



Ueber das
**Verhalten der Bacterien im Boden
Dorpat's**

in der Embachniederung

nebst Beschreibung

von **5 am häufigsten daselbst vorkommenden Bacterienarten.**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines

Doctors der Medicin

verfasst und mit Bewilligung

Einer Hochverordneten medicinischen Facultät der Kaiserlichen Universität zu Dorpat

zur öffentlichen Vertheidigung bestimmt

von

Oscar Eberbach

aus Ostsibirien.



Ordentliche Opponenten:

Dr. Wladimiroff. — Prof. G. Dragendorff. — Prof. Dr. B. Körber.



Dorpat.

Druck von C. Mattiesen.

1890.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät.

Referent: Prof. Dr. B. Körber.

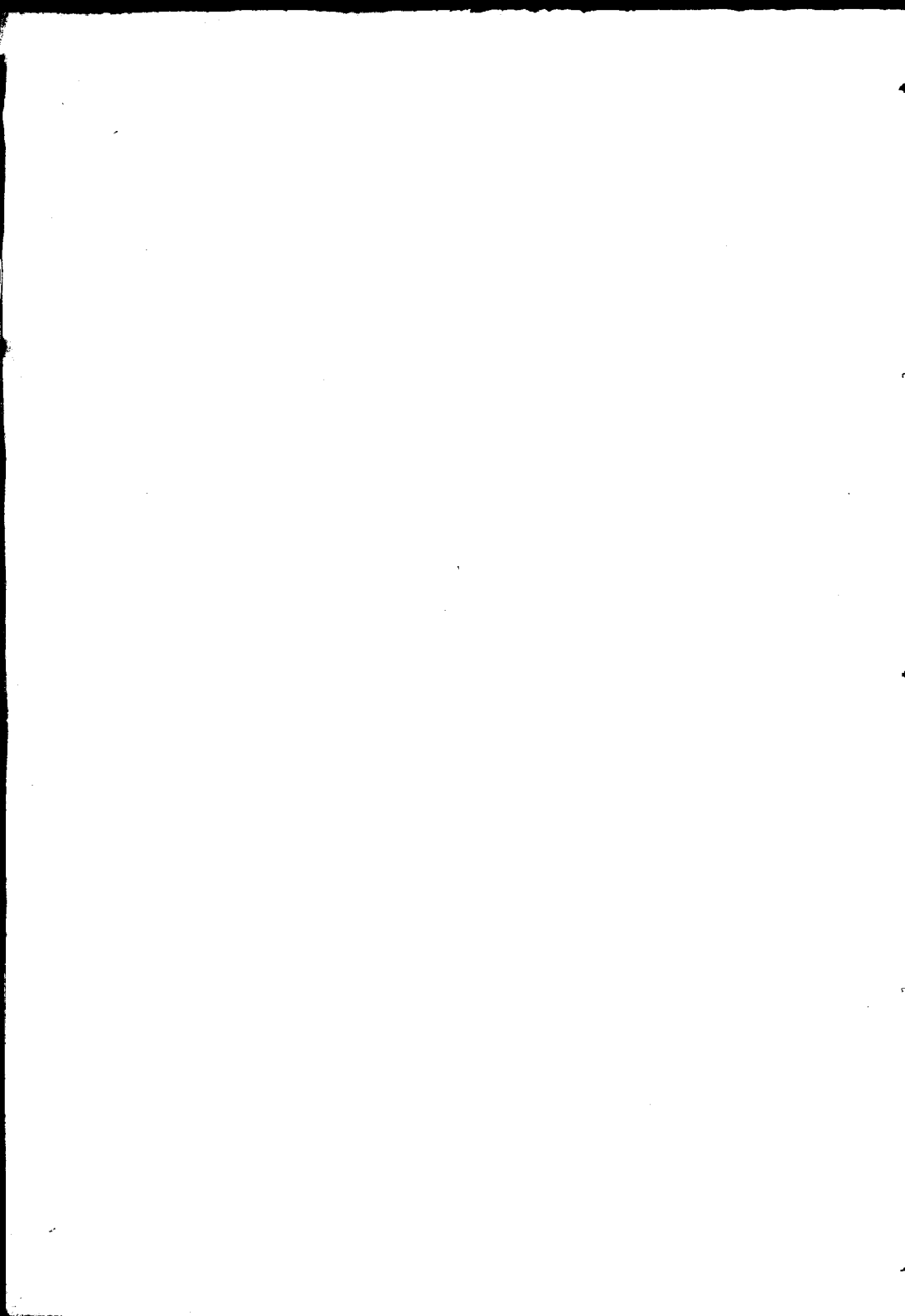
Dorpat, den 15. November 1890.

Nr. 527.

Decan: Dragendorff.

Meiner theuren Mutter

in Liebe und Dankbarkeit.



Beim Scheiden von der hiesigen Hochschule ist es mir eine angenehme Pflicht, allen meinen hochverehrten Lehrern zu danken.

Insbesondere fühle ich mich aber Herrn Prof. Dr. B. Körber für das Interesse, das er mir stets entgegengebracht hat, und für die Unterstützung bei meiner Arbeit zu tiefem Danke verpflichtet.

Meinen Dank bitte ich entgegenzunehmen auch Herrn Prof. C. v. Raupach für die freundliche Ueberlassung der aus Berlin bezogenen Erde, sowie Dr. Wladimiroff dafür, dass er mich in die Technik der Bacteriologie eingeführt hat, und Herrn Inspector Treffner für die Erlaubniss, in seinem Garten die Untersuchungen auszuführen.



Die quantitativen bacteriologischen Bodenuntersuchungen begannen erst in den letzten Decennien; auch waren die Untersuchungsmethoden sehr mangelhaft. C. Fränkel's Verdienst ist es auf die Fehler hingewiesen zu haben; er schlug auch eine neue Methode vor. Ehe ich sie schildere, sei es mir gestattet, kurz der früheren Forscher zu erwähnen und die Fehler, die sie begangen haben, hervorzuheben.

R. Koch ¹⁾ streute die Bodenproben einfach mit einem sterilisirten Scalpell über der zu beschickenden Gelatine aus; doch er machte keine Ansprüche auf quantitative Genauigkeit, er zog aus seinen Versuchen nur allgemeine Schlüsse. Nach ihm pflegten alle Forscher die Erde mit aqua sterilisata zu vermengen, um auf diese Weise die einzelnen zusammengeballten Erdbröckchen aufzulösen und die an ihnen haftenden Keime zu vertheilen. So arbeiteten Miquel ²⁾, Adametz ³⁾, Beumer ⁴⁾ Maggiora ⁵⁾, sowie

1) Mittheil. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt Bd. I p. 35.

2) John Reimers. Ueber den Gehalt des Bodens an Bacterien. Zeitschrift für Hygiene Bd. VII p. 310.

3) Adametz. Ueber die niederen Pilze der Ackerkrume. Leipzig 1886. Diss.

4) Beumer. Zur Bacteriologie des Bodens. s. Berliner medicin. Wochenschrift 1886 Nr. 27.

5) A. Maggiora. Ricerche quantitative sui microorganismi del suolo con speciale riguardo all' inquinazione del medesimo. Torino 1877. s. Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde Bd. I 1887. p. 677.

Smolensky¹⁾ und Klementjew²⁾. Miquel beging hierbei den Fehler, die Erdproben vorher mehrere Tage lang vorzubereiten (durch Erwärmen auf 30°, sowie Verreiben), Adametz filtrirte merkwürdiger Weise seine Proben und benutzte, gleichwie Miquel, als Untersuchungseinheit 1 grm. Erde statt des genaueren Volumenaasses. Maggiora, sowie Smolensky untersuchten ihre Erdproben leider nicht sofort nach der Entnahme derselben, ja Letzterer brachte dieselben aus Krassnoje Selo nach Petersburg (ca. 30 Werst). Beumer, sowie Klementjew wussten alle obigen Fehler zu vermeiden, jedoch ist ihnen, sowie allen ihren Vorgängern, der Vorwurf zu machen, dass sie die Erdproben mit Wasser (aq. ster.) vermengten, denn C. Fränkel³⁾ hat bewiesen, dass diese Methode recht ungenaue Resultate ergiebt. Seine daraufhin gemachten Controllversuche ergaben aus ein und derselben Erdaufschwemmung Zahlen, wie 1260, 2100, 2300, 4400 Colonieen, Zahlen, die doch recht stark von einander differiren. C. Fränkel erklärt es daraus, dass selbst durch das intensivste Vermischen der Erde mit dem Wasser durchaus nicht alle Keime abgewaschen und losgelöst werden und dass es unmöglich sei, sie gleichmässig zu vertheilen. Fränkel sah sich daher veranlasst, das Wasser als Zwischenmittel zu verwerfen und die Probe direct der Gelatine einzuverleiben. Wie die Erfahrung ihn lehrte, „weichen die Erdbröckchen in der flüssigen Gelatine so weit auf und geben die ihnen anhaftenden Keime so vollständig an die Nährlösung ab, dass

1) Бактеріолог. изслѣдованія почвы авангарднаго лагеря подъ Краснымъ селомъ. Смоленскій. см. Врачъ 1887 Nr. 6, 7, 10, 11. Unters. des Bodens d. russ. Avantgardelagers. Wratsch Nr. 6, 7, 10, 11).

2) Клементьевъ Опытъ количественнаго опредѣленія микроорганизмовъ въ кладбищенской почвѣ. Диссерт. 1887 г. Quantit. bacteriol. Unters. der Kirchhofserde. Diss. 1887.

3) C. Fränkel. Unters. üb. das Vorkommen von Microorganismen in verschied. Bodenschichten. s. Zeitschrift für Hygiene Bd. II 1887. p. 524—526.

es meist zu einer ganz gleichmässigen Vertheilung derselben in der letzteren kommt und die später entstehenden Colonieen sich gleichmässig über die verschiedenen Abschnitte des Röhrchens (mit geringen Abweichungen) verbreiten ¹⁾“. Das ist der Kernpunkt der von ihm vorgeschlagenen neuen Methode. Als das nächst Wichtige erscheint seine Forderung, die Proben möglichst bald nach der Entnahme zu untersuchen, denn sonst findet man, wie Fränkel es durch lange Zahlenreihen erwiesen hat, ausnahmslos schon nach 24 Stunden eine intensive Vermehrung der Keime, besonders in den Proben aus den tieferen Erdschichten, so wies z. B. eine Bodenprobe aus 3½ m. Tiefe, die ursprünglich nur 12 Keime (in 1/50 ccm.) enthielt, nach einem Tage 40800 Keime auf.

Ferner macht Fränkel darauf aufmerksam, dass man stets auch darauf achte, dass die Proben wirklich aus der zu untersuchenden Erdschicht herkommen. Wo das Material leicht zugänglich ist, da bedenke man stets, ob es nicht längere Zeit der Luft ausgesetzt gewesen ist. Wo man dagegen durch Bohren Erdproben holt, da empfiehlt Fränkel einen Bohrer in der Art, wie er ihn sich von Dr. Müncke in Berlin hat herstellen lassen, zu benutzen, denn nur dann könne man sicher sein, aus der gewünschten Tiefe die Proben erhalten zu haben. Weiterhin ersetzte Fränkel das Gewichtsmaass durch ein viel bequemerer und genaueres Volumenmaass. Endlich schlug er vor, das Koch'sche Plattenverfahren durch das von v. Esmarch empfohlene Rollverfahren ²⁾ zu ersetzen, nämlich die Gelatine an der Wandung eines Reagensglases zu vertheilen und zum Erstarren zu bringen, denn dieses Verfahren ist einfacher und genauer, auch gestattet es spät sich entwickelnde

1) C. Fränkel, l. c. p. 529.

2) E. Esmarch. Ueber eine Modification des Koch'schen Plattenverfahrens zur Isolirung und zum quantitativen Nachweis von Microorganismen, s. Zeitschr. f. Hygiene Bd. I 1886 p. 293.

Colonieen zu untersuchen, sowie es auch leicht zur Untersuchung anaërober Bacterien dienlich ist.

Somit gestaltet sich das Fränkel'sche Verfahren folgendermassen:

Die mit seinem Bohrer aus der gewünschten Tiefe entnommenen Proben wurden mit Hilfe eines sterilen Glaslöffels in sterile mit Watterpropfen versehene Fläschchen gesammelt. Im Laboratorium wurde sofort (oder höchstens 2½ Stunden nach der Entnahme der Proben) davon 1/50 ccm. mit einem sterilisirten Platinlöffelchen direct in die flüssig gemachte Gelatine gebracht, wo man es mit Hilfe eines Platindrahts bearbeitete und, nachdem es gleichmässig vertheilt zu sein schien, nach Esmarck ausrollte. Gezählt wurde nach zwei Mal 24 Stunden.

Dass diese Methode gut brauchbar sei, davon überzeugte sich Fränkel durch mehrfach angestellte Controllversuche, wobei er stets recht gut übereinstimmende Zahlen erhielt, so z. B. fand er in 1/50 ccm. ein und derselben Erdprobe bei zehn nach einander auf gleiche obige Weise angestellten Versuchen folgende Anzahl Colonieen:

1700, 1760, 1800, 1840, 1840, 1920, 1920, 1920, 2000, 2000 Colonieen.

Leider ist Fränkel's Methode zur Untersuchung nicht jeden Bodens geeignet; so war Swawitzky¹⁾, der nach Fränkel's Methode arbeitete (nur mit dem Unterschiede, dass er das Koch'sche Plattenverfahren benutzte), nicht im Stande, bei seinen Controllversuchen gut übereinstimmende Resultate zu erhalten, wohl daher, weil er nicht einen sandigen, in seinem Zusammenhange lockeren Boden zu untersuchen hatte, sondern theils lehmigen Boden, theils Schwarzerde. — Reimers²⁾ sah sich daher auch

1) А. А. Свавицкій. Матеріали для санитарнаго пзслѣдованія почвы. (Количественное опредѣленіе микроорганизмовъ въ почвѣ и ихъ отношеніе къ составу почвеннаго воздуха). Диссерт. 1889. Verhältniss des Microorganismengehaltes des Bodens zum Sauerstoffgehalt der Bodenluft. Diss. 1889.

2) John Reimers. Ueber den Gehalt des Bodens an Bacterien. s. Zeitschrift für Hygiene Bd. VII. 1889.

veranlasst, da, wo er auf kalkhaltigen lehmigen Boden stieß, eine andere Methode einzuschlagen, und zwar verrieb er die Erdproben mit flüssig gemachter Gelatine in Achatmörsern. Sein Gang der Untersuchung war folgender :

Die Proben wurden erlangt durch schichtweises Abgraben, in sterilisirte Reagensgläser gefüllt und darauf unmittelbar verarbeitet: $\frac{1}{50}$ ccm. Erde wurde in sterilisirten Achatmörsern mit flüssig gemachter Gelatine gründlich verrieben, alsdann füllte man daraus mit einem sterilen Stahl-löffel 2—7 Reagensgläser, die nach E s m a r c h gerollt wurden. Etwaiger Bodensatz in der Reibschale wurde mit Gelatine nachgespült. Gezählt wurde mit E s m a r c h ' s Zählapparat, sobald der geeignete Zeitpunkt zu sein schien.

Der Boden, den ich zu untersuchen hatte, bestand in den oberflächlichsten Schichten aus Schwarzerde, darauf folgte ein Torflager, das stellenweise sehr lehmreich war. Auch stand das Grundwasser recht hoch, sodass die Erdproben schon aus 50 cm. Tiefe stets feucht zu sein pflegten. So konnte ich mir denn von vornherein wenig Erfolg von der Fr ä n k e l ' s c h e n Methode versprechen und die Versuche, die sowohl von Herrn Prof. B. K ö r b e r , als auch von mir angestellt wurden, lehrten uns in der That bald, dass es einerseits schon mühsam war selbst mit Hilfe des Platindrahtes vom Platinlöffelchen das abgemessene Erdquantum wirklich in die Gelatine zu befördern, da die nasse Erde zu zäh am Löffelchen haftete, dass es aber andererseits noch schwieriger und sehr zeitraubend war, die in der Gelatine herumschwimmenden festgeklebten Erdpartikelchen und kleinen Pflanzenreste mit dem Platindraht, resp. mit dem Glasstabe aufzufischen und an der Wand des Reagensglases zu zerdrücken und zu zerreiben. Es war geradezu unmöglich, sie alle zu zertheilen; es blieben stets kleine zusammengeballte schwärzliche Klümpchen nach, sowie auch recht viele unverriebene Fäserchen von Pflanzenresten, die allen Versuchen, sie zu zerkleinern, trotzten. Es ist aber wohl mit Sicherheit anzunehmen,

dass in den Poren der organischen Ueberreste viele Keime sitzen, aus denen sie durch die flüssige Gelatine wohl kaum herausgespült werden können. Diese Keime entwickeln sich demnach entweder gar nicht oder wenn sie sich auch entwickeln, so werden sie, da sie sich in den Poren undurchsichtiger Körper befinden, nicht gesehen. Daher kann natürlich die Zahl der sichtbar ausgewachsenen Keime nicht der der wirklich in den Erdproben vorhandenen und in Gelatine gedeihenden entsprechen. Es kommt noch hierzu, dass durch die unzerteilt gebliebenen Erdpartikelchen und pflanzlichen Ueberreste viele Colonieen verdeckt werden: oft konnte ich bei genauer Betrachtung und guter Beleuchtung erkennen, wie hinter den schwarzen Bodenpartikelchen die weisslichen scharf umgrenzten Colonieen herauslugten, und wie leicht war Das zu übersehen! Ferner, wenn es auch möglich war, die Keime gleichmässig in der Gelatine zu vertheilen, und manchmal die Colonieen in grösserer Entfernung von einander wuchsen, so lagen sie doch meist so nah an einander, dass sie in einander übergingen, einander verdeckten, in späteren Stadien in einander flossen, sodass die Zählung ungenau, ja unmöglich war. Auch schien es mir, dass die oft ungleich vertheilten Colonieen sich gegenseitig im Auswachsen behinderten, denn dicht neben gut ausgewachsenen waren solche, die kaum zur Entwicklung gelangt, leicht übersehen werden konnten.

Was speciell die Erdproben aus den oberflächlichsten Schichten anbetrifft, so waren dieselben zwar trockener und nicht so reich an grösseren organischen Resten; hier machte sich jedoch vor Allem der Nachtheil der Frankel'schen Methode geltend, dass die Erdproben unverdünnt, sogar zu $\frac{1}{60}$ ccm., in Gelatine gebettet, eine so grosse Anzahl Colonieen aufwiesen, dass eine Zählung unmöglich war. Entweder musste ich früher zählen, wo wohl noch nicht alle Colonieen sich entwickelt hatten und die noch all' zu wenig entwickelten Colonieen übersehen werden konnten, oder ich musste, um zu verhindern, dass die Colonieen später zusammenflossen, die

Reagensgläser nebst den Platten im Eisschrank halten, und bei der späteren Zählung erwies sich eine so grosse Anzahl von Colonieen (über 100 pro Quadrat), dass von einer Zählung Abstand genommen werden musste. Bei den Proben aus den oberflächlichsten Schichten war es daher erwünscht, um nicht ungeheure Gelatine-massen zu verbrauchen, die Erdproben verdünnen zu dürfen.

So sah ich mich denn genöthigt, mich nach einer anderen Methode umzusehen, die auch bei feuchtem lehmigen Torfboden

- 1) wirklich möglichst allen Keimen Gelegenheit bietet auszuwachsen,
- 2) sie auch alle gleichmässig zu vertheilen gestattet und zwar so, dass
- 3) sie auch leicht sichtbar sind.

Andererseits war es bei den Proben aus den oberflächlichen bacterienreichen Schwarzerdeschichten nöthig die Erdproben zu verdünnen, da sonst die Zählung, wie oben erwähnt, unmöglich war.

Das von Reimers¹⁾ mittlerweile veröffentlichte Verfahren (das wir auf p. 11 geschildert haben) wollte ich nicht anwenden, weil das Verreiben mit Gelatine in den Mörsern und das Füllen in Reagensgläser recht umständlich ist und vor Allem, weil die nach seiner Methode angestellten Versuche mich lehrten, dass es bei Torfboden doch nicht gelingt, gründlich zu verreiben.

Auf Anrathen des Herrn Prof. B. Körber schlug ich daher ein anderes Verfahren ein: ich verrieb die Erdproben mit trockenem vorher steril gemachten Sande. Von dieser Methode erwartete ich einerseits, dass der Sand die Feuchtigkeit an sich ziehen und so den Zusammenhang der festgekitteten Erdtheilchen lockern, andererseits, dass er durch seine scharfen Kanten all' die

1) s. John Reimers. Ueber den Gehalt des Bodens an Bacterien. Zeitschrift für Hygiene. Bd. VII. 1889. p. 315—316.

organischen Ueberreste, in denen sich so viele Schlupfwinkel für die Microorganismen finden, fein zertheilen und verreiben werde. Ich erhielt auf diese Weise eine gleichmässige, feinkörnige, trockne Mischung, die sich ins Platinlöffelchen gut füllen, genau und bequem abmessen und endlich auch leicht in die Gelatine hineinschütten liess, ohne sichtbare Reste im Löffelchen zu hinterlassen. Beim Hineinschütten fielen die Körnchen auseinander, und so liessen sich in der That auch die Keime mit einem Glasstabe in der Gelatine leicht gleichmässig vertheilen. Es war möglichst Allen Gelegenheit geboten auszuwachsen, auch waren die ausgewachsenen Colonieen unbehindert sichtbar. Endlich in den Proben aus den oberflächlichsten Erdschichten, wo sonst die Colonieen zu nah an einander lagen und in einander flossen, war erst jetzt, wo die Erdmenge mit Sand verdünnt war, die Zählung ermöglicht.

Dieses Verfahren, die Erdproben mit Sand zu vermengen, ist ja eigentlich identisch mit Verdünnen des Wassers mit aqua sterilisata bei den quantitativen bacteriologischen Wasseruntersuchungen. Beim Wasser geschieht es ja lediglich der allzu grossen Keimzahl wegen, mich aber haben, wie schon oben erörtert worden, ausserdem noch andere wichtigere Gründe dazu gezwungen.

Früher war es üblich, die Erdproben mit Wasser zu vermengen, was erst durch Fränkel verworfen wurde, da es zu unständiglich, wegen der Tropfenzählung ungenau war und dabei doch den Zweck (alle Keime auszuspülen) nicht erfüllte. Unser Verfahren ist dagegen recht einfach, gestattet ein bequemes und genaues Abmessen und gewährt am sichersten von allen bisher bekannten Methoden möglichst allen Keimen die Gelegenheit sich zu entwickeln. Dazu kommt, dass der Zusatz von aqua sterilisata, falls die Untersuchung nicht sofort vorgenommen wird, zur Vermehrung der Keime beitragen kann, während der Zusatz von trockenem sterilen Sand durch Entziehung der Feuchtigkeit wohl eher ungünstige Bedingungen für die Vermehrung der Keime schafft.

Auch mit dem Verfahren von Miquel¹⁾, der den Erdproben auch die Feuchtigkeit zu entziehen und sie zu verreiben suchte, ist unsere Methode nicht zu identificiren, denn wenn Miquel seine Erdproben (dazu im Verlaufe mehrerer Tage!) 2 Mal auf 30° C. erwärmte und dann pulverisirte, so gewährte er doch wohl einerseits den Keimen Zeit und günstige Temperaturverhältnisse, damit sie sich vermehren, andererseits wurden wohl auch so manche Keime durch das anhaltende Trocknen vernichtet.

Nah verwandt unserer Methode sind die von Hüp pe und Reimers. Hüp pe²⁾ verrieb die Erdproben ohne jeden Zusatz im Mörser, was ja aber nur bei sehr trockenem Material möglich ist.

Reimers³⁾ verrieb dagegen die Erdproben im Mörser mit Zusatz von Gelatine, aber die vergleichenden Untersuchungen, die ich anstellte, belehrten mich, dass es selbst bei grösster Sorgfalt mir doch nicht gelang, die Erdproben so gut zu verreiben, wie mit Hilfe des Sandes. Es blieben doch unzerkleinerte Pflanzenreste nach, die, wenn sie auch meist das Gesichtsfeld nicht verdeckten, doch in sich Keime versteckt enthalten konnten. Auch glaube ich, dass leicht Verunreinigungen aus der Luft hinzugelangen können, da die Manipulation des Verreibens mit Gelatine, sorgfältig ausgeführt, ziemlich lange andauert und dazu noch das Füllen in mehrere Reagensgläser kommt, wobei ja der gesammte Inhalt des Mörsers benutzt wird, während bei unserem Verfahren, wo das Verreiben viel rascher erzielt wird und nur $\frac{1}{20}$ — $\frac{1}{10}$ des Verriebenen zur Untersuchung kommt, die Gefahr der Verunreinigungen aus der Luft eine viel geringere ist. Bemerken möchte ich auch, dass das Zählen nach Reimers ein recht umständliches ist, da mit ein und derselben Probe mehrere Reagensgläser gefüllt werden.

1) s. John Reimers. Ueber den Gehalt des Bodens an Bacterien. Zeitschrift für Hygiene. Bd. VII. p. 310.

2) s. John Reimers l. c. p. 315.

3) s. John Reimers l. c. p. 315—316.

Allerdings war ich mir bei unserer Methode des Nachtheils bewusst, dass ich durch das Verreiben der Erdproben mit dem Sande wieder ein Zwischenglied einschaltete und andererseits das Material auch verdünnte, aber ich sah sonst gar keine Möglichkeit auch nur einigermassen zuverlässige Resultate zu erhalten. Andererseits liessen sich ja die Fehlerquellen beseitigen, resp. ad minimum reduciren. Der Sand musste unbedingt steril sein — Das war bei einiger Geduld wohl möglich zu erreichen, wie, mag später erwähnt werden. Die Fehler, die aus dem etwaigen ungleichmässigen Verreiben, resp. dem nun zwei Mal ausgeführten Abmessen resultiren konnten, liessen sich durch Uebung ad minimum reduciren. Wie gleichmässig die Mischung durch Uebung verrieben werden kann und wie durch Uebung auch das Abmessen sicher wird, mögen folgende Zahlen zeigen:

Von ein und derselben Erdprobe fand ich in $\frac{1}{100}$ cm. folgende Anzahl Keime: 4844, 4521, 4659; oder ein anderes Mal von einer anderen Erdprobe: 6425, 6064, 6038, 6030; oder noch ein anderes Mal von ein und derselben Erdprobe 5210, 5010, 5714, 5537, 5307, 5181 Keime.

Mit dem Verdünnen des ursprünglichen Materials durch Sand war natürlich eine Fehlerquelle verbunden; ich suchte daher später auch sie jedoch zu reduciren, indem ich nur eben gerade so viel Sand zufügte, als es mir unbedingt nöthig schien, um trocken und gleichmässig verreiben zu können. Bei den Proben aus den oberflächlichsten Erdschichten musste ich allerdings eine Verdünnung von 1:20 vornehmen, da sonst die Zahl der Bacterien eine zu grosse war, bei den Proben aus den tieferen Schichten aber brauchte ich eine Verdünnung von nur 1:5 und, indem ich in letzterem Fall von der Mischung $\frac{1}{10}$ ccm. in Gelatine bettete, konnte ich den Keimgehalt von $\frac{1}{50}$ ccm. Erde direct bestimmen, gerade wie es ja auch Fränkel gethan hat.

Ehe ich zur Beschreibung des Ganges unserer Untersuchungsmethode schreite, möge es mir gestattet sein, einige allgemeine Bemerkungen vorzuschicken.

Das Institut, in dem ich arbeitete, war eben neu eingerichtet, gegen Staub wurde energisch gekämpft, indem tagtäglich die Diele, die Tische und all' die Schränke mit Sublimat abgewischt wurden; durch Doppelfenster suchte man das Eindringen des Staubes von draussen nach Möglichkeit zu verhindern; auch war der mir zur Arbeit angewiesene Platz eine abgelegene, wenig frequentirte Ecke, dennoch konnte nicht vermieden werden, dass sowohl auf den Platten, als auch auf Reinculturen ab und zu Verunreinigungen aus der Luft auftraten.

Usus war, Alles selbst auszuführen, sogar die Sterilisation und die Bereitung der Gelatine. Was Letzteres anbetrifft, so geschah es nach der gewöhnlichen Vorschrift (nur empfahl es sich zur Klärung der Gelatine vor dem Eizusatz die geronnenen Eiweisskörper erst durch ein Seihetuch abzufiltriren: so gewann man an Zeit, auch konnte das Ei zur besseren Wirkung kommen). Sterilisirt wurde die Gelatine an 4 auf einander folgenden Tagen 25—30 Minuten lang. Auch wurde stets vor dem Gebrauch die Gelatine auf 1—3 Tage in den Brüteschrank zur Controlle des Sterilseins gestellt und auch vor dem jedesmaligen Gebrauch sorgfältig mit der Lupe besehen.

Eine ganz besondere Sorgfalt wurde natürlich der Sterilisation des Sandes zu Theil: erst wurde der Sand an mehreren Tagen in einer Pfanne über dem Bunsen'schen Dreibrenner stundenlang erhitzt, anfangs von Zeit zu Zeit umgerührt, an späteren Tagen zugedeckt so lange erhitzt, bis er eine deutlich rothe Farbe angenommen hatte. Alsdann wurde der Sand mit einem sterilisirten metallenen Schaufelchen in vorher zu dem Zwecke sterilisirte Petri'sche Schälchen gefüllt, und überzeugte ich mich, indem ich mit solchem Sande Gelatine impfte, ob der Sand auch steril war. Erwies sich der Sand als noch nicht steril, so wurde er von Neuem geglüht. Selbst aber auch, wenn der Sand steril war, so wurde in Anbetracht der Möglichkeit, dass während des Abmessens des Sandes doch möglicherweise Keime hinzugelangen könnten, von Zeit zu Zeit der Sand bei Gelegenheit, wenn andere Sachen sterilisirt wurden, im Trockenschrank mitsterilisirt. Den Tag vor der Erdprobeentnahme wurde je 1 ccm. dieses sterilen Sandes mit einem sterilisirten platinirten Neusilberlöffel in gestrichen vollem Zustande in je eine Reibschale, abgemessen, die Reibschalen mit Glasplatten zugedeckt, zur nochmaligen Sterilisation nebst den zugehörigen Pistillen in den Trockenschrank bei 160—170° auf 20—25 Min. gestellt und drin bis zum vollständigen Abkühlen stehen gelassen. Die von Zeit zu Zeit an solchem Sande gemachten Controllversuche erwiesen ihn stets als steril. Im Trockenschrank wurden sterilisirt auch noch die Soyka'schen Schälchen, die, luftdicht schliessend, sich zur Aufnahme von Erdproben sehr gut eigneten, sowie das metallne Schaufelchen, das uns zur Probeentnahme diente. Letzteres befand sich stets in einem am Boden mit Watte gepolsterten Reagensglase, dabei von aussen eingehüllt in sterilisirte Watte.

Der Bohrer ¹⁾, den ich anfangs brauchte, war der sog. Frän-

1) s. Beschreibung und Abbildung desselben in Zeitschrift für Hygiene. Bd. II. 1887. p. 535 und 536.

kel'sche nur mit dem Unterschied, dass er unten leider kein Bohrgewinde hatte, sondern einen Keil. Anfänglich war ich mit diesem (3 m. langen) Bohrer sehr zufrieden, denn er war leicht transportabel und leicht handlich, wodurch man auch viel Zeit gewann, auch drang er mit geringer Kraftanstrengung leicht in die Erde ein, es war bequem ihn durch Ansätze zu verlängern und vor Allem er brachte sicher Proben aus der gewünschten Tiefe. Aber bald sah ich auch viele Mängel ein. Bei grösseren Widerständen pflegte er sich zu verbiegen und vor Allem waren die Befestigung sowohl der einzelnen Ansätze, als auch besonders der Handhabe sehr unzuverlässig. Alle Augenblick rutschte letztere herab oder versagte den Bohrer zu drehen. Auch bedauerte ich, dass der Ausschnitt zu gross war, sodass in geringeren Abständen, als 25 cm. die Erdproben wohl nicht entnommen werden durften. Ferner war es wünschenswerth, da ich auch in 3 m. Tiefe noch stets Keime antraf, einen längeren Bohrer zu besitzen. Daher liess ich mir Bohrer anderer Art construiren. Der eine war 1 Meter 75 cm., der andere 3 Meter 40 cm. lang. Um fester zu sein, waren sie aus Gasrohr und bildeten ein Ganzes, an das sich unten durch einen kleinen Stift das den nur 5 cm. grossen Ausschnitt und das Bohrgewinde tragende Ende aus Stahl befestigen liess. Diese Art der Befestigung war sicher und zum Zwecke des Reinigens bequem und rasch durch Herausschlagen des Stiftchens abnehmbar. Beide Bohrer hatten eine festsitzende Handhabe. Diese Bohrer waren noch leichter transportabel und noch bequemer zu handhaben, als der Fränkel'sche, auch verlor ich hierbei keine Zeit mit dem Anlegen der Ansätze und dem Ab- und Anschrauben der Handhabe, die Handhabe war sicher, der Bohrer verbog sich nie, drang leicht auch in sehr festen Boden ein und erfüllte schliesslich ebenso gut seinen Hauptzweck, wie der von Fränkel, indem er auch genügende Mengen Erde aus der gewünschten Tiefe hervorholte.

Gang unserer Untersuchungsmethode.

Der Bohrer wurde in geschlossenem Zustande bis zur gewünschten Tiefe in die Erde eingeführt, dann zum Ansammeln der Erde Paar Mal links gedreht, durch Drehen nach rechts der Bohrer geschlossen und nun vorsichtig herausgezogen. Die stets dem Bohrer anhaftenden Verunreinigungen wurden mit der Bürste entfernt, resp. an dem dem Ausschnitte benachbarten Ende mit sterilisirter Watte abgewischt, hierauf die Hülse vor dem Ausschnitt zurückgeschoben und die Proben mit dem sterilisirten metallnen Schaufelchen in sterilisirte Soyka'sche Schälchen gesammelt. Zwischen jeder Probeentnahme wurde der Bohrer gereinigt und über einer Spiritusflamme sterilisirt. Um das nachherige Abkühlen zu beschleunigen wurde der Bohrer in das Bohrloch auf einen Augenblick gesteckt, wonach er stets abgekühlt war und nun weiter gebohrt werden konnte. Das geschah in Abständen zu je 25 cm., selten einmal auch in kürzeren Abständen.

Stets wurde darauf geachtet, dass die entnommenen Proben nicht von der Sonne beschienen wurden. Ferner, da an den sehr heißen Sommertagen eine Vermehrung der Keime während der Zeit des Transportes und der Entnahme der übrigen Proben als möglich anzunehmen war, so versuchte ich eine Eisverpackung, doch die Erfahrung lehrte mich bald, wie man es auch aus nebenanstehender Tabelle ersieht, dass sich kein Unterschied herausstellte, wie es auch mein College E. K e e k ¹⁾ bei seinen quantitativen bacteriologischen Wasser-

1) Leider erwähnt K e e k dessen gar nicht in seiner Diss. Ueber das Verhalten der Bacterien im Grundwasser Dorpats nebst Beschreibung von 10 am häufigsten in demselben vorkommenden Bacterienarten. 1890. Dorpat.

untersuchungen beständigen konnte, daher sah ich, da es auch zu un-
ständig sonst gewesen wäre, bald davon ab.

Aus welcher Tiefe die Erdproben.	Transport mit Eisverpackung.	Transport ohne Eisverpackung.
25 cm.	695600 ^{17°}	831367 ^{18°}
35 cm.	732800 ^{16,5°}	737280 ^{17°}
50 cm.	884800 ^{16°}	661955 ^{16,5°}
75 cm.	28400 ^{15°}	24945 ^{15,5°}

Bemerk. Die Zahlen zeigen an, wie viel Keime im 1 ccm. Erde sind und
sind Mittelzahlen aus je drei an gleichen Tagen gestellten
Versuchen.

Die oben seitlich beigefügten Zahlen zeigen die Temperatur
des Bodens in der betreffenden Tiefe an.

Im Laboratorium angelangt, wurden die Proben sofort in den
Eisschrank gestellt, wo die Temperatur gewöhnlich 4°—7° C., im
Sommer jedoch auch 10—11° C. erreichte. Die Untersuchung be-
gann stets mit den tiefstentnommenen Proben. Mit $\frac{1}{20}$ resp. $\frac{1}{10}$
resp. $\frac{1}{5}$ cm. Löffelchen wurde aus den sterilisirten mit 1 ccm
Sand gefüllten Reibschalen Sand entnommen und statt dessen Erde
hineingethan; der Sand half rasch das Löffelchen leeren, er wusch
es förmlich aus, zumal wenn mit einem Platindraht nachgeholfen wurde.

Beim Füllen des Löffelchens mit Erde wurde darauf geachtet, dass
keine Steinchen oder dickere Pflanzenfasern hineingelangen, ferner wurde
durch Hineinpresse der Erde vermittelst des Platindrahtes das Wasser so
viel wie möglich entfernt; endlich achtete ich stets darauf, dass beim
Abstreichen des Ueberschüssigen der Platindraht horizontal mit einem ge-
wissen Druck auf den Kanten des Löffelchens ruhte.

Jetzt folgte die Verreibung, was so lange fortgesetzt wurde,
bis die Mischung trocken genug erschien und einen gleichmässig
gefärbten Farbenton hatte. Unterdessen war die zu beschickende

Gelatine flüssig gemacht und sowohl die Watte, als auch der Rand des Reagensglases sterilisirt. Nun wurde das $\frac{1}{20}$ ccm. resp. $\frac{1}{10}$ ccm. Löffelchen mit der Mischung gefüllt (wobei man stets den Inhalt im Löffelchen mit einem Platindraht zusammenpresste, denn nur darn war das Löffelchen richtig gefüllt!), in die Gelatine ausgeschüttet, das Reagensglas auf und ab gesenkt, die Gelatine mit einem sterilisirten Glasstab so lange umgerührt, bis sie gleichmässig trübe aussah, alsdann, nachdem auch der Glasstab durch Gelatinezusatz abgespült worden war, entweder nach Esmarch ¹⁾ gerollt oder auf je zwei Platten gegossen und der Rest im Reagensglas nach Esmarch gerollt. Indem ich Letzteres that, glaube ich, dass mich auch kein Vorwurf von Seiten Fränkel's treffen kann.

Gezählt wurde gewöhnlich nach zwei oder drei Mal 24 Stunden. Die Platten zählte ich vermittelst des Zählapparates von Wolffhügel, indem ich die Anzahl der Quadrate zählte und dann aus dem Inhalt von je 10 Quadraten die Anzahl der auf der Platte enthaltenen Colonieen berechnete. Wo wenig Colonieen sich entwickelt hatten, da sah ich mich genöthigt, die Colonieen auf der ganzen Platte abzuzählen. Da die zu den Platten gehörigen Rollröhrchen für gewöhnlich nur wenige Colonieen, selbst in den oberflächlichen Erdschichten selten über 100 Colonieen aufwiesen, so zählte ich sie gewöhnlich so ab, dass ich mit dem Bleistift längs der Wandung des Reagensglases drei Längsstriche zog und nun bequem die Anzahl der Colonieen auf jeder der drei so gebildeten Flächen abzählen konnte. Sonst bediente ich mich, da das Institut leider den Esmarch'schen Zählapparat nicht besass, bei der Zählung der Colonieen in den Rollröhrchen eines in Blech ausgeschnittenen Quadrates, das ich an verschiedenen Stellen an die

1) E. Esmarch. Ueber eine Modification des Koch'schen Plattenverfahrens zur Isolirung und zum quantif. Nachweis von Microorganismen. Zeitschrift f. Hygiene Bd. I 1885.

Wandung des Reagensglases anlegte. Auch hier zählte ich mindestens 10 Quadrate ab, bestimmte die Anzahl der Quadrate aus der Länge und dem Umfange des Rollröhrchens und berechnete danach die Anzahl der in demselben enthaltenen Colonieen.

Was die Zählung anbetrifft, so möchte ich daran einige Bemerkungen knüpfen. In Wirklichkeit gedeihen ja in dem Gelatine-Nährboden (zumal bei Sauerstoffzutritt) nicht alle in den Erdproben enthaltenen Keime, aber es muss doch stets der Zeitpunkt abgewartet werden, wo womöglich alle, die unter jenen Bedingungen gedeihen können, auch wirklich so gut entwickelt sind, dass man sie beim Zählen nicht übersieht. Diesen Zeitpunkt zu bestimmen und anzupassen ist nicht leicht; oft tritt schon früh Verflüssigung ein und zwingt uns früher zu zählen, es sei denn, dass wir die Platten, resp. Rollröhrchen in den Eisschrank legen, wo aber andererseits die Colonieen in ihrem Wachsthum gehemmt werden.

Nicht zu leugnen ist auch der Einfluss der Reaction des Nährbodens, woher es wünschenswerth erscheint, dass die zu vergleichenden quantitativen bacteriologischen Untersuchungen dienende Gelatine von ganz gleicher Reaction ist, womöglich gleichzeitig bereitet wird.

Leugnen möchte ich jedoch die Schwierigkeiten, die etwa aus dem Vorhandensein von Sandkörnerchen für die Zählung erwachsen. Bei einiger Uebung ist eine Verwechselung der Colonieen mit den Sandkörnerchen oder ein Verdecktwerden Ersterer durch Letztere gar nicht möglich. Die Colonieen sind rundlich, stets scharf begrenzt, weisslichgrau, während die Sandkörnerchen nie rund, sondern eckig, von unregelmässiger Gestalt, leicht röthlich oder gelbröthlich gefärbt sind und glänzen. Ich muss gestehen, dass man im Laufe der Zeit sich so an den Anblick der in die Gelatine eingebetteten Sandkörnerchen gewöhnt, dass man sie bei der Zählung

lung ganz übersieht oder gar nicht beachtet. Nur wo sie dicht zusammengruppirt liegen, da fallen sie auf, doch eine Verwechslung mit Colonieen ist unzulässig.

Dem aufmerksamen und etwas geübten Auge entgehen auch solche Colonieen nicht, die zwischen den dicht zusammengruppirten Sandkörnern von ihnen verdeckt liegen, denn sie schimmern deutlich weisslich-grau hindurch.

Zum ersten Mal wurde der Boden 1874 einer bacteriologischen Untersuchung unterworfen von Birch-Hirschfeld¹⁾ bei einer Gelegenheit, wo im Dresdener Boden Wasserleitungsröhren gelegt wurden. Birch-Hirschfeld betrachtete unter dem Microscope sowohl die Bodenpartikelchen für sich allein, als auch indem er sie in Wasser suspendirte und einen Tropfen davon untersuchte. Endlich impfte er mit einigen Tropfen der wässerigen Lösung die sog. Cohn'sche Lösung und untersuchte auch davon einen Tropfen. Nur in diesem letzteren Fall fand er eine ziemlich starke Entwicklung von Bacterien.

Koch²⁾ stellte zuerst fest, dass mit zunehmender Tiefe sehr bald die Zahl der Keime stark abnimmt und oft im nicht umgewühlten Boden in 1—2 Meter Tiefe keine Keime mehr anzutreffen sind.

Miquel³⁾, der nur die oberflächlichsten Bodenschichten untersuchte, fand in 1 grm. Erde folgende hohe Zahlen: im gedüngten Ackerboden 900000, 20 cm. tief im Park v. Montsourris 700000.

1) s. John Reimers. Ueber den Gehalt des Bodens an Bacterien. Zeitschrift für Hygiene. Bd. VII. 1889. p. 308.

2) Mittheil aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. I. p. 35.

3) s. C. Fränkel. Ueber Microorganismen in verschiedenen Bodenschichten. Zeitschrift f. Hygiene. Bd. II. 1887. p. 550.

Adametz¹⁾, der Sand und Lehmboden im Garten des Landw. Inst. zu Leipzig untersuchte, jedoch nur an der Oberfläche und in 25 cm. Tiefe, fand keinen wesentlichen Unterschied in dem Bacteriengehalt der oberflächlichsten und der 25 cm. tief gelegenen Erdschichten, sowie zwischen Sand und Lehmboden.

Maggiara²⁾ berücksichtigte dagegen auch die tieferen Erdschichten (bis 4 Meter Tiefe) und untersuchte sowohl jungfräulichen Boden als auch Culturboden und auch bewohnte Stätten: Während er im jungfräulichen Boden in 1 grm. etwa nur 16000—152000 Keime antraf, fand er im Culturboden bis gegen 11 Millionen, in bewohnten Stätten bis 78 Millionen. Seine Zahlen sind durchweg recht hohe, so fand er noch in 4 Meter Tiefe 17 resp. 29 Millionen Keime.

Hier und da konnte auch eine deutliche, z. Th. rasche Abnahme der Zahl der Keime nach der Tiefe zu beobachtet werden z. B. an der Oberfläche — 32 Millionen, in 1 Meter Tiefe — 80000, in 2 Meter Tiefe — 20000, in 3 Meter Tiefe — 18000.

Maggiara beging, wie schon oben erwähnt worden, den Fehler nicht sofort nach der Entnahme die Proben zu untersuchen, sondern meist nach Tagen, ja zuweilen nach Wochen.

Beumer³⁾ untersuchte ebenfalls die tieferen Bodenschichten und fand auch recht hohe Zahlen, so z. B. in 4—6 Meter Tiefe bei sehr sandigem Geschiebemergel — 1½ Millionen.

Selbst da, wo er angiebt, dass er sofort nach der Entnahme die Proben untersucht hat, findet er hohe Zahlen z. B. auf einem Kirchhof, wo seit 45 Jahren keine Beerdigung stattgefunden:

1) Adametz. Ueber die niederen Pilze der Ackerkrume. Leipzig 1886. Diss.

2) A. Maggiara. Ricerche quantitative sui microorganismi del suolo con speciale riguardo all' inquinazione del medesimo. Torino 1877. s. Centralblatt f. Bacteriologie und Parasitenkunde. Bd. I. 1887. p. 677.

3) Beumer. Zur Bacteriologie des Bodens s. Berliner medicin. Wochenschrift 1886. Nr. 27.

in 4 Fuss Tiefe (sandiger Humus) 1,152,000.

in 5 Fuss Tiefe (humöser Sand) 672,000.

in 6 Fuss Tiefe (gelber Sand) 438000.

Auch Beumer bestätigt den Abfall der Keimanzahl mit zunehmender Tiefe. Keimarm fand er jedoch nur den nicht verunreinigten Dünsand der Insel Rügen, wo in einer Tiefe von 3—5' circa 1000—2000 Keime sich finden.

Smolensky¹⁾ untersuchte im April 1886 in Krassnoje Selo den Lagerboden, sowie den (aus gestampfter Erde bestehenden) Boden der Soldatenbaracken. Letzteren fand er sehr stark verunreinigt im Vergleich zu anderen Stellen des Lagers und er plaidierte dafür den Boden durch Asphalt zu ersetzen.

Smolensky bestätigte den Abfall der Keimanzahl mit zunehmender Tiefe, wie es ja auch schon Koch, Maggiora und Beumer constatirt hatten. Ferner fand Smolensky, dass die dem Grundwasser benachbarten Schichten (2—3½ Arschin tief), äusserst keimhaltig waren; er fand Zahlen wie 851000, 3247200, jedoch bemerkt er selbst, dass das Grundwasser wohl verunreinigt wurde durch die nur 2 Mal im Jahre gereinigten Senkgruben, mit denen das Grundwasser an vielen Stellen communicirte.

Gleichzeitig mit Smolensky's Arbeit veröffentlichte auch Klementjew²⁾ seine Untersuchungen, die er an den frisch aufgegrabenen Gräbern auf dem Wolkower Friedhofe (bei St. Petersburg) angestellt hatte. Dieser Friedhof steht schon seit 128 Jahren in Benutzung; er ist 20—24' über dem Niveau des Newa-

1) Бактеріолог. изслѣдованія почвы авангарднаго лагеря подъ Краснымъ селомъ. Смоленскаго см. Врачь 1887 г. N№. 6, 7, 10, 11. (Unters. des Bodens d. russ. Avantgardelagers. Wratsch 1887. N№. 6, 7, 10, 11.)

2) Клементьевъ. Опытъ количественнаго опредѣленія микроорганизмовъ въ кладбищенской почвѣ. Диссерт. 1887 г. (Klementjew. Quantitative bacteriolog. Unters. der Kirchhofserde. Dissert. 1887.)

flusses gelegen; der Boden daselbst besteht aus Lehm, stellenweise auch aus Sand. Klementjew's Untersuchungen beziehen sich auf die Monate Februar bis September, dabei berücksichtigte er stets, ob der Ort nicht schon früher einmal zum Begräbniss benutzt worden, ob Geruch vorhanden, wie gross der Wassergehalt etc. Zum Vergleich nahm er Proben vom dicht am Kirchhofe gelegenen Wiesenlande, das nie gedüngt und bearbeitet worden war. Es muss uns auffallen, dass Klementjew wider Erwarten die Zahl der Keime gar nicht so hoch fand; so in 10 cm. Tiefe im Durchschnitt 165000 (die höchste Zahl betrug 532000). Aus seinen Tabellen ist auch deutlich zu ersehen, dass mit Zunahme der Tiefe die Zahl der Bacterien abnimmt, und oft traf Klementjew in 1 Meter Tiefe schon keine Keime mehr an.

Ein besonderer Unterschied zwischen Kirchhofserde und jungfräulichem Boden ist ihm nicht aufgefallen, nur dass bei Letzterem in tieferen Schichten (1—2 Meter) öfter keine Bacterien vorgefunden wurden.

Die wärmere Jahreszeit, sowie ein gewisser mittlerer Feuchtigkeitsgehalt (27—29%) schien die Zahl der Bacterien zu steigern; auch war Schwarzerde stets reich. Lehmboden dagegen arm an Keimen. Das Grundwasser war ohne merklichen Einfluss, denn im Gebiete desselben (1 Meter 22 cm. tief) war die Anzahl der Bacterien geringer, als in den drüber liegenden Schichten.

Klementjew ermittelte gleichzeitig auch den Gehalt des Bodens an organischen stickstoffhaltigen Bestandtheilen, und aus dem der Arbeit beigefügten Diagramm ersehen wir, dass im allgemeinen wohl dem grösseren Stickstoffgehalt auch ein grösserer Keimgehalt entspricht, aber durchaus nicht durchweg, da eben hierbei so viele andere Factore von Einfluss sind. Klementjew tritt auf Grund seiner Arbeit dem so sehr verbreiteten Vorurtheil entgegen, dass Kirchhofserde stark verunreinigt und sehr reich an (z. Th. schädlichen) Microorganismen sei; er kam im Gegentheil

zur Ueberzeugung, dass die Wolkower Kirchhofserde trotz des lehmigen Bodens und hohen Grundwasserstandes doch ein bedeutendes Nitrificationsvermögen besitze und weniger mit organischen Substanzen verunreinigt sei, als der Boden der Strassen und Höfe in Petersburg (Kolodessnikow's Unters.), Moskau (Bubnow's Unters.) und Buda-Pesth (Fodor's Unters.).

Fränkel¹⁾ untersuchte ähnlich, wie vorher Maggiora, sowohl jungfräulichen als auch bebauten (städtischen) Boden, aber er untersuchte die Proben einerseits möglichst unmittelbar, höchstens $2\frac{1}{2}$ Stunden nach ihrer Entnahme und andererseits benutzte er die von ihm erst sorgfältig geprüfte Methode, daher verdienen seine Beobachtungen besondere Berücksichtigung und Zutrauen.

Der jungfräuliche Boden bestand aus mittel- resp. feinkörnigem Sande, nur ganz oberflächlich (bis zu 75 cm. Tiefe) hatte er etwas Humusbeimengung, an der Oberfläche war eine mässig dichte Grasnarbe. Nie war der Boden mit Baulichkeiten besetzt, 30 Jahre lang überhaupt unberührt geblieben, ehemals diente er den Zwecken der Obstcultur.

Obwohl Fränkel Proben bis zu $4\frac{1}{2}$ Meter Tiefe entnahm, wurde die Region des Grundwassers doch nur ausnahmsweise (3 Mal) erreicht.

Im bebauten und bewohnten Boden wurde das Grundwasser nie erreicht.

Aus Fränkel's Untersuchungen liessen sich wohl folgende Schlüsse ziehen:

- 1) dass die oberflächlichsten Schichten auch des jungfräulichen Bodens reich an Bacterien sind: 50000—350000 Keime an der Oberfläche,

1) C. Fränkel, Unters. über das Vorkommen von Microorganismen in verschied. Bodenschichten. s. Zeitschrift für Hygiene Bd. II. 1887.

- 2) dass die Hauptmenge der Microorganismen gewöhnlich nicht unmittelbar an der Oberfläche, sondern meist in 25 cm. Tiefe, oft auch in 50 cm. Tiefe sich befindet,
- 3) die grösste Keimanzahl fand Fränkel im Sommer, bes. im Juli und August, besonders nach vorhergegangenen Niederschlägen. Dabei schien die Art der oberflächlichen Bedeckung (ob Gras vorhanden oder nicht) ohne wesentliche Bedeutung zu sein.
- 4) Mit Zunahme der Tiefe nimmt im jungfräulichen Boden der Bacteriengehalt rapid, fast plötzlich ab oft um das 100fache und mehr und zwar in verschiedener Tiefe (75 cm. — 1 Meter 75), z. B. während in 75 cm. noch 145000 Keime in 1 ccm. Sand waren, waren in 1 Meter nur noch 1500 da (s. Versuch 9 vom 16/VIII 1886).

Stellweise war der jungfräuliche Boden in 1 Meter 50 cm. Tiefe schon keimfrei.

Im bebauten und bewohnten Boden dringen die Bacterien weiter in die Tiefe vor, dennoch ist auch hier eine Abnahme der Keimzahl mit zunehmender Tiefe zu constatiren, obwohl nicht so deutlich, wie beim jungfräulichen.

Auch in bebautem Boden stiess Fränkel zuweilen auf Schichten, die keimfrei waren, so waren in reinem weissen Sandboden 3 Meter tief noch 34000 Keime in 1 ccm. da, während in 3½ Meter Tiefe sich keine Keime vorfanden.

- 5) Nie liess sich im jungfräulichen Boden nach dem Grundwassergebiet hin ein abermaliges Anwachsen der Keimzahl constatiren, im Gegentheil waren die Schichten aus der Zone des capillaren Grundwasserstandes stets keimarm und sogar das eigentliche Grundwassergebiet (in

4 $\frac{1}{2}$ —5 Meter Tiefe) war in den drei Fällen, wo es erreicht wurde, zwei Mal keimarm.

- 6) Der Einfluss der Jahreszeit auf den Bacteriengehalt der tieferen Schichten ist nicht deutlich ersichtlich, trotzdem ja die Temperatur so verschieden ist.

Fränkel ist vorsichtig genug für seine Resultate keinen Anspruch auf allgemeine Gültigkeit zu erheben, da seine Versuche dazu nicht zahlreich genug seien und die Verhältnisse ja in jedem einzelnen Fall so abweichend vorliegen, aber der Umstand, dass die Untersuchungen bewohnten Terrains im Wesentlichen Dasselbe ergaben, wie die des jungfräulichen Bodens, verleiht doch viel Zutrauen an seine Resultate. Auch möchte ich hier schon erwähnen, dass ich in einem Boden, der anders beschaffen war, doch im Ganzen dieselben Verhältnisse wiederfand.

Im Sommer 1888 wurde nach Fränkel's Methode der Boden von Krassnoje Selo sowie der von St. Petersburg untersucht von A. Swawitzky ¹⁾, jedoch lediglich zu dem Zwecke, um das Verhältniss des Sauerstoffgehaltes der Bodenluft zu dem des Bacteriengehaltes im Boden festzustellen. Zur Parallele untersuchte Swawitzky stets sowohl stark verunreinigten als auch möglichst rein erhaltenen Boden.

Der Boden von Krassnoje Selo bestand aus Lehm, an einzelnen Stellen traf man schon in 50 cm. Grundwasser an. Der Boden von St. Petersburg bestand aus Schwarzerde, resp. Sand und Steinen; in 1 Meter 75 cm. Tiefe stiess man auf das Grundwasser.

Im Mittel fand Swawitzky folgende Anzahl Bacterien in 1 Ccm. Erde:

1) А. А. Свавицкій. Количественное определение микроорганизмовъ въ почвѣ и ихъ отношеніе къ составу почвеннаго воздуха. Диссерт. 1889. Verhältniss des Microorganismengehaltes des Bodens zum Sauerstoffgehalt der Bodenluft. Diss. 1889.

Aus welcher Tiefe die Erdproben.	Boden von Krassnoje Selo.		Boden von St. Petersburg.	
	Stark verunreinigt.	Nicht verunreinigt.	Stark verunreinigt.	Nicht verunreinigt.
10 cm.	20,43% 120386	20,3 % 114020	20,45% 186218	20,44% 122053
50 cm.	19,55% 82990	19,43% 34362	20,23% 147094	20,17% 64254
1 m.	18,89% 50490	18,24% 3620	19,83% 98574	19,61% 44308
1 m. 75 cm.			48878	13298

B e m. Die seitlich oben beigefügten Zahlen ergeben in % den Sauerstoffgehalt der Bodenluft.

Mit ist der Stand des Grundwassers bezeichnet.

S w a w i t z k y fand, wie aus den Tabellen ersichtlich, durchweg, dass dem grösseren Gehalt an Sauerstoff auch ein grösserer Gehalt an Microorganismen entspricht, demnach auch mehr in den oberflächlichen Schichten, mehr im verunreinigten Boden, was Letzteres besonders deutlich in tieferen Schichten ersichtlich ist.

Indem S w a w i t z k y dann ferner einen Vergleich zieht zwischen Krassnoje Selo und St. Petersburg findet er, dass in den oberflächlichsten Schichten zwar die Zahlen nahezu gleich sind, jedoch mit Zunahme der Tiefe in St. Petersburg sich die Zahlen grösser erweisen z. B. in 1 Meter im Mittel fast 12 Mal so gross, was Swawitzky darauf zurückführt, dass der lehmige Boden von Krassnoje Selo die Microorganismen schwerer durchlässt, als die Schwarzerde in St. Petersburg. — Analog verhält es sich mit dem Sauerstoffgehalt der Bodenluft. Auch fand S w a w i t z k y folgendes Verhältniss zwischen

Lehmboden :	Sandboden :	Schwarzerde :
19,36	20,07	20,26
75231	105480	147189

S w a w i t z k y fand, dass das Grundwasser ohne Einfluss auf den Keimgehalt des Bodens ist, denn im Gebiete desselben waren durchweg weniger Microorganismen da, als in den höher gelegenen Schichten, allerdings sind die Zahlen daselbst recht hohe, wie überhaupt S w a w i t z k y durchweg recht hohe Zahlen erhalten hat, wie es bei einem stark verunreinigten Boden auch zu erwarten war. Demnach ist auch der Abfall der Keimanzahl selten so deutlich ausgeprägt, wie bei F r ä n k e l.

Die höchste Keimzahl, die S w a w i t z k y antraf, war 835920 bei 20,68% Sauerstoffgehalt der Bodenluft.

Auf keimfreie Schichten stiess S w a w i t z k y nirgends.

John Reimers¹⁾ stellte 31 Versuche an: 8 an intactem Acker- und Wiesenland, 9 an bewohntem städtischen Terrain, 14 an Kirchhofserde.

Zur besseren Uebersicht sei es uns gestattet, die Versuche zu gruppieren :

1) John Reimers. Ueber den Gehalt des Bodens an Bacterien s. Zeitschrift für Hygiene. Bd. VII. 1889.

Untersuchungen an intacterm Acker- und Wiesenland z. Th. hoch z. Th. unmittelbar über dem
Flussniveau gelegen:

In 1 cm. Erde war folgende Anzahl Keime:									
Tiefe.	14/IV.	6/V.	7/V.	3/VI.	7/VI.	8/VI.	9/VI.	29/VI.	
Oberfläche.	2564800	524500	968900	Unzählig	161800?	390840	192000?	verfl.	
50 cm.		317000							
75 cm.					27900	164700			
1 m.		142900	444900	81900			69300	64500	
1 m. 50 cm.		5800 (feucht.)			540				420
1 m. 75 cm.			3560						
2 m.	23100			400	0 (Sandstein)		9000	0 (Thon)	
3 m. 20 cm.				120			700		
4 m. 20 cm.				0 (feuchter Lehm)					
6 m.	0 (Sandstein)								

B. e. m. ? bedeutet, dass die Zahl zu klein, da wegen drohender Verflüssigung früher gezählt wurde.

Wie wir aus nebenanstehender Tabelle ersehen, fand Reimers in dem intactem, abseits von den Stätten menschlichen Wohnens gelegenen Acker- und Wiesenlande doch eine recht hohe Keimanzahl. Während z. B. Fränkel an der Oberfläche des von ihm untersuchten jungfräulichen Bodens in 1 cm. Erde 50000 — 350000 Keime fand, fand Reimers Zahlen wie 390840, 524500, 968900, 2564800. Reimers will es sich dadurch erklären, dass er lehmigen Boden zur Untersuchung hatte, der ja einerseits mehr und engere Porenkanälchen, als der Sand, in gleichem Volumen besitze, andererseits vielleicht auch ein besseres Nährsubstrat für Pilze sei, als der Sand, zumal ja auch der Feuchtigkeitsgehalt ein grösserer ist. So findet denn Reimers durchweg die Keimanzahl höher, als Fränkel.

In gewisser, zwischen 1 und 2 Meter wechselnder Tiefe findet auch Reimers einen plötzlichen Abfall der Keimanzahl. In vier Fällen fand er sogar völlige Keimfreiheit.

Das Grundwasser wurde nur ein Mal (von 6/V) erreicht und zwar in 1 Meter 50 cm. Tiefe; dennoch war daselbst ein bedeutender Abfall der Keimanzahl zu constatiren: von 142900 in 1 Meter Tiefe auf 5800 in 1 Meter 50 cm. Tiefe.

Am 3/VI und 7/VI gelangte Reimers bis in die Schicht des capillären Grundwasserstandes und fand daselbst nur wenig oder gar keine Keime.

Untersuchungen auf bewohntem städtischen z. Th. stark verunreinigten Terrain :

In 1 ccm. Erde war folgende Anzahl Keime :

Tiefe.	16.V.	21.V.	31.V.	2.VI.	20.VII.	24.IX.	29.IX.	20/XI.	21/XI.
Oberfläche.	7600000	3906000	278000	1232100	432400	319200	1816000	1420000	834000
50 cm.	585000								
75 cm.		130500							
1 m.	850000		124800	15820	760		284100	64200	742600
1 m. 50 cm.	167000	20600		360		681900			
2 m.	31720	860	750		14000		2930	590	8600
2 m. 50 cm.	36820					410			
3 m.					100 (feucht)			0 (Grundw.)	
3 m. 20 cm. resp. 50 cm.						0 (feucht)	190 (feucht)		65 (Grundw.)

Am meisten fallen hier die am 16/V gefundenen Keimzahlen auf. Reimers fand sie in einem seit lange mit Abwässern begossenen Grundstück, sonst sind die Zahlen zwar recht hoch, bewegen sich aber ähnlich, wie beim intactem Wiesenboden, zwischen 300000 und 2 Millionen.

Auch hier beobachtet man einen sprungweisen Abfall der Keimanzahl zwischen 1 und 2 Meter, ein Mal sogar in 1 Meter Tiefe (am 20/VII).

Manchmal trifft man mit zunehmender Tiefe ein Wiederanstiegen der Keimanzahl an, so am 20/VII, wo in 1 Meter 760 in 2 Meter 14000, aber hierbei ist nicht etwa das Grundwasser von Bedeutung, das man erst in 3—3½ Meter Tiefe antraf und von dem man sonst nicht ersehen konnte, dass es den gesetzmässigen Abfall der Keimzahl wesentlich modificire, im Gegentheil in den fünf Fällen, wo Reimers Proben aus dem Grundwassergebiete erhielt, fand er recht wenig oder gar keine Keime.

Was Reimers Untersuchungen der Kirchhofserde anbelangt, so sei es mir gestattet, sie nur kurz zu referieren. Reimers untersuchte sowohl einen hoch und trocken gelegenen Kirchhof (Jenenser Kirchhof), als auch einen nur wenig über dem Flusspiegel gelegenen (Weningenjener Kirchhof); zum Vergleiche wurden in einer Entfernung von 2—25 m. auf bebautem Gartenterrain Gruben angelegt, deren Schichten auf ihre Keimzahlen geprüft wurden. Es ergab sich, dass durch Beerdigungen der Keimgehalt des Bodens nicht wesentlich beeinflusst wird, höchstens wird die Zone des Bacterienabfalles etwas niedriger gelegt (bis zu 2 Meter Tiefe). Es mag noch erwähnt werden, dass Reimers auf dem niedrig gelegenen Weningenjener Kirchhof eine Zunahme der Keimanzahl in der Höhe des Grundwassers beobachtet hat:

Tiefe.	24/VI	11/VI	21/VI	28/VI	
2 m.	11700	5400		14700	} oberhalb des Grundwassers.
2 m. 60 cm.	27000		8000		
3 m.		16600	22900	23600	} im Grundwasser.

Und z. Th. auch bei den 4 dort angelegten Gruben

Tiefe.	Grube I.	II.	III.	IV.	
2 m.	23200	26900	70200	10200	} oberhalb des Grundwassers.
2 m. 50 cm.	31600	45760	68500	9700	
					} im Grundwasser.

Ganz in Uebereinstimmung hiermit erwies sich auch das Grundwasser in Weningenjener als sehr bacterienreich.

Gleichwie Fränkel, beabsichtigte auch ich meine Untersuchungen an einem möglichst wenig von menschlichen Händen berührten Boden anzustellen. Es schien mir dazu eine Gartenlage, nah dem Embachufer gelegen, geeignet, da der Boden daselbst nur der Obstcultur diene und sich leicht Stellen ausfindig machen liessen, die wenigstens 30 Jahre lang unberührt waren. Der Boden bestand oberflächlich (bis zu 50—75 cm. Tiefe) aus Schwarzerde, dann folgte Torf, z. Th. stark mit Mergel gemischt. Das Grundwasser befand sich recht hoch, stellenweise wurde es schon in 75 cm. Tiefe angetroffen. Demnach war sowohl die Bodenbeschaffenheit, als auch der Stand des Grundwassers anders, als bei dem von Fränkel untersuchten Boden, und ich wollte ermitteln, ob nicht dennoch dieselben Gesetze sich feststellen lassen. Auf Initiative des Herrn Prof. Dr. B. Körber wurden an verschiedenen Stellen drei kleine Brunnen der Art angelegt, dass man ein Loch bis zum Grundwasser aushob und alsdann zwei 16 cm. im Durchmesser haltende Thonröhren über einander legte. Während mein College Keck¹⁾ das Wasser dieser Brunnen auf die Zahl und Arten der Bacterien hin untersuchte, wurde mir die Aufgabe gestellt, gleichzeitig in der Umgebung derselben den Boden zu untersuchen. Stets wurden be

1) E. Keck. Ueber das Verhalten der Bacterien im Grundwasser Dorpats nebst Beschreibung von 10 am häufigsten in demselben vorkommenden Bacterienarten. Diss. 1890 Dorpat.

jeder Probeentnahme der Stand des Grundwassers und die Temperatur des Bodens berücksichtigt. Der Grundwasserstand wurde gemessen an der Höhe des Wasserspiegels in dem nebenan gelegenen Brunnen.

Die Arbeit begann ich zwar im Februar bei Brunnen I; der Boden war damals bis auf 25—30 cm. gefroren, und es wäre interessant gewesen festzustellen, ob mit dem Wiederaufthauen der Erde auch eine Vermehrung der Bacterien festgestellt werden könnte, aber, da ich damals die Technik noch nicht vollkommen beherrschte, wage ich nicht jene Resultate zu verwerthen. Ich habe mich entschlossen, nur die seit dem April Monat gewonnenen Zahlen zu veröffentlichen.

Untersuchungen angestellt bei den Brunnen II und III.

Der Boden bestand hier oberflächlich aus Schwarzerde, in 75 cm. trat Torf, mit Mergel vermischt, auf.

Das Grundwasser stand bei dem Brunnen III im April Monat recht hoch (42,5 cm.), Ende Mai sank es auf 75 cm. und stieg dann im Juni wieder auf 50 cm. — Bei dem Brunnen II waren die Proben aus 50 cm. Tiefe stets noch trocken, dagegen in 60 und 75 cm. Tiefe stiess man regelmässig auf das Grundwasser.

Da das Grundwasser so hoch stand und ich mich für die Erdschichten in der Nähe des Grundwassers interessirte, so wurden die Proben selten tiefer, als aus 1 Meter 25 cm. Tiefe entnommen.

Die Temperatur betrug im Monat April 6° in 25 cm. Tiefe (4,5—5,5° in 50 cm. Tiefe), im Monat Mai 12,5—15° in 25 cm. Tiefe (11—12° in 50 cm. Tiefe).

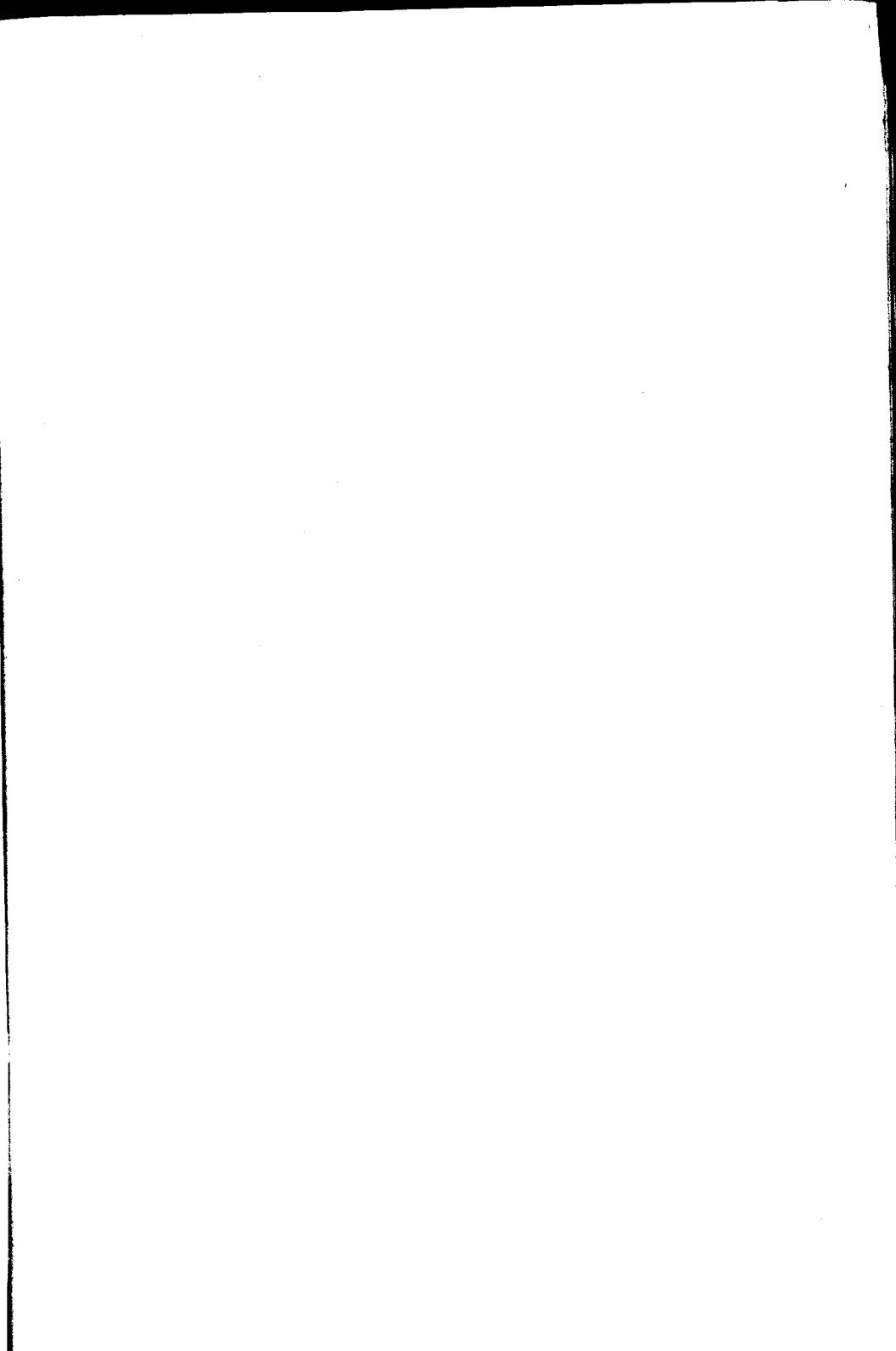


Tabelle I.

Tabelle II.

In 1 cem. Erde fand ich folgende Anzahl Keime:

Aus welcher Tiefe die Erdproben.	bei Brunnen III.												bei Brunnen II.												
	6/IV	12/IV	13/IV	13/IV	14/IV	14/IV	18/IV	29/V	29/V	2/VI	2/VI	im Mittel	27/IV	4/V	5/V	8/V	11/V	11/V	12/V	12/V	24/V	24/V	26/V	26/V	im Mittel
Oberfläche	515600	350000	485200	290000	615200	578800	477200	852000	463600	648800	verfl.	527640	578000	verfl.	verfl.	192000	488400	492800	640000	651200	478000	500400	612000	580400	521320
20—25 cm.	247200 ^{6°}	218400 ^{6°}	662000 ^{6°}	1018000 ^{6°}	verfl.	verfl.	verfl.	471200 ^{15°}	1051600 ^{15°}	944800 ^{16°}	820000 ^{16°}	679150 ^{10,75°}	846000 ^{11°}	verfl.	verfl.	452400 ^{14°}	606000 ^{15°}	542400 ^{15°}	435200 ^{13°}	549200 ^{13°}	409200 ^{12,5°}	428800 ^{12,5°}	768000 ^{15°}	385600 ^{15°}	542280 ^{13,6°}
35 cm.		186800	516400	509200	verfl.	verfl.	verfl.					404133													
42,5 cm.																									
50 cm.	7200 ^{4,5°}	99200 ^{4,5°}	322000 ^{5,5°}	460800 ^{5,5°}	verfl.	verfl.	252400	404400 ^{12°}	389200 ^{12°}	99200 ^{13°}	202000 ^{13°}	248488 ^{8,75°}	210400 ^{10,5°}	399600 ^{12°}	verfl.	193200 ^{12°}	329600 ^{12°}		214400 ^{12°}	332000 ^{12°}	90800 ^{11°}	116400 ^{11°}	232400 ^{12°}	220000 ^{12°}	233880 ^{11,65°}
60 cm.																130000 ^{11°}									
75 cm.	1200 ^{4°}		24000 ^{4°}	106400 ^{4°}			74000	6000 ^{10°}	6400 ^{10°}	8400 ^{12°}	7600 ^{12°}	29250 ^{8°}	25200 ^{9°}	14000 ^{10°}	18400 ^{10°}	8800 ^{10°}	29600 ^{10°}	6800 ^{10°}	9600 ^{11°}	39200 ^{11°}	39600 ^{10°}	8800 ^{10°}	2000 ^{10°}	400 ^{10°}	16866 ^{10,1°}
1 m.	2800		20800	11200		8000	23200					13200	4000 ^{7°}	12800 ^{8°}	24800 ^{8°}										13866 ^{7,7°}
1 m. 25 cm.	1600 ^{3°}			15600			12400					9866	6000 ^{6°}	7200 ^{7°}	8800										650 ^{6,5°}
2 m.													14800												7333
3 m.													6000												

B cm. Die seitlich oben beigefügten Zahlen geben die Temperatur des Bodens in der betreffenden Tiefe an. — Mit — ist der Stand des Grundwassers bezeichnet.

Aus obigen beiden Tabellen erschen wir,

1. dass die Zahl der Bacterien an der Oberfläche eine recht hohe ist, denn im Mittel fand ich bei dem Brunnen III 527640 Keime, bei dem Brunnen II 521320 Keime in 1 cm. Erde.
2. meist jedoch findet sich die grösste Anzahl Keime erst in 20 — 25 cm. Tiefe. In drei Fällen (am 13/IV, 29/V und 2/VI) erreichte die Zahl der Keime daselbst sogar eine Million.
3. mit Zunahme der Tiefe nimmt die Zahl der Keime stetig ab.
4. in 75 cm. Tiefe erfolgte ein plötzlicher Abfall der Anzahl Keime:
 bei dem Brunnen III von 248488 Keimen auf 29250
 bei dem Brunnen II von 233880 Keimen auf 16866.

In mehr als der Hälfte der Fälle ist der Abfall sehr auffallend:

Tiefe.	13/IV	18/IV	29/V	29/V	2/VI	4/V	8/V	12/V	24/V	26/V	26/V
50 cm.	322000	252400	404400	389200	202000	399600	193200	214400	116400	232400	220000
75 cm.	24000	74000	6000	6400	7600	14000	8800	9600	8800	2000	400

5. Auffallend ist, dass die Temperatur des Bodens selbst bei grösseren Schwankungen sich von keinem Einfluss auf die Anzahl der Bacterien erweist.

So sehen wir bei dem Brunnen III in 20 cm. Tiefe im April-Monat bei nur 6° (am 13/IV) sogar über eine Million Keime, ähnlich, wie sonst bei 15° und 16° im Mai und Juni.

Bei dem Brunnen II finden wir bei 11° 846000 Keime (am 27/IV) und bei 15° 786000 (am 26/V).

Doch um den Einfluss der Temperatur an sich allein zu ersehen, müssen wir den Grundwasserstand — als den Ausdruck der jeweiligen Bodenfeuchtigkeit — mit berücksichtigen.

Bei gleichem Grundwasserstande von 60 cm. Tiefe fand ich im Mittel bei dem Brunnen II:

in Erdproben aus 25 cm. Tiefe bei 11° C.	846000	Keime	
„ „ „ „ „ „ „ „	15°	575500	„ (Max. war 768000)
„ „ „ 50 „ „ „ „ „	10,5°	210400	„
„ „ „ „ „ „ „ „	12°	274457	„
„ „ „ 75 „ „ „ „ „	9°	25200	„
„ „ „ „ „ „ „ „	11°	24400	„

Aus dieser Zahlenreihe ersehen wir, dass eine Differenz in Temperaturgraden von 1,5—4° C. an sich allein bei gleichem Feuchtigkeitszustande der Erde keine Vermehrung der Anzahl der Bacterien bedingt.

6. Ferner ersehen wir aus obigen beiden Tabellen, dass, entgegengesetzt der herrschenden Ansicht, beim Sinken des Grundwassers die Zahl der Bacterien nicht zunimmt, sondern eher abnimmt.

So finden wir in 75 cm. Tiefe bei dem Brunnen III im Mai-Monat, wo das Grundwasser gesunken war, trotz der viel höheren Temperatur in 75 cm. Tiefe die Anzahl der Bacterien viel geringer, als im April; in 50 cm. Tiefe ist die Anzahl auch nicht vermehrt, denn so hohe Zahlen wie 404400, 389200 etc. fand ich ja auch bei 42,5 cm. hohen Grundwasserstande (am 13/IV).

Bei dem Brunnen II fand ich bei gleicher Temperatur (10°) in einer Tiefe von 75 cm. beim Grundwasserstande:

von 60 cm. im Mittel 15520 Keime

„ 75 „ „ „ 12700 „

was auch eher für eine Abnahme der Anzahl Keime beim Sinken des Grundwassers sprechen dürfte.

7. In ein und derselben Tiefe kommen an dicht neben einander gelegenen Stellen grosse Unterschiede in der Keimanzahl vor. Z. B. vergl. am 29/V die Zahlen 471200 und 1051600 in 25 cm. Tiefe.

Hinweisen möchte ich noch darauf, dass selbst in 3 Meter Tiefe ich noch Keime fand (am 27/IV).

Ferner erscheint es bemerkenswerth, dass in 75 cm. Tiefe der Abfall der Keimanzahl erfolgte, gerade da, wo Torf und Mergel auftraten, und ich überzeugte mich davon, indem ich an der Grenze des Ueberganges der Schwarzerde-schichten in Torf mit Mergel Proben entnahm und mit einander verglich. Die Schwarzerdeproben enthielten noch in 75 cm. Tiefe stets viele Keime, während im lehmigen Torf ihrer wenige waren, so waren z. B. in 75 cm. Tiefe in 1 cem. Schwarzerde 316300 Keime, und dicht darunter im lehmigen Torf nur 22200 Keime.

Untersuchungen angestellt bei künstlich erhöhtem Grundwasserstande.

Da, wie wir aus den obigen beiden Tabellen ersehen, durch das Sinken des Grundwassers den Bacterien keine günstigeren Bedingungen zur Vermehrung geschafft wurden, im Gegentheil ihre Anzahl abzunehmen schien, so wollte ich prüfen, in welcher Weise wohl das Steigen des Grundwassers auf die Zahl der Bacterien von Einfluss wäre. Dazu wurde das Wasser in einem in unmittelbarer Nähe von Brunnen II befindlichen Teiche abgesperrt und im Verlaufe zweier Wochen stieg das Grundwasser — wie man es an der Höhe des Wasserspiegels im Brunnen II controliren konnte — fast um 60 cm.

Am 15/VI wurden die Untersuchungen bei 17 cm. hohen Grundwasserstande wieder aufgenommen und den ganzen Juni-Monat fortgesetzt. Vom 19/VI an bewegte sich der Grundwasserstand zwischen 24 und 26 cm.

Wenn wir die Mittelzahlen vor und nach dem Zusperrren des Teiches mit einander vergleichen:

Aus welcher Tiefe die Erdproben.	Vor dem Zusperrren.	Nach dem Zusperrren.
25 cm.	542280	760633
50 cm.	233880	702472
75 cm.	16866	25333

so finden wir durchweg in den Erdschichten (25—50 cm. Tiefe), die früher vom Grundwasser nicht erreicht waren, jetzt jedoch ins Grundwasser tauchten, eine starke Vermehrung der Keimanzahl fast ums $1\frac{1}{2}$ —3-fache.

Allerdings waren die Untersuchungen bei gestautem Teiche in einem wärmeren Monate ausgeführt, z. B. bei einer Durchschnittstemperatur von $17,65^{\circ}$ C. in 25 cm. Tiefe (während im Mai-Monat die Temperatur daselbst nur $13,6^{\circ}$ C. betrug), aber ich kann unmöglich solch' eine starke Vermehrung der Keimanzahl allein der Erhöhung der Temperatur um 4° zuschreiben, zumal wir aus den vorigen Tabellen schon ersahen, von wie geringem Einflusse solche Schwankungen der Temperatur auf die Anzahl der Bacterien im Boden sind und auch aus dieser Tabelle ersehen wir es; vergleichen wir dazu die Maxima der Anzahl Keime bei gleichem Grundwasserstande (24 bis 26 cm.), so finden wir

in 50 cm. Tiefe bei $15,5^{\circ}$ C. 874800 Keime (am 19/VI)
 " " " " bei 17° C. 784400 " (am 26/VI)
 in 75 cm. Tiefe bei $14,5^{\circ}$ C. 28400 " (am 19/VI)
 " " " " bei $15,5^{\circ}$ C. 36000 " (am 16/VI).

Allerdings finden wir in 25 cm. Tiefe bei $16,5^{\circ}$ C. nur 305600 Keime (am 19/VI), während bei 19° C. 898800 Keime (am 26/VI)

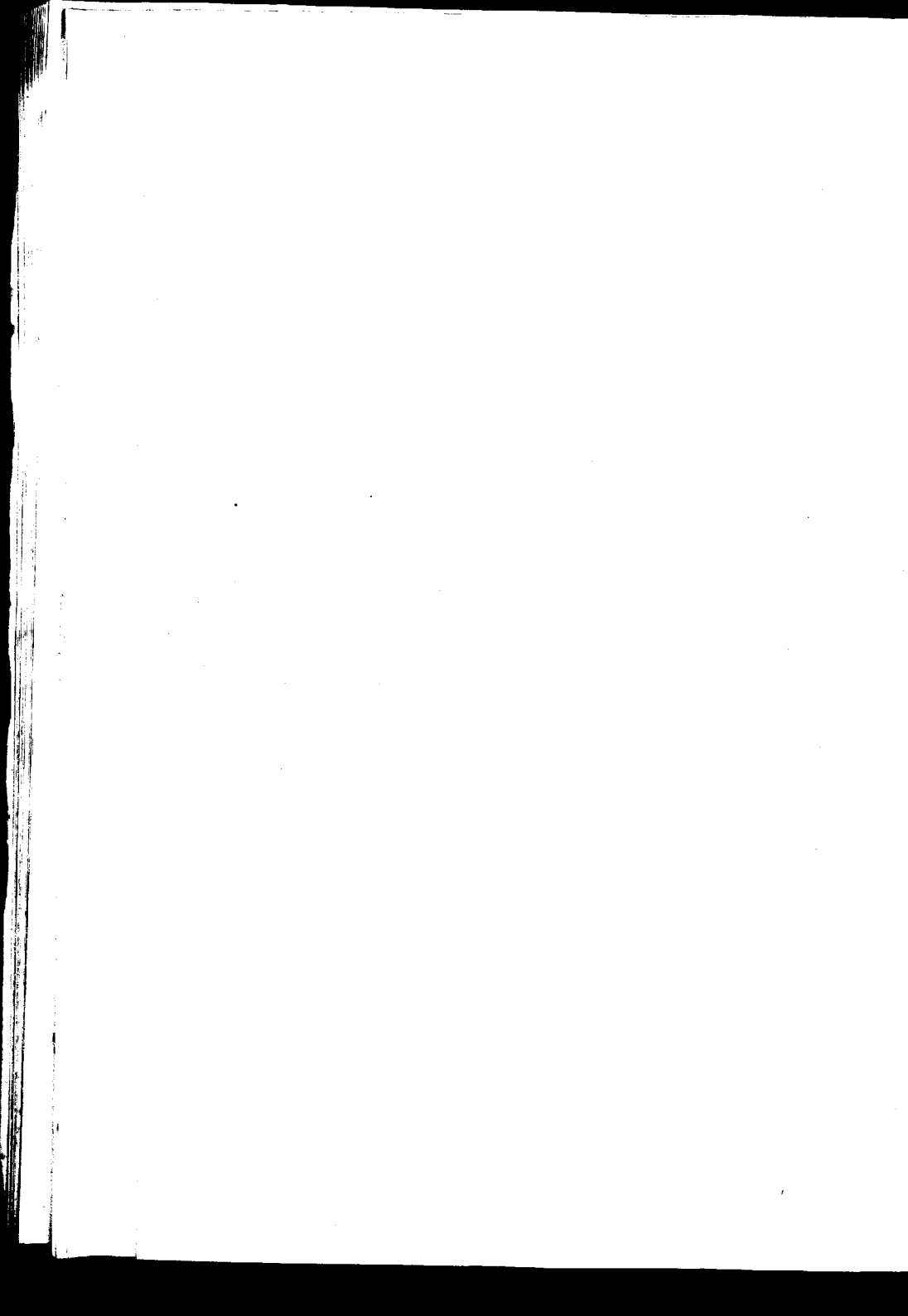
Tabelle III.

Untersuchungen angestellt bei künstlich erhöhtem Grundwasserstande.

Aus 1 cem. Erde entwickelte sich in Gelatine folgende Anzahl Keime:

Aus welcher Tiefe die Erdproben.	15/VI	15/VI	15/VI	16/VI	16/VI	18/VI	18/VI	19/VI	21/VI	25/VI	26/VI	26/VI	27/VI	27/VI	30/VI	im Mittel
25 cm.	verfl.	verfl.	verfl.	17,5° 1283200	17,5° 902000	17,5° 1238400	17,5° 500400	16,5° 305600	17° 485600	756400	19° 898800	19° 769200	17,5° 775200	17,5° 578800	634000	17,65° 769633
35 cm.									16,5° 732800	1030000		707600	17° 592400	17° 757200	verfl.	16,5° 764000
50 cm.	verfl.	verfl.	verfl.	16,5° 644400	16,5° 811600	648000	858000	15,5° 874800	16° 894800	894400		17° 784400	16,5° 574400	16,5° 274000	463400	16,3° 702472
75 cm.	11600		12800	15,5° 36000	15,5° 29600		32800	14,5° 28400		100400	10800	16000	15,5° 3600	15,5° 15200	6800	15,3° 25333
1 m.										4800	17200	24400	14,5° 8400	14,5° 1600		14,5° 11280

B e m. Die seitlich oben beigefügten Zahlen geben die Temperatur des Bodens in der betreffenden Tiefe an. — Mit ist der Stand des Grundwassers bezeichnet.



waren, aber andererseits fand ich bei 17,5° C. im Mittel 773200 Keime und in einem Fall sogar mehr denn eine Million (am 18/VI).

Ferner, als ich die äusseren Umstände wegen unterbrochenen Untersuchungen nach 7 Wochen wieder aufnahm, fand ich:

Tabelle IV.

Aus 1 ccm. Erde entwickelte sich in Gelatine folgende Anzahl Keime:

Aus welcher Tiefe die Erdproben.	21. VIII	23 VIII	29. VIII	31. VIII	3. IX	8. IX	im Mittel.
25 cm.	^{15°} 2710600	1710800	1413200	1264800	^{13°} 1144400	1594000	^{14°} 1639633
35 cm.					994000	1735600	1364800
50 cm.	^{13°} 1244400	2023600	1267000	1215000	^{12.5°} 1561600	850400	1360333
60 cm.					804400	482400	643400
75 cm.	^{13°} 18000	329200	720400	152800	^{12.5°} 78800	173600	245466
1 m.	74000	92800	36800	36400	29600	17200	47800
1 m. 25 cm.	70800	102800	8000	30000	^{12°} 14400	14800	40133
1 m. 50 cm.	46400	32000	6800	5600		11200	20400
1 m. 75 cm.	9200					8800	9000
2 m.	18000	2800	9600			18000	12100
2 m. 50 cm.	23200					3200	13200
3 m.	28400	6800	20000				18400

Bem. Die oben seitlich beigefügten Zahlen zeigen die Temperatur der Erdproben an. Der mit bezeichnete Grundwasserstand schwankte zwischen 40 und 45 cm.

Aus dieser Tabelle ersehen wir, dass, trotzdem im August und September die Temperatur viel niedriger war, als im Juni, dennoch die Zahl der Keime viel grösser war (2—6 mal so gross). Es zeigt sich besonders deutlich, wenn wir die Zahlen in 50 und 75 cm. Tiefe in den Monaten Mai, Juni, August u. September unter einander vergleichen:

In 50 cm. Tiefe fand ich im

Mai	bei Temp.	11,5° C. u.	Grundwasserst.	60—75 cm.	233800 Keime
Juni	" "	16,3° C. "	" "	17—26 cm.	702472 "
Aug.-Sept.	" "	12,5—13° C. "	" "	40—45 cm.	1360333 "

In 75 cm. Tiefe.

Mai	bei Temp.	10,1° C. u.	Grundwasserst.	60—75 cm.	16866 Keime
Juni	" "	15,3° C. "	" "	17—26 cm.	25333 "
Aug.-Sept.	" "	12,5°—13° C. "	" "	40—45 cm.	245466 "

Wir müssen also die starke Vermehrung der Keimanzahl nicht allein der Erhöhung der Temperatur, sondern auch dem Steigen des Grundwassers zuschreiben.

Um mich davon vollständig zu überzeugen, versuchte ich das Wasser aus dem Teiche abzulassen und dadurch das Grundwasser zum Sinken zu bringen, so eine künstliche Drainage des Bodens nachahmend. Das Grundwasser sank auch bis auf eine Tiefe von 60 cm., da es aber leider im September täglich zu regnen begann, sah ich mich veranlasst, die weiteren Untersuchungen aufzugeben.

Wenn wir uns die letzten Tabellen (Tabelle III und IV) noch einmal ins Gedächtniss zurückrufen, so sehen wir in ihnen deutlich dieselben Gesetze ausgesprochen, wie in den beiden ersteren, nur fällt es auf, dass die höchste Keimanzahl bisweilen (wie in der Zeit vom 18/VI bis zum 26/VI, ferner am 23/VIII und 3/IX) in 50 cm. Tiefe angetroffen wird gerade da, wo stets reichlich Wasser da war.

Mit Zunahme der Tiefe sehen wir Abnahme der Keimanzahl, in 75 cm. Tiefe ist der Abfall überraschend plötzlich.

Aus welcher Tiefe die Erdproben.	16/VI	16/VI	18/VI	19/VI	26/VI	27/VI	27/VI	30/VI	21/VIII	23/VIII	31/VIII	3/IX
50 cm.	644400	811600	858000	874800	784400	574400	274000	468400	1244400	2023600	1215000	1561600
75 cm.	36000	29600	32800	28400	16000	3600	15200	6800	18000	329200	152800	78800

In zwei Fällen (am 29/VIII und 8/IX) erfolgte der Abfall erst in einer Tiefe von 1 Meter, aber doch recht ausgesprochen.

Ferner an dicht neben einander gelegenen Stellen fanden sich grosse Unterschiede in der Keimanzahl vergl. z. B. am 27/VI in 75 cm. Tiefe die Zahlen 3600 und 15200.

Endlich fanden sich stets auch in 3 Meter Tiefe noch Keime vor.

Untersuchungen angestellt am drainirten Boden.

Ein Theil des Treffner'schen Gartens war seit 15 Jahren drainirt und das Grundwasser befand sich daselbst in einer Tiefe von 1 Meter 25 cm., wie man es theils an den aus solcher Tiefe entnommenen Proben, theils an dem Wasserspiegel in den Brunnen ersehen konnte, die als Sammelpunkte für das durch die Drainageröhren abgeführte Wasser dienten. Ich benutzte diesen Umstand, um den Einfluss der Drainage des Bodens auf die Zahl der Bacterien festzustellen, und wählte mir zur Untersuchung in den Monaten Juni und Juli eine Stelle, die den Angaben nach seit Jahren unberührt verblieben war. Der Boden daselbst bestand, wie auf dem nicht drainirten Theile des Gartens, oberflächlich aus Schwarzerde, in 75 cm. Tiefe folgte Torf, gemischt mit Mergel. Das Grundwassergebiet (in 1 Meter 25 cm. Tiefe) interessirte mich in diesem Falle nicht, daher ich mich mit der Untersuchung der oberflächlichen, durch die Drainage trocken gelegten Schichten begnügte:

Tabelle V.

Aus 1 cem. Erde entwickelte sich in Gelatine folgende Anzahl Keime:

Aus welcher Tiefe die Erdproben.	13./VI	13./VI	18./VI	29./VI	29./VI	2./VII	3./VII	im Mittel.
25 cm.	^{14,5°} 651200	^{14,5°} 536000	^{15°} 184400	170800	307600	^{16°} 131600	269200	^{15°} 321543
50 cm.	^{12,5°} 54800	^{12,5°} 838000	^{13°} 32400	435600	44400	^{14°} 84800	170400	^{13°} 237200
75 cm.	^{11°} 1200	^{11°} 16800	^{12°} 28400	14000	10400	^{12°} 25600	25200	^{11,5°} 17371
1 m.		^{10°} 20000						
1 m. 25 cm.								

Bem. Die seitlich oben beigefügten Zahlen zeigen die Temperatur der Erdproben an. Mit — ist der Grundwasserstand bezeichnet.

Wenn wir die hier erhaltenen Mittelzahlen vergleichen mit den um dieselbe Jahreszeit erhaltenen Mittelzahlen bei dem Brunnen II (bei angestautem Teiche):

Aus welcher Tiefe die Erdproben.	Anzahl der Keime im drainierten Boden.	Anzahl der Keime im Boden bei angestautem Wasser im Teiche.
25 cm.	^{15°} 321543	^{17,65°} 760633
50 cm.	^{13°} 237200	^{16,3°} 702472
75 cm.	^{11,5°} 17371	^{15,3°} 25333

so sehen wir wohl einen grossen Unterschied in der Anzahl der Keime, der wohl nicht durch die Paar Grade Temperaturunterschied erklärt werden kann, wenn man bedenkt, dass einen Monat zurück

bei dem Brunnen II bei noch niedrigerer Temperatur dennoch die Zahl der Keime grösser, resp. ebensogross war, auch der Vergleich mit den bei dem Brunnen III (s. Tabelle I) gewonnenen Zahlen lehrt dasselbe. Wir müssen die im drainirten Boden gefundene geringere Anzahl Keime wohl auf die Trockenlegung des Bodens beziehen.

Bemerken möchte ich noch, dass auch in dieser Tabelle die früher mehrfach hervorgehobenen Gesetze sich bestätigen: Abnahme der Anzahl der Keime mit zunehmender Tiefe, plötzlicher Abfall da, wo Torf, mit Lehm vermischt, auftritt, grosse Unterschiede in der Keimanzahl an dicht neben einander in gleicher Entfernung von der Oberfläche liegenden Stellen.

Dieselben Gesetze sehen wir bestätigt durch die Untersuchungen, die ich in einem dem Treffner'schen Garten benachbarten (dem weiland Prof. Flor gehörigen) Gärtchen angestellt hatte, wo der Boden oberflächlich auch aus Schwarzerde bestand, Torf aber erst in einer Tiefe von 1 Meter 25 cm., resp. 1 Meter 50 cm. auftrat, und auch das Grundwasser erst in dieser Tiefe angetroffen wurde.

Tabelle VI.

Aus 1 ccm. Erde entwickelte sich in Gelatine folgende Anzahl Keime:

Aus welcher Tiefe die Erdproben.	4/VI	5/VI	6/VI	6/VI	8/VI	9/V	28/VI	28/VI	im Mittel.
25 cm.	verfl.	^{14°} 654400	840000			^{16°} 613600	^{15°} 569600	811200	697760
50 cm.	verfl.	^{13°} 690400	1040000			^{15°} 1138000	822000	1012000	940480
75 cm.	verfl.	^{12°} 586400	813200			^{13,5°} 593200	^{13°} 407600	900800	674629
90 cm.	verfl.	^{12°} 427600	^{12°} 431200	786400		484000		634800	447600
1 m.			255200		146400		304000	298800	251100
1 m. 25 cm.					^{12°} 67600	^{11°} 31200	138400	45600	70700
1 m. 50 cm.	<u>Grundwasser</u>				24800	28800	^{10°} 22400	^{10°} 7600	20900
1 m. 75 cm.					9600				
2 m.					13200	^{9°} 28400			20800

Bem. Die oben seitlich beigefügten Zahlen zeigen die Temperatur des Bodens in der betreffenden Tiefe an.

Zum Vergleich mit den Erdproben aus den Gärten entnahm ich im Monat September Erdproben von einer in der Nähe derselben ausserhalb der Stadt gelegenen Wiese (Techelfersche Wiese), traf jedoch daselbst ganz andere Bodenverhältnisse an, sodass ich, da die Zeit mir nicht erlaubte näher darauf einzugehen, die Untersuchungen unterbrach. Ich füge hier die Tabelle bei:

Tabelle VII.

Untersuchungen des Bodens der Techelfer-Wiese:

Tiefe. 10 cm.	Temp. 8,5° 1962000—2152000	(zwei Proben zwischen den Wurzeln des Rasens).
12 cm.	Temp. 8° 201300	Humus mit grobem Sand gemischt.
15 cm.	Temp. 5° 98550	Sand.
50 cm.	Temp. 5° 20400	
54 cm.	Temp. 6° 115600	Torf.
75 cm.	148700	
1 m.	Temp. 8° 478500	
1 m. 25 cm.	58000	<u>Grundwasser.</u>
1 m. 50 cm.	55200	

In 15 cm. schon — mit dem Auftreten des Sandes — sehen wir einen bedeutenden Abfall der Keimzahl erfolgen; mit dem Auftreten des Torfes in 54 cm. steigt die Zahl der Keime wieder an, um in der Tiefe von 1 Meter 25 cm. wieder plötzlich abzufallen. Das Grundwasser befand sich erst in 1 Meter 50 cm. Tiefe.

Von den am häufigsten in den von mir untersuchten Erdproben beobachteten Microorganismen gelang es mir vier Arten rein zu züchten, die sich stets vorfanden sowohl in den oberflächlichen, als auch in den tieferen Erdschichten (bis zu 3 m. Tiefe), sowohl in Schwarzerde, als auch in Lehm, Torf und Sand.

Ausserdem isolirte ich eine Art, die sich zwar nur selten vorfand, aber meine Aufmerksamkeit durch ihre schöne eigelbe Farbe und durch ihr mit einer der vorher isolirten Arten gleiches Verhalten auf sich lenkte.

I. Perlmutterglänzender Bacillus.

Erdplatte: flache ründliche erbsengrosse Colonieen mit perlmutterglänzendem Saum.

Binnen 2-3 mal 24 Stunden noch keine Verflüssigung der Gelatine.

Gelatineplatte: Nach zwei mal 24 Stunden sieht man in der Tiefe der Gelatine kleine, (miliar- tecknadelkopfgrosse) grau- weisse, runde Colonien.

An der Oberfläche sind die Colonieen nicht mehr ganz rund, ihnen- bis erbsengross, treten anfangs ganz matt, wie „Flecke“, auf, erheben sich jedoch später deutlich über die Gelatinesoberfläche — obgleich sie immerhin recht flach sind.

aufhoben. Es sind dünne Häutchen, deren Centrum oft anfänglich etwas erhaben ist, später jedoch einsinkt und hierbei einen geringen feuchten Glanz zeigt.

Das ist ein Zeichen, dass die Gelatine zu verflüssigen beginnt. Diese Verflüssigung tritt recht spät ein (Aufbewahrung im Eisschrank hält sie überhaupt auf) und geht recht langsam vor sich, dabei pflegt das Häutchen sich vielfach zu falten.

Mit dem Microscope bei schwacher (84facher) Vergrößerung (Leitz Ocilar 1 Objectiv 3) betrachtet, erscheinen die in der Tiefe gelegenen Colonien als rundliche, braungraue, fein granulirte Scheiben (s. Taf. I, Fig. 2.)

Die oberflächlich gelegenen sind im Centrum deutlich grobgranulirt und nicht mehr so scharf begrenzt, indem sie sich mit einem grossen blasen-bräunlichgrauen Hof umgeben haben, dessen Rand noch blasen erscheint und deutlich ausgerackelt ist (wobei bei älteren Culturen zuletzt die Zacken in Form von Spitzen in die umgebende Gelatine hineinragen). Gleichzeitig entstehen in dem bräunlichgrauen Hof scheinbar regellos, aber doch ziemlich gleichmässig vertheilt hellere und dunklere Schattirungen, wodurch es den Anschein hat, als ob der Hof aus lauter in einander gewundenen Wülstchen bestünde, was lebhaft an das Bild der Hirnwindungen erinnert. (s. Taf. I, Fig. 3 a, b, c, d)

Hängende Tropfenstäbchen, 3 mal so lang, als breit. Länge beträgt zwischen 3 und 4 μ , oft stehen die Stäbchen unter einem Winkel zu einander.

Hier und da oscilliren die Stäbchen, aber Ortsbewegung ist nicht wahrnehmbar.

Klatschapparat. Meist Doppelstäbchen, doch vielfach auch Fäden, dabei sind die Stäbchen in parallelen Reihen angeord-

net zu lockenartigen Gebilden (s. Taf. I. Fig. 5a und b). Im Centrum der Stäbchen sind kreisrunde Sporen sichtbar.

Wachstum auf Agar-Agar. Nach 24 Stunden sieht man einen grauweißen, feuchtglänzenden Belag mit einem scharf begrenzten, helleren Saum, der deutlich perlmutterglänzt. Später pflegen auch Wülstchen aufzutreten, die ziemlich regellos verlaufen.

Wachstum auf Gelatine.

1. **Strichkultur.** Nach 24 Stunden findet man längs des ganzen Impfstriches trockene, flache, mattgraue, rundliche Colonien mit breitem perlmutterglänzenden Saum. Beim weiteren Wachstum vereinigen sich die Colonien zu einer dünnen, trocknen Haut, deren Rand unregelmässig gekerbt ist und noch eine Zeitlang perlmutterglänzt. Späterhin geht der Perlmutterglanz verloren, indem auch der Rand mattgrau wird, wiewohl etwas heller, als das Häutchen selbst.

Am 5. Tage erst treten Symptome der Verflüssigung der Gelatine auf, indem das Häutchen an einzelnen Stellen einen feuchten Glanz erhält und einsinkt und so mehrfach gleichsam einknickt, zum Theil auch deutlich rinnenförmig einsinkt, resp. durch die verflüssigte Gelatine vorgebuchtet wird. Am Grunde des Reagensglases sammelt sich allmählich die gleichmässig getrübe, verflüssigte Gelatine an.

Am 8. Tage findet man auch die herabgeglittene Haut daselbst zusammengefaltet liegen: es ist eine dünne, zarte, weisse Haut.

2. **Stichkultur.** Nach 1—2 mal 24 Stunden bemerkt man an der Oberfläche ein trocknes, dünnes, rundliches, etwa stecknadelkopfgrosses Häutchen mit etwas erhabenerem mattgrauen Centrum und breiterem flacheren Saum, der im

durchfallenden Lichte perlmutterartig glänzt. Um den Stichcanal herum ist so gut, wie Nichts da.

Späterhin geht der Perlmutterglanz verloren, indem auch der Saum eine mattgraue Farbe annimmt, jedoch hellere, wie das Centrum, dabei ist der Rand unregelmässig gezackt.

Am 4. oder 5. Tage sinkt das Centrum, das hierbei einen feuchten Glanz angenommen hat, ein und das Häutchen beginnt einzuknicken und sich zu falten. Man erhält so anfangs einen zierlichen Anblick von aus dem Centrum zur Peripherie hin ausstrahlenden Radien, später, indem die Faltung stärker ausgesprochen ist, mehr einen Anblick, der an eine Blüthe erinnert. Nach einiger Zeit wird das Häutchen auch hin und her beweglich und beginnt langsam in gefaltetem Zustande zu sinken, darüber sammelt sich die verflüssigte, gleichmässig getrübe Gelatine an.

Wachsthum auf Bluts erum. Ein weissgrauer feuchtglänzender Belag. Erst in 4 Tagen tritt Verflüssigung des Nährbodens ein.

Wachsthum in Bouillon. Bouillon bleibt klar, am Grunde des Reagensglases findet man etwas weisslichen Bodensatz. Eine oberflächliche Haut bildet sich erst nach einer Woche; leicht haftend am Rande des Glases löst sie sich doch leicht durch Schütteln ab und sinkt dann zu Boden.

Wachsthum auf der Kartoffel¹⁾. Nach 24 Stunden treten erst einzelne grauweisse, runde, stecknadelkopfgrosse Höckerchen auf, die dann zu einer dicken grauweissen Auflagerung verschmelzen, an der man nur noch hier und da einzelne halb-

1) Die Kartoffelculturen wurden bereitet nach Meade Bolton, dessen Methode man im Centralblatt der Bacteriologie Bd. II, S. 459 angegeben findet. Fast gleichzeitig wurde dieselbe Methode auch von Globig und E Roux angegeben.

kuglig über das Niveau hervorragende Höckerchen wahrnimmt, die in den folgenden Tagen zu länglichen Wülstchen auswachsen, sich an einander abplatteln und scheinbar regellos durch einander laufen — lebhaft an das Bild der Hirnwindungen erinnernd.

Chemisches Verhalten nach Petruschky¹⁾. In 6 Tagen deutliche Blaufärbung, am 12. Tage Entfärbung.

Die nach zwei Wochen vorgenommene Prüfung auf die Reaction ergab 8% Alkalibildung.

Wachstum ist ein ziemlich rasches.

Gelatine wird zwar verflüssigt, aber sehr spät und langsam, ebenso das Blutserum.

Färbung gelingt leicht.

Sporen vorhanden. Doppelfärbung gelang nicht.

Beweglichkeit nicht zu constatiren.

Dieser von mir als „perlmutterglänzender“ benannte Bacillus scheint noch unbekannt zu sein, da ich ihn weder bei Flügge²⁾, noch bei Eisenberg³⁾ und Fränkel⁴⁾ beschrieben fand, auch Adametz⁵⁾, Zimmermann⁶⁾ und Frankland⁷⁾ haben ihn weder im Wasser, noch in der Erde beobachtet.

1) s. Petruschky. Bacterio-chemische Untersuchungen. Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde Bd. VI. und VII.

2) C. Flügge. Die Microorganismen 1886.

3) James Eisenberg. Bacteriologische Diagnostik 1888.

4) Fränkel. Grundriss der Bacterienkunde 1890.

5) Adametz. Ueber die niederen Pilze der Ackerkrume. Leipzig 1886. Inaug.-Dissert.

6) Zimmermann. Die Bacterien unserer Trink- und Nutzwässer 1890.

7) Grace C. Frankland und Percy F. Frankland. Ueber einige typische Microorganismen im Wasser und im Boden. s. Zeitschrift für Hygiene Bd. VI. 1889.

2. Wurzelförmiger Bacillus. *Bacillus radiciformis*.

Erdplatte. Grauweiße, nagelgrosse, dicht verfilzte Häutchen, die zur Peripherie hin sich zerfasern.

Durch Verflüssigung der Gelatine sinken die Häutchen in der Mitte ein (s. Taf. II. Fig. 1).

Gelatineplatte. Grauweissliche, rundliche Colonieen am Rande, umgeben von einem Filzwerk von Fäden, die zur Peripherie hin immer feiner werden. Einzelne dickere Fortsätze strahlen aus dem Centrum pinselförmig in verschiedener Richtung aus (s. Taf. II. Fig. 2 a und b).

Mit dem Microscop bei schwacher (80 facher) Vergrößerung (Leitz Ocular 1, Objectiv 3) betrachtet, sieht man (s. Taf. II. Fig. 3) ein bräunliches, rundliches Centrum, umgeben von einem hellen grauen Hof, der aus einem dichten Fasergerüst besteht, das zur Peripherie hin in immer feinere Ausläufer sich zerfasert, die oft sich verästeln und schlängelnd verlaufen. Einzelne dieser Ausläufer sind recht lang und kreuzen sich dann auch mit denen von den benachbarten Colonieen.

Hängende Tropfen. Lange schmale Fäden, bestehend aus grossen Stäbchen mit granulirtem Inhalt. Leichte oscillirende Bewegung ist da, aber keine Ortsveränderung.

Schmierpräparat. An Locken erinnernde Stränge, die sich auch hier und da scheinbar verästeln (s. Taf. II. Fig. 5). Die Stränge bestehen aus Stäbchen, die 3 mal so lang sind, als breit.

Bem. Es klatschen sich stets nur die Ausläufer ab, das Centrum ist zu zäh (s. Taf. II. Fig. 4).

Wachstum auf Agar-Agar. Nach 24 Stunden ist im Verlaufe des Striches eine grauweissliche Trübung da, die nach beiden Seiten hin sehr zarte verästelte, unter einander

verflochtene Ausläufer aussendet. Nach nochmals 24 Stunden ist deutlich ein feucht glänzendes, grauweisses Häutchen da, deren fein zerfaserte Peripherie auf die Entstehung desselben aus einem Filzwerk von Fasern andeutet. Das Häutchen dehnt sich rasch über die ganze Fläche aus und runzelt sich in späterer Zeit.

Wachstum auf Gelatine.

1. Strichkultur. Aehnlich wie auf Agar entsteht schon nach 24 Stunden im Verlaufe des Striches eine grauweissliche, schleierähnliche, verwaschene Trübung, zu beiden Seiten des Striches zarte, verästelte Ausläufer sendend, die nach den verschiedensten Richtungen hin verlaufen, sich vielfach unter einander verfilzen und zur Peripherie hin immer feiner und zarter werden. Als bald hat sich durch dichte Verflechtung der Fasern eine ziemlich dicke Haut gebildet, die seitlich an den Rändern in ein Gewirr von Fasern ausläuft und auch nach unten in die Gelatine feine Ausläufer sendet.

Mittlerweile schreitet die Verflüssigung rasch einher, schon nach zwei mal 24 Stunden ist die Gelatine im Verlaufe des Striches ausgebuchtet, in diese Ausbuchtungen sinkt die Haut ein und nach nochmals 24 Stunden ist sie herabgesunken, liegt zusammengefaltet am Grunde des Reagensglases: es ist eine dicke, recht zähe, grauweisse, an den Rändern zerfaserte Haut.

Ueber ihr sammelt sich die getrübe, verflüssigte Gelatine an. Später klärt sich Letztere allmählig und an der Oberfläche entsteht ein Häutchen.

2. Stichkultur. Nach 24 Stunden sehen wir an der Oberfläche ein grauweisses Häutchen, das zur Peripherie hin feine Fortsätze aussendet und auch an ihrer Unterfläche kurze, feine, so dicht an einander gereihte Ausläufer trägt, dass es wie mit Filz bedeckt erscheint. Im Centrum sinkt

das Häutchen bald ein. Rund um den Stichcanal befinden sich viele zarte Ausläufer, die sich vielfach verästeln und schlängeln, im Beginn dem Impfstich ein graues wolliges Aussehen geben, später, indem die oberen Fortsätze länger und stärker entwickelt sind, als die unteren, dem Ganzen ein Bild verleihen, als wäre es ein kleiner, umgekehrt aufgestellter Tannenbaum. Sehr bald hat das Häutchen die ganze Oberfläche eingenommen und die rasch vor sich gehende Verflüssigung bringt es zum Sinken. Die darüber sich ansammelnde, verflüssigte Gelatine ist anfangs trübe, klärt sich jedoch später vollständig und auf der Oberfläche bildet sich von Neuem eine Haut.

Wachsthum auf Blutserum. Nach 24 Stnnden bildet sich eine grauweisse Haut, die alsbald den Nährboden verflüssigt und nach drei mal 24 Stunden schon herabgeglitten ist, als grauweisses, dickes Häutchen zusammengefaltet am Boden des Reagensglases liegt.

Wachsthum in Bouillon. Es bildet sich an der Oberfläche eine dünne, durchsichtige, weisslichgraue Haut, deren etwas verdickter Rand am Glase haftet, jedoch beim Schütteln sich leicht löst, und dann sinkt das Häutchen langsam zu Boden. Stets bildet sich das Häutchen von Neuem an der Oberfläche, während die Ränder des Häutchens am Glase haften, senkt sich das lockerer gefügte Centrum als wolkige Trübung langsam zu Boden.

Wachsthum auf Kartoffel. Es entsteht ein weisser, trockener Belag, bei dem spätr hier und da einzelne Knöpfchen auftreten, die dann zu deutlich über die Oberfläche sich erhebenden, schmalen Wülstchen auswachsen. Später sind sie recht zahlreich da, verzweigen sich und laufen bunt durch einander, einen zierlichen Anblick gewährend.

Bemerken will ich, dass diese Wülstchen erst sehr spät nach Wochen auftreten.

Chemisches Verhalten nach Petruschky. Nach 4 Tagen deutliche Blaufärbung, seit dem 5. Tage Entfärbung, die zwar beim Schütteln vergeht, jedoch stets wieder auftritt. Die nach zwei Wochen vorgenommene Prüfung auf die Reaction ergab 5% Alkalibildung.

Wachsthum ist auf allen Nährböden ein sehr schnelles.

Gelatine wird rasch verflüssigt, ebenso Blutsrum.

Färbung gelingt sehr leicht. Sporenfärbung misslang jedoch.

Beweglichkeit ist nicht zu constatiren.

Dieser Bacillus ist identisch mit dem von Fränkel in seinem Grundriss der Bacterienkunde 1890 als *Bacillus radiciformis* beschrieben.

3. Eigelber wurzelförmiger Bacillus. *Bacillus radiciformis luteus*.

Dieser Microorganismus, der nur selten auf den Erdplatten und stets in geringer Zahl auftrat, ähnelt in Allem dem gewöhnlichen *Bacillus radiciformis*, auch ist er im Beginn ebenso grauweiss, jedoch erhält er schon binnen zwei mal 24 Stunden eine schöne eigelbe Farbe, ganz unabhängig davon, ob die Culturen im Lichte oder im Dunkeln aufbewahrt werden.

Diese eigelbe Farbe tritt am deutlichsten auf beim Wachsthum auf Gelatine, weniger deutlich auf Agar-Agar, sowie Blutsrum und in Bouillon, gar nicht auf der Kartoffel.

Durch Umzüchtungsversuche gelang es mir nie diesen eigelben Bacillus in den gewöhnlichen *Bacillus radiciformis* überzuführen. Andererseits habe ich nie beobachten können, dass der *Bacillus radiciformis* den gelben Farbstoff producirt, daher ich mich veran-

lasst sehe, diesen eigelben Bacillus doch als eine besondere Art anzusehen und habe ihn *Bacillus radiciformis luteus* benannt.

4. Heubacillus. *Bacillus subtilis*.

Er dplatte. Graue, kreisrunde, wie mit einem Locheisen in den Nährboden eingeschlagene, erbsengrosse Colonien, deren Centrum durch Verflüssigung der Gelatine tief eingesunken ist. Die Colonieen besitzen einen scharfen, weissen Saum, und indem sie in jüngeren Stadien im Centrum an der tiefsten Stelle ein weisses Pünktchen aufweisen, erinnern sie in ihrem Aussehen lebhaft an das Bild eines Rades. In späteren Stadien jedoch ist der ganze Verflüssigungstrichter von grauweissen, krümligen Flocken erfüllt, die zuweilen „seesternartig angeordnet“ sind.

Gelatineplatte. Schon nach 24 Stunden hat die Oberfläche ein feucht-glänzendes Aussehen, indem sich durch Verflüssigung der Gelatine lauter stecknadelkopfgrosse, schalenartige Vertiefungen gebildet haben, die kreisrund, wie mit einem Locheisen, in den Nährboden eingeschlagen erscheinen. Im Centrum an der tiefsten Stelle ist ein weisses Pünktchen, die Peripherie ist gleichmässig weisslichgrau und besitzt einen scharfen, weissen Saum. Die in der Tiefe gelegenen Colonien sind miliar, rundlich, zart grauweiss. Die Verflüssigung geht sehr rasch vor sich, nach 2 mal 24 Stunden fliesst Alles in einander, daher man im Eisschrank aufbewahre.

Mit dem Microscope bei schwacher Vergrösserung (Leitz Ocular 1 Objectiv 3) betrachtet, sieht man ein rundliches, granulirtes, graubräunliches Centrum und um dasselbe herum befindet sich ein grauer Hof, der am Rande Fäserchen oder Härchen trägt, die in jüngeren Stadien kaum angedeutet

sind, bei den älteren Colonieen jedoch den Rand, wie mit einem Strahlenkranze, umgeben (s. Taf. III Fig. 1 a und b).

An 9 Tage alten Colonieen sah ich deutlich, dass das Centrum, worin hellere Partieen mit dunkleren abwechselten, aus einem Fasergeflecht besteht, in das die Randfäserchen allmählich übergehen, oft nachdem sie sich vorher vielfach (s. Taf. III Fig. 2 a und b) geschlängelt haben. An der Originalplatte, wo die Gelatine ganz verflüssigt war, sah ich nichts Anderes, als die Gelatine ganz verflüssigt war, sah ich nichts Anderes, als lauter aus einander gerissene Härchen (Fäserchen) schwimmen.

Hängende Tropfen. Man sieht lebhaft sich bewegende, nicht so sehr über das Gesichtsfeld hinweg eilende, als vielmehr wackelnde längere und kürzere Fäden, aus Doppelstäbchen bestehend, die etwa 3 mal so lang, als breit sind, ganz gleichmässig hell durchscheinen und abgerundete Enden besitzen.

Schmierpräparat. Kürzere und längere Fäden, die im Centrum einen kreisrunden, ungefärbt gebliebenen Fleck hier und da aufweisen.

Klatschpräparat. Gut färbbare Doppelstäbchen zu kürzeren und längeren Fäden vereinigt, die oft gebogen verlaufen resp. zu einander scharf winklig geknickt sind. Die Stäbchen sind recht gross und schlank, etwa 3 mal so lang, als breit mit gleichmässig gefärbtem Leib. Sporen nicht sichtbar. (s. Taf. III. Fig. 4).

Bemerken will ich, dass das Abklatschen schwer gelingt, da die Verflüssigung sehr rasch eintritt und die Bacterienmassen herabsinken. Es klatschen sich nur die Härchen ab. (s. Taf. III. Fig. 3).

Wachstum auf Agar-Agar. Nach 24 Stunden ist ein weissgrauer, scharf contourirter Ueberzug da, einzelne in der Nachbarschaft discret stehende rundliche Colonieen deuten wohl auf die Entstehung desselben durch Zusammenfluss rund-

licher Colonieen. Nach 4 Tagen ist der Belag deutlich als eine trockne glänzende weissliche Haut zu erkennen, die leicht abhebbar ist und oft sich mit feinen Runzeln versieht. Bald nimmt sie die ganze Fläche ein.

Wachsthum auf Gelatine.

1. Strichcultur. Schon nach 24 Stunden ist die Gelatine im Verlaufe des Striches verflüssigt, drin eingesunken liegen grauweisse Trübungen, die dann am nächsten Tage herabgeglitten am Boden des Reagensglases als ein zusammengefaltetes Häutchen liegen. Die darüber befindliche verflüssigte Gelatine ist gleichmässig trübe, klärt sich jedoch später.

2. Sticheultur. Nach 24 Stunden ist an der Oberfläche eine schalenartige, kreisrunde (wie mit einem Locheisen eingeschlagene) Vertiefung, daran schliesst sich längs des ganzen Impfstiches ein konischer, sehr lang ausgezogener Verflüssigungstrichter, der in seinem oberen Theile ampullenartig erweitert ist. In seinem ganzen Umfange ist der Verflüssigungstrichter gleichmässig grauweiss-flockig getrübt, allmählich jedoch senken sich die Flocken herab, die Spitze des kegelförmigen Verflüssigungstrichters schwillt daher „knopfförmig“ an, während die darüber befindliche, verflüssigte Gelatine sich nach und nach klärt. Nach längerer Zeit entsteht an der Oberfläche eine dichte, wie aus einzelnen Schüppchen bestehende weisse Haut.

Wachsthum auf Blutserum. Das Blutserum wird sehr rasch verflüssigt, am Grunde des Reagensglases liegt zusammengefaltet eine weissgraue Haut.

Wachsthum in Bouillon. Bouillon ist anfangs gleichmässig getrübt, allmählich klärt sie sich jedoch, und am Grunde des Reagensglases findet man einen weisslichen Bodensatz. Nach einigen Tagen tritt an der Oberfläche ein Häutchen auf, das

beim Schütteln leicht untersinkt und dann sich von Neuem an der Oberfläche bildet.

Wachstum auf der Kartoffel. Es entsteht ein trockner, grauweisser, dünner Belag, der anfangs glatt ist, später einige Fältchen aufweist.

Rasch dehnt sich der Belag über die ganze Oberfläche aus.

Chemisches Verhalten nach Petruschky. Nach 6 Tagen Blaufärbung, am 8. Tage Entfärbung, beim Umschütteln kehrt die blaue Farbe zurück.

Die nach zwei Wochen vorgenommene Prüfung auf die Reaction ergab 1,5% Alkalibildung,

Wachstum ist ein sehr rasches, besonders auf Gelatine und Blutserum.

Gelatine wird sehr rasch verflüssigt, ebenso rasch das Blutserum. Färbung gelingt leicht.

Doppelfärbung misslang.

Beweglichkeit eine sehr lebhaft.

Dieser Bacillus ist identisch mit dem Heubacillus, wie ihn Fränkel in seinem Grundriss der Bacterienkunde 1890 beschreibt.

Milchtropfenähnlicher Bacillus.

Erdplatte. Stecknadelkopfgrosse, mattweise, wie „Milchtropfen“ die Gelatine überragende, rundliche Colonieen. Binnen zwei bis drei Mal 24 Stunden noch keine Verflüssigung der Gelatine.

Gelatineplatte. Nach zwei Mal 24 Stunden findet man an der Oberfläche der Gelatine miliar-stecknadelkopfgrosse, rundliche, mattweise Colonieen, die die Gelatine deutlich überragen.

gen, ihr wie ein „Milchtropfen“ aufsitzen. Im durchfallenden Lichte zeigen die älteren Colonieen ein graues Centrum und eine perlmutterglänzende Peripherie. Die in der Tiefe gelegenen Colonieen sind oval oder rundlich, weiss. Gelatine wurde binnen zwei mal 24 Stunden nicht verflüssigt.

Mit dem Microscope bei schwacher Vergrößerung (L e i t z Ocular 1, Objectiv 3) betrachtet, erscheinen die in der Tiefe gelegenen Colonieen als feingranulirte, bräunlichgraue, glattcontourirte Scheiben verschiedener, oft ungewöhnlicher Form: rund, oval, wetzsteinartig etc. (s. Taf. III. Fig. 5).

Die oberflächlich gelegenen Colonieen sind rundlich von einem hellen, faseriggranulirten Hofe umgeben, dessen Contouren unregelmässig, oft ein- und ausgebuchtet sind (s. Taf. III. Fig. 6).

H ä n g e n d e T r o p f e n. Die Form variirt sehr bei Culturen in ein und demselben Nährboden, meist sind es kurze Stäbchen, die fast wie Micrococcen aussehen, feingranulirten Inhalt zuweilen mit einem kreisrunden hellglänzenden Punkt aufweisen, oft lebhaft oscilliren, jedoch keine Ortsbewegung zeigen. Meist sind die Stäbchen zu 6 und mehr an einander gereiht und solche Fäden verlaufen oft gebogen. Bei Aufbewahrung im Brüteschrank sind nach zwei mal 24 Stunden viele tänzelnde freie Sporen sichtbar, auch Involutionsformen kommen vor (s. Taf. III. Fig. 7).

K l a t s c h p r ä p a r a t. Kurze Doppelstäbchen mit fein granulirtem Inhalt und kreisrunden, ungefärbt gebliebenen Punkt im Centrum. Auf den ersten Blick scheinbar regellos durch einander liegend, stellen sie doch bei genauerer Betrachtung ein dichtes Maschenwerk dar (s. Taf. III. Fig. 9).

E m. Das Abklatschen ist leicht, jedoch sind die Colonieen sehr zäh, ziehen sich in Fäden aus. (s. Taf. III. Fig. 8 jedoch gut abgeklatscht).

Wachstum auf Agar-Agar. Nach zwei mal 24 Stunden findet man stecknadelkopfgrosse rundliche, feuchtglänzende, weisse Colonieen, die nach 3 Tagen zu einer weissen glatten Haut mit scharfer Umrandung verschmelzen.

Wachstum auf Gelatine.

1. **Strichcultur.** Nach zwei mal 24 Stunden sitzen im Verlaufe des Striches rundliche mattweisse, wie „Milchtropfen“ aussehende Colonieen. Erst am 5. Tage sieht man einen Verflüssigungshof um sie herum auftreten, ihr Rand erscheint alsdann auch schon gezackt. Bald fliessen sie zusammen und gleiten herab, am Boden des Reagensglases liegen alsdann krümlige Massen, drüber sammelt sich die gleichmässig getrübe verflüssigte Gelatine an.

2. **Stichcultur.** Nach zwei mal 24 Stunden ist an der Oberfläche ein stecknadelkopfgrosser „Milchtropfen“. Im Stichcanal stehen discret perlschnurartig angeordnet rundliche weisse Colonieen. Am 4. Tage erscheint der Rand des an der Oberfläche gelegenen Milchtropfens etwas gezackt, gleichzeitig ragt der Milchtropfen nicht mehr über die Gelatine, sondern ist durch Verflüssigung der Gelatine eingesunken. Diese Verflüssigung geht jedoch sehr langsam einher: dabei sinken die krümligen Massen herab, über ihnen sammelt sich die gleichmässig getrübe Gelatine an.

Wachstum auf Blutserum. Es entsteht ein weissgrauer, feuchtglänzender Belag, der erst am 4. Tage durch Verflüssigung des Nährbodens in die dadurch entstehenden Rinnen und Vertiefungen einsinkt und dann herabgleitet.

Wachstum in Bouillon. Bouillon wird schwach getrübt, am Grunde des Reagensglases sammelt sich ein weisslicher Bodensatz an. Eine oberflächliche Haut wird nicht gebildet.

Wachstum auf Kartoffel. Nach zwei mal 24 Stunden sieht man mattgrauweisse, feuchtglänzende, rundliche Tropfen, die alsbald zusammenfliessen und einen recht dicken gelblichweissen, feuchtglänzenden Belag bilden, der bald an dicken Schmand, bald mehr an Honig erinnert. Nach einiger Zeit treten Falten (Erhebungen) auf, die regellos durch einander laufen z. Th. wie wenn herabgleiten.

Chemisches Verhalten nach Petruschky. Am 6. Tage deutliche Blaufärbung, am 10. Tage Entfärbung.

Die nach zwei Wochen vorgenommene Prüfung auf die Reaction ergab 2% Alkalibildung.

Wachstum ein langsames.

Gelatine wird zwar verflüssigt, aber recht spät (von 4.—5. Tage ab) und langsam, ebenso das Blutserum.

Färbung gelingt leicht.

Sporen vorhanden. Doppelfärbung gelang nicht.

Beweglichkeit fehlt.

Dieser Bacillus entspricht ¹⁾ vollkommen dem von Frankland als *Bacillus candicans* beschriebenen, nur dass er die Gelatine und Blutserum verflüssigt, was Frankland nicht erwähnt.

1) Frankland. Ueber einige typische Microorganismen im Wasser und im Boden. s. Zeitschrift für Hygiene Bd. VI. 1889. S. 397.

Als Anhang möchte ich noch erwähnen, dass, da man in der Litteratur so viele Angaben über das Vorkommen der Bacillen des malignen Oedems und des Tetanus im Boden, besonders in der Gartenerde (Nicolai¹⁾, Beumer²⁾, Giordano³⁾, Ohlmüller²⁾, Goldschmidt²⁾, Eiselsberg³⁾, Kitasato⁴⁾ etc.) findet, ich nicht unterlassen wollte, durch Experimente an Thieren festzustellen, ob Keime derselben in dem von mir untersuchten Boden enthalten sind. Es interessirte mich aus dem Grunde, weil die Gegend, wo ich untersuchte, eine dicht bevölkerte ist und mir aus meiner Studienzeit mehrere durch Beschmutzung mit Erde resp. durch Schlafen auf blosser Erde acquirirte Fälle von Tetanus-erkrankung erinnerlich waren.

Zu dem Zwecke machte ich erst ein Paar Vorversuche mit vor längerer Zeit aus Berlin bezogener Erde, die ich von Herrn Prof. C. v. Raupach erhalten hatten, wodurch ich ihm zu grossem Danke verpflichtet bin. Die Impfungen wurden stets unter antiseptischen Cautelen an weissen Mäusen oberhalb der Schwanzwurzel gemacht. Die beiden Mäuse, denen Tetanuserde

1) s. Baumgarten's Jahresbericht 1886. p. 271.

2) s. " " " 1887. p. 240—242.

3) s. Centralblatt f. Bacteriologie und Parasitenkunde. Bd. IV. p. 330

4) s. Zeitschrift f. Hygiene. Bd. VII. p. 228.

eingimpft war, verblieben gesund. Von den beiden Mäusen, denen oedembacillenhaltige Erde eingimpft wurde, ging die eine nach 48 Stunden ein.

Bei der Section fand ich in der Umgebung der Impfstelle ein starkes blutiges Oedem des subcutanen Gewebes. Die Milz war vergrößert.

Ausstrichpräparate aus der Oedemflüssigkeit, dem Herzblut und von der Schnittfläche der Milz und der Leber zeigten eine Menge für malignes Oedem charakteristischer Bacillen: es waren gut färbbare, schlanke, dünne Stäbchen mit abgerundeten Enden, vielfach zu längeren Fäden vereinigt, die meist bogig gekrümmt waren.

Im hängenden Tropfen erlosch bald die Beweglichkeit der Stäbchen.

Flügge's¹⁾ Rathschlage folgend, impfte ich flüssig gemachte in einem Reagensglase hoch gefüllte Gelatine mit einem Tropfen des Milzsaftes, vertheilte diesen durch Schütteln in der Gelatine und liess dann letztere sofort erstarren: es entstanden nach fünf Tagen tief unten in der Gelatine kleine Kugeln mit flüssigem grauweisslichen Inhalt und charakteristischer strahliger Peripherie.

Nach diesen Vorversuchen impfte ich 8 weisse Ratten und 5 weisse Mäuse sowohl mit gleich unterhalb des Rasens entnommenen Erdproben, als auch mit Erde von gedüngten Beeten und von einem viel benutzten Fahrwege. Diese Impfungen wurden mehrfach wiederholt (im Ganzen 18 Impfungen), in sechs Fällen erhielt ich positive Resultate und zwar einen ausgesprochenen Tetanus an vier Ratten, sowie an zwei Mäusen, denen allen Erde von gedüngten Beeten subcutan eingimpft worden war. Der Tod erfolgte schon am 3., resp. 4. Tage.

Bei der Section war an der Impfstelle in dem einen Fall (bei einer Maus) gar keine Veränderung wahrnehmbar, in allen anderen Fällen war um die eingimpften Erdmassen ein abgesackter Eiterherd da: im Eiter waren Tetanusbacillen nicht nachweisbar.

An den inneren Organen (Milz, Leber) waren keine Merkmale pathologischer Veränderungen, auch zeigten Ausstrichpräparate aus dem Herzblut und von der Schnittfläche der Milz, Leber, sowie auch des Gehirns und Rückenmarks keine Tetanusbacillen, was ganz im Einklang steht mit den Befunden von Kitasato²⁾.

1) C. Flügge. Die Microorganismen 1886. p. 195.

2) s. Zeitschrift f. Hygiene. Bd. VII. p. 228.

Dagegen fand ich im aus dem Eiter der Impfstelle bereiteten hängenden Tropfen nach zwei mal 24 Stunden neben vielen anderen Microorganismen auch eine Menge von den charakteristischen sich lebhaft bewegenden grossen schlanken Stäbchen mit endständiger Sporenbildung, die Nicolaier bei Tetanus zuerst nachgewiesen hat und die, seit Kitasato es gelang sie rein zu cultiviren und mit diesen Reinculturen mit Erfolg an Thieren Impfungen anzustellen, wohl unzweifelhaft als die echten Tetanusbacillen anzusehen sind.

Erklärungen zu den Tafeln.

Tafel I.

- Fig. 1 giebt uns einen Ueberblick über eine Erdplatte: am häufigsten vertreten sehen wir die punctförmigen Colonieen, die meist in der Tiefe der Gelatine liegen. Am meisten ausgebildet sind die wurzelförmig an der Peripherie verzweigten Häutchen des *Bacillus radiciformis*, zahlreich vertreten sind auch die an „ein Rad“ in ihrem Aussehen erinnernden Colonieen des *Bacillus subtilis*, seltener sind schon die mit + bezeichneten Colonieen des „perlmutterglänzenden“ *Bacillus* und die durch Punkte bezeichneten Colonieen des „Milchtropfenähnlichen *Bacillus*“.
- Fig. 2. In der Tiefe der Gelatine gelegene Colonieen des perlmutterglänzenden *Bacillus* bei 80 facher Vergrößerung.
- Fig. 3 a, b, c, d. Oberflächlich gelegene Colonieen des perlmutterglänzenden *Bacillus* bei 80 facher Vergrößerung.
- Fig. 4. Klatschpräparat von einer Colonie des perlmutterglänzenden *Bacillus* bei 80 facher Vergrößerung.
- Fig. 5 a u. b. Klatschpräparat von einer Colonie des perlmutterglänzenden *Bacillus* bei 880 facher Vergrößerung.

Tafel II.

- Fig. 1. Colonieen des *Bacillus radiciformis* auf der Erdplatte bei Lupenvergrößerung.
- Fig. 2 a u. b. Colonieen des *Bacillus radiciformis* auf der Gelatineplatte bei Lupenvergrößerung.
- Fig. 3. Colonieen des *Bacillus radiciformis* auf der Gelatineplatte bei 80 facher Vergrößerung.
- Fig. 4. Klatschpräparat von einer Colonie des *Bacillus radiciformis* bei 80 facher Vergrößerung.
- Fig. 5. Klatschpräparat von einer Colonie des *Bacillus radiciformis* bei 880 facher Vergrößerung.

Tafel III.

- Fig. 1 a u. b. Colonien des *Bacillus subtilis* bei 80facher Vergrößerung.
- Fig. 2 a u. b. Mehrere Tage alte Colonieen des *Bacillus subtilis* bei 80 facher Vergrößerung.
- Fig. 3. Klatschpräparat von einer Colonie des *Bacillus subtilis* bei 80 facher Vergrößerung.
- Fig. 4. Klatschpräparat von einer Colonie des *Bacillus subtilis* bei 880 facher Vergrößerung.
- Fig. 5. In der Tiefe der Gelatine gelegene Colonieen des milchtropfenähnlichen *Bacillus* bei 80 facher Vergrößerung.
- Fig. 6. Oberflächlich gelegene Colonieen des milchtropfenähnlichen *Bacillus* bei 80 facher Vergrößerung.
- Fig. 7. Milchtropfenähnlicher *Bacillus* im hängenden Tropfen nach zweimal 24 Stunden.
- Fig. 8. Klatschpräparat von einer Colonie des milchtropfenähnlichen *Bacillus* bei 80 facher Vergrößerung.
- Fig. 9. Klatschpräparat von einer Colonie des milchtropfenähnlichen *Bacillus* bei 880 facher Vergrößerung.

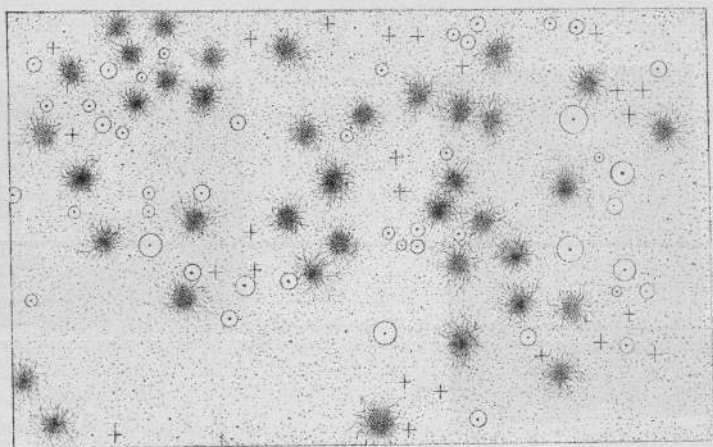
Thesen.

1. Das Verhalten der Bacterien im Boden, sowie ihre Bedeutung ist noch wenig erforscht.
2. Zu quantitativen bacteriologischen Untersuchungen des Sandbodens empfiehlt sich die Fränkel'sche Methode, zu der des Lehmbodens die Reimers'sche, zu der des Torfbodens jedoch eignen sich beide nicht.
3. An dicht neben einander gelegenen Stellen des Bodens in ein und derselben Tiefe kommen grosse Unterschiede in der Keimanzahl vor.
4. Der Arzt muss heutzutage mit der bacteriologischen Technik vertraut sein.
5. Den Medicinern ist es zu empfehlen, wenn möglich nach Beendigung ihrer Studien sich eine Zeitlang in einer Apotheke practisch zu beschäftigen.
6. Zum Nachweis von Morphin bei Verdacht auf Morphinvergiftung ist am meisten zu empfehlen die von Dragendorff in seiner gerichtl.-chem. Ermittlung von Giften angegebene Ausschüttelung des alkalisch gemachten Harnes mit Amylacetat.
7. Eine Alkaloidvergiftung ist nur dann mit Sicherheit anzunehmen, wenn man alle die bekannten Farbreaktionen geprüft hat, sowie auch physiologische Versuche angestellt hat.
8. Phthisiker sollten in ihrem eigenen Interesse und im Interesse der übrigen Menschheit Hustenflaschen bei sich tragen.



15486

1.



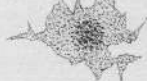
2.



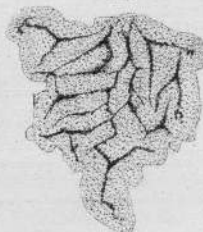
3a.



3b.



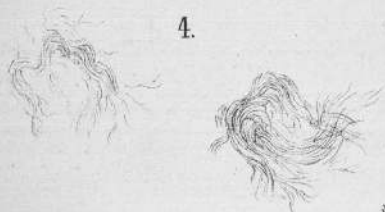
3d.



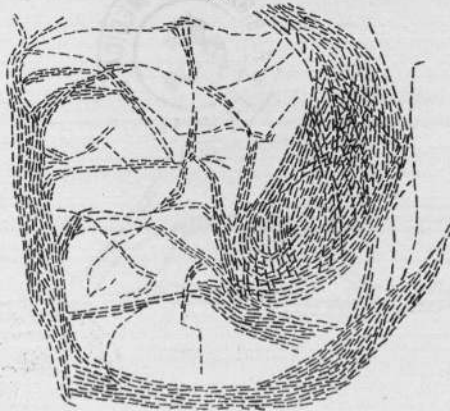
3c.



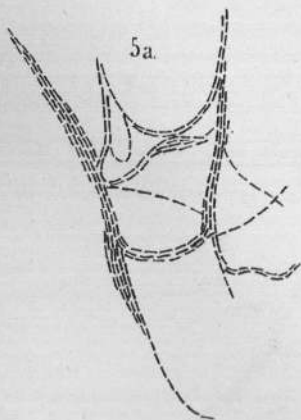
4.



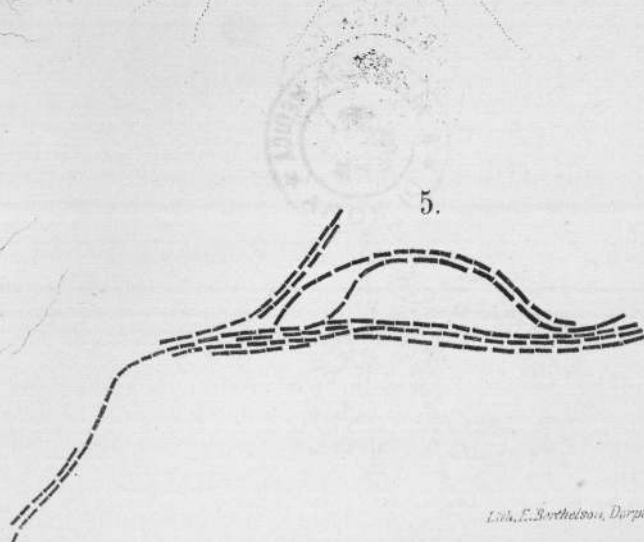
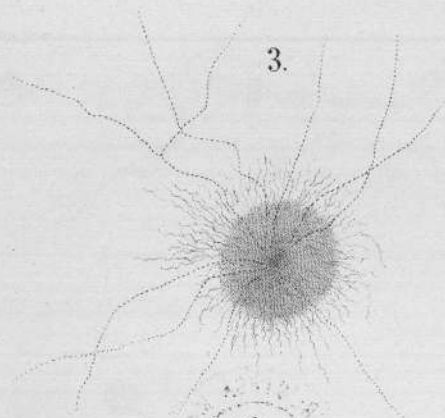
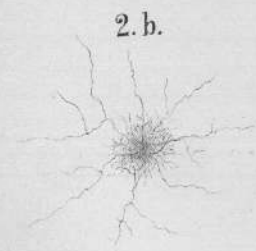
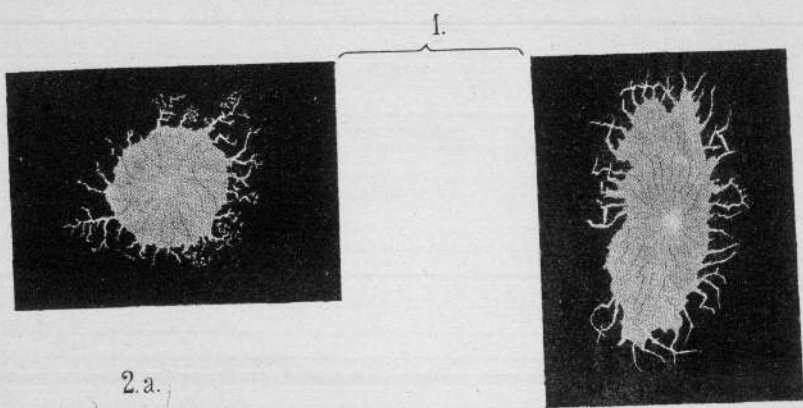
5b.



5a.

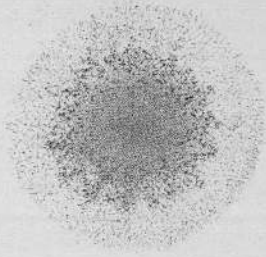








2 b.



2 a.



1 b.



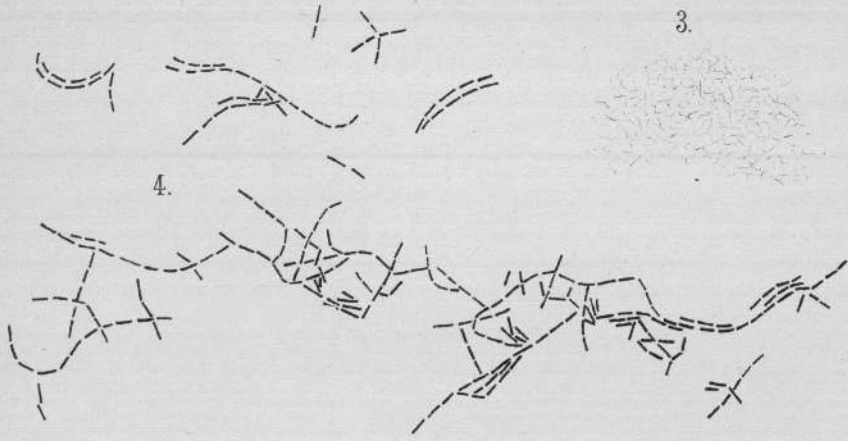
1 a.



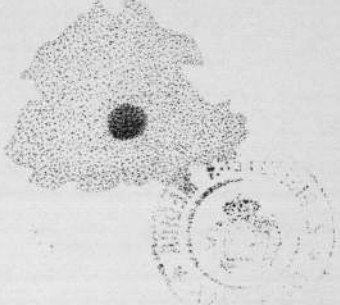
3.



4.



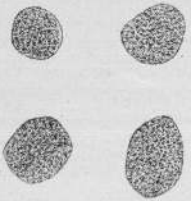
6.



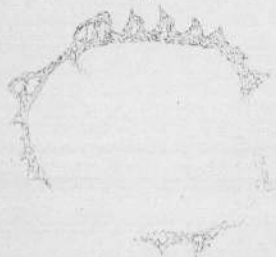
7.



5.



8.



9.

