwassers sowie in einem kleinen See Yugo, in den das noch mit H₂S beladene Waasser hineinfliesst, ihren Wohnsitz finden.

An rothen Schwefelbacterien fehlt es in der Umgebung von Yumoto auch nicht. In den Gräben und Tümpeln, die thermalen Abwässer empfangen, fand ich pfirsichblüthrothe Flecken welche ich bei der Untersuchung als *Chromatium Weissii* (Fig. 15) erkannte.

Um die Schwefelbacterien-Flora von Yumoto zu durchforschen und besonders die obenerwähnte Schwefelrasenbildung genauer zu beobachten, reiste ich in diesem Sommer wieder nach Yumoto, wo ich während eines mehrtägigen Aufenthaltes noch viele andere Arten, die bei dem früheren Besuch meine Aufmerksamkeit sich entzogen, fand und auch einige Versuche anstellte, die nur an den Fundorten selbst gemacht werden konnten.

Auch an anderen Thermen, die ich im letzten Jahre zu besichtigen die Gelegenheit hatte, fand ich eine ähnliche Schwefelrasenbildung. Da aber meine diesbezüglichen Studien fast ausschliesslich in Yumoto gemacht wurden, so theile ich im folgenden hauptsächlich die auf diesen Ort bezüglichen mit, während die Beobachtungen von anderen Orten nur nebensächlich erwähnt werden.

Da ich in dieser Abhandlung nur die Art und Weise des

1) Certes und Garrigou, Comptes rendus. CIII. 1886. p. 107.

Vorkommens von Schwefelrasen ausführlicher beschreibe, dagegen auf die Morphologie und Physiologie der Rasen bildenden Bacterien wenig Rücksicht nehme, möchte ich mir fernere Untersuchungen hierüber vorbehalten.

Die unten erwähnten physiologischen Studien an den rothen Schwefelbacterien wurden im botanischen Institute in Tokio ausgeführt.

Litteratur.

Biologische Untersuchungen des Thermalwassers sind im Deutschland, in der Schweiz, in Italien u.s.w. schon früher vielfach unternommen und das Vorkommen von niederen Algen und Bacterien in den heissen Wässern von Carlsbad, Landeck und anderen Thermen ist längst bekannt, wie besonders aus den Untersuchungen von Cohn¹⁾ zu ersehen ist.

Bekannt ist auch die Thatsache, dass diese im Thermalwasser vegetirenden Schizophyten und ihre Zoogloeenmassen von Schwefel, Kalk, Kieselsäure, Eisenoxyd und desgl. verschiedentlich inkrustirt vorkommen.

Was besonders die Schwefelthermen anbetrifft, so liegen uns nur vereinzelte Beobachtungen vor²⁾ und überhaupt in der botanischen Litteratur findet sich meines Wissens nirgend eine genaue Angabe über die Schwefelrasenbildung. Certes und Garrigou³⁾ berichten in ihren Untersuchungen über die Schwefelthermen von Luchon, dass bei einer Wassertemperatur von 50°C die schleimigen, „barégine“ genannten Zoogloeenmassen auftreten, welche thatsächlich von ver-

1) Abhandl. d. schles. Gesells. f. vaterl. Cultur 1862; auch Flora 1862. p. 339. Jahresb. d. schles. Gesells. f. vaterl. Cultur 1874; botan. Sect. Nov. p. 32; und auch 1876. p. 115-118. Vergl. auch Hansgirg, Physiologische und algologische Studien 1887. p. 139.

2) z.B. Chr. Müller, Chemisch-physikalische Beschreibung der Thermen von Baden in der Schweiz 1870. p. 10 etc. Vergl. auch Loeffler's allerneuestes Werk, Das Wasser und die Mikroorganismen, (Handbuch der Hygiene I. Bd. 2. Abth. 1896. p. 701).

3) Comptes rendus. CIII. 1886. p. 703.

schiedenen Organismen erzeugt sind. Andererseits theilen Peroncito und Valalda ¹⁾ über die Muffe—oder Schwefelleberbildung in den Thermen von Valdieri in Piemont mit, dass bei 55°C die Muffe eine hochrothe Farbe annahm und keinen Organismus enthielt; und erst bei niederen Temperaturen, wenn die Muffe eine braune Farbe führt, die Gallerte bildenden Bacterien und *Leptothrix Valderia*, nebst grünen Organismen auftraten. Da diese und andere Beobachtungen mit unserer Schwefelrasenbildung keine direkte Beziehung zu haben scheinen, so werde ich hier darauf nicht näher eingehen.

Die einschlägige Litteratur über die physiologisch merkwürdigen, von Winogradsky „Schwefelbacterien“ genannten Organismen ist nicht besonders reich. Aeltere Beobachtungen finden wir in den Adhandlungen von Perty ²⁾, Ray Lankester ³⁾, Cohn ⁴⁾, Warming ⁵⁾, Engler ⁶⁾, Engelmann ⁷⁾, Zopf ⁸⁾ u. A. Aber eine gründliche und kritische Untersuchung verdanken wir erst Winogradsky ⁹⁾ der nicht bloß durch die direkten Versuche die Physiologie

1) Notarisia II. 1887. p. 333-317. Referat in Jost, botan. Jahresh. 1887. I. p. 103. Mir war nur das Referat zugänglich.

2) Kleine Lebensformen 1852.

3) On a peach-coloured Bacterium, (Quarterly Journal of Microsc. Sc. Vol. XIII. New Series 1873). Further Observation on a peach or red-coloured Bacterium.—*Bacterium rubescens*, (Quart. Jour. of Microsc. Sc. Vol. XVI. New Series 1876).

4) Untersuchungen über Bacterien II, (Beitr. z. Biolog. d. Pflanzen Bd. I. Heft III. 1875. p. 156). In dieser Arbeit, sind seine früheren Untersuchungen über Schwefelbacterien berücksichtigt.

5) Om nogle ved Danmarks Kyster levende Bacterier 1876.

6) Ueber die Pilz-Vegetation des weissen und todtten Grundes in der Kieler Bucht, (IV. Ber. d. Commission 2 Unters. d. deutsch. Meeres in Kiel. Kiel 1883).

7) Over een nieuw voor licht gevoelig bacterium, (Proc. verb. k. Acad. v. Wetenschappen te Amsterdam. Afr. Naturk. Zittg. van 25 Maart 1882). *Bacterium photometricum*. Ein Beitrag zur vergleichenden Physiologie des Licht- und Farbensinnes, (Pflüger's Archiv. Bd. XXX. 1883. p. 95). Prüfung der Diathermanität einiger Medien mittelst *Bacterium photometricum*, (Dieselbe Zeitschrift, Bd. XXX. 1883. p. 125). Ueber Bacteriopurpurin und seine physiologische Bedeutung, (Dieselbe Zeitschrift, Bd. XLII. 1888. p. 183). Die Purpurbacterien und ihre Beziehungen zum Licht, (Bot. Ztg. 1888. p. 661).

8) Zur Morphologie der Spaltpflanzen 1882. p. 21 u. s. w.

9) Ueber Schwefelbacterien, (Bot. Ztg. 1897. p. 489). Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bacterien Heft I. Zur Morphologie und Physiologie der Schwefelbacterien 1888.

der Organismen in Bezug auf Schwefelwasserstoff einwandfrei klarlegte, sondern durch eine Reihe langer, ununterbrochener, mikroskopischer Kulturen die Morphologie derselben festzustellen suchte.¹⁾

Die Wirkung des Lichtes auf die rothen Schwefelbacterien wurde von Engelmann²⁾ bekanntlich besonders vom assimilationsphysiologischen Standpunkte aus zum Gegenstand eingehender Untersuchungen gemacht.

Das merkwürdige Verhalten derselben Organismen gegen wechselnde Sauerstoffspannungen geht auch aus der Untersuchung Winogradskys hervor; nur sind weitere Versuche nöthig, um festzustellen, ob die Organismen gegen den für sie so wichtigen Schwefelwasserstoff chemotaktisch reagiren und ob sie der chemischen Reizung durch andere Stoffe auch zugänglich sind.

Schwefelrasenbildung.

Die schönste und tüppigste Schwefelrasenbildung fand ich bei einer am westlichen Ende von Yumoto gelegten heissen Quelle (Arayu) sowie in einem noch ca. 50 Schritten weiten Schwefelsumpf. Ein minder auffälliges Auftreten beobachtet man an der Quelle Tsurunoyu, dicht an der Strassenmündung von Yumoto. Wie schon erwähnt, breiten die Rasenmäntel sich an den Aussenwänden der Reservoirfässer und hölzerner Ableiter aus, aber auch selbst auf der Erde, über welche das Schwefelwasserstoff haltige, heisse Quell-

1) Nachdem Winogradsky im Jahre 1888 durch langdauernde mikroskopische Kulturversuche die früher bestrittene Formenkonstanz der Schwefelbacterien festgestellt hatte, ist seither kein wichtiger gegentheiliger Befund darüber bekannt geworden, bis in jüngster Zeit Zopf (Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen 5 Heft 1896. p. 37.) beweisen konnte, dass eine „regressive Entwicklung“ bei den rothen Schwefelbacterien wirklich stattfindet. Ueber die Formenfrage vom gegenwärtigen wissenschaftlichen Standpunkte aus vergleiche man Hüppe, Naturwissenschaftliche Einführung in die Bakteriologie 1896. p. 14 u. 85; Flüggé, Mikroorganismen 3. Aufl. 1896. Erster Theil p. 76 u. s. w.

2) l. c.

wasser schnell abläuft. Zwei Bedingungen müssen betreffs der Rasenbildung erfüllt sein: erstens muss das Wasser stets fließend sein, zweitens, die Wassertiefe nur sehr gering bleiben. Im tieferen, fließenden Wasser bilden sich die Rasen nur auf den unmittelbar unter der Wasseroberfläche befindlichen Gegenständen und in stehenden Gewässern kommen sie überhaupt nicht vor.

Die Maximaltemperatur, bei welcher eine Rasenbildung stattfindet fand ich dicht bei der Arayu-Quelle zu 69.8°C. An den anderen Orten war die Wasserwärme resp. 68.2°, 67°, 66.1°, 61.5°, 59°, 58.2°, 56°, 55°, 52°, 51°C. Bei Bad Shibu und Bad Idsusan, wo ebenfalls die Schwefelrasenbildung vorkommt, beobachtete ich die Wassertemperatur zu resp. 68° und 60°. Die Temperaturgrenzen für die Rasenbildung liegen daher zwischen ca. 70°¹⁾ und 51°.

Was nun die Farbe der Schwefelrasen anbelangt, so ist sie je nach den Fundorten verschieden. In schnell fließender Strömung sieht sie leicht gelb-weiss (Fig. 1), bis fast rein weiss aus, die gelbliche Färbung nimmt dagegen stetig zu bei langsamerer Strömung. So fand ich, an der Unterseite eines viereckigen, hölzernen Ableiters, aus welchem eine Menge des heissen Quellwassers auslief, das auf den Aussenwänden sich verbreitete, eine üppige, gelbliche Rasendecke, während die Innenwände derselben mit weissen Schwefelfilzen bekleidet waren.

Dieser Farbenunterschied beruht, wie die mikroskopische Untersuchung lehrte, auf der Art und Weise der Schwefelabsatzbildung. Im langsamen Strome bilden sich feine, ziemlich grosse Krystalle,

1) Bekanntlich vegetiren *Oscillarien* und *Leptothrixen* in heissen Thermalwässern deren Temperatur jedoch selten über 60°C. liegt. Doch sollen gewisse Schizophyceen nach einigen Beobachtern bei weit höheren Temperaturen von 80°-90°C. sogar 93° noch vorkommen. Vergl. Warming. Lehrbuch der ökologischen Pflanzengeographie. Uebersetzt von Knoblauch. 1896. p. 157. Die Angabe der älteren, diesbezüglichen Beobachtungen findet man in Pfeffers Pflanzenphysiologie Bd. II. 1891. p. 432 u. a. w. Vergl. auch Kerner von Marilaun, Pflanzenleben Bd. I. 1883. p. 517.

zumeist in rhombischen Octaëdern oder auch in monoklinen Prismen, die das Licht stark brechen und die eigenthümliche Farbe des Elementes darstellen (Fig. 2, 5); hingegen im schnell fließenden Wasser wird der Schwefel in winzigen, amorphen Theilchen mit Beimengung unvollkommen ausgebildeter Prismen abgesetzt; diese kleinen Körnchen reflectiren das Licht stark und verleihen dem Ganzen eine mehr weisse Färbung (Fig. 3, 4). Zwischen diesen beiden Extremen treten aber alle Uebergangsstadien auf. Die grauweissen Rasen, die man oft finden kann, sind nur durch Schmutz verunreinigte, sonst normale Rasen; die Beschmutzung geschieht besonders bei heftigem Regen, welcher bisweilen eine prachtvolle Rasendecke vernichtet.

Die Länge der Rasen ist wieder von der Schnelligkeit des Stromes abhängig. Die gewöhnliche Länge in ziemlich schnell fließendem Wasser beträgt ca. 3 bis 5 cm. Sie bleiben kurz ca. 0.5 bis 2 cm bei langsamer Strömung und erreichen in schnellen Bächlein mehr als 20 cm. Besonders elegant gestalten sich diese langen, gelbweissen Schwefelrasen, wenn sie der Stromsrichtung folgend, auf zahlreichen, einzelnen Fasern zitternde Bewegungen zeigen.

Die Rasen sind ursprünglich durch die schleimige Bacteriengallerte auf Holz, Steinen oder andern submersen, fremden Gegenständen, so fest angeheftet, dass sie trotz des in Folge der Volumenvergrößerung immer zunehmenden Zuges von den Ansatzstellen nicht leicht fortgerissen werden können.

Untersucht man ein kleines Büschel Schwefelrasen, das durch sorgfältiges Präpariren mittelst Nadelspitzen in feine, einzelne Fasern getrennt werden kann, so sieht man, dass an der Peripherie der aus Schwefelkryställchen und schwefelkörnchen bestehenden Hauptstückes, eine unzählige Menge von sensenförmigen Bacterienzellen anhaftet

(Fig. 6). Bei genauerer Untersuchung aber überzeugt man sich, dass die Matrix der Rasen ursprünglich von einer Bacteriengallerte gebildet war und die Schwefelauflagerung nachträglich stattgefunden hat.

Dies kann man leicht beweisen, wenn man einen solchen Büschel auf dem Objectträger trocknen lässt und dann etwas Schwefelkohlenstoff zusetzt.¹⁾ In dem so behandelten Praeparate wird die Schwefelauflagerung mehr oder weniger vollständig aufgelöst und die übrige Gallertmasse mit Bacterienzellen tritt bei der Färbung mit Jod scharf hervor. Am besten aber wähle man zur Untersuchung solche Rasenstücke, welche erst geringe Schwefelinkrustation zeigen (Fig. 2, 6). An derartigen Exemplaren, die nur an bedeckter, vor freiem Luftzutritt mehr oder weniger geschützter Lage zu finden sind, sieht man gleich, ohne eine weitere Behandlung, den centralen, farblosen Gallerttheil mit den darin eingebetteten Bacterien und die äusserlich stellenweise angelagerten Schwefelkryställchen.

Dass die einzelnen Bacterienzellen mittelst der gemeinsamen, schleimigen Gallerte zusammen gehalten sind, kann man unter dem Mikroskop demonstrieren, indem man entweder gelinde auf die Deckgläschen stösst oder mittelst einer Fliesspapierstreifen einen raschen Wasserstrom durchleitet; dann machen die Bacterienzellen jedesmal zitternde Bewegungen ohne jedoch dadurch losgerissen zu werden.

Die Gallerte hat eine schleimige, etwas zähflüssige Konsistenz und zieht sich zu einem Kügelchen zusammen wenn man sie aus dem Wasser herausnimmt. Sie ist z. Th. löslich in conc. Kalilauge und in Salzsäure; bleibt in kochendem Wasser scheinbar unverändert; färbt sich mit Jod gelb, mit Jod und Schwefelsäure ziegelroth bis braun, mit Corallin hochroth, mit Hanstein's Anilingemisch scharlachroth, mit Congo roth: kurz, sie giebt alle charakteristischen

1) Vergl. Cohn, Untersuchungen über Bacterien II, (Beitr. z. Biolog. d. Pflanzen. Bd. I. Heft III. 1875. p. 179).

Farbenreactionen der Schleimssubstanz.¹⁾

Die schleimige Gallerte enthält hauptsächlich cylindrische, senfenförmig gebogene, oder vibrionenartige, an beiden Seiten abgerundete, farblose Zellen von verschiedenen Dimensionen, 6 bis 28 μ in Länge, (mittlere Grösse 20 μ lang und 1,4 μ breit), und mitunter auch fadenförmig gestreckte *Leptothrix*-ähnliche Zellen.

Bei Zimmertemperatur untersucht führten einige von den vibrionenartigen Zellen schwingende und umdrehende Bewegungen aus, welche bei den grösseren Zellen langsamer und bei den kleineren lebhafter zum Vorschein kamen. Nach der Anwendung von A. Fischers²⁾ Geiselfärbungsmethode konnte ich bei verschiedenen Individuen dicht um den Körper ausgewachsene Geiseln beobachten.

Ausserdem fand ich in den Gallertmassen noch folgende Zellarten, die jedoch in den an verschiedenen Standorten gesammelten Proben in verschiedenen Mengenverhältnissen vorhanden waren:— sehr kleine, stübchenartige Zellen, die oft so massenhaft auftraten, dass das Ganze wie eine *Zoogloea Termo* Cohn³⁾ aussah; dünne, lange, Fäden öfters in einer mässigen Anzahl; winzige spirochaetenartige Zellen, die in einigen Gallertproben zerstreut gefunden wurden.

Die Zellformen in den schleimigen Gallerten sind daher von heterogenem Character und das ganze Bild ähnelt etwa der *Zoogloea ramigera* Itzigsohn, die Zopf⁴⁾ bekanntlich auf Grund seiner Untersuchungen für einen besonderen Zoogloeezustand von *Cladothrix dichotoma* Cohn hält. Ich machte bisher noch keine genauere Studien über die Entwicklungsgeschichte unserer Bacterien und

1) Behrens, Tabellen zum Gebrauch bei mikroskopischen Arbeiten. 2te. Aufl. 1892. p. 145.

2) Untersuchungen über Bakterien. Separat-Abdruck a. d. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXVII. 1894. p. 81.

3) Beiträge zur Biologie der Pflanzen Bd. I. Heft 2. 1874. Taf. III. Fig. 9.

4) Zur Morphologie der Spaltpflanzen 1882. p. 19. Taf. III. Fig. 13, 14, 15.

eventuell die Bildung des Gallertkörpers und so mag es noch dahingestellt bleiben, ob die Gallertmasse thatsächlich auch eine derartige Zoogloea sei, wie Zopf angiebt, und somit alle obenerwähnten Zellformen in einem genetischen Zusammenhange stehen, oder ob sie im Gegentheil den Wohnsitz einer Anzahl heterogener Spaltpilze vorstelle. Diese und noch andere morphologischen Fragen sind die Aufgabe weiterer Untersuchungen, die ich bei nächster Gelegenheit aufzunehmen gedenke.

Irgend einen fremden Einschluss enthalten unsere sensenförmigen Bacterienzellen nicht. Nur kommen einzelne, aber wenige Individuen vor, welche äusserlich mit Schwefelkörnchen versehen sind (Fig. 6, 7, 8). Die letzteren sind kugelig, verhältnissmässig gross, fest angehaftend, von eigenartigem, schwarzem Glanz und einreihig in fast gleicher Entfernung von einander getrennt. Diese Schwefelkörnchen scheinen auf den ersten Blick im Zellinneren aufgespeichert zu sein und es ist sogar in manchen Fällen nicht leicht, ihre wahre Lage zu beurtheilen.¹⁾ Jedoch beobachtete ich bis jetzt keinen sicheren Fall, wo die Körnchen wirklich im Zellinneren gelegen wären. Sollte der Fall vorkommen, so könnte man aus dem nur sporadischen Auftreten der schwefelhaltigen Individuen unseren Organismus als eine Art von Schwefelbakterien doch noch nicht betrachten. Wie dem auch sei, ist nur so viel wahrscheinlich, dass die Zufuhr von H_2S zur Lebens-thätigkeit nothwendig ist, da ich den betreffenden Organismus bisher in keinen anderen als H_2S -haltigen, heissen Quellen gefunden habe.

Hier taucht die Vermuthung auf, dass unsere Bacterien vielleicht den H_2S *direkt* zu Schwefelsäure oxidiren, ohne erst Schwefel abzuscheiden. Denn, es ist ja wohl begreiflich, dass einerseits, die hohe Energie des Bacterienprotoplasmas, welches bei so ungewöhnlichen

1) Vergl. Winogradsky, ü. Schwefelbact. l.c. p. 588-589.

Temperaturen wie 51° bis ca. 70°C thätig ist, anderseits, der Ueberschuss an Sauerstoff, von dem die Bacterienrasen nur durch eine dünne Wasserschicht getrennt sind, den genannten Oxidationsprocess leicht zu Stande bringen könnten. Somit würde in derselben Zeit hier noch weit mehr Energie gewonnen als bei jenen Schwefelbacterien (z.B. *Beggiatoa*), die bei mangelhaftem O-Zutritt aus dem H_2S zuerst Schwefel abscheiden, um dann später denselben zu SO_4H_2 oxidiren.¹⁾

Der Umstand, dass unsere Bacterien nur in fliessendem Wasser gedeihen, ist vielleicht z. Th. darauf zurückzuführen, dass so die in den Zellen entstehende SO_4H_2 viel rascher neutralisirt werden kann, durch die im Wasser vorhandenen Bicarbonate²⁾, was wegen der Giftwirkung der freien Säure unbedingtes Erforderniss ist.

Eine andere Art von Gallertebacterien kommt im Bad Idsusan vor, wo ich an der Aussenseite eines Centralreservoirs des Thermalwassers ebenfalls die Schwefelrasenbildung beobachtete. Die Rasen sind weissgelb und 1 bis 2 cm. lang (Fig. 9); die sensenförmigen Zellen sind aber äusserst klein, nur ca. 4μ lang und $0,3 \mu$ breit, (Fig. 10, 11). Ob bei ihnen Schwefelkörnchen auch ausnahmsweise aufgelagert werden, konnte ich der Kleinheit wegen nicht entscheiden.

In den weniger heissen, aber stark sauren Schwefelthermen vegetirte eine echte *Leptothrix*art, welche eine lockere Schwefel-

1) Die direkte Oxidation von H_2S zu Schwefelsäure geht unter allen Umständen leichter vor sich, als die des fein vertheilten Schwefels, vorausgesetzt, dass genügende Sauerstoffmengen vorhanden sind.

2) Das Goshono-Yu Wasser (Yunoto) enthält in 1 Liter 0,0624 gr. von Calciumbicarbonat, („Nippon Kōsenshi“ oder „Die Mineralwasser-Quellen Japans.“ Eine amtliche Mittheilung vom hygienischen Bureau des Ministeriums des Inneren Bd. II, 1885. p. 3.)

auflagerung auf ihren Zellwänden hat, aber wegen des Mangels an Gallertsubstanz keine Schwefelrasenbildung veranlasst.¹⁾

Um nun die Art und Weise der Schwefelauflagerung auf der Bacteriengallerte zu studiren, suchte ich zuerst vergeblich die schwefelfreie Gallertmasse, die ich endlich in einem mit Brettern bedeckten Ableiter des Arayu-Wassers fand. In dem oberen Theile der Wasserleitung innerhalb einer Strecke von etwa 2 Meter, wo ein beschränkter Luftzutritt gestattet war, sah ich im schnell fließenden Wasser von 69° bis 69,8°C eine reichliche Entwicklung der farblosen Gallertbakterien, die dicht an der Innenwand des hölzernen Ableiters anhafteten. Weiter unten, wo die Wassertemperatur unter 68° sinkt, beginnt schon stellenweise Schwefelabscheidung, welche besonders auf den der Wasseroberfläche näheren Gallertmassen stattfand. Eine vollkommene Schwefelrasenbildung geschah aber nicht eher, als etwa in einer vom Reservoir 5 Meter weit entfernten Stelle.

Die oben erwähnte scheinbar farblose Gallerte enthielt doch, nach meinen mikroskopischen Untersuchungen, winzige Schwefelkörner, die vereinzelt auf der Oberfläche saßen. Das Unterbleiben des massen-

1) Im Bad Kusazu, dessen Thermalwasser durch seinen starken Säuregehalt bekannt ist, [freie Schwefelsäure 1,3 bis 2,1 gr. pro Liter, freie Salzsäure 0,8 gr., Schwefelwas-erstoff nur 0,004 gr. („Die Mineralwasser-Quellen Japans,“ I. c. Bd. II. 1885. p. 49 u. s. w.)], kommt eine üppige Vegetation einer *Leptothrix*-art bei Wassertemperaturen von ca. 25° bis 53°C vor. Ihre schlanken, dünnen, oft mehreren Decimeter langen dicht mit feinem Schwefelpulver bedeckten Fäden stehen im ruhigen oder nur langsam fließenden Wasser fast senkrecht oder etwas schräg nach oben und führen sanfte Bewegungen mit der Stromrichtung aus. Der Schwefel ist auf die Zellwandung nur locker aufgelagert und wird durch eine schwache Erschütterung losgerissen. Die Fäden sind unverzweigt, cylindrisch und gleichmäßig dick, von nur 0,7 μ im Durchmesser; das basale Ende, d. h. die Ansatzstelle ist nur wenig verdickt; mit Jod gefärbt tritt die Pseudogliederung hervor. Diese Art nenne ich *Leptothrix sulphurea*. Später fand ich dieselbe auch in dem stark sauren Thermalwasser (22° bis 42°C) in den Solfatarengenden von Hakone. Dagegen traf ich diese nicht in Yumoto (Nikko) dessen Quellwasser nur sehr schwach sauer reagirt, welches aber wegen des reichen Gehaltes an H₂S (etwa 0,04 gr. pro Liter, also 10 mal mehr als Kusazu-Wasser), ein üppiges Auftreten einer Schwefelbacterienflora ermöglicht. Umgekehrt sucht man diese Organismen vergeblich in Kusazu oder den Hakone-Solfataren, deren Gewässer zu wenig H₂S und zu viel Säure enthalten.

haften Incrustirens hat seinen Grund in dem mangelhaften Luftzutritt, wodurch die Oxidation des H_2S erschwert wurde. Denn einen deutlichen Niederschlag von Schwefel konnte ich beobachten, wenn ich eine Flasche mit demselben Wasser füllte und ohne einen Deckel im Ableiter selbst stehen liess. Weitere Versuche führte ich folgendermassen aus:—

1) Ein Büschel der schwefelfreien Gallerte von der oben genannten Stelle wurde bei derselben Temperatur $69^\circ C$ in einen anderen Theil der Wasserleitung übergeführt, welcher offen und der Luft exponirt war. Hier war nach einer halben Stunde eine deutliche Schwefelauflagerung wahrzunehmen.

2) Einige andere Büschel derartiger schwefelfreier Gallerte wurden in eine offene Quelle von $59^\circ C$ in den Schwefelsumpf gebracht und einem schnellen Wasserstrom ausgesetzt. Nach $\frac{1}{4}$ Stunde schon nahmen die Gallertmassen ein milchweisses Aussehen an. Die Schwefelausscheidung nahm stetig zu und nach einer Stunde waren die Gallertbüschel so reichlich incrustirt und von der ursprünglichen flockigen Gestalt so verschieden, dass ich ihn von den nebenstehenden Schwefelrasen nicht mehr unterscheiden konnte.

3) Eine Anzahl feiner Zwirnfäden wurden resp. mit Stärkekleister, halb coagulirtem Eiweiss, conc. Gelatinelösung oder dickem Leim bestrichen und zugleich an derselben Stelle wie Versuch 2 während $\frac{1}{2}$ Stunde schweben lassen. Auf allen diesen Objecten fand eine nur sehr unbedeutende Schwefelabscheidung statt, keineswegs mit der reichlichen, wie sie auf der Bacteriengallerte selbst (Versuch 1) stattfand, vergleichbar.

4) Papier-oder Zwirnfasern die nicht mit einer Gallertsubstanz befeuchtet waren, zeigten nach 1 Stunde nur spärliche Schwefelkörner.

Aus diesen Versuchen sehen wir, dass die Fähigkeit, sich mit dem Schwefelmantel zu umkleiden, wenigstens bei allen von mir benutzten

Gallertarten weit zurücksteht hinter derjenigen der Bacteriengallerte; diese merkwürdige Schwefelanhaftung muss daher durch die specifischen Eigenschaften der Gallertsubstanz zu Stande kommen.

Diese Schwefelincrustirung muss an den offenen Stellen von Anfang der Gallertentstehung an von Statten gehen. Irgend eine nachherige Vergrösserung der ganzen Gallertmasse hat auch immer eine entsprechende Volumenzunahme des Schwefelrasens zur Folge. Und da diese Schwefelbedeckung sich bis auf die feinsten einzelnen Fasern erstreckt, so sucht man vergeblich in einem unbedeckten Quellabflusse ursprüngliche schwefelfreie Gallerte.

Dass diese dichte Schwefelumkleidung dem Bacterienleben nachtheilig sei, ist nicht wahrscheinlich, da die Zufuhr der nöthigen Nahrungsstoffe desshalb noch nicht erschwert wird; vielmehr könnte der Vorgang von Vortheil sein, insofern als die zarten Gallertmassen dadurch gegen manche äussere Einflüsse geschützt werden.

Anders ist es bei den im bedeckten Raume vegetirenden Rasen, wie oben erwähnt. Hier bleiben sie, so lange die ursprüngliche Bedingung erhalten ist, von einer Schwefelincrustation verschont.

Farblose Schwefelbacterien.

Nächstfolgende, gemeinsame Schwefelbacterienarten kommen im Thermalabwasser von Yumoto reichlich vor.

Thiothrix nivea (Rabenh.) Winog. [Beitr. p. 39. Taf. I. Eig. 7, 9, 10.] Im Schwefelsumpf u. A. (20° bis 29°C), bildet grauweisse mit Schwefelkörnchen beladene Büschel auf im Wasser befindlichen Gegenständen, besonders auf Pflanzenresten.

Thiothrix nivea (Rabenh.) Wing. nov. var. *verticillata*. Fig. 13. Zellen fast gleichmässig dick, 2, 5 bis 3 μ . Von den Ansatzstellen gesellig und strahlig angewachsen, sitzen neue Zellen wiederum

strahlig an verschiedenen Stellen eines ausgewachsenen Eadens, so dass, ein charakteristisches, wirbelförmiges Aussehen resultirt. Im Yugo-See (22°C), auf Moosblättern, Algenfäden etc.

Thiothrix tenuis Winog. [Beitr. p. 40. Taf. I. Fig. 8, 11.] Fig. 14. Zusammen mit *Thiothrix nivea* in einem Abfluss (29°C) von Thermalwasser.

Beggiatoa alba (Vouch.) Trev. [Winog. Beitr. p. 23. Taf. I. Fig. 1.] In Gräben und Tümpeln (16°–21°C.)

Rothe Schwefelbacterien.

Die Bodenfläche des Schwefelsumpfes zu Yumoto ist verschieden gefärbt. Neben dem prachtvollen weissen Schwefelrasenmantel kommt die blaugrünliche Farbe einer üppigen Vegetation von Oscillarien sowie anderer Algen und ein braungelber Schlamm einer Diatomeenflora zum Vorschein. Ausser diesen bunten Färbung kommen auch hie und da leicht rothe bis carmoisinrothe Flecken vor, die eine bedeutende Ausdehnung haben. Diese verrathen auf den ersten Blick die Wohnsitze der *Chromatium*arten, welche bei genauerem Suchen an noch vielen anderen Orten bei Yumoto gefunden werden.

Folgende Arten rother Schwefelbacterien kommen vor: —

Chromatium Weissii Perty. [Winog. Beitr. p. 97. Taf. IV. Fig. 1.] Fig. 15. Am häufigsten. Im August 1895 fand ich eine grosse Colonie auf dem dicht hinter dem Jizai-Yu gelegenen Grabenboden, dessen Oberfläche mit der schönen, rothen Haut fast bedeckt war. Im August dieses Jahres aber fand ich an derselben Stelle keine Spur mehr davon, dagegen erschien es in einem anderen Graben, wo es im Jahre vorher nicht zu sehen war. Die Wassertemperatur der Fundorte fand ich von 23° bis 35°C.

Chromatium minus Winog. [Beitr. p. 99. Taf. IV. Fig. 5.]

Fig. 16. Auf dem Boden des Schwefelsumpfes. 26°C.

Chromatium vinosum (Cohn) Winog. [Beitr. p. 99. Taf. IV.

Fig. 6, 7.] Fig. 17. Fundorte wie vorige. 29° bis 42°C.

Chromatium minutissimum Winog. [Beitr. p. 100. Taf. IV.

Fig. 8.] Fig. 18. Fundorte wie vorige. 28°C.

Thioderma roseum nov. Gen. et Sp.¹⁾ Fig. 19. Zellen sphaeroidisch⁴ 2.5 μ lang, 1.5 μ breit, leicht roth gefärbt, mit kleinen, winzigen Schwefelkörnchen. Zu dünnen, abnehmbaren matt purpurrothen Häutchen vereinigt. Schwärmfähig. Auf Grashalmen, Grasblättern etc. in einem feuchten Boden bei Jizai-Yu. 27°C.

Alle oben erwähnten Arten von 1 bis 4 fand ich selten für sich allein, meistens gemischt.

Zur Physiologie des *Chromatium Weissii*.

Wir behandeln hier hauptsächlich die chemotaktische Reizbarkeit, die wir bei unserem Organismus experimentell zu beweisen suchten. Bevor wir aber zur Schilderung der Resultate schreiten, mag noch Einiges über die Kultivirung gesagt werden.

Ich nahm am 26. August 1895 ein Quantum des *Chromatium*-Schwärmer haltenden, rothen Wassers nebst einer kleinen Menge von Schlamm aus demselben Fundorte mit nach Tokio. Am 31. August als das Material untersucht wurde, war die ursprüngliche, schöne, rothe Färbung fast verschwunden und der graubräunliche Bodensatz hatte nur einzelne noch lebendige Exemplare. Um nun eine Reihe von Kulturen anzustellen, wählte ich 3 je 500 ccm haltende, flache Gefässe mit weiter Oeffnung. In die erste kam nur der Schlamm, in die zweite noch ein geringer Zusatz von Gyps, die dritte enthielt statt Schlamm Schwefelrasen (Bacteriengallerte). Nachdem alle 3 Gefässe einen

1) Eine andere Art dieser Gattung trat im meinen Kulturbassin für Schwefelbacterien auf. Siehe den Anhang zu dieser Arbeit.

Zusatz vom ursprünglichen *Chromatium*-haltenden Wasser erhalten hatten, wurden sie mit Deckeln versehen und in einem dunklen Schrank aufbewahrt. Am 17. September war das *Chromatium* in der Flasche I zu voller, neuer Entwicklung gelangt, indem das Gefässwasser mit rothen, wolkigen Massen getrübt war. Die Flasche III hatte nur an bestimmten Stellen der Schwefelrasenmasse lebhaft gefärbte Flecken, die sich von den übrigen, weissgelben Theilen scharf unterschieden. In der Flasche II war es noch zu keiner makroskopisch sichtbaren Entwicklung gekommen.

Während in No. I und III keine Vermehrung später beobachtet wurde, und die rothe Färbung allmählig verschwand, kam am 8. November in No. II ein plötzliches Auftreten der rothen Färbung oberhalb des Schlammes, besonders aber an der inneren Wandung der Flasche, zu Stande. Das Wasser roch deutlich nach H_2S und bräunte das Bleipapier. Die Entwicklung der rothen Organismen schritt täglich fort bis zur Mitte des Monats und sank dann wieder allmählig, obgleich die Schwärmer nach 5 Monaten nicht gänzlich abgestorben waren¹⁾. Während dieser Zeit beobachtete ich, dass die ungünstigen Bedingungen wie Nahrungs—sowie H_2S —Mangel und sonstigen Schädlichkeiten ausgesetzten Zellen in den Schlamm sanken, aber besonders massenhaft sich zwischen dem Boden und der Flaschenwandung ansammelten, wo sie zur Bildung einer mattrrothen Haut führten.

Die Zellen gingen auf die Weise nicht gleich zu Grunde, sondern behielten noch eine Zeit lang Lebensfähigkeit, denn es gelang mir oft, ein aus solchen unbeweglichen, jedoch noch leicht-roth gefärbten Zellen bestehendes Häutchen unter Zufuhr von schwachem H_2S -Wasser und nach kurzem Einfluss des vom Mikroskopspiegel reflektirten

1) Zeitweilige Zufuhr vom schwachen H_2S -Strom ins Kulturwasser schien vortheilhaft zu sein, dagegen die Anwendung stärkeren H_2S -Wassers wurde als schädlich erkannt.

Lichtes wieder zum Schwärmzustande auslösen zu können,—die bisher todstill gebliebenen Zellen begannen zuerst an den Rändern des Haufens eine zitternde Bewegung auszuführen, welche aber allmählig zu einer kräftigen, zuckenden übergingen und schliesslich rissen sie sich von der Masse los. Diese Erscheinung dauerte so lange, bis ein grosser Theil des Häutchens nach und nach schwärmfähig wurde. Diese Versuche gelangen nur bei denjenigen Individuen, welche sich noch roth färbten und einige Schwefeileinschlüsse im Zellinneren führten, dagegen war es vergeblich, bei einem verblassten, schwefelfreien Exemplar Lebenserscheinungen hervorzurufen.¹⁾

Da Schwefelwasserstoff beim Gedeihen der Schwefelbakterien, wie die Untersuchungen von Winogradsky bewiesen haben, eine wichtige Rolle spielt, so drängt sich die Frage auf, ob unsere rothen Bakterien überhaupt durch H_2S chemotaktisch reizbar seien und wie sich diese gegen noch manche andere Stoffe verhalten. Es wurde deshalb eine Reihe von Versuchen im verflossenen Herbst angestellt und zwar mit den Proben, welche aus der oben geschilderten Kultur II stammten. Zur Anwendung kam die bekannte Pfeffer'sche Capillarmethode.²⁾ Der Durchmesser der Capillare an der Mündung war ca. 0,05 mm und die Länge derselben ca. 1 cm. Zum Ueberführen des Materials benutzte ich eine kleine Glaspipette, mit welcher ich eine beliebige Menge der rothen Schwämer direkt aus dem Kulturbassin einsaugen konnte. Wegen der auffallenden Farbe sowie der bedeutenden Grösse einzelner

1) Dass die Zellen auch einem Wassermangel in gewissem Grade widerstehen zeigt der folgende Versuch:—Ich liess einige lebhaft bewegliche Individuen auf einem Objectträger ca. 1 Stunde lang allmählig eintrocknen. Einige Exemplare verloren dabei ihren Farbstoff und waren mehr oder weniger geschrumpft, während andere noch die ursprüngliche Farbe behielten und nur wenig abgerundet wurden, dabei zeigten sie keine Spur von Bewegung. Nach der Herstellung des Wasserstroms begannen jedoch die noch roth gefärbten Zellen wieder zu schwärmen.

2) Locomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize, (Unters. a. d. botan. Inst. z. Tübingen Bd. I. Heft III. 1884. p. 367.)

Bakterien konnte man das Verhalten der ganzen Schwärmer gegen den eingeführten Stoff schon bei einer schwachen Vergrößerung deutlich erkennen.

Schwefelwasserstoffwasser.

A) Eine schwache Lösung. Das Bleipapier färbte sich leichtbraun :—

a) Die Schwärmer befanden sich in der ursprünglichen Flüssigkeit :—

Zuerst eine starke Ansammlung an der Capillarmündung und dann folgte das Eindringen in das Capillarinnere. Die Schwärmer verliessen aber die Capillare wieder und kamen nach Aussen.

b) Die Schwärmer waren in dem Leitungswasser :—

Ein momentanes Ansammeln um die Mündung und bald darauffolgendes Eindringen ins Innere der Capillare. Ein sofortiges Herauskommen der eingedrungenen wie bei (a) resultirte dabei nicht; sie drangen im Gegentheil immer weiter hinein. Wahrscheinlich wirkte hier H_2S stärker, da die Schwärmer vorher im gewöhnlichen Wasser sich befanden und dadurch vielleicht an einem „Schwefel-hunger“ litten.

B) Eine stärkere Lösung. Das Bleipapier färbte sich bräunlich-schwarz :—

Die Schwärmer waren in der ursprünglichen Flüssigkeit.¹⁾

Zuerst eine Ansammlung in gewisser Entfernung von der Capillarmündung. Die Masse rückte aber allmählig vorwärts und nach $\frac{1}{2}$ Stunde bildete sich ein dichtes

1) In allen unten beschriebenen Fällen, wenn nicht besonders erwähnt, befanden sich die Versuchsorganismen stets in der Kulturflüssigkeit.

Gedränge um die Mündung sowie in dem ersten Theil der Capillare. Langsam, doch immer vorwärts, gingen die Schwärmer und zwar mit lebhafterer Bewegung im Inneren und kamen 6 Stunden nach Beginn des Versuches bis zu einer in der Capillare bereits vorhandenen Luftblase. Ich wiederholte den Versuch mit H_2S -Wasser und gelangte zu ähnlichen, positiven Resultaten. Betont muss aber werden, dass eine unverkennbare Schwankung der Reizempfänglichkeit seitens des Organismus in diesem Falle sowie in anderem existirte, eine Schwankung, welche bei zwei andern gleichen Versuchen mit ebenso starkem H_2S -Wasser zu widersprechenden Resultaten führte.

Kaliumnitrat.¹⁾

0,3%. Eine starke, momentane Ansammlung um und in dem oberen Raum der Capillare (Fig. 20.) Während die dichten Schwärmer langsam nach dem Capillarinneren vordrangen, steuerten andere Individuen von verschiedenen Richtungen nach der Reizquelle hin und dies dauerte einige Minuten lang, bis in der Aussenflüssigkeit überhaupt nur eine geringe Anzahl mehr von ihnen gefunden werden konnte. Eine Stunde nach Beginn des Versuches bildeten die eingedrungenen eine dichte, ca. 1,5 mm lange Zone, welche immer weiter vorwärts rückte, bis sie schliesslich nach 3 Stunden eine von der Capillarmündung 6 mm weit gelegene Luftblase berührte (Fig. 21.) In einer feuchten Kammer aufbewahrt blieben die Schwärmer

1) Die Salze in den Versuchen wurden vor dem Gebrauch gut ausgetrocknet.

in der Capillare noch mehrere Tage lebendig.¹⁾

Wie gross die Zahl der in dieser Weise in die Capillare angelockten Schwärmer sein konnte, kann man ungefähr ausrechnen. Da die durchschnittliche Grösse unseres Organismus ca. $10\ \mu$ und $5\ \mu$, und der innere Durchmesser des hier benutzten Capillarröhrchen $0,05\ \text{mm}$ betrug so musste die wirkliche Zahl der im obigen Versuche eingedrungenen Individuen nicht weniger als 2 Millionen sein.

Die Bewegungsschnelligkeit der ganzen Zone der Schwärmer im Capillarinuere warn hier nur langsam, etwa $1,5\ \text{mm}$ pro Stunde. Im Vergleiche dazu ist das Vorrücken der im normalen Zustande befindlichen Individuen aber sehr geschwind; es beträgt ca. $80\ \mu$ pro Secunde, also $288\ \text{mm}$ pro Stunde.

Die starke Ansammlung, welche die Capillarmündung oft zum Verstopfen bringt, ist wieder von Bedeutung, da sie dem im Inneren enthaltenen Reizstoff eine schnelle Mischung mit der Aussenflüssigkeit erschwert und ihn eine Zeit lang auf den eingedrungenen Schwärmer seinen Reizeffekt ausüben lässt.

0,5% erzielte ähnliche jedoch nicht so starke Ansammlung wie bei 0,3%.

1% wirkte zuerst repulsiv, veranlasste aber nachher eine schwache Ansammlung um einer Entfernung der Capil-

1) In einem derartigen Praeparate, welches am 24. October hergestellt wurde, waren die Schwärmer bis zum 27. November lebendig. Engelmann beobachtete sogar, dass „anscheinend völlig schwefelfreies *Bact. photometricum*, wenn es in H_2S -freien Wasser, in grosser Zahl in Glasröhren oder auf dem Objectträger unter dem Deckglas aufbewahrt ward, sich noch nach Wochen sehr lebhaft bewegt und auch sich vermehrt.“ (Die Purpurbacterien und ihre Bhezienungen zum Lichte. Bot. Ztg. 1888. p. 719).

larmündung.

Ammoniumnitrat.

0,3%. Eine Ansammlung an der Capillarmündung.

Calciumnitrat.

0,3%. Eine schwache Ansammlung an der Capillarmündung.

Ammoniumtartrat.

0,5%. Eine momentane, reichliche Ansammlung um die Capillarmündung. Diese ordnete sich nach einigen Minuten zu einer kreisrunden Fläche, deren Durchmesser das Mehrfache des Capillardurchmessers betrug und die makroskopisch als rother Punkt erkennbar war. Die Schwärmer begannen dann langsam ins Capillarinnere vorzurücken und waren nach einer Stunde bis zu mässiger Tiefe vorgeschritten, jedoch blieb noch eine grössere Menge ausserhalb, nahe der Mündung. Wahrscheinlich wirkte hier eine 0,5% Lösung zu stark, um ein sofortiges Eindringen zu gestatten, welches erst resultirte, wenn die innere Lösung sich durch Diffusion langsam verdünnte. Ich bewahrte ein solches Capillarpraeparat, welches lebendige Zellen enthielt, in einer feuchten Kammer vom 13. November bis 16. December auf. Am letzt genannten Tage, als dasselbe Praeparat zur Untersuchung kam, war die rothe Färbung der bewegungslosen Zellhaufes in der Capillare noch nicht verschwunden und die Schwefeinschlüsse in den Zellen noch immer z. Th. vorhanden. Nach 5 Minuten langem Einfluss des von einer Lampe reflektirten Lichtes aber wurden die Zellen, eine nach der anderen, bewegungsfähig und

schwammen nach dem hinteren Theil des Capillarraums hin, während diejenigen Individuen, die in der Aussenflüssigkeit verblieben, verblassten und nicht mehr lebendig wurden.

Seignettesalz (Kaliumnatriumtartrat.)

0,3%. Eine starke Ansammlung an der Capillarmündung und eventuelles Eindringen ins Innere.

Ammoniumphosphat.

0,3%. Eine momentane, starke Ansammlung an der Mündung und darauffolgendes Eindringen.

Monokaliumphosphat (neutralisirt durch Natriumcarbonat.)

0,3%. Eine starke Ansammlung in dem oberen Theil des Capillarraums.

0,8%. Eine schwache Repulsion.

Natriumchlorid.

0,3%. Eine sehr schwache Anziehung.

0,8%. Eine Repulsion.

Ammoniumchlorid.

0,3%. Fast indifferent, oder sehr schwache Anziehung.

0,8%. Eine Repulsion.

Ammoniumsulfat.

0,3%. Eine Anziehung.

Magnesiumsulfat.

0,3%. Fast indifferent.

Natriumcarbonat.

0,3%. Eine Repulsion.

Natriumbicarbonat.

0,3%. Eine schwache Repulsion.

Kaliumchlorat.

0,3%. Eine Repulsion.

Alaun.

0,3%. Eine Repulsion.

Ammoniak (sehr starke Lösung).

0,5%. Eine Repulsion. Die Repulsionssphaere hatte einen Durchmesser ca. 5 mal grösser als der Capillardurchmesser.

Rohrzucker.

0,5%. Eine schwache Ansammlung um die Capillarmündung.

Traubenzucker.

0,5%. Eine schwache Anziehung.

Milchzucker.

0,5%. Eine schwache Anziehung.

Asparagin.

0,5%. Eine schwache Anziehung.

Glycerin.

0,5%. Fast indifferent.

Pepton.

0,5%. Eine Ansammlung an der Mündung.

Fleischextrakt.

0,5%. Eine ziemlich starke Ansammlung an der Mündung.

Aepfelsäure.

0,5%. Eine momentane, starke Repulsion. Die dabei gebildete Repulsionssphaere hatte einen scharfen Umriss, mit einem Durchmesser ca. 43 mal grösser als derjenige von der Capillare (Fig. 22.) Diejenigen Individuen, welche in die Wirkungszone der Säure zufällig gekommen waren, kehrten bald nach Aussen zurück. Die Erscheinung dauerte mehrere Stunden lang, mit immer undeutlicher werdender Repulsionssphaere.

Wie die oben beschriebenen Versuchsergebnisse hinreichend zeigen, ist unser *Chromatium Weissii* sehr deutlich mit der chemotaktischen Reizbarkeit begabt. Zu den besten Reizstoffen soweit unsere Versuche reichen, gehören neben dem Schwefelwasserstoff, Tartrate, Phosphate, Nitrate (hauptsächlich Kaliumnitrat), welche aber nur in schwächeren Concentrationen Anziehungen erzielen können, da sie bei geringer Concentrationssteigerung gleich Abstossungen veranlassen. Weder Fleischextrakt, Pepton, noch Zuckerarten, die sich in anderen Fällen¹⁾ als vorzügliche Reizstoffe erwiesen, kommen hier zu voller Geltung. Die Repulsionsmittel, die ich auffand, wirkten entweder nur durch die Concentration oder durch ihre specifischen Eigenschaften. Bedeutungsvoll ist aber ihre Reizbarkeit gegen H_2S , welche in Hinsicht der speciellen Lebensweise unserer Organismen eine wichtige Rolle spielt.

Ich hatte keine Gelegenheit auch andere freibewegliche, rothe Schwefelbacterien auf dieselben Erscheinungen zu prüfen, doch hege ich keinen Zweifel, dass diese Eigenschaft auch bei ihnen vorkommt.

Dass unser rother Organismus auch nach Art des Kontaktreizes reagirt, kann nicht geleugnet werden, da ich sehr oft ein Herumtummeln von Individuen um irgend einen festen Gegenstand wie Gyps- oder Schwefelkryställchen, oder dem Detritus organischer Körper beobachten konnte. Diese Erscheinung konnte ich durch das Zubringen frisch gefällter Gypskryställchen oder gereinigter Sandpartikeln öfters hervorrufen; es kann hier nicht eine chemische Reizung der angewandten Stoffe vorliegen, sondern ist, wie bei manchen Infusorien²⁾ bekannt, an eine Art von Berührungszreiz zu denken.

Die Neigung unserer Bacterien, sich häufig anzusetzen und an

1) Vergl. Pfeffer, Ueber chemotaktische Bewegungen von Bacterien, Flagellaten und Volvocineen, (Unters. a. d. botan. Institut. z. Tübingen Bd. II. Heft III. 1888. p. 611.) und Miyoshi, Ueber Chemotropismus der Pilze, (Bot. Ztg. 1894. Heft I. p. 13.)

2) Vergl. Miyoshi, Physiologische Studien über die Ciliaten, (Botanical Magazine, Vol. X. No. 112. Tokio, 1896. p. 48.)

den Flächen vom Objectträger und Deckgläschen anzuhaften, beruht wohl auf derselben Ursache, eine Erscheinung, die man bei *Paramacium*, *Colpidium* und andere Ciliaten gewöhnlich wahrnimmt. Zuweilen sah ich nur eine geringe Anzahl von Individuen eine Zeit lang um ein Gypskryställchen sich herumtummeln, in andern Fällen aber kamen immer neue Individuen von der Umgebung herbei und so wuchs das ursprüngliche, kleine Klümpchen um ein Centrum zu einem grösseren Haufen an, welcher aber nach einiger Zeit sich wieder zum Schwärmen auflöste. Wie massgebend diese mechanische Reizung auch sein mag, um die Schwärmer zur Haufenbildung zu führen, darf man doch auch nicht vergessen, dass chemische und andere Reize solche Zellhaufen ebenfalls zu Stande bringen können.¹⁾

Zusammenfassung einiger Resultate.

1) Die Schwefelrasen von Bad Yumoto (Nikko) und Bad Schibu entstehen durch die Ablagerung des Schwefels auf die im H₂S-haltigen Thermalwasser (von ca. 51° bis 70°C) vorkommende, schleimige Bacteriengallerte. Im schnellfliessenden Strome fällt der Schwefel in amorphen Körnchen oder unvollkommenen Kryställchen aus; dann sehen die Rasen mehr weiss als gelb aus. Im langsam strömenden Wasser setzt sich das Element in grösseren Krystallen, meistens rhombischen Octaëdern ab, und verleiht den Rasen eine mehr gelbe Farbe.

2) In den Gallertmassen ist eine unzählige Menge von sensenförmigen Bacterienzellen stets zu finden. Andersartige Zellformen treten gewöhnlich zusammen mit den ersteren in grösserer oder kleinerer Anzahl auf.

1) In allernuester Zeit beschrieb Jegunow das Zustandekommen eigenthümlicher Schwefelbacterien-Gesellschaften. (Bakt. Centralblatt. 2te Abth. 1896. Bd. II. No. 1. 14. 15.)

3) In Yumoto kommen 4 farblose und 5 rothe Schwefelbacterien vor.

4) Das rothe Schwefelbacterium, *Chromatium Weissii* ist chemotaktisch reizbar: es wird durch verdünnte Lösungen von H_2S , Ammoniumtartrat, Kaliumnitrat, Ammoniumphosphat u. A. stark angezogen, dagegen durch höhere Concentrationen dieser Stoffe, sowie durch die specifische Eigenschaften gewisser anderen Stoffe abgestossen.

5) *Chromatium Weissii* ist durch Berührung reizbar, was oft zu einer dichten Haufenbildung führt.

Anhang.

Folgende Arten von Schwefelbacterien traten in einem Kulturbassin auf, welches einige Rhizomenstücke von *Brasenia peltata* aus dem Teiche im botanischen Garten der Universität nebst einen Zusatz von Gyps enthielt. Der Bassin stand in einem dunklen Raum des botanischen Institutes, ca. $\frac{3}{4}$ Jahre lang.

Beggiatoa alba (Vauch.) Trev. Als grauweisser Ueberzug auf den vermoderten Rhizomenresten.

Beggiatoa minima Winog. [Beitr. p. 25. Taf. I. fig. 3] mit der vorigen Art zusammen.

Thiothrix nivea (Rabenh.) Winog. Erschien als flockige, graue Büschel, welche in einer grossen Anzahl unmittelbar unter dem Wasserspiegel hingen (Fig. 23). Die Büschelmasse war nur ca. 5 mm lang und adhärirte mit ihrem oberen, farblosen gallertartigen Theile an dünnen, aus Bacterienzoogloea und Kalkkrystallen bestehenden Häutchen. Der untere Theil der Büschel war dichter und dunkler wegen der Verwachsung der Fäden und der Ansiedelung einer anderen, der nächstfolgenden Schwefelbacterienart. Die Büschel-

bildung kam auch an den inneren Bassinwänden zu Stande, jedoch war sie nur auf die oberste Wasserschicht beschränkt.

Thiosphaerion violaceum nov. Gen. et Sp. (Fig. 24). Zellen sphaeroellipsoidisch, ca. 2.5μ und 1.8μ gross, violett gefärbt, mit winzigen Schwefeleinschlüssen, durch eine gallertartige Substanz zu soliden, rundlichen Familien verbunden. Schwärmfähig. An den Fäden von *Thiothrix nivea*.

Thiosphaera gelatinosa nov. Gen. et Sp. (Fig. 25). Zellen sphaeroellipsoidisch, 7μ und 5μ gross, leicht violett gefärbt, mit einer farblosen Gallertsubstanz zu einer Familienmasse locker verbunden. Schwefeleinschlüsse ziemlich zahlreich. Schwärmfähig. Auf dem Schlamm Boden.

Thioderma rubrum nov. Sp. (Fig. 26). Zellen ellipsoidisch, 4μ und 2μ gross, leicht roth gefärbt, zu einer leicht pfirsichschblüthrothen, abnehmbaren Haut verbunden. Schwärmfähig. Auf dem Schlamm Boden.

IM SEPTEMBER 1896.

TOKIO, BOTANISCHES INSTITUT

DER KAISERL. UNIVERSITÄT.



Figuren-Erklärung.

Die Figuren 1, 24, 25 sind von Herrn S. Hirase, Assistent an dem botanischen Institute, angefertigt worden. Alle übrige Zeichnungen sind von mir.

Fig. 1. Ein Schwefelrasenstück aus einem schnell fliessenden Thermalwasser in Yumoto, bei Nikko. In einem Becherglas flottierend. Nat. Gr.

Fig. 2. Ein Bruchstück eines vom Schwefel noch nicht ganz umgekleideten Gallertfadens mit sensenförmigen Bacterien. Der Schwefel krystallisirt in rhombischen Octäedern. Vergr. 420.

Fig. 3. Ein ähnliches Stück mit amorpher Schwefelablagerung. Vergr. 240.

Fig. 4. Ein Spitzentheil eines Gallertfadens mit spärlichen Schwefelkörnchen. Vergr. 240.

Fig. 5. Ein Bruchstück eines Gallertfadens eines im langsamen Strome vegetirenden Rasens. Der Schwefel setzt sich in Form grösserer Krystalle ab. Vergr. 240.

Fig. 6. Ein Bruchstück eines dünnen Fadens aus einer schnellen Strömung. Die Schwefelablagerung fand meistens in Form amorpher Körnchen selbst auf den dünnen Bacterienzellen statt. Vergr. 1000.

Fig. 7. Einzelne Bacterienzellen. Die Zellen führen auf den Zellwänden aufgelagerte Schwefelkörnchen, die oft wie im Zellinneren zu liegen scheinen. Vergr. 1000.

Fig. 8, a, b, c. Bacterienzellen in verschiedenen Grössen. Nur an zwei Individuen sind die Geiseln gezeichnet. Vergr. 1000.

Fig. 9. Ein Bruchstück des Schwefelrasens aus einem Thermalflüsschen im Bad Idsusan. Der mittlere, schwarze Theil besteht aus Schwefelkörnchen und Schwefelkryställchen, die randständigen Pünktchen stellen die aus der Gallerte hervortretende Bacterienmasse dar. Vergr. 420.

Fig. 10. Ein Spitzentheil eines ähnlichen Rasens. Die Schwefelkryställchen in Prismen und Octäedern treten deutlich hervor. Vergr. 420.

Fig. 11, a. Ein ähnlicher Spitzentheil mit 2 langen *Leptothrix*-ähnlichen Fäden. *b.* Einzelne Bacterienzellen. Vergr. 420.

Fig. 12. Einzelne Bacterienzellen noch stärker vergrössert. Vergr. 1000.

Fig. 13. *Thiothric nicea*, var. *verticillata*. Auf einem toten Algenfaden. Jüngere, kürzere Fäden zusammen mit älteren, längeren Fäden wirbelförmige, falsche Verästelung bildend. Vergr. 420.

Fig. 14. *Thiothric tennis*. Auf zwei mit Schwefelkryställchen z. Th. bedeckten Fäden von *Thiothric nicea*. Vergr. 420.

Fig. 15. *Chromatium Weissii*. Vergr. 1000.

Fig. 16. *Chromatium minus*. Vergr. 1000.

Fig. 17. *Chromatium vinosum*. Vergr. 1000.

Fig. 18. *Chromatium minutissimum*. Vergr. 1000.

Fig. 19. *Thioderma roseum*. Vergr. 1000.

Fig. 20. Eine starke Ansammlung der Schwärmer von *Chromatium Weissii* um die Capillarmündung und auch im ersten Theile des Capillarraumes. Die Capillare enthielt 0.3% Ammoniumnitrat. Gezeichnet unmittelbar nach dem Einschieben der Capillare. Eine grosse Anzahl von frei schwimmenden Zellen befanden sich noch in der Aussenflüssigkeit. Die Querlinie stellt einen Rand vom Deckgläschen dar. Vergr. 85.

Fig. 21. Dasselbe Präparat 3 Stunden nach dem Eintreten in die Capillare, (die Stellung der Capillare etwas geändert.) Die Schwärmermasse rückte immer weiter vorwärts. Vergr. 85.

Fig. 22. Eine durch 0,5% Aepfelsäure auf *Chromatium Weissii* erzielte Repulsionssphäre. Vergr. 50. Gezeichnet unmittelbar nach dem Einschieben der Capillare.

Fig. 23. Eine profile Darstellung der unter dem Wasserspiegel hängenden Büschel von *Thiothric nicea*. Die Büschel haften mit ihrem oberen, farblosen, gallertartigen Theile auf den flottierenden Bacterien- und der Kalkkryställchenhaut. Der untere Theil sieht wegen des geselligen Verwachsens der Fäden sowie wegen der Ansiedelung anderer Schwefelbacteriencolonien mehr dunkel aus. Nat. Gr.

Fig. 24. *Thiosphaerion violaceum*. a. Kugelige Colonien auf den Fäden von *Thiothric nicea*. Vergr. 240. b. Einzelne Zellen. Vergr. 420. c. 2 Fadenstücke von *Thiothric nicea*: das eine mit dichten Schwefelkörnern, das andere schwofelfrei; die falsche Gliederung sichtbar. Vergr. 790.

Fig. 25. *Thiosphaera gelatinosa*. Die locker gebundenen Zellen sind in einer gelatinösen hyalinen Grundsubstanz eingebettet. Vergr. 420.

Fig. 26. Thiobacillus rubrum. Ein Bruchstück aus einem Zellhaufen. Vergr.
420.



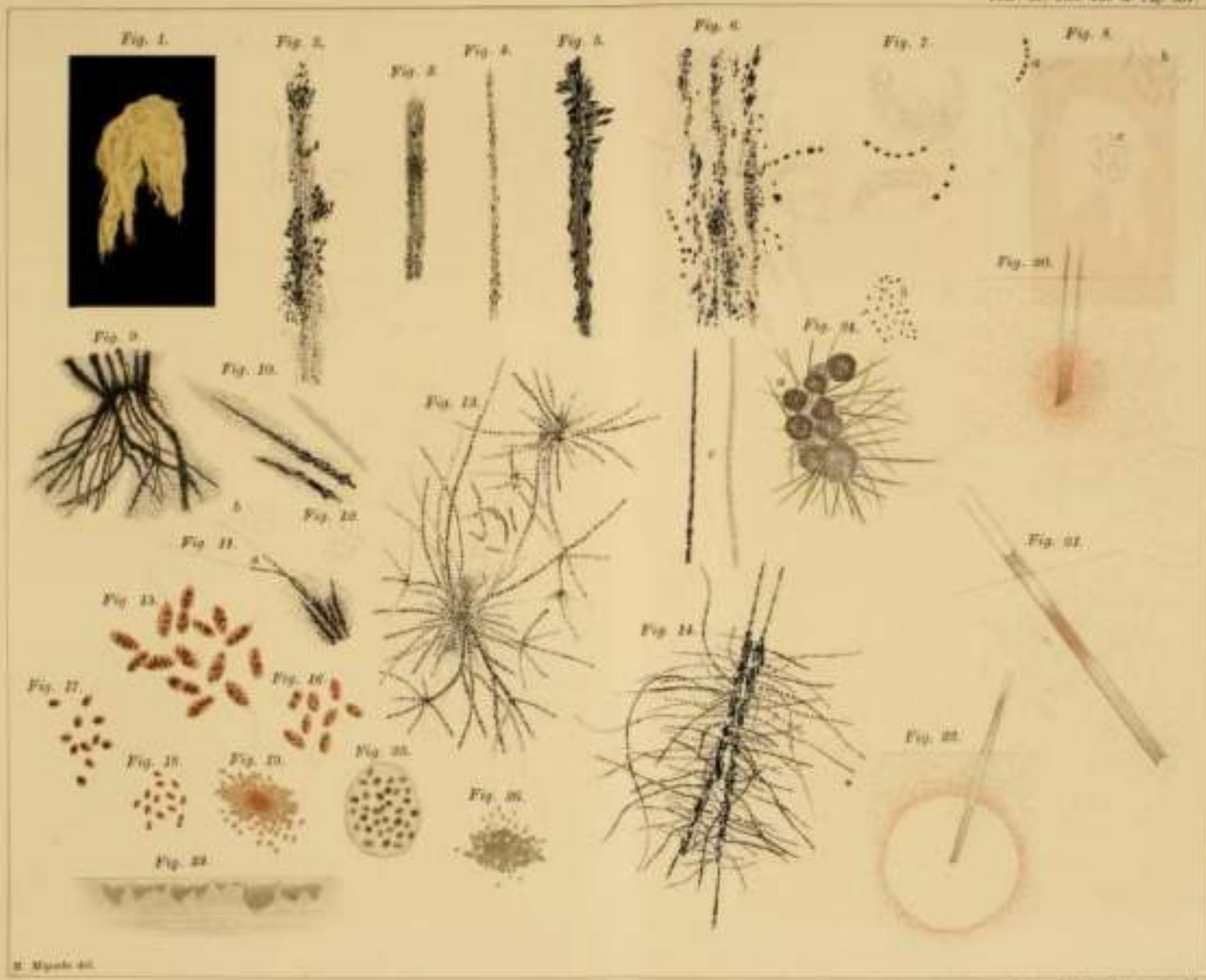


Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 4.



Fig. 5.



Fig. 3.



Fig. 9.

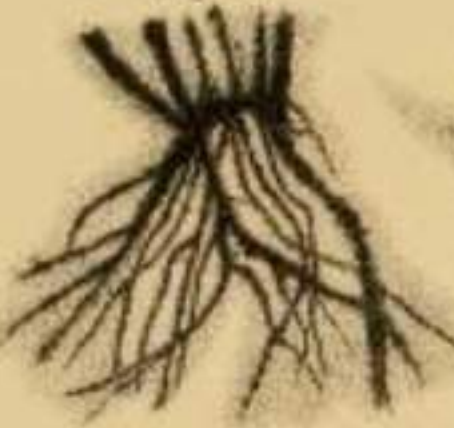


Fig. 10.



b

Fig. 12.

Fig. 13.



Fig. 6.



Fig. 7.

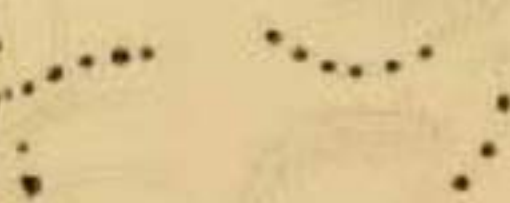


Fig. 8.



Fig. 24.



Fig. 20.





Fig. 14.

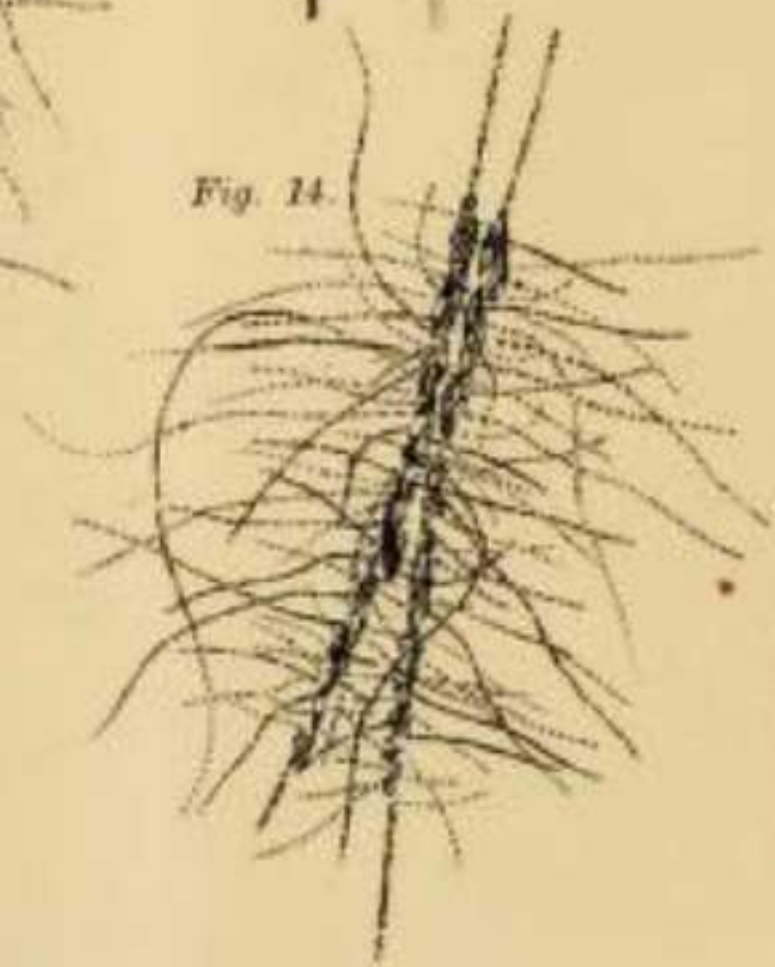
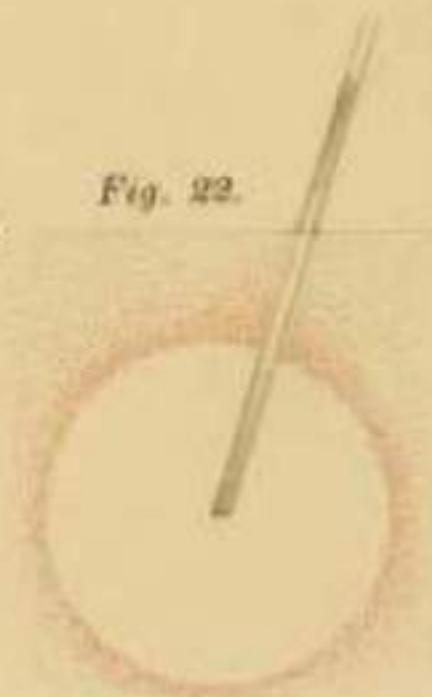
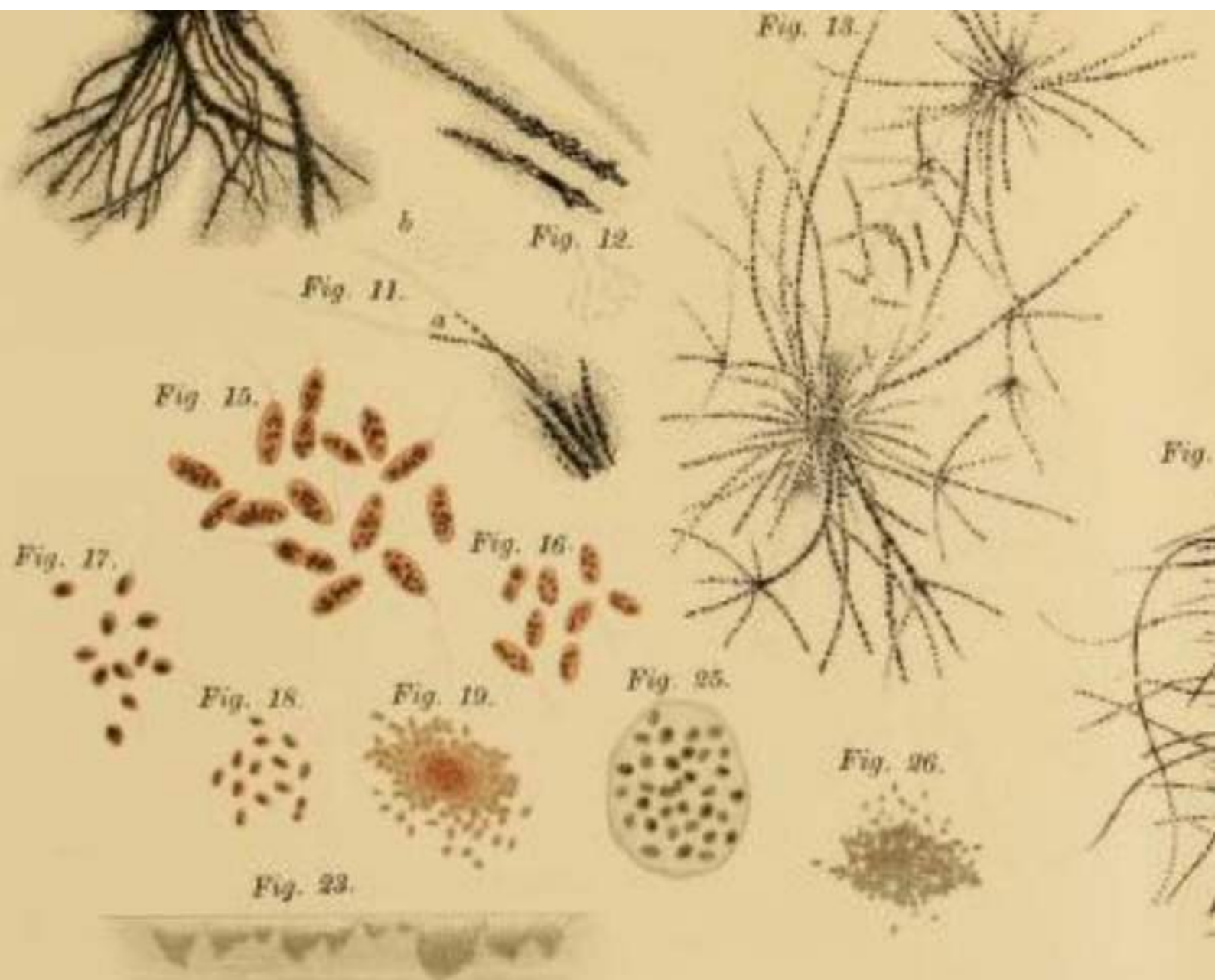


Fig. 21.

Fig. 22.





東京帝國大學紀要

理 科

第 十 冊

THE

JOURNAL

OF THE

COLLEGE OF SCIENCE,

IMPERIAL UNIVERSITY OF TOKYO,

JAPAN.

VOL. X.



東京帝國大學印行

PUBLISHED BY THE UNIVERSITY.

TŌKYŌ, JAPAN.

1896-98.

MEIJI XXIX-XXXI

CONTENTS.

- On the Fate of the Blastopore, the Relations of the Primitive Streak, and the Formation of the Posterior End of the Embryo in Chelonia, together with Remarks on the Nature of Meroblastic Ova in Vertebrates.** (Contributions to the Embryology of Reptilia, V.). By K. MITSUKUNI, *Ph. D., Rikokuhakushi*, Professor of Zoölogy, College of Science, Imperial University, Tôkyô, Japan. (With Plates I-IV) 1
- Ueber eine in Misaki vorkommende Art von Ephemera und über ihre Sporenbildung.** Von Dr. C. ISHIKAWA, Professor der Zoologie an der Kaiserlichen Universität zu Tôkyô. (Hierzu Tafeln XII und XIII.) 119
- Ueber das massenhafte Vorkommen von Eisenbakterien in den Thermen von Ikao.** Von MANABU MIYOSHI, *Rikokushi, Rikokuhakushi*, Professor der Botanik an der naturwissenschaftlichen Facultät der Kaiserlichen Universität zu Tokio. 139
- Studien über die Schwefelrasenbildung und die Schwefelbakterien der Thermen von Yumoto bei Nikko.** Von MANABU MIYOSHI, *Rikokushi, Rikokuhakushi*, Professor der Botanik an der naturwissenschaftlichen Facultät der Kaiserlichen Universität zu Tokio. (Mit Tafel XIV.) 141
- Die Entwicklung der Gonophoren bei Physalia maxima.** Von SEITARO Goro, *Rikokushi, Rikokuhakushi*, Professor der Biologie an der Ersten Hochschule in Tokyo. (Hierzu Taf. XV.) 175
- Studies of Reproductive Elements. III Die Entwicklung der Pollenkörner von Allium fistulosum L., ein Beitrag zur Chromosomenreduktion in Pflanzenreiche.** Von Dr. C. ISHIKAWA, Professor der Zoologie an der Kaiserlichen Universität zu Tokyo. (Tafeln XVI und XVII.) 193