

(Abb. 1), je nach der vorliegenden Art einige wenige oder bereits viele; bei anderen Arten sogar Embryonen (Abb. 2.)

Die Tatsache, daß Endosperm Bildung und Teilung der Eizelle – in Bestätigung älterer, von ROSENBERG sowie MURBECK¹ gemachten Angaben – bereits in der Blütenknospe stattfinden, in welcher die Pollenkörner noch nicht auf die Papillen der Narbe übertragen sind, geben den Beweis dafür, daß Agamospermie vorliegt. Dieser Beweis wird besonders eindeutig bei Benutzung von Arten, welche wie *Hieracium laevigatum*, *Hieracium praecox*, *Hieracium amplexicaule* und andere überhaupt keinen oder keinen tauglichen Pollen bilden.

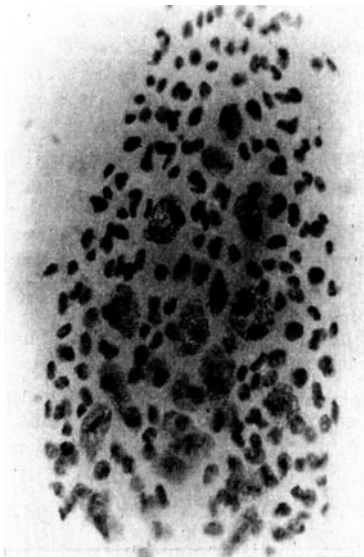


Abb. 1.

Abb. 1. *Hieracium silvaticum* Zahn. Vollständiger Embryosack (Blüte noch geschlossen) mit dem umgebenden Nucellargewebe aus der Samenanlage herausgequetscht. Die etwa 14 großen Endospermkerne heben sich deutlich von den viel kleineren der Nucellusepidermis ab. Vergrößerung etwa 300fach. Photographien nach Dauerpräparat.



Abb. 2.

Abb. 2. *Hieracium piliferum* Hoppe em. Hayek. Zwei Embryosäcke (geschlossene Blüte) aus Samenanlage isoliert mit mehrzelligen Embryonen. Vergrößerung etwa 50fach. Photographie nach Frischpräparat.

Auf die beschriebene Weise wurden 12 *Hieracium*-Arten aus der Umgebung von Basel, von verschiedenen Standorten im Wallis sowie aus den Süd- und Nordvogesen untersucht. Für 6 Arten konnte so das Vorkommen von Agamospermie bestätigt, für andere 6, *Hieracium alpicola*, *Hieracium glaciale*, *Hieracium praecox*, *Hieracium piliferum*, *Hieracium tomentosum* (alle aus dem Wallis) und *Hieracium bombycinum* (aus Spanien, Botanischer Garten Basel), erstmalig nachgewiesen werden. Die ausführliche Mitteilung erscheint in den Berichten der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft.

Die Untersuchung wurde ausgeführt mit Unterstützung der Freien Akademischen Stiftung in Basel. Herrn stud. FUCHS sei auch hier für die Bestimmung der untersuchten Arten, Fräulein stud. BECKER für die Herstellung vieler Präparate gedankt.

E. HEITZ

Botanische Anstalt der Universität Basel, den 27. September 1951.

¹ S. V. MURBECK, Bot. Notiser H. 1, 285 (1904).

Summary

By using the "Nuklealquetschmethode", agamospermy can easily be shown in the genus *Hieracium*. Agamospermy, hitherto unknown in six species of *Hieracium*, has been found.

Induzierte Inversion der Asymmetrieform bei *Bacillus mycoides* Flügge

1. *Fragestellung.* Der «Kartoffelbazillus» *Bacillus mycoides* wächst (Abb. 1a, b) in zwei spiegelbildlichen Formen, einer links- oder rechtswendigen Strahlenfigur vergleichbar. GERSBACH¹ hat 1922 diese beiden Asymmetrieformen zuerst beschrieben. Jeder Stamm verhält sich, von etwaigen Mutationen abgesehen, windungskonstant. Ziel unserer Untersuchungen ist, die Wachstumsrichtung umzustimmen, sei es *modifikativ* (zum Beispiel: *R*-Stamm wächst, auf «präparierten Agar» verimpft, *L*, auf Normalagar rückübertragen, sofort wieder *R*) oder *dauermodifikativ* (der auf Normalagar rückgeimpfte Stamm behält die ihm auf dem präparierten Agar [eine bis mehrere Generationen] «aufgezogene» Inversion noch einige Zeit bei) oder *induziert-mutativ* (kein oder wenigstens sehr später Rückschlag des invertierten Stamms nach Rückimpfung auf Normalagar). Der Wildtyp von *Bacillus mycoides* dürfte *L*-wendig, die erhältlichen *R*-Stämme zufällig oder bewußt ausgelesen worden sein.

2. *Technik.* Der Normalagar wurde nach dem Rezept von ALPATOW und NASTJUKOWA² bereitet. Durch Zusatz bestimmter Stoffe (siehe unten) und noch ein- bis zweimaliger Sterilisation entstehen aus ihm «präparierte Agare». Zucht bei 27°C. Je Petrischale 32 Impfstiche (Kolonien) in quadratischem Raster. Durchmesser der Kulturen nach 48 h rund 8 mm; nach 24 h Windungssinn schon sehr deutlich.

3. *Spontane Mutationen (Inversionen) R ↔ L.* Die bezogenen *R*- und *L*-Stämme erhielten von uns die Bezeichnungen *R_i* bzw. *L_i* (*i* = 1, 2, 3 ...). Kehrt ein Stamm, zum Beispiel *L₃*, seinen Windungssinn «spontan» um oder wurde aus ihm ohne Beeinflussung ein *R*-Stamm erzüchtet, so heißt dieser *R'₃*. Seit Anfang 1950 (mit einer krankheitsbedingten Unterbrechung von 8 Monaten) waren folgende Stämme in Zucht:

- a) *L₁* (Frankfurt), *L₂* (Frankfurt), *L₄* (Göttingen),
b) *R₁* (Mainz), *R₅* (Frankfurt), *R₆* (Göttingen),
sämtliche bis heute windungskonstant.

c) Stamm *L₃* (Frankfurt) verhielt sich bis Frühjahr 1951 konstant *L*, dann lieferte Abimpfung auf eine Platte 24 *R*- und 8 *X*-Kolonien. (Bei *X*-Kolonien oder -Stämmen ist der Windungssinn undeutlich oder gemischt. Da jeder Impfstich viele Bazillen überträgt, ist, wenn der Drehungssinn in der Zelle festgelegt ist, das Auftreten solcher Kulturen verständlich.) Aus den 24 *R*-Kolonien wurde rasch der Stamm *R'₃* erhalten, der noch heute *R*-wendig wächst.

d) Stamm *R₂* (Göttingen) war die ersten beiden Monate *R*-konstant, bis plötzlich auf zwei Platten insge-

¹ A. GERSBACH, Zbl. Bakteriologie, Abt. I, 88, 97 (1922).

² W. W. ALPATOW, Priroda (Moskau) H. 4, 49 (1947); Uspjechi sobr. biol. (Fortschr. modernen Biol.) 23, 141 (1947). – W. W. ALPATOW und O. K. NASTJUKOWA, C. r. (Doklady) Acad. Sci. URSS. 54, 537 (1946); Bjull. Mosk. O-wa isp. priro., otd. biol. (Bull. Mosk. Ges. Naturf., biol. Abt.) (6) 52, 3 (1947); Doklady Akad. Nauk. SSSR. 63, 585 (1948).

samt 53 *R*- und 11 *X*-Kolonien auftraten. Zwei unabhängige Abimpfungen aus den *X*-Kolonien führten rasch zu zwei *L*-Stämmen, von denen der eine (*L*'₂) in Zucht gehalten wurde und noch heute nur *L*-Kolonien liefert.

4. Induzierte Inversionen

a) Agar mit 2% (üblicher) *d*-Saccharose. Der Drehsinn der *L*-stämmen (*L*₂; *L*₃; 400 Kolonien) wird nicht beeinflusst. Für *R*-Stämme genüge folgendes Beispiel (*R*₁):

	<i>R</i>	<i>L</i>
Kontrolle	∞	–
1. Generation auf Saccharoseagar	21	29
Sofort rückgeimpft auf Normalagar	35	5
8. Generation auf Saccharoseagar	–	32
Sofort rückgeimpft auf Normalagar	–	32

Ergänzt sich *R* + *L* nicht auf ein Vielfaches von 32, so sind die fehlenden Kulturen nicht angegangen.

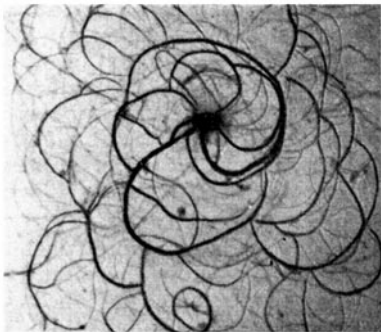


Abb. 1a. Stamm *L*'₂.

Bei der weiteren Zucht auf Normalagar (nach 8 Saccharose-Generationen) tauchen wieder *R*-Kolonien auf, bis schließlich *L* verschwindet. Nach noch längerer Zucht auf Saccharoseagar behielt dieser Stamm nach Rückimpfung auf Normalagar bisher ausschließlich die induzierte Asymmetrieform bei. Die Versuche werden fortgesetzt. – Es liegt also typische *Dauermodifikation* (im weitesten Sinne) vor.

b) Agar mit 0,01% *l*-Digitonin (in der Natur vorkommend). Wieder werden die *L*-Stämme (*L*₃, *L*₃, 350 Kolonien) nicht invertiert. Von den *R*-Stämmen wurde bisher nur *R*₁ geprüft. Er schlug, auf Digitoninagar verimpft, sofort zu 100% um (0:64), kehrte aber, sofort auf Normalagar versetzt, allmählich wieder zu *R* zurück. Andererseits schlug dieser Stamm aber auch auf Digitoninagar recht schnell wieder zu *R* zurück. Beispiel siehe untenstehende Tabelle.

Dieses Verhalten, für das mehrere Deutungen möglich sind, wird weitergeprüft. Im übrigen liegt *Dauermodifikation* vor.

c) Agar mit 0,1% (natürlicher) *d*-Weinsäure. *L*-Stämme (*L*₁, *L*₂) wieder unbeeinflusst (400 Kolonien). Der *R*₅-Stamm schlug auf Weinsäureagar in 20–70% der Kolonien zu *L* um, kehrte aber auch auf diesem allmählich zu *R* zurück. Hingegen scheint Stamm *R*₆

auf Weinsäureagar praktisch nur im *L*-Sinn zu wachsen. Rückimpfung auf Normalagar bewirkte bei beiden Stämmen *sofortigen* hundertprozentigen Umschlag zur Originalasymmetrie. Also hier reine *Modifikation*.

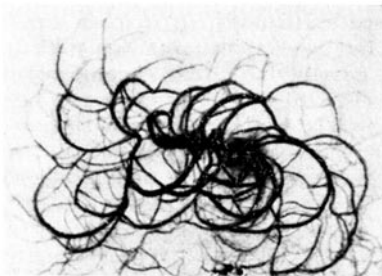


Abb. 1b. Stamm *R*₂.

d) Agar mit 0,1% (unnatürlicher) *l*-Weinsäure. Die *L*-Stämme (*L*₁, *L*₃) sind zwar wenig empfindlich gegenüber diesem Zusatz, immerhin schlugen beide allmählich in einem Bruchteil der Kolonien in *R* um, zum Beispiel *L*₁ zu 21 *R* unter 57 Kolonien in der 5. Generation. Nach Rückimpfung auf Normalagar stets sofort Originalasymmetrie, also *Modifikation*. – Von *R*-Stämmen wurde *R*₆ geprüft: keinerlei Beeinflussung. Laufende Versuche mit *L*₂ brachten nichts grundsätzlich Neues.

e) «*R*» bzw. «*L*-Agar». (*R*-Agar = Normalagar, auf dem 24 h *R*-Bazillen gewachsen waren, dann in 24 h Abstand zweimal je 30 min sterilisiert und anschließend zwecks Kontrolle der Sterilität 24 h bei 27°C im Thermostaten gehalten; *L*-Agar entsprechend.) – Geprüft wurde *L*₁ auf *R*₆-Agar sowie *R*₆ auf *L*₁-Agar. In der 1. Generation schlugen die Kolonien zu rund 50% ins Inverse um, sofortige Rückimpfung auf Normalagar brachte die Ursprungsasymmetrie wieder. Neuere laufende Versuche (unter anderem mit *R*₂) zeigen, daß nach längerem Verweilen auf dem «antagonistischen Agar» der Bruchteil der invertierten Kolonien höher wird und daß nach Rückimpfung die originale Asymmetrie erst allmählich wiederkehrt. Also *Modifikation* bis *Dauermodifikation* (im weitesten Sinne).

Die bisherigen Ergebnisse legen folgende Vermutungen nahe:

- 1. Die (ursprünglichen) *L*-Stämme werden nur durch *nichtnatürliche* Isomere (*l*-Weinsäure, *R*-Agar) invertiert.
- 2. Die (mutierten) *R*-Stämme werden nur durch *natürliche* Isomere (Saccharose, *l*-Digitonin, *d*-Weinsäure, *L*-Agar) invertiert.
- 3. Schon einmaliges Wachstum auf Agar mit optisch aktiven Zusätzen kann zu modifikativer bzw. dauermodifikativer Asymmetrienumkehr führen. Verschiedene Stämme scheinen gegen verschiedene optisch aktive Substanzen unterschiedlich *R*-*L*-stabil zu sein.

Die Versuche werden auf breiterer Basis weitergeführt. Sie zielen nur auf induzierte Inversion der Asymmetrieform von *Bacillus mycoides* ab, haben also, mindestens vorerst, zu den Ergebnissen der Alpatowschen Schule (W. W. ALPATOW, O. K. NASTJUKOWA, G. V. GAUSE: geographische Verbreitung der *R*/*L*-Stämme; Gehalt an *d*-

Generation	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>R</i> -Kolonien	∞	0	0	26	55	55	56	49	43	54	64
<i>L</i> -Kolonien	0	64	64	24	0	0	7	9	12	9	0
<i>X</i> -Kolonien	0	0	0	5	2	2	1	4	8	1	0

bzw. *L*-Peptidase; Wachstumssteigerung durch *R/L*-Atebrin bzw. *R/L*-Arginin) keinen Bezug.

U. HETTENBACH und W. LUDWIG

Zoologisches Institut der Universität Heidelberg,
30. August 1951.

Summary

Bacillus mycoides Flüge is found growing both as counter-clockwise (probably wild form) and as clockwise colonies (probably selected mutant stocks). One spontaneous mutation of *R* → *L* and of *L* → *R* has been observed respectively. Even after only a solitary culturing on agar containing optically active substances, the direction of rotation could be inverted temporarily or as *Dauermodifikation* up to 100 p.c. Upon this the *R*- and *L*-stocks exhibited significant differences: the former ones obviously respond to naturally occurring isomeres, the latter to "non-natural" isomeres only.

Complex Structure of the Bacterial Capsule in the Genus *Bacillus*

The capsules of most bacteria are composed of gum-like polysaccharides. On the contrary the capsule of *Bacillus anthracis* consists of a polypeptide made up of *d*(-)-glutamic acid¹. The bacterial capsule is thus regarded as being composed either of polysaccharides or of polypeptide, whereas a composite structure has been unknown.

By studying the serological behaviour of the capsule of sporeforming aerobic bacilli an unexpected complex structure was found, as reported here briefly.

These observations were made by mixing the different living capsulated bacilli with their homologous antisera as well as with an anti-Anthrax polypeptide serum, and then examining the preparations with the phase contrast microscope. A composite structure of the capsule has been observed thus far in two members of the genus *Bacillus*; these are the following: (1) four authentic strains of *Bacillus megatherium*, (2) an anthrax-like non-pathogenic bacillus, isolated in a former study² concerning the induced mutation of *Bacillus anthracis*, designated here as *Bacillus M*. *Bacillus M* cannot be distinguished morphologically from *Bacillus anthracis* or from *Bacillus cereus*, but its metabolism is different. It cannot be classified under the well defined mesophilic bacilli listed in the 6th edition of BERGEY'S Manual. Glucose is fermented extremely slowly, arabinose not at all. Starch is not hydrolyzed and acetylmethylcarbinol is not produced. Gelatin is hydrolized and nitrites are produced from nitrates. In broth it shows a slight motility and on agar medium, rich in amino acids, it has grown during the last two years invariably in capsulated form. Spores are produced only in potato extracts. These are cylindrical, rather central. The sporangia are not bulged.

Since the complex structure of the capsule was essentially the same in the case of *Bacillus megatherium* and of *Bacillus M*, the latter shall be described in this communication.

Bacillus M was agglutinated by 1:40 dilution of anti-anthrax polypeptide serum. When undiluted, this serum produced an instantaneous, homogeneous capsular reaction (Fig. 1). The capsular reaction was usually so intense that the details of the cell-structure were hardly visible. Nevertheless it could be assumed that the narrow white strip between the bacillary body and the capsule corresponds to the cell wall, which does not take part in the reaction.

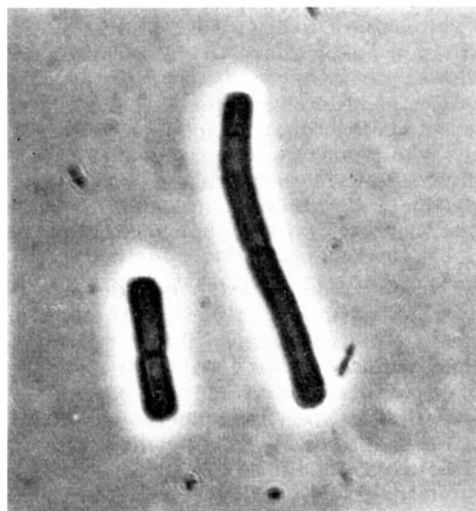


Fig. 1.—With polypeptide antibody.
Capsular Reactions with *Bacillus M*.

The homologous antibody of *Bacillus M* agglutinated this bacillus in a dilution of 1:640, but gave no agglutination with *Bacillus anthracis* or *Bacillus megatherium* in 1:5 dilution. When it was mixed undiluted with an encapsulated anthrax suspension, a faint capsular reaction could be detected indicating the presence of a very small amount of polypeptide antibody. The reaction of *Bacillus M* with its homologous antibody gave a surprising picture (Fig. 2). The capsule appeared invariably as a striated structure suggesting a capsular framework consisting of a substance other than polypeptide, as will be pointed out below. It is more difficult

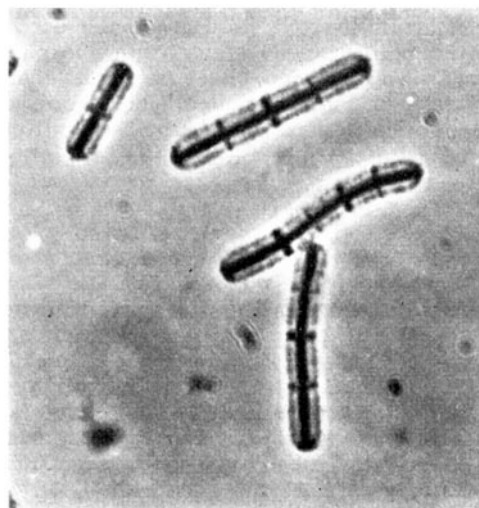


Fig. 2.—With homologous antibody.

¹ J. TOMCSIK and H. SZONGOTT, Z. Immunforsch. 77, 86 (1932).
—G. BODON and J. TOMCSIK, J. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 32, 122 (1934).—G. IVANOVICS and V. BRUCKNER, Z. Immunforsch. 90, 304 (1937); 91, 175 (1937).

² J. TOMCSIK, Schweiz. Z. Path. Bakt. 12, 489 (1949); 13, 616 (1950).