

(2.) P. Lindner: Das Biosproblem in der Hefeforschung.

Als Bios bezeichnete 1901 E. WILDIERS in „La Cellule“ Bd. XVIII diejenige Substanz, die unbedingt vorhanden sein muß, wenn eine Entwicklung der Hefe in einer gezuckerten mineralischen Nährlösung Platz greifen soll. WILDIERS hatte durch die Annahme dieser Substanz den 1859 aufgestellten PASTEURSchen Satz, daß die Hefe in der letzteren allein wachsen könne, umgestoßen.

Wie er zu solcher Annahme kam, soll kurz angedeutet werden: Er wollte die Bildung der phosphorhaltigen Verbindungen, wie der Phosphate, Nukleine und Lecithine in den Gärflüssigkeiten verfolgen und durch möglichst geringe Hefeaussaat die Zugabe neuer Phosphormengen so gut wie ausschalten.

Zu seinem Erstaunen bemerkte er, daß sich die Hefe in der mineralischen Nährlösung nicht vermehrte und auch eine sichtbare Gärung unterblieb bezw. erst eintrat, wenn eine größere Aussaat gegeben wurde.

Es war ihm also dasselbe Mißgeschick begegnet, das 1869 LIEBIG bei genauer Wiederholung der PASTEURSchen Versuche erfahren und zu dem berühmten Streit zwischen den beiden geführt hatte. PASTEUR hatte 1871 LIEBIG nach Paris eingeladen, um vor ihm jede gewünschte Hefemenge lediglich aus gezuckerter mineralischer Lösung herzustellen. LIEBIG war dieser Einladung wegen seines hohen Alters aber nicht gefolgt, und so war PASTEURS Behauptung bis 1901 unbestritten geblieben.

WILDIERS war zunächst peinlich berührt, dem berühmten Schöpfer der Biochemie widersprechen zu müssen, und wandte sich an verschiedene Spezialisten im Gärungsfach um Rat, wie er der geringen Hefeaussaat, die in Würze und anderen geeigneten Nährlösungen ohne weiteres anging, auch in der Minerallösung auf die Beine helfen könne. Aber was man ihm auch empfahl: Tüchtige Durchlüftung der Nährlösung vor der Impfung, Hinzufügen von Asparagin oder Anwendung von Invertzucker statt des gewöhnlichen Rohrzuckers, nichts half, außer eine kräftigere Aussaat oder die Zugabe geringer Mengen einer Abkochung von

Hefe. Zugabe ausgekochter Hefezellen war ohne Einfluß, ebenso die Zugabe von Hefenasche.

Also nur der Hefenextrakt enthielt „Bios“. Aus ihm die wirksame Substanz zu isolieren, war die Aufgabe, der sich eine Reihe belgischer Forscher im biologischen Laboratorium des Instituts Carnoy, in welchem auch WILDIERS seine ersten Versuche gemacht hatte, mit großem Eifer jahrelang unterzogen. WILDIERS hatte gefunden, daß Bios eine in Wasser sehr leicht lösliche, in Alkohol und Äther unlösliche Substanz sein müsse, die leicht dialysierbar und schwer durch Säure und Alkali zu verändern sei, auch nicht in die Asche übergehe.

Im Jahre 1906 veröffentlichte DEVLOO in „La Cellule“ Bd. XXIII die Ergebnisse zahlreicher Versuche, das Bios möglichst rein darzustellen. Trotz großer Mühe ist jedoch kein endgültiges Resultat erzielt worden; er glaubt, daß das Bios eine Base sei, die in den Lecithinen an der Seite oder, was wahrscheinlicher, an der Stelle des Cholins vorhanden ist, die aber augenscheinlich mit dem Cholin keine Verwandtschaft hat. Auf Einzelheiten der Arbeit einzugehen, hat hier keinen Zweck.

Wir wollen uns aber einige Angaben von WILDIERS noch vormerken, die wir später verwerten können: So, daß die Minerallösung nach der Sterilisation zum Zweck der Lüftung 24 Stunden stehen bleibt und dann erst geimpft wird.

Die Minerallösung hatte folgende Zusammensetzung: 200 g Wasser, 20 g Zucker, je 0,5 g Magnesiumsulfat, Chlorkalium, Chlorammonium, Binatriumphosphat und 0,1 g Kalziumkarbonat. Als Zucker wurde zeitweise Invertzucker, später aber, als sich mit diesem bessere Resultate nicht erzielen ließen, gewöhnlicher Rohrzucker verwandt.

Da bei geringer Aussaat die Flüssigkeit noch tagelang Sauerstoff aufnehmen kann, hätte nach der üblichen Auffassung von der günstigen Wirkung des Sauerstoffs auf das Wachstum der Hefe die Vermehrung alsbald in Gang kommen müssen.

Nun wurde aber das Gegenteilige beobachtet: Vermehrung und Gärung blieb aus. War der Zucker rein? fragt FERNBACH und auch W. WINDISCH, der namentlich auf die oligodynamischen Wirkungen von Metallen bzw. Metallsalzen, insbesondere von Kupfersalzen, hinweist.

Wirkt das Bios etwa solchen Giften entgegen? fragt AMAND, und stellt die Versuche so an, daß Gefäße und Nährsalze frei von jeder Metallsalzverunreinigung sind. Auch bei reinen Substanzen bleibt nach ihm bei geringer Aussaat Wachstum aus. Bios, der

mineralischen Nährlösung zugesetzt, fördert das Wachstum der Hefe und wird dabei aufgezehrt, denn das Filtrat wirkt nicht wachstumsfördernd. Auch die beim Versuch entstandene und dann ausgekochte Hefe lieferte kein oder nur ganz wenig Bios. Also neuer Widerspruch: Hefe verzehrt Bios, bildet aber kein neues während des Versuches.

KOSSOWICZ fand bei Aussaat von einer einzigen Zelle zunächst kein Wachstum, bei geringer Einsaat Wachstum und Kohlensäureentwicklung, wenn auch keine sichtbare Gärung. Diese trat jedoch auf bei Anwesenheit von Kahnhefen oder Schimmelpilzen, die sich in der Minerallösung gut entwickeln. Nach ihm sind diese Organismen Bioslieferanten und das Bios eine organische Stickstoffverbindung. Bemerkenswert ist die Angabe von KOSSOWICZ, daß in den Vakuolen vieler Zellen (von *Saccharomyces ellipsoideus*) große Fettkörner auftreten. Ähnliches berichtet CHRZASZCZ, der, auf meine Anregung hin, die WILDIERSschen Versuche wiederholte: „Das Plasma ist in den meisten Zellen (Riesenzellen) stark granuliert, man sieht oft auch große Öltropfen.“ (Versuche mit der Brennereihefe, Rasse II.)

HENRY impfte 500 ccm mineralischer Nährlösung mit 3 Tropfen einer Würzelkultur verschiedener Hefen und erzielte befriedigende Vermehrung, übertrug dann von dieser Gärung eine geringe Flüssigkeitsmenge auf frische mineralische Nährlösung und erhielt eine rasche Entwicklung, obwohl die Hefe der ersten Gärung doch schon alles Bios aufgezehrt haben mußte und neues nicht zu bilden imstande sein sollte.

Auch PRINGSHEIM hat „Über die Biosfrage und die Gewöhnung der Hefe an gezuckerte Nährlösungen“ Versuche angestellt; er erklärt die Hefenentwicklung bei größerer Einsaat durch das Freiwerden organisch gebundener Nährstoffe aus absterbenden Zellen; bei geringer Impfung fällt diese Hilfe für die Zellen weg. Durch wiederholtes Überimpfen in frische mineralische Nährlösungen trat eine derartige Gewöhnung an denselben ein, daß nun auch einzelne Zellen in solchen angingen.

Auch bei größerer Einsaat läßt die erste Gärung in mineralischer Nährlösung lange auf sich warten, während eine Überimpfung daraus in frische ebensolche Lösung schon nach wenigen Tagen Gärung erzeugt. Solche durch mehrfache Überimpfungen akklimatisierte Zellen versagen später auch nicht, wenn sie einzeln zur Aussaat gelangen.

Neuerdings hat HANS NAUMANN auf ALFRED KOCHs Vorschlag Untersuchungen über die Lebenstätigkeit von Sproßpilzen

in mineralischen Nährlösungen wieder aufgenommen, und in einer umfangreichen gründlichen Dissertationsschrift in der Zeitschrift für technische Biologie veröffentlicht. In dieser ist von ihm auch die geschichtliche Entwicklung der Biosfrage eingehender behandelt. Er arbeitet mit der gleichen Weinhefe, die PRINGSHEIM benützt hat, und findet auch bei Aussaat von nur 5 Zellen auf 10 ccm LAURENTScher Minerallösung keine Vermehrung und Gärung, selbst nicht nach 40 Tagen, dagegen bei Aussaat von 50 Zellen, die nach 3 Tagen bereits Sprossung, nach 10 Tagen Gärung und nach 40 Tagen 21 Millionen Zellen Ernte ergaben. Mit steigender Aussaat kommt die Sprossung schon am 2. Tage, die Gärung am 7. bzw. 6. Tage zustande, und die Ernte steigt bis 30 Millionen Zellen. Statt breiter Gefäße wählte er enge Reagenströhrchen, um den Eintritt der Gärung besser kontrollieren zu können. Auch NAUMANN ist der Ansicht, daß bei Aussaat von 50 Zellen die eintretende Vermehrung einsetzt infolge der aus den absterbenden Zellen herausdiffundierenden Stickstoffverbindungen. Je mehr Zellen ausgesät wurden, desto intensiver setzte Vermehrung und Gärung ein.

Zusatz von stickstoffreiem, gebranntem Zucker nach dem Vorgang von LINDET vermochte einzeln ausgesäten Zellen nicht zur Entwicklung zu verhelfen, dagegen Zusatz von Tannin- und Huminsubstanzen, die geringe Stickstoffmengen enthalten. Auch geringe Mengen von Pepton und Harnstoff halfen der einzelnen Zelle über die Wachstumsschnelle hinweg und ermöglichten Vermehrung. In demselben Sinne meint er, daß Kahlhefen und Schimmelpilze wirken, die, in einzelnen Zellen ausgesät, leicht und schnell in mineralischer Lösung angehen. Sie scheiden nach einiger Zeit stickstoffhaltige Verbindungen aus, und diese sind es, nicht das hypothetische Bios, welche einzeln ausgesäten Hefezellen zum Wachstum verhelfen.

NAUMANN hat auch die Entwicklung einzelner Zellen in Tröpfchenkulturen mit LAURENTScher Lösung, in der das schwefelsaure Ammon mit weinsaurem Ammon vertauscht wurde, beobachtet und gefunden, daß nach 8 Tagen keine Entwicklung eingetreten war, daß jedoch die Zellen eine starke Lichtbrechung aufwiesen.

Wir finden hier also die gleiche Beobachtung stark lichtbrechender Zellen, die KOSSOWICZ und CHRZĄSZCZ schon aufwiesen. NAUMANN meint, daß einzeln ausgesäte Zellen nur Wachstum und Vermehrung zeigen, wenn ihnen organischer Stickstoff zur Verfügung steht. In mineralischer Nährlösung wirke eine so geringe Dosis davon ähnlich wie ein leicht vergasbarer Brennstoff

beim Antrieb eines Motors, der mit schwerer vergasbarem arbeiten soll. Hat ersterer den Verbrennungsmotor erst in Gang gebracht, dann läuft er auch mit letzterem weiter.

Diese Theorie hat viel Bestechendes, trifft jedoch nicht den Kernpunkt des Biosproblems.

Zunächst die homöopathische Dosis von löslichen Stoffen, die aus absterbenden Zellen herausdiffundieren sollen: Angenommen, es seien 10 % der Aussatzellen schwach. Bei Aussaat von 50 Zellen auf 10 ccm wären 5 Zellen da, die mit ihren Stoffwechselprodukten die 45 übrigen zum Aussprossen veranlassen würden. Bei Aussaat von je 5 Zellen wird nicht jedesmal eine schwache Zelle beigemischt sein, da ja erst auf 10 Zellen eine solche kommt. Wäre eine solche aber zufällig zugegen, so müßten die 4 übrigen Zellen ebensogut angehen, wie die 45 Zellen.

Nun liegt aber die Sache bei der NAUMANNschen Versuchsanstellung in engen Reagensgläsern insofern günstig, als die Zellen sich am Boden ziemlich nahe beieinander absetzen und der Weg, den die Stoffwechselprodukte von der kranken zu den gesunden Zellen zurücklegen, ein nur kurzer ist und die Wirkung danach schneller eintreten muß, als bei räumlich weit auseinanderliegenden Zellen in Gefäßen mit breitem Boden.

Ob aber selbst eine schwächliche Zelle bei Gegenwart von reichlich Zucker Stickstoff in löslicher Form abgibt, ist sehr die Frage. Eine plasmareiche Zelle sproßt in reiner 5 %iger Zuckerlösung mitunter zu Sproßverbänden von 6—8 Zellen aus und wird dabei außerordentlich fettreich. Daß sie für ihre Nachkommen alle Plasmateilchen nutzbar gemacht hat, ist ohne weiteres ersichtlich. Das Fett bildet sie aber nur, wenn sie reichlich Sauerstoff zur Verfügung hat; ohne solchen hört das Sproßvermögen nach Bildung kleinerer Verbände auf, aber die Zellen sind dann eiweißreicher als die bei Sauerstoffgegenwart gewachsenen; sie stellen eine Eiweißgeneration dar, die gewöhnlich auch durch die Größe der Zellen und Vakuolen ausgezeichnet ist, für die übrigens die Säure verantwortlich gemacht werden muß, die bei der Entziehung des Ammoniaks aus dem Ammonsalz frei wird. Bei Luftabschluß diffundiert der gebildete Alkohol wohl sehr schnell aus der Zelle heraus.

Bei Sauerstoffgegenwart hält ihn die Zelle fest und wandelt ihn in Fett um. Der Alkohol ist hier nicht mehr Exkrement, sondern Nährstoff für die Zelle. Ohne Sauerstoff keine Fettbildung, auch wenn reichlich Zucker und Alkohol zugegen. Wenn

eine Hefe reichliche Granulationen aufweist, zeigt sie dadurch an, daß sie mit Sauerstoff in Berührung gewesen.

Wo wir stark granulierten Hefenformen bekommen, dürfen wir nicht erwarten, daß die Alkoholausbeute der Gärungsgleichung entspricht. Wo wir stark verfettete Zellen vorfinden, wie in der Oberfläche der Würzegelatinekulturen, da ist die Annahme durchaus begründet, daß die Fettmassen aus umgewandeltem Alkohol stammen, der aus der Tiefe der Kultur an die Oberfläche gelangt ist. Die Bildung von Fett aus Alkohol geht aber auch da vor sich, wo letzterer in Dampfform an die Zelle herantritt.

Diese Tatsache muß man einmal selbst mikroskopisch verfolgt haben, um ihre fundamentale Bedeutung in der Frage, ob Alkohol ein Gift für die Zelle sei, zu erfassen.

Auch die Hefezelle kann aber unmäßig im Genuß desselben werden, und dann wird sie eben ein kleines Mastschwein mit vielleicht 40—50 % Fett und verliert die Fähigkeit, noch weiter zu sprossen. Je kärglicher die Stickstoffnahrung, desto langsamer die Sprossung, desto stärker aber die Verfettung. Dieser Fall liegt in den mineralischen Nährlösungen vor. Die Ammonsalze sind nur allmählich zur Plasmasynthese zu verwerten, inzwischen aber setzt die Fettsynthese aus Alkohol ein und lähmt dann das Sproßvermögen. Wo die Zellen in lufthaltiger Lösung sehr vereinzelt liegen, werden sie sich mit Sauerstoff reichlich versehen können und den Alkohol gar nicht erst an die Lösung abgeben, sondern gleich verarbeiten.

Anders, wo Zellen nahe aneinander gelagert sind. Hier wird durch die Konkurrenz der Sauerstoff sogleich verteilt und wohl vielleicht zur Sprossung verwertet, aber zur Fettbildung langt es nicht mehr, überdies hat sich um die Zellgruppe auch Kohlensäure angereichert. Je nachdem ich eine beimpfte Lösung in ein offenes Spitzglas bringe oder in eine Petrischale ausgieße, werde ich völlig unterschiedliche Vegetationen erhalten, der Unterschied wird noch größer werden, wenn ich eine dritte Portion in einem bis zum Kork gefüllten Fläschchen dicht verschließe.

Der Streit, ob LIEBIG eine einem kleinen Stecknadelkopf entsprechende Aussaat gegeben hat, PASTEUR dagegen einen etwas kräftigeren Stecknadelkopf zum Vorbild genommen hat, kommt uns heute kleinlich vor. Wichtiger ist, wie viel Luft bereits von den Lösungen, die beide benutzt, aufgenommen war, als sie geimpft wurden. Noch wichtiger aber als die endgültige Lösung der Biosfrage ist die Feststellung der Tatsache, daß der Alkohol in ausgezeichneter Weise zur Fettbildung in der Hefe

(40) P. LINDNER: Das Biosproblem in der Hefeforschung.

benutzt wird und so ein wichtiger Baustein für die Zelle werden kann, insbesondere für unsere Kulturhefen. Die Behauptung von GEORG TRIER, daß der Alkohol von der Hefe lediglich wie ein Exkrement ausgestoßen wird, oder die von BOKORNY, daß die Bierhefe ein zur Fettbildung wenig geeigneter Organismus ist, sind beide irrig. Auf die erstere hat TRIER aber in erster Linie seine Grundlagen des Antialkoholismus aufgebaut. Diese Grundlagen sind somit durchaus hinfällig¹⁾.

1) In der Wochenschrift für Brauerei 1920 Nr. 3 habe ich inzwischen auch die Unstimmigkeiten bei Assimilationsversuchen, zu denen minimale Hefeausaaten benutzt wurden, zu erklären versucht.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft](#)

Jahr/Year: 1919

Band/Volume: [37](#)

Autor(en)/Author(s): Lindner Paul

Artikel/Article: [Das Biosproblem in der Hefeforschung 1034-1040](#)