

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Über die Nektarhefe *Anthomyces Reukaufii*.

Von

Friedrich Hautmann (Prag).

(Hierzu Tafel 9 und 17 Textfiguren.)

Inhaltsübersicht.

	Seite
I. Einleitung	213
II. Artbestimmung und Reinzucht	215
III. Die verschiedenen Wuchsformen	217
A. Die kreuzförmige Modifikation	217
B. Die hefeförmige Modifikation	219
IV. Über die Ausbildung der kreuzförmigen Modifikation	222
V. Die Ursachen der Ausbildung der kreuzförmigen Modifikation	225
VI. Die zwei verschiedenen Rassen des <i>Anthomyces</i>	231
VII. Ernährungsphysiologie und Stoffwechselprodukte	235
VIII. Vorkommen	241
IX. Ergebnisse	242
X. Literaturverzeichnis	244

I. Einleitung.

Der Pilz, von dem die vorliegende Arbeit handelt, ist zuerst von REUKAUF (8) beschrieben und von J. GRÜSS (3) in einer ausführlichen Abhandlung (1917) besprochen worden. Er hat ihn *Anthomyces Reukaufii* genannt. Ich schließe mich vollständig der Meinung von GRÜSS an, daß diesem Pilz der obige Name zugeteilt werde, erstens, weil das der Priorität entspricht und zweitens, weil der Name einwandfrei und bezeichnend ist. Synonym ist die Bezeichnung *Nektaromyces cruciatus*, unter welchem Namen ihn 1921 C. SCHOELLHORN (9) als novum genus et nova species in die Literatur

einführte. Die deutsche Bezeichnung Nektarhefen sollte für alle im Zuckersafte der Blüten anzutreffenden Hefen angewendet werden. Unter ihnen gibt es Formen von der üblichen Hefengestalt und solche, die sich durch ihre kreuzförmigen Sproßbäumchen auszeichnen. Für letztere gilt der Gattungsname *Anthomyces*. Als deutsche Bezeichnung wollen wir Kreuzhefen sagen.

REUKAUF fand den Pilz im Nektar von *Salvia verticillata* und von *Lamium*-Arten. Er war der Ansicht, daß jede Pflanzenart eine besondere Rasse des Pilzes beherberge und zwar infolge der verschiedenen Zusammensetzung des Nektars. V. SCHUSTER und ULEHLA (10) wiesen ihn hierauf in den Nektarien von *Lamium album*, *Lathyrus silvestris*, *Galeobisis tetrahit*, *Cytisus austriacus*, *Anthyllis vulneraria*, *Collutea arborescens*, *Pisum sativum*, *Linaria vulg.*, in einer *Scabiosa spec.* und in *Tilia pubescens* nach. Die Pflanzen, welche auf diesen Pilz hin von SCHUSTER und ULEHLA untersucht werden sollten, wurden für zwei Tage in Wasser in sterile HANSEN'sche Kästen gebracht, um eine gute Vermehrung des Pilzes zu erzielen. Hierauf wurde der Nektar mit einer sterilen, eigens dazu konstruierten Kapillarpipette entnommen. Nach Verdünnung des die Kreuzhefen führenden Zuckersaftes der Blumen mit Würzegeatine wurden PETRI-Schalen gegossen. Von einer Kolonie auf der Würzegeatine wurde in ein FREUDENREICH-Kölbchen abgeimpft und neuerdings in eine PETRI-Schale gegossen.

Für ihre Versuche brachten sie dann den reingezüchteten Pilz in eine Nährlösung von:

Pepton Witte	1,0
KH ₂ PO ₄	0,3
MgSO ₄	0,5
H ₂ O	93,5

und versetzten je 95 g dieser Lösung mit je 5 g der Zuckerarten: Saccharose, Dextrose, Lävulose, Maltose, Laktose. Die Jodoformprobe fiel nach 7 Tagen in Dextrose- und Lävuloselösung, sowie in Bierwürze positiv aus.

J. GRÜSS behandelt in seiner Arbeit über den *Anthomyces* hauptsächlich dessen Anpassung an den Blütenbau und Bienenrüssel. Er fand ihn in den Haaren des Bienen- und Hummelrüssels, worin er sich infolge seiner kreuzförmigen Sproßbäumchen leicht verankert, ebenso wie auf den Papillen der Nektarien der Blüten. Gefunden wurde der *Anthomyces* von ihm auch im Vor- und Honigmagen der Bienen. GRÜSS spricht die Ansicht aus, daß der Pilz mit dem Honig sowohl an die Larven verfüttert wird, als auch in die gedeckelten

Waben gelangt. In alten Kulturen fand er manche Zellen mycelial ausgewachsen und konnte in diesen Zellen nach einer von ihm nicht weiter mitgeteilten Färbemethode den Zellkern leicht sichtbar machen.

C. SCHOELLHORN untersuchte hauptsächlich die Verbreitung des *Anthomyces Reukaufii*. Er fand, daß der Nektar von Gewächshausblumen infolge mangelnder Insektenbesuche steril sei; ebenso war auch die Blüte von *Narcissus poeticus* steril, da diese Blüten nur von Schwärmern besucht werden, die allein mittels ihres langen Rüssels die tief in der Krone verborgenen Nektarien erreichen können. Der Nektar von Alpenblumem war weniger infiziert als der der Blumen der niedrigeren Regionen. SCHOELLHORN konservierte die Kreuzhefen in einer Lösung von:

Glukose	20,0
Saccharose	15,0
Mannit	1,0
H ₂ O	60,0
KH ₂ PO ₄	1,0
K ₂ SO ₄	3,0

Diese Flüssigkeit nannte er künstlichen Nektar; in diesem überdauerte der Pilz gut den Winter; nach SCHOELLHORN sollte weiter der Pilz nur Monosaccharide angreifen können.

J. GRÜSS als auch C. SCHOELLHORN gaben an, daß Sporenbildung von ihnen niemals beobachtet worden sei.

Am Schlusse der Einleitung sei noch erwähnt, daß nach PAUL LINDNER (5) der Pilz in Hummeln überwintert.

Bekannt war demnach sein Vorkommen in den erwähnten Blüten, sowie die Art seiner Übertragung und Überwinterung; ferner auch durch V. SCHUSTER und ULEHLLA, sowie durch J. GRÜSS die Tatsache, daß der Pilz seine kreuzförmige Sprossungsform ändert, wenn man ihn aus dem Nektar der Blumen in Bierwürze überführt.

Unbekannt dagegen war die Mikrochemie der Zelle, die Ursachen der gestaltbildenden Faktoren, seine Ernährungsphysiologie, sowie seine Stoffwechselprodukte. In dieser Richtung Aufklärung zu bringen, war die Aufgabe meiner nachstehenden Untersuchungen.

II. Artbestimmung und Reinzucht.

Die Bestimmung der Zugehörigkeit des Pilzes zur Gattung *Anthomyces* wurde nach den Beschreibungen und Abbildungen der bereits erschienenen Publikationen vorgenommen; dieselbe bot infolge des überaus charakteristischen Aussehens der Kreuzhefen keine Schwierigkeit.

Reinzucht.

Die Pflanzen, welche auf den Pilz hin untersucht wurden, wurden mehrere Stunden in Wasser an das geöffnete Fenster gestellt, um eine bessere Ansammlung von Nektar zu erzielen, und zwar so, daß ein Hinzukommen von Insekten ausgeschlossen war; dies wurde dadurch erreicht, daß die betreffenden Pflanzenteile mit Gaze umhüllt wurden. Nur bei *Tilia* wurde eine Glasglocke verwendet, um die offen liegenden Nektarien vor der Verdunstung zu schützen.

Zur Entnahme des Nektars wurden Glaskapillaren benutzt, welche vorher in Reagenzgläsern mittels Heißluft bei 150° steril gemacht wurden. Die Entnahme selbst geschah so, daß bei Blüten mit einem Sporn das Ende desselben mit einer durch Alkohol steril gemachten Schere abgeschnitten wurde; der herausgequetschte Nektar wurde mit der sterilen Kapillare aufgesaugt. Bei Labiaten wurde die Krone aus dem Kelche genommen, der Nektar herausgequetscht und mit einer Kapillare entfernt. Von dem auf diese Weise gewonnenen Nektar wurde dann eine kleine Probe auf die Anwesenheit des Pilzes hin untersucht. Bei Vorhandensein desselben wurde nun nach der Tröpfchenmethode von PAUL LINDNER im hohlen Objektträger nach entsprechender Verdünnung mit steriler ungehopfter Bierwürze eine kreuzförmige Zellkolonie isoliert und unter mikroskopischer Kontrolle zu einer kräftigen Kolonie auswachsen gelassen. Dann wurde mittels einer Platinöse etwas von derselben abgehoben und auf Würzeagar im Proberöhrchen übertragen.

Auf solche Weise wurden nachstehende 10 Stämme isoliert, mit denen die Untersuchungen ausgeführt wurden.

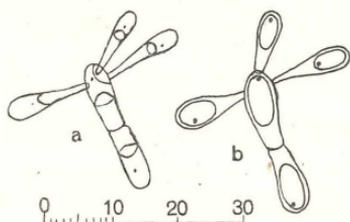
Tabelle 1.

Datum	Bezeichnung des Stammes	Name der Pflanze	Fundort
1922			
29. VI.	G	<i>Galeobdolon luteum</i> HUDSON	Wald
31. VII.	La I	<i>Lamium album</i> L.	Gebüsch
23. VII.	Li I	<i>Linaria vulgaris</i> MILLER	Waldsaum
23. VII.	Li II	<i>Linaria vulgaris</i> MILLER	Unter Getreide
25. VII.	Li III	<i>Linaria vulgaris</i> MILLER	Schuttplatz
29. VII.	St. I	<i>Stachys silvestris</i> L.	Waldsaum
25. VII.	St. II	<i>Stachys palustris</i> L.	Nasse Wiese
31. VII.	La II	<i>Lamium album</i> L.	Schuttplatz
1. VIII.	D	<i>Delphinium Consolida</i> L.	Kleefeld
28. VII.	T	<i>Tilia platyphyll.</i> SCOP.	Park

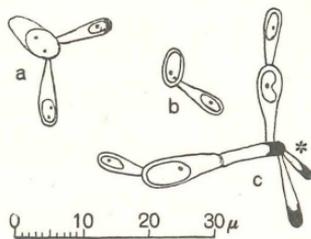
III. Die verschiedenen Wuchsformen.

A. Die kreuzförmige Modifikation.

Wenn man den Nektar von Blüten untersucht, so findet man in zahlreichen Fällen neben rundlichen Hefezellen in dem üblichen sproßverbände auch eigentümlich geformte Gebilde, welche aus einem Komplex von meistens 4—5 Zellen, in Form eines Kreuzes angeordnet, bestehen (Textfig. 1 a, b); es ist dies unser *Anthomyces*,



Textfig. 1.



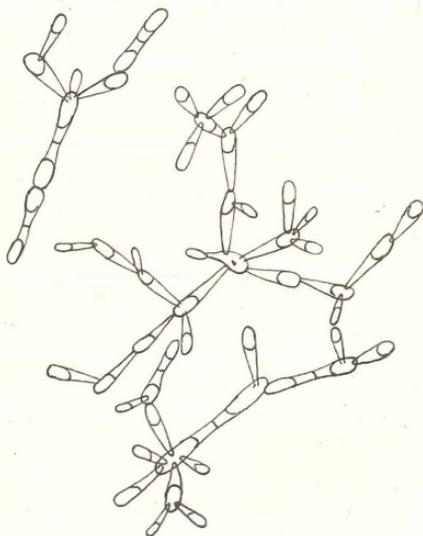
Textfig. 2.

Textfig. 1. Kreuzförmige Modifikation, bestehend aus einem Komplex von 5 Zellen. a) Protoplasten in kontrahiertem Zustand, b) nach Zusatz von Wasser.

Textfig. 2. Verschiedene Zellkomplexe der kreuzförmigen Modifikation. c* tote Protoplasten mit Methylenblau tingiert.

welchem infolge dieser charakteristischen Anordnung der Zellen die deutsche Bezeichnung Kreuzhefe zugeteilt wurde. Außer diesem 4—5 zelligen sproßverbände findet man auch noch Verbände von nur 2 oder 3, oder auch solche von über 5 Zellen (Textfig. 2). Der 4—5 zellige Komplex ist derjenige, welcher am häufigsten anzutreffen ist. Nur in einem Falle, und zwar im Nektar von *Stachys silvestris*, konnte ich sproßverbände beobachten, die die gewöhnlich vorkommenden an Zellzahl übertrafen (Textfig. 3).

Beobachtet man unter dem Mikroskop einen kreuzförmigen sproßverband, so bemerkt man, daß die einzelnen Zellen eine länglich keulenförmige Gestalt besitzen, und meist mit ihrem schmalen



Textfig. 3. Große Zellkomplexe aus dem Nektar von *Stachys silvestris* L.

Ende aneinanderhaften. Jede dieser Zellen besteht aus einer homogenen Masse, in deren dickerem Ende ein scharf umschriebenes länglich ovales oder eiförmig gestaltetes Gebilde eingelagert ist, das sich als Ganzes durch geringere Lichtbrechung auszeichnet und eine körnige Struktur aufweist; dieses Gebilde muß als das von dem Protoplasten erfüllte Lumen der Zelle angesprochen, alles übrige muß dann als eine hier eigentümlich ausgebildete Zellwand aufgefaßt werden.

Läßt man nämlich Reagentien auf Eiweiß, z. B. Jod und MILLONS-Reagens auf das oben bezeichnete, das Licht anders brechende Gebilde einwirken, so wird dieses durch Jod gelb, durch MILLONS-Reagens beim gelinden Erwärmen des Objektträgers rot gefärbt. Diese zwei Reaktionen deuten auf Plasma hin, und zwar erfolgt dies nur an der bezeichneten Stelle. Durch Anilinfarben, z. B. Methylenblau oder Bismarckbraun wird es im lebenden Zustand nicht gefärbt, wohl aber, wenn man vorher die Zellen z. B. mit Alkohol abtötet. Dabei bemerkt man, daß unter dem Einfluß des Alkohols sich das vorher ovale Gebilde zusammenzieht und sich konkav einkrümmt; dasselbe Bild beobachtet man auch im Nektar an abgestorbenen Zellen (Textfig. 2 c).

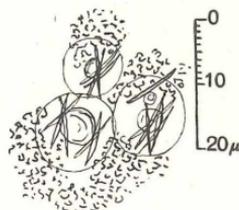
Ferner zeigt die Stelle auch öfter im Nektar der Blumen eine konkave Einbuchtung, die als eine Kontraktion des Protoplasten angesprochen werden muß (Textfig. 1 a). Läßt man zu diesen Formen Wasser unter das Deckglas treten, so verschwindet die Einbuchtung in kürzester Zeit, und infolge des Turgors erweitert sich das Lumen der Zelle (Textfig. 1 b). Saugt man anstatt reinen Wassers eine Methylenblaulösung zu den Zellen unter das Deckglas, so kann man zweierlei beobachten: bei den meisten Zellen geht die Kontraktion zurück, bei manchen nicht mehr. Im ersten Falle wird der Farbstoff nicht, im zweiten Falle wird er gespeichert (Textfig. 2 c). Der Protoplast ist tot.

Die Bedingungen für den Eintritt einer Kontraktion des Protoplasten sind manchmal im Nektar der Pflanzen gegeben, denn in diesem sind die Zellen des Pilzes infolge der hohen Konzentration desselben einem großen osmotischen Druck ausgesetzt. Die Summe der festen Bestandteile des Nektars zu seinen flüssigen wurde von mir fast immer wie 2:3 sich verhaltend gefunden. Die Versuche in dieser Richtung wurden mit einer nach den Vorschriften EMICHS (11) modifizierten Salvioni-Mikrowage ausgeführt, derart, daß ein Tröpfchen Nektar in einem Platinschälchen gewogen und dann durch zwei Tage bei Zimmertemperatur über konzentrierter Schwefelsäure ge-

trocknet und hierauf der Wasserverlust durch erneutes Wägen bestimmt wurde.

Im Protoplasten befinden sich fast stets 1—2 stark lichtbrechende Körperchen; die Untersuchung derselben ergab, daß sie aus neutralem Fett bestehen; zuerst wurden sie als Fettkörper durch die Reaktionen mit Alkannatinktur und Sudan identifiziert, welche beide rote Färbung ergaben; weiter noch durch die Verseifungsprobe nach MOLISCH, welche zur Ausbildung feiner Kristallnadeln führte (Textfig. 4). Behandlung mit Osmiumsäure ergab keine Schwärzung, daher fehlen hier ungesättigte Fettsäuren. Die Charakterisierung als neutrales Fett erfolgte mittels Nilblau, mit dem eine orangerote Färbung der Fettkörper erzielt wurde.

Textfig. 4. Verseifungsprobe nach MOLISCH.
Kristallnadeln um die Fetttropfchen.



Textfig. 4.

Von anderen Inhaltsbestandteilen des Plasmas wurde noch Volutin mit Hilfe der Methylenblauprobe aufgefunden. Es findet sich immer in Form von kleinen Körnchen, welche in der Ein- bis Dreizahl vorhanden sein können. Glykogen konnte nicht nachgewiesen werden.

Vakuolen fehlen stets dieser im Nektar der Blüten vorkommenden Form.

Die Zellmembran dieses Pilzes besteht nicht aus Cellulose, da sowohl Schwefelsäure und Jod, als auch Chlorzinkjod keine Farbenreaktionen gaben. Wohl aber wurde mit Korallin-Soda eine leuchtend rote, mit Kongo eine schwach rote Färbung erzielt.

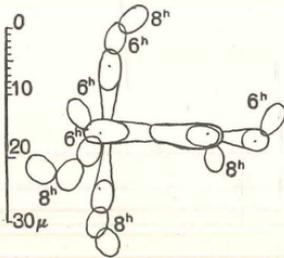
Betrachtet man den Zellkomplex in chinesischer Tusche, so sieht man deutlich die Zellen von einem hellen Hofe von Schleim umgeben, der an jenem Ende der Zelle am stärksten ist, wo durch die einseitige Lagerung des Zellumens die Membran an dem keuligen Ende dünner erscheint.

B. Die hefeförmige Modifikation.

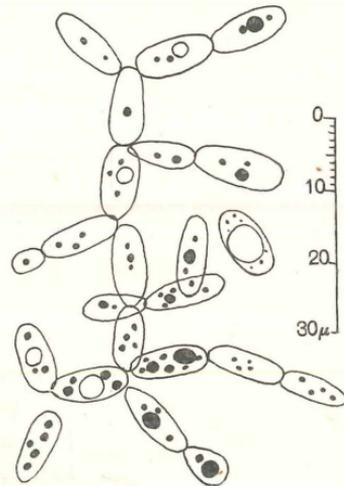
Bringt man eine kreuzförmige Zellkolonie des *Anthomyces* aus dem Nektar in ein Wurzetropfchen am Deckglas in den hohlen Objektträger, so beobachtet man eine Vergrößerung des Zellumens, die durch die Erhöhung des Turgordruckes bedingt ist. Es dauert hierauf nicht lange, bis eine lebhafte Sprossung einsetzt. Hervorzuheben ist, daß diese Sprossung nur an dem Ende der Zelle eintritt, dem der Protoplast näher gelagert ist. Die in diesem Milieu

entstehenden Zellen besitzen nicht mehr keulenförmige Gestalt, auch keine kreuzförmige Anordnung der Zellverbände, wie sie der Pilz im Nektar ausbildet, sondern gleichen durchaus hinsichtlich ihrer Gestalt und Anordnung gewöhnlichen Hefepilzen (*Saccharomyces*).

Der Sproßvorgang geht so vor sich, daß eine Zelle zuerst eine kleine Ausstülpung an den dünnsten Wandstellen treibt, die sich dann etwas verlängert und am Ende eine kleine kopfförmige Erweiterung bildet. Diese vergrößert sich rasch nach allen Seiten, so daß auch der anfangs gebildete Stiel verschwindet; zuvor wird die Tochterzelle von der Mutterzelle abgeschnürt. Die neugebildeten Zellen haften aneinander, können aber durch Erschütterung des Objektträgers voneinander getrennt werden. Die Abbildung 5 zeigt den Verlauf einer Sprossung während 4 Stunden. Die Kreuzhefe



Textfig. 5.



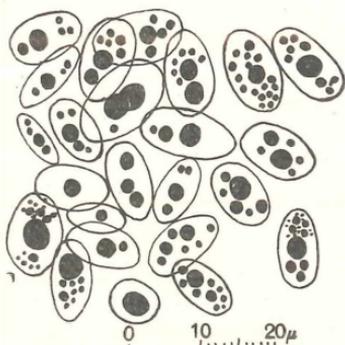
Textfig. 6.

Textfig. 5. Aussprossende kreuzförmige Modifikation in Bierwürze.

Textfig. 6. Jüngere Zellen der hefeförmigen Modifikation.

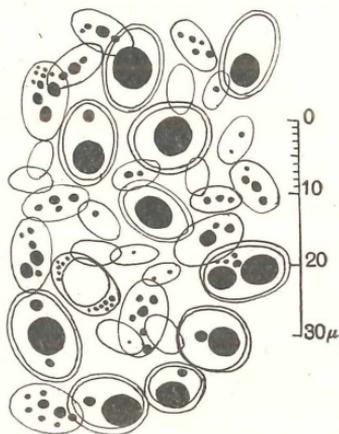
wurde von 4 Uhr nachmittags an in einem hängenden Würzetröpfchen im hohlen Objektträger beobachtet und im Verlauf von zwei zu zwei Stunden die neugebildeten Zellen gezeichnet. Die zu den einzelnen Zellen in der Abbildung gesetzten Ziffern zeigen die zur Beobachtungszeit gebildeten Zellen an. Die jungen Zellen besitzen ein homogenes Plasma, doch bald wird dieses körnig, es treten stark lichtbrechende Körperchen auf und es kommt zur Ausbildung von Vakuolen, meist einer, oder zwei, oder auch einer einzigen großen, welche fast das ganze Lumen der Zelle ausfüllt (Textfig. 6).

Die Sprossung schreitet rasch vorwärts, so daß schon nach einem Tage das Würzetröpfchen ganz von den gebildeten Zellen ausgefüllt ist. Die ursprünglich in das Würzetröpfchen eingimpfte Kreuzhefe verliert dabei nicht ihre Gestalt; sie geht meistens zugrunde oder bildet eine oder mehrere Zellen ihres kreuzförmigen Sproßverbandes zu Dauerzellen um, wenn auch die anderen Zellen dazu schreiten, in den Dauerzustand überzugehen. Das geschieht vornehmlich bei Erschöpfung der Nährstoffe im Würzetröpfchen. Dabei vergrößern sich die Zellen (Textfig. 7 a), bilden im Protoplasma stark lichtbrechende Körperchen aus, die im Fortschreiten dieser Umgestaltung zu mehreren größeren oder nur einem großen Tropfen zusammenfließen, und umgeben sich außen mit Schleim. In vielen Fällen wird eine doppelte Zellwand gebildet, deren äußere Membran dicker ist und ebenfalls außen von Schleim umgeben (Textfig. 7 b). Die in der Entwicklung zurückgebliebenen Zellen gehen dabei zugrunde.



Textfig. 7 a.

Textfig. 7 a. Beginn der Dauerzellenbildung.



Textfig. 7 b.

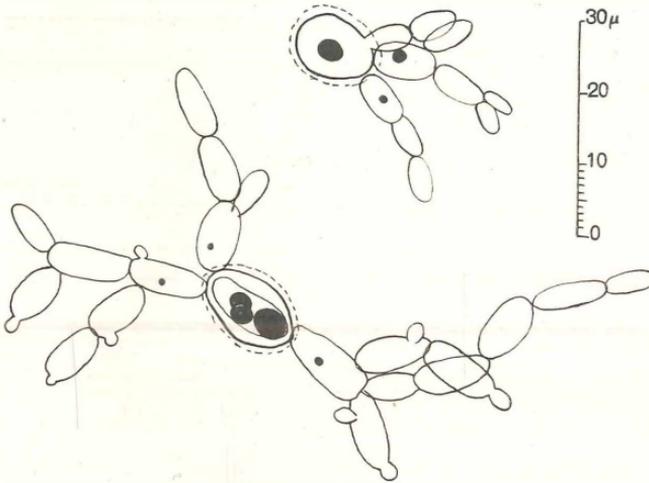
Textfig. 7 b. Dauerzellen mit doppelter Membran.

Mit Jod, sowie mit MILLONS-Reagens wird der ganze Inhalt der Zelle gefärbt. Mit Jod kann man bei dieser Wuchsform des *Anthomyces* Glykogen nachweisen, welches in einzelnen Tropfen durch das ganze Plasma zerstreut ist. Die stark lichtbrechenden Körperchen bestehen auch hier, genau so wie bei der kreuzförmigen Modifikation aus neutralem Fett, welches mit denselben Reagentien erkannt wurde. Auch Volutin wurde nachgewiesen, meist um die Vakuolen herum. Sogenannte Tanzkörperchen, die in den Vakuolen angetroffen werden, gaben Volutinreaktion.

Die Zellmembran zeigte bei Jod und Schwefelsäure- oder Chlorzinkjodzusatz nur bei Dauerzellen mit doppelter Membran eine schwache grünlich-blaue Färbung.

IV. Über die Ausbildung der kreuzförmigen Modifikation.

So wie die Dauerzellen mit doppelter Membran oder auch die kräftigen überlebenden Zellen mit einfacher Membran und Schleimhülle des Würzetröpfchens bald wieder in frischer Würze auskeimen (Textfig. 8), so gelingt es auch, in 2—3 Tagen die Rück-



Textfig. 8. Aussprossende Dauerzellen in Bierwürze.

In den Textfig. 1—3, 5—7b sind die Öltröpfchen schwarz, die Vakuolen nur umrandet. In Textfig. 4 sind die Öltröpfchen nicht schwarz, sondern nur umrandet gezeichnet.

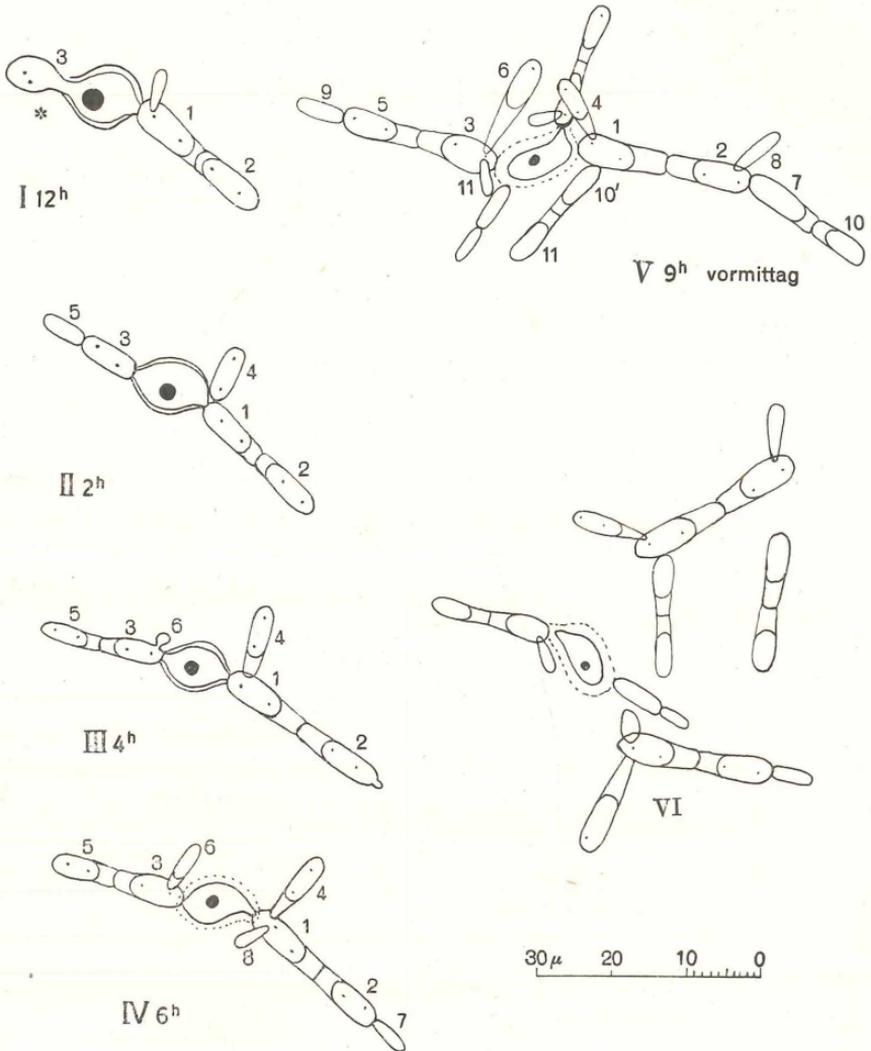
verwandlung der hefeförmigen in die kreuzförmige Modifikation zu erzielen, wenn man Zellen aus der Würze in natürlichen Nektar überimpft.

Um die Ausbildung der kreuzförmigen Modifikation aus einer einzelnen Zelle unter dem Mikroskop verfolgen zu können, wurde in einem Nektartröpfchen von *Tropaeolum maius* im hohlen Objektträger eine isolierte Dauerzelle beobachtet.

Die Zeit, die vom Beginn des Versuches bis zum Auskeimen der eingepfropften Zelle verstreicht, ist verschieden; sowohl die Art als auch das Alter der zum Versuch verwendeten Zellen ist ausschlaggebend. Eine Zelle mit doppelter Membran aus einer jüngeren Kultur braucht im Durchschnitt 1—1½ Tage, bis die erste Tochterzelle gebildet wird, eine Zelle mit einfacher Membran kann dagegen

nach wenigen Stunden zur Sprossung schreiten. Zellen älterer Kulturen können selbst mehrere Tage noch in einem latenten Zustand verharren.

Bei der Aussprossung bemerkt man, daß zuerst an irgendeiner Stelle die äußere Membran (Textfig. 9/I links mit * bezeichnet) von



Textfig. 9. Ausbildung der kreuzförmigen Modifikation aus einer Dauerzelle im Nektar von *Tropaeolum maius*.

einer sackartigen Ausstülpung der inneren Zellwandschicht durchbrochen wird. Die äußere Membran kann dabei auch abgeworfen werden. Die sackartige Ausstülpung wächst zuerst stielartig und bildet analog der Sprossung der kreuzförmigen Modifikation in Würze ein Köpfchen (Textfig. 9/I *), dann wird der Stiel von der

Mutterzelle abgeschnürt und es beginnt die Tochterzelle zu wachsen (Textfig. 9/II). Dieselbe ist jedoch selbst bald wieder sproßfähig; es entstehen so zwei aneinanderhängende Zellen (Textfig. 9/II links). Und nun beginnen die Protoplasten die Wandsubstanz abzusondern, welche zu der für die kreuzförmige Modifikation so charakteristischen Polarität der Zelle führt (Textfig. 9/III links). Das Lumen und darin der Protoplast ist dann am keulenförmigen Ende der Zelle gelagert, wo auch die Wandverdickung nicht oder nur sehr spärlich vorhanden ist. Aus diesen dünnen Wandstellen sprossen nun wiederum die Tochterzellen, bei welchen derselbe Vorgang zu beobachten ist (Textfig. 9/III, 9/IV links). Die an der Dauerzelle zuerst entstehenden Zellen zeigen, nachdem sie ihrerseits wieder eine Tochterzelle gebildet haben, eine Doppelkeulenform der Zellen, welche mit ihrem schlanken Ende aneinander haften. Erst die nun sprossenden Zellen vollenden das Bild, welches wir im Nektar der Blüten zu finden gewohnt sind. Es kommt nun vor, daß auch am kreuzförmigen Zellverbände Doppelkeulenzellen gebildet werden (Textfig. 9/V rechts); diese sind dadurch ausgezeichnet, daß sie sich durch selbst schwache Erschütterungen aus dem kreuzförmigen Sproßverband oder von der eingespiffen Dauerzelle lösen lassen (Textfig. 9/VI), während dasselbe bei den einfach keulenförmigen der Kreuzhefe nur sehr schwer, z. B. durch andauerndes Schütteln im Reagenzglas mit Wasser, zu erreichen ist; deshalb findet man einfach keulenförmige Zellen nie im Nektar.

Das Protoplasma der jungen Zellen ist anfangs homogen, bald treten jedoch Fetttropfchen auf, welche in der Ein- oder Zweizahl vorhanden sind. Vakuolen jedoch fehlen, wie schon erwähnt wurde. Die ursprünglich eingespiffte Dauerzelle wird bei jeder neuen Sprossung kleiner, das Ölkörperchen verschwindet allmählich. Die äußere Membran verschleimt, wie das in den Zeichnungen (9/IV—VI) durch eine punktierte Linie angedeutet ist.

Es war nun interessant zu erfahren, ob auch anderen Hefen die Eigenschaft zukomme, in den Nektarien der Blüten eine so charakteristische Kreuzform auszubilden. Deshalb wurden folgende Hefestämme (Tab. 2) des Institutes und noch 34 andere, welche teils aus der Luft, teils aus dem Boden isoliert waren, in den nektarführenden Sporn von *Tropaeolum maius* mit Hilfe eines sehr dünnen Platindrahtes übertragen.

Aber bei keinem dieser Hefestämme wurde ein derartiges Vermögen vorgefunden, obwohl bei manchen von ihnen eine gute Vermehrung zu verzeichnen war.

Tabelle 2.

Himbeerhefe (Inst. f. Gärungsgew. Berlin)	+
Berncastler Doctor	— —
Sacch. marxianus	+ +
Sacch. anamensis	+
Preßhefe	+
Bierhefe	+
Eine hochvergärende Hefe	+ +
Rosahefe	+

— keine Vermehrung. + schwache Vermehrung. + + gute Vermehrung.

Da auch keiner der aus dem Boden oder der Luft isolierten Stämme das Vermögen zeigte, eine so charakteristische Sproßform im Nektar von *Tropaeolum* auszubilden, muß angenommen werden, daß Kreuzhefen in der Luft oder im Boden nur selten vorkommen

V. Die Ursachen der Ausbildung der kreuzförmigen Modifikation.

Auffallend ist bei den Kulturversuchen der gestaltändernde Einfluß des Nährmediums, eine Erscheinung, die bereits aufgefallen war. Seit GRÜSS (3) ist bekannt, daß der *Anthomyces* in einer konzentrierten Rohrzuckerlösung, seit SCHOELLHORN (4), daß er in seinem in der Einleitung erwähnten künstlichen Nektar wiederum die kreuzförmige Gestalt ausbildet.

Bekannt ist ferner durch GRÜSS (3) die Tatsache, daß in einer mit 1 Proz. Pepton versetzten konzentrierten Rohrzuckerlösung nicht mehr die kreuzförmige Modifikation mit schlanken Zellen wie im Nektar sich ausbildet, sondern daß die Zellen mit breiter Basis aneinanderhaften und eine gedrungene Gestalt besitzen.

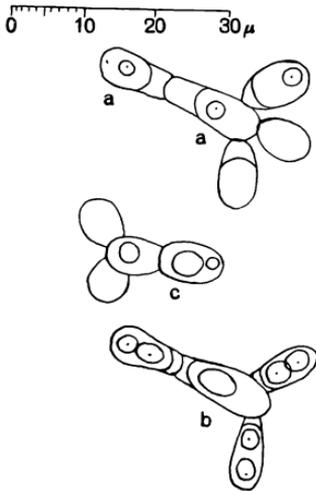
Die auffallenden Tatsachen, daß der Pilz, sobald man ihn in Würze bringt, seine charakteristische kreuzförmige Aussprossung verliert und sich dann kaum von Hefen der Gattung *Saccharomyces* unterscheidet, und daß er nach Übertragung aus Würze in die Nektarien der Blüten oder eine konzentrierte Zuckerlösung wieder den kreuzförmigen Sproßverband ausbildet, mußten zur Annahme führen, daß hauptsächlich die osmotische Konzentration der Lösung die Ursache der Änderung der Zellgestalt und Sproßform sei.

Wiederholen wir kurz die Charakteristika der kreuzförmigen Modifikation. Sie zeichnet sich vor allem aus durch die Form der Zellen; diese sind schlank und keulenförmig und infolge der polaren Verdickung der Zellwand befindet sich das Zellumen am breiteren Ende. Es nimmt etwa ein Drittel bis einhalb des gesamten Zellvolumens ein. Vakuolen fehlen, und es sind fast immer 1—2 Fetttropfchen im Protoplasma eingelagert.

Die Form der Zellen aber, welche man in konzentrierten Rohrzuckerlösungen mit reichlichem Pepton Gehalt beobachtet und die ich als

Peptonmodifikation

bezeichnen will, steht offenbar in der Mitte zwischen der kreuzförmigen und der hefenförmigen Modifikation. Denn der Sproßverband besteht einerseits wie im Nektar aus meistens vier oder fünf Zellen, jedoch kommen auch solche mit zwei oder drei Zellen vor; ebenso besitzt die Peptonmodifikation noch die von GRÜSS als kronenförmig bezeichnete Sprossung der Kreuzhefe. Jedoch weisen die hier gedrunghenen und breiten Zellen nicht mehr die mächtige polare Wandverdickung auf; dadurch vergrößert sich das Lumen der Zelle, das nun drei Viertel des Zellvolumens ausmachen kann, ja schließlich ist bei sehr hohem (1proz.) Pepton Gehalt die Verdickung der Zellwand ganz verschwunden, und nur mehr die kronenförmige Aussprossung erinnert an die kreuzförmige Modifikation (Textfig. 10 a, b, c). Andererseits fehlt das sonst so häufige Fetttropfchen, es treten Vakuolen auf, in denen sich meist ein Tanzkörperchen befindet, das aus Volutin besteht.



Textfig. 10. Peptonmodifikation; in den meisten Vakuolen Tanzkörperchen.

Textfig. 10. Offenbar verhindert das Pepton oder allgemein eine gute Stickstoffnahrung die Ausbildung der typischen kreuzförmigen Modifikation, wie sie für den Nektar so charakteristisch ist. Es war daher von Interesse, zu erfahren, bei welcher Peptonmenge diese Wirkung auftritt.

Die Versuche führte ich mit je 5 ccm einer Lösung aus, welche folgende Zusammensetzung hatte:

Mg SO ₄	0,2	Proz.
KH ₂ PO ₄	0,3	"
H ₂ O	59,0	"
Saccharose purissim. „KAHLBAUM“	40,0	"

Die Saccharosekonzentration wurde deshalb so gewählt, weil die Lösung dann der natürlichen Konzentration des Nektars entspricht, wie ich mich nach der schon beschriebenen Methode Hilfe der Mikrowage überzeugen konnte. Die Peptonmengen wurden entsprechend der Tabelle gewählt.

Tabelle 3.

Peptonkonzentrationen in Proz.		1,0	0,5	0,10	0,01	0,001	0,0001	0,00001	0
I.	5 ccm Nährlösung	P +++	P +++	P +++	P ++	K ++	K +	K +	K —
II.	5 ccm Nährlösung ohne MgSO ₄	P +	P +	P +	P +	K +	K —	K —	K —
III.	5 ccm Nährlösung ohne KH ₂ PO ₄	P +	P +	P +	P +	K +	K —	K —	K —
IV.	5 ccm Saccharoselösung ohne Nährsalze	P —	P —	P —	P —	K —	K —	K —	K —

P = Peptonmodifikation.

K = kreuzförmige Modifikation.

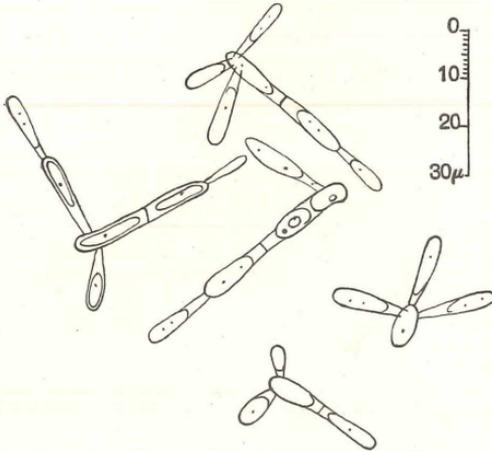
Vermehrung: — + ++ +++
nicht schwach gut sehr gut

Die Tabelle, welche die Ergebnisse der Versuche enthält, zeigt, daß die kreuzförmige Modifikation von einer Peptonkonzentration von 0,001 Proz. an auftritt. Unterhalb dieser Konzentration ist die Vermehrung sehr schwach und kommt überhaupt zum Stillstand, wenn man Pepton fortläßt. Oberhalb 0,001 Proz. Pepton wird die Peptonmodifikation ausgebildet und zwar finden sich bei 0,01 Proz. Pepton Formen, deren Zellumen nur die Hälfte des Zellvolumens, bei 0,1 Proz. sind drei Viertel der Zelle von Plasma erfüllt, und bei noch höherer Konzentration des Peptons erinnert nur noch die kronenförmige Sprossung an die kreuzförmige Modifikation (Textfig. 10).

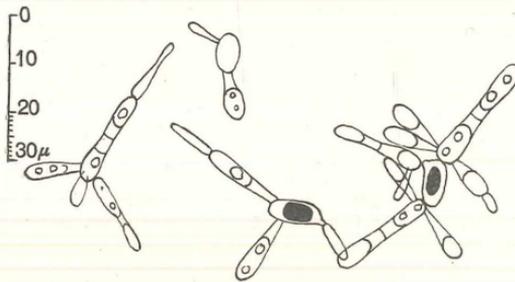
Die Versuche wurden auch so abgeändert, daß in dem einen Falle MgSO₄, im anderen Falle KH₂PO₄ und schließlich beide Nährsalze überhaupt fortgelassen wurden, um einen eventuellen Einfluß derselben auf die Ausbildung der Sprossungsform erkennen zu können. Dabei ergab sich, daß die Nährsalze keinen Einfluß auf die Ausbildung der typischen Modifikationen hatten. Das Resultat in bezug auf Peptonkonzentration blieb dasselbe; das Wachstum war beim Fortlassen von Magnesiumsulfat oder Monokaliumphosphat schwach und kam ganz zum Stillstand beim Fehlen derselben.

Führt man die Versuche in alkalischer Lösung durch, indem man statt Monokaliumphosphat 1 Proz. Dikaliumphosphat für obige Nährlösung nimmt, so ergibt sich dasselbe Resultat; die Zellen waren jedoch sehr langgestreckt und auch der Protoplast nahm einen größeren Raum ein (Textfig. 11).

Die Ausbildung der kreuzförmigen Modifikation ist also bedingt durch eine geringe Stickstoffkonzentration, die für Pepton 0,001 Proz. beträgt. Unabhängig ist dieselbe von den Nährsalzen und der Reaktion der Nährlösung.



Textfig. 11. Kreuzförmige Modifikation in alkalischer konzentrierter Saccharoselösung.



Textfig. 12. Kreuzförmige Modifikation in konzentrierter Saccharoselösung mit Nitrat als Stickstoffquelle.

obachten, ob bei geänderter Zuckerkonzentration auch der Pepton-gehalt seinen Einfluß beibehalte.

Auch der Einfluß anderer Stickstoffverbindungen wurde in den Bereich meiner Versuche gezogen. Dabei ergab sich, daß bei Asparagin und Ammoniumsulfat oder -chlorid, ebenso in hoher Konzentration die Peptonmodifikation ausgebildet wird; in geringen Mengen erzeugen auch sie die Nektarform. Es ist jedoch zu bemerken, daß durch Ammoniumsalze, ebenso auch durch Kaliumnitrat, Vakuolen selbst in der typischen kreuzförmigen Modifikation hervorgerufen werden (Textfig. 12).

Nachdem nun einmal die günstigste Konzentration für Pepton bekannt war, war es das nächstliegende, den Einfluß der Zuckerkonzentration festzustellen und zugleich auch zu beobachten, ob bei geänderter Zuckerkonzentration auch der Pepton-

Tabelle 4.

Proz. Pepton		0,001	0,01	0,1	
Proz. Saccharose purissimum Kahl- baum	1	H	H	H	H = hefeförmige Modifikation K = kreuzförmige Modifikation P = Peptonmodif.
	10	H und K	H	H	
	15	K und H	H	H	
	20	K	P	P	
	25	K	P	P	
	30	K	P	P	

Die Nährlösung wurde nach folgendem Rezept hergestellt:

	MgSO ₄	0,2	Proz.
	KH ₂ PO ₄	0,3	„
Saccharose puriss. KAHLBAUM	in Konzentration	1, 10, 15, 20, 25, 30	Proz. und
Pepton WITTE	„	0,001, 0,01, 0,1	„

Das Ergebnis der Versuche (Tab. 4) zeigte, daß die unterste Grenze für die Ausbildung der kreuzförmigen Modifikation bei 20 Proz. Saccharose und 0,001 Proz. Pepton liegt. Doch kommen auch bei 10 u. 15 Proz. Saccharose u. 0,001 Proz. Pepton noch vereinzelt Kreuzhefen vor und zwar bei 15 Proz. mehr als bei 10 Proz. Saccharose. Unterhalb 10 Proz. Zucker unterscheiden sich dann die Zellformen in nichts mehr von den in Würze vorkommenden, somit auch nicht von anderen Hefezellen. Es findet somit bei 0,001 Proz. Pepton ein allmählicher Übergang aus der kreuzförmigen zur hefeförmigen Modifikation statt, bedingt durch die allmähliche Verdünnung der Zuckerlösung.

Um nun sicherzugehen, daß tatsächlich die osmotische Konzentration ein Hauptfaktor für die Ausbildung der kreuzförmigen Modifikation sei, wurde versucht, die hefeförmige Modifikation durch Kultur in mit 40 proz. Saccharoselösung isotonischen anorganischen Salzlösungen zur Ausbildung des kreuzförmigen Sproßverbandes zu bringen.

Die Versuche wurden mit isotonischen Lösungen von K₂SO₄, NaCl, KNO₃ und K₂HPO₄ durchgeführt.

40 Proz. Saccharose	sind isotonisch mit	10,20	Proz. K ₂ SO ₄
	oder	„ 4,50	„ NaCl
	„	„ 7,80	„ KNO ₃
	„	„ 10,20	„ K ₂ HPO ₄

Als Nährstoffe wurden folgende Bestandteile hinzugegeben:

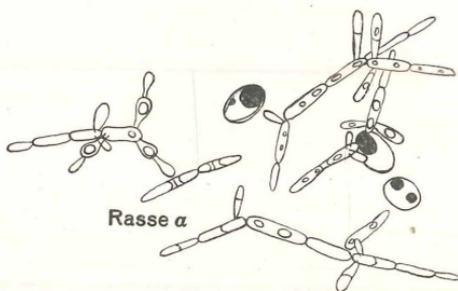
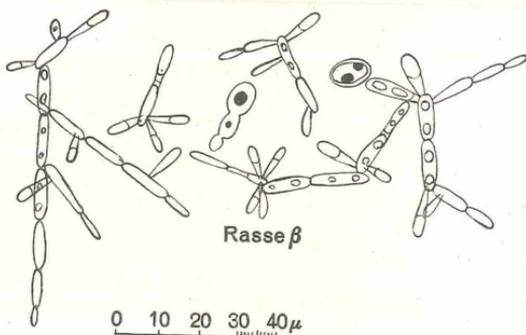
MgSO ₄	0,2	Proz.
KH ₂ PO ₄	0,3	„
Saccharose	0,5	„
Pepton	0,001	„

Eine geringe Zuckermenge (0,5 Proz.) mußte als Kohlehydratquelle genommen werden.

Bei der Durchführung der Versuche ergab sich zuerst, daß die eingimpften Stämme, wohl infolge der geringen Viskosität der Lösungen zu Boden sanken und abstarben. Brachte ich jedoch einen Filterpapierstreifen zu den Lösungen ins Reagenzglas und impfte ich die Stämme knapp über dem Flüssigkeitsspiegel auf dasselbe, so konnte ich nach 1—2 Tagen die ausgebildeten Kreuzhefen nach-

weisen (Textfig. 13). Es können jedoch Vakuolen auftreten, welche ja den Zellen im Nektar fehlen; es ist dies dem Einfluß der betreffenden Salzlösungen zuzuschreiben; denn Vakuolen treten auch auf, wenn man den Stämmen Ammonsalz oder Nitrat als Stickstoffquelle reicht. Kaliumsulfat dagegen erzeugt keine Vakuolen.

Die Beobachtung, daß eine Ausbildung der kreuzförmigen Modifikation unterbleibt, wenn die Zellen zu Boden sinken, muß dem



Textfig. 13. Kreuzförmige Modifikation in einer Ammoniumsulfatlösung, die isotonisch 40 Proz. Saccharose ist.

Einfluß des Sauerstoffes zugeschrieben werden. Denn bringt man den *Anthomyces* in seinem kreuzförmigen Sproßverbände mit konzentrierter Saccharoselösung in den Ausschluß eines hohlen Objektträgers und schiebt unter Vermeidung von Luftblasen ein mit Vaseline an den Rändern eingefettetes Deckglas darüber, so kann man beobachten, daß die Zellen absterben oder in den Dauerzustand übergehen.

Und tatsächlich findet man im Bodenbelag einer Kultur in konzentrierter Rohrzuckerlösung nur tote Kreuzhefen neben Dauerzellen. Diese Beobachtungen stehen auch in Übereinstimmung mit dem Ergebnis, daß in einer Agarschüttelkultur nur unmittelbar unter der erstarrten Agaroberfläche sich Kolonien ausbilden, wie auf S. 238 näher beschrieben ist. Bringt man den *Anthomyces* in eine 40 proz. Maltose-, Lävulose- oder Dextroselösung, so wird gleichfalls die kreuzförmige Modifikation ausgebildet. Bei Laktose jedoch, die nur zu 17 Proz. bei 10° löslich ist, müssen, um die Ausbildung der kreuzförmigen Modifikation zu ermöglichen, die fehlenden 23 Proz. Laktose noch durch eine isotonische Salzlösung ersetzt werden um Kreuzformen zu erzielen. 23 Proz. Laktose entsprechen 5,1 Proz. K_2SO_4 . Somit ein weiterer Beweis für die ausschlaggebende Wirkung der Konzentration!

Nicht nur in Flüssigkeiten, sondern auch auf festen Nährböden

von hohem Zuckergehalt wird der kreuzförmige Sproßverband ausgebildet. Zu diesem Zwecke wurden die Stämme auf Agar in Petri-Schalen übertragen. Der Agar (2 Proz.) hatte folgende Zusammensetzung:

KH_2PO_4	0,3	Proz.
MgSO_4	0,2	„
H_2O	57,5	„
Pepton	0,001	„
Saccharose	40,0	„

Die Kolonien enthalten neben einzelnen Zellen in der Hauptsache den charakteristischen kreuzförmigen Sproßverband.

Die günstigste Temperatur für die Ausbildung der kreuzförmigen Modifikation ist zwischen 10° und 20° C. Bei 30° im Brutschrank während 48^h gehalten, waren die Zellen sämtlich abgestorben.

Die Ausbildung der kreuzförmigen Modifikation ist also an geringe Stickstoffkonzentrationen gebunden, die für Pepton bei 0,001 Proz. als Optimum liegt, sowie an eine Konzentration, welche mindestens 20 Proz. Saccharose entspricht. Als weitere Bedingung wurde der Einfluß des Sauerstoffs erkannt, ohne den der *Anthomyces* nicht gedeihen kann.

VI. Die zwei verschiedenen Rassen der *Anthomyces*.

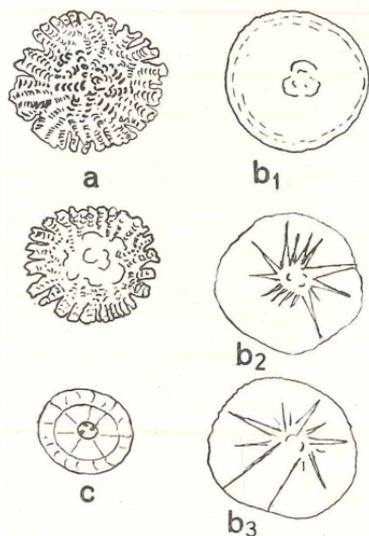
Bei der Kultur der reingezüchteten Stämme auf Würzeagar bemerkte ich, daß sie sich durch ihre Wuchsformen unterscheiden und zwar findet man zwei Typen; der eine Typ besitzt eine glatte, der andere eine gekräuselte Oberfläche der Kolonie.

Um die Ausbildung der Wuchsformen dieser zwei Typen besser beobachten zu können, wurden auf Würzeagar in PETRI-Schalen Riesenkolonien angelegt: Mit einer Platinöse wurde eine Spur der zu beobachtenden Stämme auf den Würzeagar gebracht und bei Zimmertemperatur zu einer kräftigen Kolonie heranwachsen gelassen.

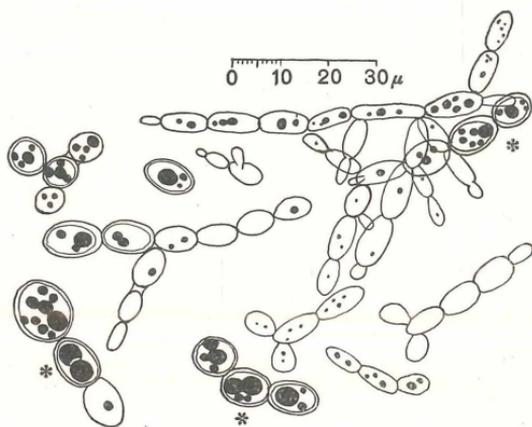
Wir wollen die Stämme mit glatter Oberfläche als Rasse α , jene aber mit gekräuselter als Rasse β unterscheiden. Die beiden beiliegenden Photographien zeigen deutlich den Unterschied in der Oberflächengestaltung beider Riesenkolonien (Tafel u. Textfig. 14 a, b). Die Farbe der Kolonien ist gelblichweiß; die der Rasse α zeigt makroskopisch einen wenig gewellten Rand und eine glatte Oberfläche, deren Mitte etwas nabelartig erhöht ist. Von dieser nabelartigen Mitte gehen dann bei älteren Kulturen sternförmige Ausstrahlungen (Textfig. 14 b₂) aus, die auch den Rand der Kolonie erreichen (Textfig. 14 b₃) und dieselbe in Sektoren einteilen.

Bei den Kolonien der Rasse β dagegen ist die Oberfläche von Tälern und Hügeln durchsetzt, die von der hier etwas eingesenkten Mitte bis zum Rande in Windungen verlaufen; derselbe erscheint daher durch die einmündenden Täler und Hügel stark gebuchtet.

Während die Kolonie der Rasse α eine feuchtglänzende Oberfläche besitzt, weist die der Rasse β eine trockene auf.



Textfig. 14.



Textfig. 15.

Textfig. 14. Riesenkolonien der Rassen α und β . a und b auf Würzeagar, c auf Rohrzuckeragar (Rasse α).

Textfig. 15. Sprößbaumchen der Rasse β aus einer Riesenkolonie auf Würzeagar.

Auch mikroskopisch zeigen beide Rassen ein wohl unterscheidbares Verhalten. Denn die Rasse β erweist sich unter dem Mikroskope als in Sprößbaumchen wachsend (Textfig. 15), wodurch die gekräuselte Oberfläche ihrer Kolonie zustande kommt, während die Zellen der Rasse α höchstens zu zweien angeordnet sind (Textfig. 17).

Dauerzellen finden sich in älteren Kolonien in reichlicher Anzahl, besonders in der Mitte und an der Oberfläche der Kulturen. Während jedoch bei der Rasse β die Dauerzellen infolge ihrer Sprößbaumchen perlschnurartig aneinandergereiht sind (Textfig. 15 *), finden sie sich bei der Rasse α einzeln.

Auch die sektorartigen Ausstrahlungen von der Mitte der Riesenkolonien der Rasse α sind in alten Kulturen zu Dauerzellen umgewandelt.

Um auch die Ausbildung charakteristischer Riesenkolonien auf anderen Nährböden als auf Würzeagar studieren zu können, wurden Riesenkolonien auf Saccharoseagar angelegt. Als Nährsalze wurden bei folgenden Versuchen immer an Magnesiumsulfat 0,2 Proz., an Monokaliumphosphat 0,3 Proz. genommen. Die Saccharose- und Peptonkonzentration wurde entsprechend den folgenden Rezepten gewählt.

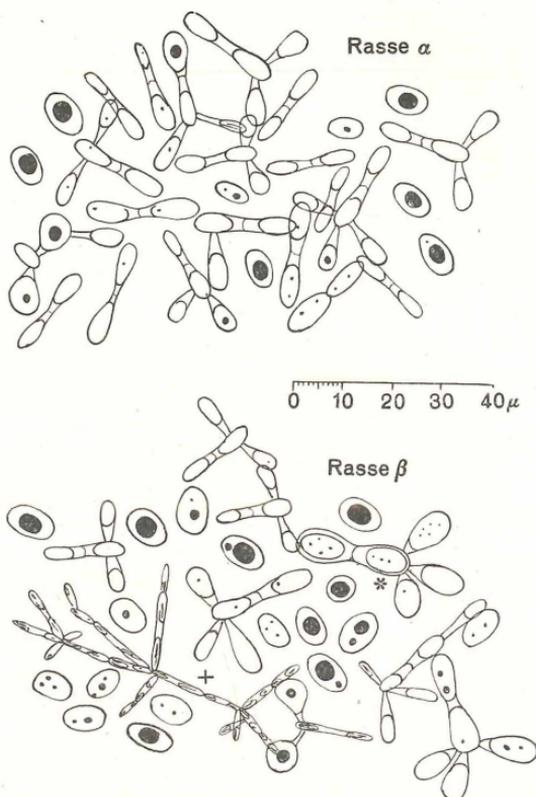
Versuch I. Es wurde ein Saccharoseagar verwendet, der neben den oben erwähnten Nährsalzen folgende Zusammensetzung hatte:

Pepton 0,5 Proz.
 Saccharose 5,0 „
 Agar 2,0 „

Der Agar wurde wiederum in PETRI-Schalen ausgegossen und punktförmig mit den betreffenden Stämmen geimpft.

Versuch II. In vorstehendem Rezept wurde die Peptonmenge mit nur 0,001 Proz. gewählt, sonst alle anderen Bestandteile auf gleicher Konzentration belassen.

Bei beiden Versuchen (I u. II) waren die Riesenkolonien durch ihre Farbe von den auf Würzeagar gewachsenen verschieden; dieselbe war weiß. Die Rasse β zeigte dieselbe Oberflächengestaltung wie auf Würze, während Rasse α auch darin verschieden war. Denn die Riesenkolonie dieser Rasse wies ein oder zwei konzentrische Ringe auf, besaß wie bei der auf Würzeagar eine etwas nabelartig erhöhte Mitte von der aber sehr feine Strahlen (Textfig. 14) ausgingen. Nach dem letzten konzentrischen Ringe nahm die Zahl der Strahlen stark zu. Diese sind jedoch so fein, daß sie meistens nur mit der Lupe gesehen werden können. Mikroskopisch



Textfig. 16. Kreuzförmige Modifikation beider Rassen auf 40 proz. Saccharoseagar ohne Stickstoffquelle; + tote Sproßbäumchen, * Beginn der Bildung von Dauerzellen.

zeigen beide Kolonien dieselben Zellformen, respektive Zellverbände, wie auf Würzeagar.

Versuch III. Beide Rassen wurden auf einen Agar geimpft, der neben den Nährsalzen mit 40 Proz. Saccharose und 0,5 Proz. Pepton versetzt war.

Die Kolonien zeigten makroskopisch dasselbe Bild wie unter Versuch I u. II beschrieben. Mikroskopisch wiesen die Zellen die schon beschriebene Peptonmodifikation auf und zwar waren Zellen mit vielfach kronenförmiger Sprossung vorhanden. Rasse β wuchs wieder, gemäß der Oberflächenausgestaltung in sproßbäumchen. Auch hier war das Fehlen des sonst so häufigen Fetttropfens charakteristisch; ausgenommen waren nur die Dauerzellen, in denen derselbe ausgebildet wird.

Versuch IV. Es kam derselbe Agar wie in Versuch III zur Anwendung, nur wurde eine Peptonkonzentration von 0,001 Proz. genommen.

Makroskopisch waren die Kolonien mit denen in den Versuchen I—III erhaltenen vollkommen übereinstimmend. Mikroskopisch jedoch zeigten sie, da die Bedingungen für die Ausbildung der kreuzförmigen Modifikation durch die Zusammensetzung des Agars erfüllt waren, dieselbe in reichlicher Anzahl, besonders an der Oberfläche der Kolonien. Man hätte erwarten können, daß die Ausbildung der kreuzförmigen Modifikation auf dem Agar den Rand und die Oberfläche der Kolonien in bezug auf ihre Gestalt beeinflussen sollte. Eine mikroskopische Beobachtung einer nur wenige Stunden alten Kolonie beider Rassen lehrt die Ursache des gleichen Verhaltens kennen; die Rasse α bildet nur einzelne Komplexe in kreuzförmigem sproßverbände aus, während Rasse β ihre kreuzförmige Modifikation aus den sproßbäumchen heraus ausbildet. Die seitlichen Zellen der kreuzförmigen Modifikation verflechten sich nun so ineinander, daß sowohl durch die Regelmäßigkeit der Verflechtung der glatte Rand der Riesenkolonie der Rasse α bedingt wird, als auch durch die vorhandenen sproßbäumchen der Rasse β ihre Oberflächengestaltung keine Beeinträchtigung erfährt.

Versuch V. Es wurden beide Rassen auf reinen, nur mit dem üblichen Zusatz der beiden Nährsalze versehenen 40 proz. Saccharoseagar in PETRI-Schalen geimpft.

Die Kolonien wiesen infolge des Fehlens einer Stickstoffquelle ein sehr geringes Wachstum auf; die Oberfläche und der Rand der Kolonien beider Rassen waren bei diesem Versuch völlig gleich.

Unter dem Mikroskop sieht man sofort die Ursache des gleichen

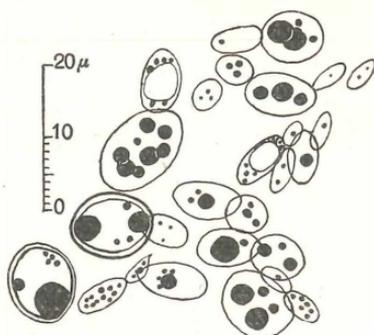
Verhaltens beider Rassen auf diesem stickstofffreien Agar. Denn auf diesem kommen die Sproßbäumchen der Rasse β nicht zur Ausbildung; wo sie aber doch vorhanden waren, waren sie abgestorben; es findet sich bei beiden Rassen nur die kreuzförmige Modifikation und Dauerzellen, neben solchen, die gerade in den Dauerzustand übergehen (Textfig. 16). Beobachtet man die Kolonien einige Tage später, so kann man sich überzeugen, daß alle Zellen zu Dauerzellen umgewandelt sind.

Textfig. 17. Zellen der Rasse α aus einer Riesenkolonie auf Würzeagar.

In den Textfig. 9—17 Fetttröpfchen schwarz, Vakuolen umrandet gezeichnet.

Vorstehende Versuche I—IV zeigten auch, daß Rasse α sowohl auf 0,5 Proz. als auch 0,001 Proz. Pepton ein gleiches Wachstum hatte, während Rasse β bei einer Konzentration von 0,001 Proz. Pepton in der Größe der Kolonien hinter denen der Rasse α zurückblieb.

Auf ein letztes noch festgestelltes Unterscheidungsmerkmal wird noch im nächsten Abschnitt hingewiesen (S. 238).



Textfig. 17.

VII. Ernährungsphysiologie und Stoffwechselprodukte.

Vorausgeschickt muß werden, daß ungehopfte Bierwürze für die Entwicklung des Pilzes eine außerordentlich vorteilhafte Nährstoffquelle bedeutet. Um seine Ansprüche an

Kohlenstoffquellen

kennenzulernen, wurde der *Anthomyces* auf einem Nährsalzagar gezüchtet, der folgendermaßen zusammengesetzt war:

MgSO ₄	0,2 g
KH ₂ PO ₄	0,3 g
H ₂ O	97,0 g
Pepton	0,5 g
Agar	2,0 g

Je 95 ccm dieses Agars wurden mit je 5 g der Zuckerarten: Saccharose, Laktose, Maltose, Glukose und Fruktose versetzt. Mit diesen kohlehydrathaltigen Nährböden wurden PETRI-Schalen ausgegossen und mit Hilfe einer Platinöse die zu prüfenden Stämme punktförmig aufgetragen. Die Beurteilung der Versuche erfolgte durch Vergleich der Größe der nach 14 Tagen gewachsenen Kolo-

nien. Zu gleicher Zeit war auch als Kontrolle eine PETRI-Schale mit obigem Agar, jedoch ohne Kohlehydratquelle, beschickt worden.

Es zeigte sich, daß Maltose, Glukose, Fruktose und Saccharose für das Wachstum günstiger waren als Laktose, obwohl auch auf diesem Nährboden ein deutliches Wachstum zu erkennen war, verglichen mit dem Kontrollnährboden ohne Kohlehydratquelle.

Auch Zitrone und Tartrate wurden dem Pilz als Kohlenstoffquellen geboten und zwar in Form der Kaliumsalze. Es wurden 0,5 g der Salze auf 100 g Peptonagar gegeben. Auch freie Zitronen- und Weinsäure — 1 Proz. in 100 g oben genannter Nährsalzlösung — wurden versucht.

Das Resultat dieser Versuche war, daß der Pilz nur ein schwaches Wachstum auf beiden Säuren oder ihren Kaliumsalzen zeigte; das Wachstum auf Zitronensäure und ihrem Kaliumsalze war günstiger als auf Weinsäure und Kaliumtartrat.

Ebenso war das Wachstum des *Anthomyces* in obiger Nährlösung ohne Agar, versetzt mit 0,1 Proz. Alkohol als Kohlenstoffquelle, sehr schwach.

Stickstoffquellen.

Zu diesen Versuchen wurde ein 5 Proz. Saccharoseagar mit dem obigen Gehalte an Nährsalzen verwendet, der jedoch an Stelle der 0,5 Proz. Pepton die entsprechende Menge der Verbindungen: Asparagin, Harnstoff, Tyrosin, Glykokoll, Ammonsulfat und -chlorid und Kaliumnitrat enthielt. Mit dem betreffenden Agar wurden PETRI-Schalen beschickt und mittels eines Platindrahtes etwas der zu prüfenden Stämme eingetragen. Nebenher wurde noch eine zweite Untersuchungsmethode, nämlich die BEIJERINCK'sche auxanographische Methode, angewendet; die in dem Saccharosenährsalzagar suspendierten Stämme wurden in PETRI-Schalen ausgegossen und einige Körnchen der erwähnten Stickstoffverbindungen auf die Oberfläche des erstarrten Agars gestreut. Zum Vergleich waren bei beiden Versuchsreihen Kulturen auf Nährsalzagar ohne besondere Stickstoffquelle angelegt. Die Größe der nach 14 Tagen herangewachsenen Kolonien bildeten auch hier das Maß für die Beurteilung der Stickstoffquelle.

Die Versuche zeigten, daß hinsichtlich Wachstumsförderung an erster Stelle Pepton, Asparagin und Harnstoff zu setzen sind, an zweiter Tyrosin, Glykokoll, an dritter die Ammoniumsalze.

Auf Kaliumnitrat wuchs der Pilz nicht besser als auf den zum Vergleich benützten Agarplatten ohne Stickstoffquelle.

Eine günstige Entfaltung seines Wachstums ist ferner abhängig von dem Zutritt des Sauerstoffes. Denn in einer Agarschüttelkultur folgender Zusammensetzung:

MgSO ₄	0,2 g
KH ₂ PO ₄	0,3 „
H ₂ O	92,0 „
Pepton	0,5 „
Saccharose	5,0 „
Agar	2,0 „

die in einem Reagenzglas in hoher Schicht (10 cm) zum Erstarren gebracht worden war, zeigte sich nur von der Oberfläche des Agars bis zur Tiefe von 1—1½ cm Entwicklung von Kolonien; in tiefer gelegenen Partien des Agars kam keine Kolonie auf. Über den weiteren Sauerstoffbedarf des Pilzes siehe S. 238.

Die Reaktion des Nährbodens hatte keinen Einfluß auf das Wachstum der Kolonien, wenn auch der schwach sauren der Vorzug gegeben werden muß. Sowohl 1 Proz. Dikaliumphosphat als auch 1 Proz. Zitronensäure wurden sehr gut vertragen.

Was den Temperatureinfluß auf das Wachstum der Kolonien betrifft, so konnte festgestellt werden, daß dem *Anthomyces* eine Temperatur von 15—20 ° C am besten zusagt. Bei 30 ° C im Brutschrank zeigte sich kein erhöhtes Wachstum. Tiefe Temperaturen bedingen einen Stillstand des Wachstums. Auf Filterpapier eingetrocknete Zellen dem Froste ausgesetzt, sprossen wieder aus, wenn sie in Bierwürze gebracht werden.

Um einen Einblick in die vom Pilz erzeugten Stoffwechselprodukte zu erhalten, wurde er zunächst mit Bierwürze in ein Gärkölbchen gebracht. Aber selbst nach 3 Wochen zeigte sich keine Spur einer Gasentwicklung, obwohl sich der Pilz gut vermehrt hatte. Die vorgenommene Jodoformprobe nach LIEBEN fiel jedoch positiv aus, und beim Anwärmen des Gärkölbchens über der Bunsenflamme trat eine schwache Gasentwicklung auf, die mit konzentriertem Kaliumhydroxyd als Kohlendioxyd bestimmt werden konnte.

Die Stämme wurden dann noch in Nährlösungen mit dem üblichen Gehalt an Nährsalzen und 0,1 Proz. Pepton eingimpft; die Nährlösungen waren mit je 5 Proz. Saccharose, Laktose, Maltose, Glukose und Fruktose versetzt.

Auch hier konnte keine Spur einer sichtbaren CO₂-Entwicklung wahrgenommen werden; die Jodoformprobe fiel jedoch überall positiv aus.

Auch in natürlichen Fruchtsäften wurde der Pilz auf seine Gärfähigkeit hin geprüft. Zur Untersuchung gelangte der Most

von Heidelbeeren, Johannisbeeren, Äpfeln und Birnen. Bei allen diesen Proben tritt in der Flüssigkeit keine Trübung ein, sondern es zeigt sich nur ein weißer Rand, welcher sich an der Gefäßwand knapp über und unter dem Flüssigkeitsspiegel bildet und in der Gäertechnik ein „Hefering“ genannt wird, sowie ein unterer Bodensatz. Die Zellen vom Bodensatz und Hefering sind miteinander übereinstimmend und gleich der hefeförmigen Modifikation. Nur manchmal findet man in dem über den Flüssigkeitsspiegel ragenden Teil des Heferinges Zellverbände, die der Peptonmodifikation zuzuzählen sind. Auch bei diesen Versuchen fiel die Jodoformprobe positiv aus.

Zu erwähnen ist jedoch, daß die Jodoformreaktion bei Laktose sehr schwach ist. Um Irrtümer zu vermeiden, wurde sowohl bei dem Versuch mit Laktose als auch bei den Fruchtsäften, deren Geruch den des gebildeten Jodoforms nicht stark hervortreten läßt, die Proben mit alkoholfreiem Äther ausgeschüttelt und einige Tropfen auf dem Objektträger unter dem Deckglas zur Verdunstung gebracht. Es bilden sich dann in der Mitte desselben die charakteristischen sechsseitigen Tafeln des Jodoforms aus, während am Rande Kristallbäumchen, jedoch immer mit der sechsseitigen Tafelform, entstehen.

Um zu sehen, ob der Pilz vielleicht doch bei Luftabschluß eine energischere Gärtätigkeit entfalte, wurde er in einer 5 proz. Saccharoseagarschüttelkultur gezüchtet, außerdem noch in 5 proz. Glukoseagar und in Bierwürzeagar. Alle diese Versuche wurden in hoher Schicht im Reagenzglas durchgeführt.

Aber auch bei Luftabschluß wurde keine sichtbare Gärtätigkeit festgestellt.

Zugleich wurde bei diesem Versuch noch ein letztes neues Unterscheidungsmerkmal für beide Rassen aufgefunden; denn es ergab sich, daß die Rasse α in zwei scharf geschiedenen Bändern wuchs. Das erste Band bis ca. 3 mm unter die Agaroberfläche reichend, enthielt nur vereinzelt aufgekommene Kolonien (siehe Taf.), in dem anschließenden ca. 2 mm breiten Band dagegen war dicht Kolonie an Kolonie gelagert. Die Rasse β dagegen bildete in einer Tiefe von ca. 2—10 mm Kolonien aus, die weniger an Zahl, als an Größe hervorstechend waren; oberhalb und unterhalb dieser größeren Kolonien wurden noch zahlreiche kleinere ausgebildet.

Das Temperaturoptimum war für den *Anthomyces* bei diesen Gärversuchen das gleiche wie bei der Kultur auf der Oberfläche fester Nährböden. Bei 30° C im Brutschrank wurde auch keine sichtbare Gärtätigkeit erzielt.

Um nun die Stoffwechselprodukte des Pilzes näher charakterisieren zu können, wurden folgende Versuche durchgeführt.

Versuch I. In einem ERLÉNMEYER-Kolben von 500 ccm wurden 250 ccm ungehopfte Bierwürze gegeben mit einem festgerollten Watteverschluß versehen und sterilisiert. Hierauf wurde der Pilz eingepft. Es wurde dieser Versuch mit den Stämmen T (Rasse α) und Li I (Rasse β) vorgenommen. Von jedem einzelnen Stamm wurden zwei Kolben angesetzt. Die in die Kolben eingepftten Stämme wurden 3 Wochen bei Zimmertemperatur belassen. Dabei vermehrte sich der Pilz sehr gut und bildete einen ca. 2 mm hohen Bodensatz, die Flüssigkeit blieb klar.

Nach dieser Zeit wurden aus jedem Kolben 200 ccm abpipettiert, in einen Rundkolben von 500 ccm gebracht, mit Kaliumhydroxyd alkalisch gemacht und am absteigenden Kühler überdestilliert. Der Zusatz von KOH geschah, weil nach C. NEUBERG (7) ohne diesen etwa vorhandener Alkohol nicht zur Gänze übergetrieben werden kann. Das Destillat wurde aufs neue mit Kalilauge versetzt und ca. 50 ccm übergetrieben. Der im Kolben befindliche Rückstand wurde mittels der Jodoformprobe auf etwa noch nicht destillierten Alkohol geprüft. Die Probe fiel jedoch immer negativ aus.

Mit 50 ccm des zweiten Destillates wurde mittels des Pyknometers das spezifische Gewicht desselben bestimmt.

Pyknometer 27,755 g	Rasse α : Pykn. + Dest.	77,520 g	77,576 g
+ H ₂ O 77,625 „		27,755 „	27,755 „
H ₂ O 49,870 g		49,765 g	49,821 g
	Rasse β : Pykn. + Dest.	77,480 g	77,480 g
		27,755 „	27,775 „
		49,725 g	49,725 g

Das Destillat der Rasse α besitzt also ein höheres spezifisches Gewicht als das der Rasse β . Das spezifische Gewicht wurde aus dem Mittel der Versuche 49,759 mittels folgender Gleichung ermittelt:

$$49,76 : 49,87 = x : 1 \quad x = 0,999.$$

Dem spezifischen Gewicht 0,999 entspricht ein Alkoholgehalt von 0,5 g bei 15° C (12), bei welcher Temperatur die Wägungen ausgeführt wurden. Da sich nun 0,5 g Alkohol in 200 g Würze befunden hatten, so entspricht der Bildung desselben in 100 g Würze 0,25 Gewichtsprozent.

Versuch II. Säurebildung konnte nicht beobachtet werden. Von den bei Versuch I noch gebliebenen 50 ccm Würze wurden 40 ccm filtriert und 20 ccm davon zur Titration verwendet. Es wurde so verfahren, daß diese 20 ccm Würze mit 80 ccm Wasser

(dest.) auf einem Wasserbade auf 30° erwärmt wurden, um die geringen Mengen Kohlensäure zu vertreiben. Vor dem Versuch wurden ebenfalls 20 ccm der unvergorenen Würze desselben Sudes unter gleichen Bedingungen geprüft. Nachstehend das Mittel aus vier durchgeführten Titrationsen:

vor dem Versuch 9,6 ccm

nach „ „ 9,9 ccm verbrauchte ccm $\frac{n}{50}$ KOH.

Man erkennt, daß die Werte fast gar nicht differieren.

Die Untersuchung des Destillates erstreckte sich darauf, ob tatsächlich Äthylalkohol vorliege, ob Aldehyde vorhanden seien und ob Ester vielleicht in solcher Menge vorlägen, daß sie durch Verseifung nachweisbar wären. Denn das Destillat besaß einen Geruch, der an Weinbranntwein erinnerte.

Prüfung auf Aldehyde. Bei der Silbernitratprobe trat kein Silberspiegel auf; es war nur eine sehr schwache gelbe Färbung sichtbar.

Prüfung auf Äthylalkohol. Nachdem nun Aldehyde nicht vorhanden waren, konnte daran geschritten werden, den vermuteten Äthylalkohol als solchen durch Oxydation mittels KMnO_4 zu Essigsäure zu charakterisieren.

50 ccm Destillat wurden mit KMnO_4 bis zur schwachen Rotfärbung versetzt und am Rückflußkühler erhitzt, bis die rote Färbung verschwunden war. Hierauf wurde von dem ausgeschiedenen MnO_2 abfiltriert, das Filtrat durch $\frac{n}{100}$ HCl neutralisiert und in der nun neutralen Flüssigkeit (6) mit FeCl_3 die Essigsäure nachgewiesen; es trat die für Essigsäure charakteristische blutrote Färbung auf.

Verseifungsprobe auf Ester. 50 ccm Destillat wurden am Rückflußkühler mit $\frac{n}{100}$ KOH durch 2 Stunden zum Sieden erhitzt und die verbrauchte Anzahl ccm durch Zurücktitrieren mit $\frac{n}{100}$ HCl zu bestimmen versucht. Es ergab sich keine nennenswerte Differenz; für 100 ccm Destillat wurde von $\frac{n}{100}$ HCl 0,6 ccm mehr verbraucht.

In der Literatur über die Erzeugung alkoholfreier oder wenigstens alkoholarmer Getränke wird angegeben (1, 2), daß zu den zu verwendenden Fruchtsäften Blüten in frischem oder getrocknetem Zustande gegeben würden, wodurch die Fruchtsäfte durch die in den

Blüten befindlichen Hefen, die sog. Nektarhefen, vergoren würden. Die Vergärung des Gärgutes mit diesen Hefen bleibe jedoch nicht auf der Stufe $\text{CO}_2 + \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ stehen, sondern der gebildete Alkohol oder seine Vorstufe, der Acetaldehyd, würden durch die Nektarhefen weiter zu $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ oxydiert, oder die Zwischenstufe CH_3CHO , Acetaldehyd, weiter zu Säuren und Estern umgewandelt.

Es lag nun nahe, unserem Pilz, der ja so häufig in den Blüten vorkommt, obige Eigenschaften zuzuschreiben. Nach meinen vorstehenden Untersuchungen muß dies aber verneint werden, denn erstens ist weder CO_2 besonders hervortretend, noch werden Säure und Ester in beachtenswerter Menge produziert.

Außerdem wurde ein als alkoholfarm gepriesenes Getränk mit Namen Mimosa, das in Bozen in Südtirol erzeugt wird, auf die Anwesenheit des *Anthomyces* von mir untersucht. Es war mir leider nur möglich, auf Filterpapier aufgetrockneten Satz zu bekommen. Wurde das hefehaltige Filterpapier in sterile Würze überführt, so konnte schon nach wenig Stunden eine lebhafte CO_2 -Entwicklung wahrgenommen werden. Es wurden aus der gärenden Flüssigkeit zwei Hefestämme isoliert, die nichts mit dem *Anthomyces* gemein hatten und beide starke Kohlendioxydentwicklung aufwiesen. Weder in der gärenden Flüssigkeit noch im Bodensatz konnte unser Pilz gefunden werden.

Die Stoffwechselprodukte des *Anthomyces* sind also wenig hervortretend gegenüber denen der echten Hefepilze, und im Nektar der Blüten infolge der hohen Konzentration desselben wohl in noch geringerem Maße vorhanden; denn wenn auch die echten Hefepilze nach KOHL (4) unter Umständen hochkonzentrierte Säfte vergären können, so ist dies in der Regel nicht der Fall.

VIII. Vorkommen.

Der Pilz kommt in der Natur wohl ausschließlich in der kreuzförmigen Modifikation vor, soweit er nicht durch ungünstige Lebensbedingungen gezwungen ist, Dauerzellen auszubilden. Letzteres ist der Fall im Magendarmkanal der Bienen und Hummeln, sowie im Boden, wohin er aus den herabfallenden Blüten gelangt.

Von den Hummeln, in denen er überwintert, wird der Pilz bereits im ersten Frühjahr in die Nektarien der Blumen übertragen, und tatsächlich konnte er von mir in dem sehr früh blühenden *Galeobdolon luteum* aufgefunden werden. Später wird seine Verbreitung auch von den Bienen übernommen. Es stimmt mit seiner

Übertragung durch die genannten Insekten gut überein, daß er fast ausschließlich in den Blüten gefunden wird, die hauptsächlich von Bienen und Hummeln besucht werden.

Solche sind aus der Familie der Labiaten: *Lamium*, *Stachys*, *Galeobisis*, *Galeobdolon*, aus der Familie den Scrophulariaceen: *Linaria* und *Antirrhinum*; ferner von den Papilionaceen: *Pisum*, weiter *Tilia* und *Tropaeolum* und die Composite *Cirsium arvense*.

Bei der Geschäftigkeit und Zielbewußtheit, mit der diese Insekten Pflanze für Pflanze und Blüte für Blüte abzusuchen pflegen, ist es auch verständlich, daß der Pilz im Sommer in fast jeder aufgeblühten Blume der genannten Pflanzen massenhaft anzutreffen ist.

Bei der Häufigkeit ihrer Blütenbesuche ist wohl auf eine fast ausschließliche Verbreitung des *Anthomyces* durch Bienen und Hummeln zu rechnen, der gegenüber eine Übertragung durch andere Insekten, z. B. Schmetterlinge und Ameisen, sehr zurücktritt, ebenso wie jene Infektion des Nektars, die durch Staub erfolgen könnte.

Es gelang mir nämlich, den *Anthomyces* im Erdboden aufzufinden, und zwar in der Erde eines Tropaeolumbeetes, in dessen Blüten ich ihn auch vorher gefunden hatte.

Die Erdproben wurden Mitte Oktober entnommen, und zwar von der Oberfläche des Beetes, und erst Mitte November untersucht. Da nun die vielen in der Erde vorkommenden Bakterien und Schimmelpilze so sehr die Untersuchung störten, daß an das Auffinden des *Anthomyces* nicht zu denken war, benützte ich seine Eigenschaft, gegen hohe Säurekonzentration unempfindlich zu sein, zu seiner Abscheidung aus dem Gemisch der Bodenflora.

Dabei wurde wie folgt vorgegangen: Die Erdproben wurden sorgfältig durchmischt, und zirka 2—3 ccm davon in ein Proberröhrchen gegeben und mit 20 ccm 1proz. Zitronensäurelösung übergossen. Unter häufigem Umschütteln wurde die Erde 2 Tage lang ausgezogen, vom groben Bodensatz abgegossen und nochmals mit einer frischen 1proz. Zitronensäurelösung übergossen, welche aber 5 Proz. Saccharose als Kohlehydratquelle enthielt. Nach weiteren 4 Tagen wurde diese Flüssigkeit mit Würzegelatine vermischt und in PETRI-Schalen ausgegossen. Die Schalen waren fast frei von Bakterien und Schimmelpilzen; die aufgehenden Kolonien des *Anthomyces* waren daher leicht aufzufinden.

Es wäre zu erwarten gewesen, daß der *Anthomyces* auch im Bienenhonig zu finden sei, nachdem sowohl GRÜSS als auch SCHOELLHORN die Übertragung desselben durch Bienen von Blüte zu Blüte festgestellt und ersterer die Ansicht ausgesprochen hatte, er gelange

mit dem Honig in die gedeckelten Waben. Nun konnte er aber von mir nie im Bienenhonig aufgefunden werden, obwohl sehr zahlreiche Versuche in diesem Sinne angestellt wurden.

Diese wurden teils in der eben beschriebenen Weise, die zur Isolierung des Pilzes aus dem Boden führte, ausgeführt, teils auch so, daß der Honig mit Gelatine vermischt und in PETRI-Schalen ausgezogen wurde. Die Gelatine hatte einen Zusatz von 0,5 Proz. Pepton erhalten.

In bezug auf das Vorkommen der beiden Rassen sei bemerkt, daß Rasse α weitaus am häufigsten anzutreffen ist. Rasse β wurde von mir aus *Linaria vulg.* und *Stachys silv.* isoliert.

IX. Ergebnisse.

1. Die charakteristische Gestalt des Pilzes im Nektar der Blüten ist bedingt durch eine geringe Stickstoffkonzentration, deren obere Grenze bei 0,001 Proz. liegt und einer Zuckerkonzentration von mindestens 20 Proz. für Saccharose. Außerdem ist reichlicher Luftzutritt erforderlich.

2. Es gelingt in Lösungen, die 0,5 Proz. Saccharose enthalten und durch Zusatz eines anorganischen Salzes isotonisch mit 40 Proz. Rohrzuckerlösung gemacht wurden, den *Anthomyces* zur Ausbildung des kreuzförmigen Sproßverbandes zu bringen, so daß also die osmotische Konzentration der bedingende Faktor ist.

3. Die kreuzförmige Modifikation ist ausgezeichnet durch schlanke, keulenförmige Zellen, die eine polare Verdickung der Zellwand besitzen und in deren dickerem Ende sich dort, wo die Zellwand am dünnsten ist, das Lumen der Zelle mit dem Protoplast befindet. Dort findet auch die Aussprossung statt.

4. Die Verdickung der Zellwand ist durch Corallin-Soda sowie durch Kongorot zu färben; im Protoplast befinden sich Öltröpfchen aus neutralem Fett; ebenso ist Volutin vorhanden. Die Zellen sind außerdem noch von einer Schleimhülle umgeben. Die hefeförmige Modifikation besitzt Glykogen.

5. Die Peptonmodifikation ist ein Übergangsglied von der kreuzförmigen zur hefeförmigen Modifikation, bedingt durch reichliche Zufuhr von Stickstoffnahrung.

6. Es wurden zwei Rassen des Pilzes aufgefunden, welche sich durch ihre Wuchsform auf festen Nährböden unterscheiden, ferner bei der Kultur in hoher Schicht in einem Nährsalzagar mit Saccharose- oder Glukosezusatz durch ihr Sauerstoffbedürfnis.

7. Die Stoffwechselprodukte sind wenig hervortretend, es werden in 100 g Würze 0,25 g Äthylalkohol gebildet. Aldehyde, Säuren und Ester sind in quantitativ nicht bestimmbarer kleiner Menge vorhanden. Ernährungsphysiologisch schließt sich der Pilz den echten Hefepilzen an. Doch tritt keine deutliche Gärung auf.

Prag II. vinična 3a.

Pflanzenphysiologisches Institut der deutschen Universität.

X. Literaturverzeichnis.

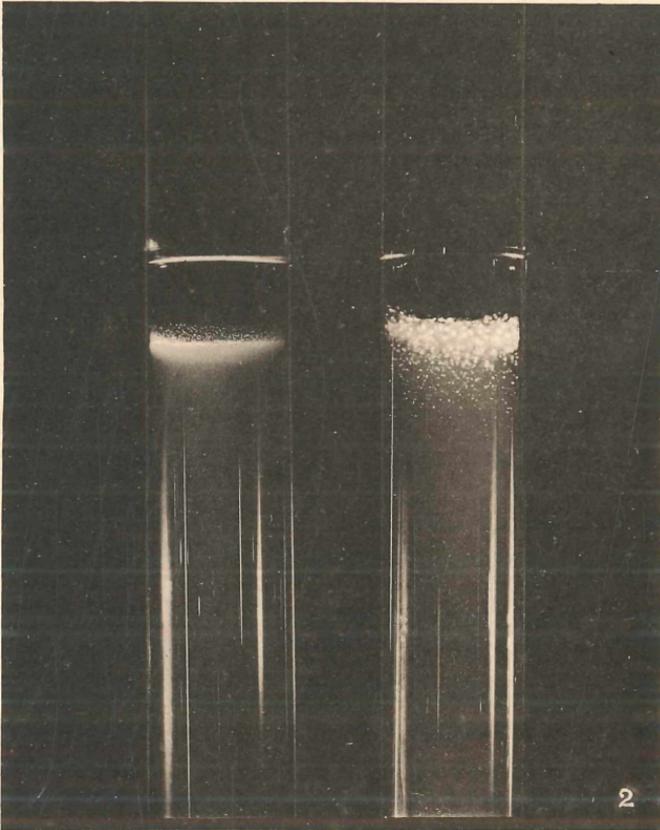
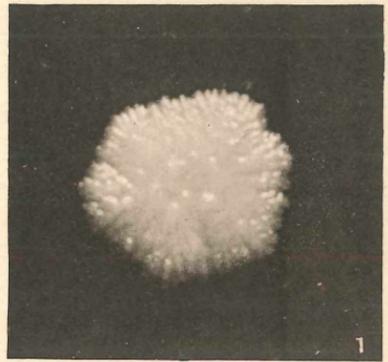
- 1) GRAFE, V.: Die Gärungsprobleme. Die Naturwissenschaften I, 1913 p. 1298.
 - 2) —: Chemie der Pflanzenzelle. Berlin 1921 p. 265—267.
 - 3) GRÜSS, J.: Über die Anpassung eines Pilzes (*Anthomyces Reukaufii*) an den Blütenbau und Bienenrüssel. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 35 1917 p. 746.
 - 4) KOHL: Die Hefepilze. Leipzig 1908 p. 24.
 - 5) LINDNER, P.: Zur Verflüchtigung des Biosbegriffes. Bakt. Zentralbl. Bd. 51 1920 p. 143. Referat.
 - 6) MEYER, H.: Quantitative Bestimmung organischer Atomgruppen. Berlin 1904 p. 13.
 - 7) NEUBERG, C.: Die Zersetzung des Zuckers während der alkoholischen Gärung. Biochem. Zeitschr. Bd. 58 1913 p. 451.
 - 8) REUKAUF, E.: Die Nektarhefen. Die Kleinwelt III/2 1912/13 p. 25.
 - 9) SCHOELLHORN, C.: Sur la fermentation de quelques levures des nectars des plants d'hiver. Bull. soc. bot. de Genève Ser. II T. 11 1919 p. 154. Ref. Bakt. Zentralbl. Bd. 52 1921 p. 154.
 - 10) SCHUSTER u. V. UHLELA: Studien über Nektarorganismen. Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 31 1913 p. 129.
 - 11) EMICH, F. siehe ABDERHALDEN, Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden Bd. 9 p. 131. Berlin 1919.
 - 12) Chemikerkalender, Tabellen zur Bestimmung der Alkoholgrade. Berlin 1921.
-

Tafelerklärung.

Tafel 9.

Fig. 1. Photographien gleich alter Kulturen auf Würzeagar. Vergr. $2\frac{1}{2}\times$. Links Rasse α , rechts Rasse β .

Fig. 2. Beide Rassen, in 5 Proz. Glukoseagar gewachsen. Links Rasse α , rechts Rasse β . Natürliche Größe.



Hautmann.

Lichtdruck von J. B. Obernetter, München.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1924

Band/Volume: [48 1924](#)

Autor(en)/Author(s): Hautmann Friedrich

Artikel/Article: [Über die Nektarhefe *Anthomyces Reukaufii*. 213-244](#)