© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Über Rosahefe.

Von **E. Pringsheim** jun. und **H. Bilewsky**.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut zu Breslau.)

(Mit Tafel I.)

Einleitung.

Zu den Organismen, welche sich aus der Laboratorienluft häufig auf bakteriologischen Nährböden ansiedeln, gehört die sogenannte Rosahefe, welche zuerst von Fresenius[1]) als *Cryptococcus glutinis* beschrieben, später von Schroeter[2]) als Hefe angesprochen und bald darauf von Cohn[3]) zur Gattung *Saccharomyces* gestellt wurde (1872). In der Tat gleicht die Rosahefe habituell und in ihrem Vorkommen einigen echten Saccharomycesarten bis auf die ihr fehlende Sporenbildung; den Speziesnamen hat sie davon erhalten, daß sie oft auf Stärkekleister auftritt. Später sind rote oder Rosahefen häufig erwähnt und einigemale als Verunreinigung von Milch, Butter, Sauerkraut und anderen Stoffen beschrieben worden. Die wichtigste Literatur findet man bei Lafar, Handbuch der technischen Mykologie (Bd. IV. S. 296 und an anderen Stellen dieses Werkes) zusammengetragen.

Im Winter 1907/08 wurde die Rosahefe von neuem im Breslauer pflanzenphysiologischen Institut mit den inzwischen vervollkommneten Methoden in Kultur genommen, um ihre Lebensbedingungen genauer zu erforschen. Die biologischen Verhältnisse erschienen anziehend genug, um ein solches Eingehen zu rechtfertigen. Offenbar haben wir einen Organismus von großer Anspruchslosigkeit, Anpassungsfähigkeit und Lebenszähigkeit vor uns. So vermag er das Austrocknen sehr gut zu vertragen, denn obgleich er keine Sporen bildet, erscheint er doch auf geeigneten Substraten, die der Luftinfektion ausgesetzt werden, fast regelmäßig. Geeignet in diesem Sinne sind aber fast

---

[1]) Beiträge zur Mykologie, II.

[2]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen, herausgeg. von F. Cohn, I, 2, S. 110.

[3]) Ebenda S. 187.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

alle Substrate, auf denen die Bakterien nicht zu viel Konkurrenz machen, so z. B. Kleister, auf dem sonst außer Penicillium- und Micrococcus-Arten kaum etwas wächst. Ja, Hansen gibt sogar an, daß eine von Elfving kultivierte rote Hefe in Salzlösungen ohne organische Nährstoffe leben könne (cf. Lafar l. c. S. 299), was sich wohl so erklärt, daß sie mit äußerst geringen Mengen von Verunreinigungen auszukommen versteht. Auf solchen Substraten ist das Wachstum natürlich langsam, es fragte sich aber, ob das, wie häufig angegeben wird[1]), für unsern Organismus charakteristisch ist, oder ob er nicht unter besseren Bedingungen auch üppiger gedeihen kann. Neben diesen und anderen Fragen der Ökologie und Stoffwechselphysiologie interessierte dann auch die systematische Stellung dieses, zur Einordnung so wenige Anhaltspunkte gebenden Pilzes. Es sollte zu diesem Zweck versucht werden, eine größere morphologische Mannigfaltigkeit zu erzielen, als sie zunächst bekannt ist, und auch das Studium der Zellinhaltskörper erschien hierzu wünschenswert. Dieser zweite Teil unserer Arbeit hat allerdings bisher wenig Erfolge gezeitigt, immerhin soll aber dargelegt werden, was gefunden werden konnte.

I. Physiologie und Ökologie.

Rote Hefen sind in der Natur auf Obst und Gartenfrüchten wiederholt gefunden und beschrieben worden. Sie können darauf aber nur saprophytisch gedeihen, auf lebenden Pflanzenteilen können sie sich nicht vermehren. Werden z. B. Apfelsinen, Birnen, Zitronen, Weinbeeren, Bananen, rote Rüben etc. möglichst von anhaftenden Bakterien und Pilzsporen befreit, angeschnitten und in sterilen Kristallisierschalen mit Rosahefe beimpft, so vermehrt diese sich überall nur auf den toten Zellen der Schale und in dem beim Durchschneiden austretenden Safte, dagegen auf den Zellen des Frucht- und Rübenfleisches erst nach deren Absterben.

Gekochte Früchte und Rüben sind ein ausgezeichnetes Substrat, ebenso die Dekokte derselben frischen Pflanzenteile und solche von Feigen, Korinthen, trockenen Pflaumen, auch Malzextrakt u. s. f. Diese kommen offenbar den natürlichen Nährböden am nächsten, die die rote Hefe im Freien bewohnt. Die Entwickelung ist auf ihnen immer dann sehr üppig, wenn für den Sauerstoffzutritt gesorgt wird, und besser auf neutralen und ganz schwach saueren Substraten als auf stärker saueren. Ganz besonders geeignet erwiesen sich Mohrrüben, dann auch Kartoffeln und rote Rüben, weniger Brot, alles aber nur in gekochtem Zustande.

---

[1]) z. B. E. Küster, Kultur der Mikroorganismen, S. 134—135.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Will man Flüssigkeiten von bekannter Zusammensetzung benutzen, die diesen „natürlichen Nährlösungen“ nahekommen oder sie erreichen, so muß vor allem Pepton benutzt werden, das sich von den geprüften Stickstoffquellen als die bei weitem geeignetste erwies. Asparagin ist schon schlechter, und anorganische N-Quellen, wie Nitrate und Ammonsalze erlauben nur ein kümmerliches Wachstum. Bei Verwendung organischer Stickstoffquellen in genügender Menge ist die Zugabe von Zucker von geringer Bedeutung. Bei einer einprozentigen Peptonlösung mit den nötigen Salzen und 1‰ Zitronensäure macht sich z. B. das Vorhandensein oder Fehlen von Zucker kaum bemerkbar. Auch Asparagin ist ohne Zucker fast so gut wie mit Zucker.

Eine Lösung mit Zucker und Ammoniumnitrat, die an sich nur sehr schlechtes Wachstum erlaubt, wird durch Spuren von Asparagin recht gut. Genaueres ist darüber noch nicht ermittelt worden, die Frage soll aber für die rote Hefe wie für andere Organismen in anderem Zusammenhange noch untersucht werden.

Stärkekleister ohne weiteren Zusatz, auf dem die rote Hefe so oft gefunden wurde und nach dem sie benannt worden ist, ist kein guter Nährboden, offenbar wegen des geringen N-Gehaltes. Nur seine Anspruchslosigkeit erlaubt es unserem Pilze, darauf zu vegetieren, für eine bessere Nahrung ist er aber doch sehr dankbar. Bekommt er diese, dann zeigt es sich, daß das für ihn mehrfach angegebene langsame Wachstum nicht in seiner Natur liegt; in wenigen Tagen bedeckt er die ihm zur Verfügung stehende Oberfläche des Substrates mit einer dicken, rosa- bis korallenroten schleimig-glänzenden Schicht. Die Form dieser Riesenkolonien bietet wenig bemerkenswertes. Es sind grob gelappte, wellig abgerundete Schleimmassen, die unter Umständen, so auf Kartoffeln, allmählich sich gekröse- oder gehirnartig wulsten (Tafel, Figur 1). Auf Gelatineplatten werden die nach außen liegenden Teile der Kolonien in späteren Stadien des Wachstums stärker lappig und selbst dendritisch verzweigt (Tafel, Figur 2). Sonst sind die Kolonien, besonders die jungen, einfach als tropfenförmig zu bezeichnen.

In flüssigen Substraten, die im Erlenmeyerkolben in flacher Schicht verwendet wurden, trat die rote Hefe sowohl als Bodenbelag wie an der Oberfläche auf. Der Bodensatz besteht vielleicht nur aus solchen Zellen, die von oben herabgefallen sind. Wurden die Kulturen mit denselben Nährlösungen in tiefen Reagenzgläsern angestellt, so war die Vermehrung spärlicher, offenbar weil nicht genug Sauerstoff in die Tiefe drang. Das große Sauerstoffbedürfnis unseres Organismus zeigte sich besonders deutlich in Schüttelkulturen, die in verschiedenen Verdünnungen in Gelatine angestellt wurden. Während eine zum Vergleich herangezogene Bierhefe durch die ganze Gelatineschicht und besonders auch am Boden Kolonien gebildet hatte, wuchs die

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

rote Hefe nur an der Oberfläche zu sichtbaren Kolonien aus. Dementsprechend bewirkt unser Pilz auch keine Gährung. Niemals wurde Gasentwickelung beobachtet, und die Jodoformprobe auf Alkohol lieferte meist negative und nur in einigen sehr alten, üppigen Kulturen zweifelhafte (d. h. nur durch den Geruch erkennbare) Resultate. Diese letzteren dürften aber auf Aldehydbildung beruht haben, da die Jodoformprobe ja leider nicht eindeutig ist. Gegen die Möglichkeit des Gärvermögens spricht auch der Umstand, daß bei sonst geeigneter Nahrung (z. B. Pepton) Zuckerzusatz keinen merklichen Unterschied bedingte.

Was die Säuerung der Nährlösungen anbelangt, so konnte für $\frac{1}{100}$ n Lösung verschiedener Mineralsäuren ein Optimum der H-Ionenkonzentration gefunden werden. Wurde Schwefel- und Phosphorsäure benutzt, so war die Entwickelung etwa bis zur Maximalkonzentration von $\frac{5}{100}$ n nahezu gleichmäßig. Bei mehr Säure sank sie sehr schnell, sodaß in $\frac{6}{100}$ n schon sehr spärliche Vermehrung stattfand und in $\frac{7}{100}$ n kaum mehr etwas wuchs. Ohne Säure war aber das Wachstum ebenfalls vermindert. Die Grenzkonzentrationen sind für verschiedene Ernährung verschieden, für die verschiedenen anorganischen Säuren aber annähernd gleich.

Der Bedarf an Salzen ist so gering, daß bei Gebrauch der gewöhnlichen Nährstoffe, als Zucker, Pepton etc., ein Unterschied zwischen den Kulturen, die $MgSO_4$ u. KH_2PO_4 (0,1 %) erhalten hatten, und solchen ohne diese Salze kaum zu bemerken war. In reiner Rohrzuckerlösung (aus käuflichem Würfelzucker bereitet) wächst die Rosahefe schwach, aber doch genügend, um sich durch ihre Färbung bemerkbar zu machen; in den Lösungen der mineralischen Nährsalze konnte auch noch Wachstum konstatiert werden. Offenbar bieten gewisse Verunreinigungen dieser Nährstoffe oder der Luft der roten Hefe genug Material zu einer schwachen Entwickelung. Ein deutlicher Einfluß der Beleuchtung konnte hierbei, entgegen den Angaben von Hansen, nicht gefunden werden[1]). Dieser Forscher war der Meinung, daß die rote Hefe am Lichte Kohlensäure assimilieren kann. Er ließ sich wohl durch die Genügsamkeit dieses Organismus täuschen. Eigene Versuche, die Verunreinigungen völlig auszuschließen, haben wir nicht gemacht, weil uns nach den angeführten Beobachtungen die Mühe in keinem Verhältnis zum Resultate zu stehen schien. Jedenfalls wird es nun auch verständlich, wie es der roten Hefe möglich ist, auf einem so schlechten Nährboden wie Stärkekleister zu vegetieren.

Zu dieser Genügsamkeit und Anpassungsfähigkeit kommt nun noch eine andere Eigenschaft, welche der Rosahefe ermöglicht, den Kampf ums Dasein erfolgreich zu bestehen. Das ist die Austrocknungs-

---

[1]) Vgl. Will in Lafar, IV, p. 299.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

fähigkeit im vegetativen Zustande. Ohne Sporen zu bilden vermag unser Organismus monatelang in der trockenen Zimmerluft auszuhalten und sich überall anzusiedeln, wo nur ein geeignetes Substrat der Luftinfektion ausgesetzt ist. Nachdem jetzt in den Räumen des Breslauer Instituts durch die mannigfachen Kulturversuche viele Zellen in die Luft gelangt sind, treten rote Hefen immer und immer wieder spontan auf. Es wurden nun eigene Austrocknungsversuche gemacht. Anfangs wurden größere Mengen auf Gipsblöcken oder anderen Substraten ausgetrocknet. Als damit keine Abtötung erzielt wurde, griffen wir zu Glasstäbchen und Filterpapierstückchen, die in eine verdünnte Aufschwemmung roter Hefe eingetaucht wurden, um die Zellen möglichst einzeln zu trocknen. Die zum Versuch dienenden Glasstäbchen wurden zunächst in je einem 200 ccm-Erlenmeyerkolben mit Glashütchen trocken sterilisiert, dann im sterilen Dampfkasten in die Aufschwemmung eingetaucht und zum Trocknen wieder in den Kolben gestellt. Dahinein kam dann nach einer gewissen Zeit eine geeignete Nährlösung. Die Filterpapierstückchen wurden in kleine Kristallisierschalen gelegt, die mit Fließpapier zugebunden und ebenfalls trocken sterilisiert wurden. Nach dem Eintauchen kamen sie in den Exsikkator. Das Wasser konnte durch das Fließpapier verdunsten, ohne daß in der Mehrzahl der Versuche Infektion vorkam. Auch hier wurde nachträglich durch Zugießen einer Nährlösung die Lebensfähigkeit der Pilzzellen geprüft. Nach Ablauf von 6 Wochen angefeuchtet, zeigten alle Proben nach 4 Tagen Aussprossung, womit natürlich nicht gesagt werden soll, daß jede einzelne Zelle das Austrocknen überstanden hatte.

Was das Verhalten bei verschiedenen Temperaturen anbelangt, so ist unser Organismus auf verhältnismäßig niedrige Wärmegrade eingestellt und unterscheidet sich dadurch von den meisten Hefen und Schimmelpilzen. Es zeigt sich hier aber ein Einfluß des Substrates, welcher im einzelnen im folgenden Abschnitt besprochen werden soll. Hier sei nur erwähnt, daß auf festem Nährboden — offenbar wegen der bei der stärkeren Transpiration erschwerten Wasserzufuhr — keine so hohen Temperaturen ertragen werden wie in flüssigen, auch wenn für Luftfeuchtigkeit durch Einstellen in feuchte Kammern gesorgt wird. Ein gleiches ist ja auch schon für andere Organismen bekannt.

II. Verhalten der Rosahefe auf verschiedenen Nährböden.

1. Gekochte Kartoffelscheiben.

Die Kartoffel ist für die rote Hefe ein günstiger Nährboden; ihre Vermehrung geht hier, wenn auch durch die Einwirkung der

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

verschiedenen Temperaturen nicht unwesentlich beeinflußt, mit Regelmäßigkeit vor sich. Die Farbe der Kulturen ist ein lebhaftes Korallenrot.

Die anfangs vereinzelten Kolonien vereinigen sich in wenigen Tagen, zeigen lebhaftes und stetiges Wachstum und stellen nach ungefähr zwei Wochen die Vermehrung nach und nach ein. Ältere Kulturen ähneln daher einander in ihrem Aussehen, auch wenn anfangs bedeutende Unterschiede in der Schnelligkeit ihrer Entwickelung zu beobachten waren. Auf der Oberseite der Kartoffelscheiben bildet die Hefe, besonders bei niederer Temperatur (6^0—15^0), gekröseartige Windungen (siehe Abbildung 1), an den senkrechten Flanken der Stücke erscheinen nur glatte Decken.

Bald ist das ganze Kartoffelstück von roter Hefe durchsetzt, am Boden des Gefäßes lagert sich eine glänzende, schleimartige Masse ab, und auch die Wände des Glases zeigen einen Überzug von mattem Aussehen.

Die Zellen sind rund oder oval und liegen einzeln oder zu zweien, seltener dreien, vereinigt. Nur bei höherer Temperatur lösen sich die Sproßglieder nicht voneinander, so daß lange Ketten entstehen, auch bilden sich Involutionsformen von bizarrer Unregelmäßigkeit infolge nicht durchgeführter Abschnürung (Tafel, Figur 3).

Der Inhalt der Zellen erscheint anfangs trüb, homogen; am zweiten Tage zeigen sich bereits ein bis zwei sehr stark lichtbrechende Tropfen, die sogenannten Ölkörperchen. Bei Einwirkung von 50-prozentiger Alkannalösung nehmen sie eine rosenrote Färbung an. Die Lage der Tröpfchen ist für den Fall, daß sich nur eines in der Zelle befindet, zentral. Das gilt für alle rundlichen Zellen (Tafel, Figur 4 in der Mitte). In den ovalen dagegen, die die Mehrheit bilden können, sind oft zwei an den entgegengesetzten Polen gelagerte Tröpfchen vorhanden. Bald nach ihrem Erscheinen enstehen in dem homogenen Plasma der Zelle größere und kleinere Granulationen, die oft in solcher Menge auftreten, daß sie der Zelle ein vorwiegend körniges Aussehen verleihen. Wenn die Kultur mehrere Tage alt ist, treten auch Vakuolen in veränderlicher Zahl auf (Figur 4). Oft verschmelzen sie mit einander und füllen die Zelle fast vollständig aus. Dann sind auch die Körnchen weniger sichtbar, und das Plasma bildet nur einen dünnen Wandbelag.

An lebenden Zellen sind die Kerne nicht zu erkennen; Cohns gegenteilige Angaben beruhen offenbar auf Verwechslung mit den Ölkörperchen. Auch an fixiertem und gefärbtem Material bleiben die Zellkerne schwer nachweisbar. Unsere Befunde konnten bisher noch nicht so gesichert werden, daß ihre Mitteilung ratsam wäre.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Im Gegensatz zu Laurent, Broult und Loeper[1]) konnten wir Glycogen in den Zellen mittels der Jodjodkalium-Reaktion nicht nachweisen. — Über den Sitz und die Natur des der Rosahefe eigentümlichen Farbstoffes wurde nichts Neues ermittelt.

Um die Kardinalpunkte der Temperaturkurve für die Rosahefe festzustellen, wurden Kartoffelscheibenkulturen bei sechs verschiedenen Temperaturen aufgestellt. Sie zeigten dabei folgendes Verhalten:

1. Bei 0°, unmittelbar auf Eis im Eisschrank, ging die Vermehrung sehr langsam, aber doch deutlich vor sich, während eine zum Vergleiche herangezogene Preßhefe gar nicht wuchs. Die Zellen der Rosahefe hatten runde Form und blieben sehr klein und inhaltsarm.

2. Bei 2°, im Eisschrank, zeigte sich bereits am dritten Tag ein glänzender Belag, der an Ausdehnung rasch zunahm. Nach acht Tagen begann die Oberfläche bei korallenroter Färbung geschlängelte Windungen zu zeigen, welche sich allmählich höher und höher wölbten. (Auch bei dieser Temperatur ließ die Preßhefe kein Wachstum erkennen.) — Die Vacuolen in den Zellen blieben klein, Granula waren in großer Zahl vorhanden. Einige Kulturen, die über einen Monat alt waren, zeigen eine Umfärbung in Bläulichrosa, andere in Lachsfarbe; die Vermutung, daß es sich um verschiedene Rassen handelte, bestätigte sich jedoch nicht, da von den abweichenden Kulturen abgeimpfte Proben wieder das normale Aussehen darboten.

3. Bei 6—7° ist nach zwei Tagen ein glänzender Belag von lebhafter Farbe vorhanden. Seine Ausdehnung nimmt auch hier schnell zu. Nach acht Tagen weisen die Zellen auffallend große Vakuolen auf, die ihnen ein blasig aufgetriebenes Aussehen verleihen. Die Zellen sind rund, teils liegen sie einzeln, teils in kettenartigen Verbänden. Die Sprossung geht lebhaft vor sich. Nicht selten begegnet man Zellen, an denen mehrere Sprossungen gleichzeitig auftreten („Kronenbildung"). Vereinzelte Involutionsformen zeigen sich nach acht Tagen. Auch hier bekommt der Überzug auf der oberen Schnittfläche des Substrates die oben beschriebenen gehirnartigen Windungen.

4. Bei 15° hat der Belag ein weiches, samtartiges Aussehen, seine Farbe ist kräftig rosa. In den ersten Tagen vergrößert er sich am schnellsten und bildet auch hier gehirnartige Windungen, aber mit matter Oberfläche. (Bierhefe zeigt bei dieser Temperatur schon nach einem Tage Zunahme, aber ihr Wachstum bleibt langsam.) Die Zellen sind rund und treten meist in Verbänden auf. Eine große Vakuole und, in deren unmittelbarer Nähe, mehrere stark lichtbrechende Körperchen bilden die auffälligsten Inhaltsbestandteile der Zelle. Der übrige Raum ist von unregelmäßig im Plasma verteilten Granis erfüllt.

---

[1]) Vgl. Lafar, IV, S. 298.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

5. Bei 30° konnte nach einem Tage schon reichliche Vermehrung festgestellt werden, und nach weiteren zwei Tagen war die ganze Kartoffel von Hefen durchwuchert. Der Überzug hatte auch bei dieser Temperatur ein samtartiges Aussehen. Eine Menge Involutionsformen waren entstanden. (Die weiße Hefe wächst nun auch auf den Kartoffelscheiben, aber merklich langsamer als die rote.)

6. Bei 45—47° erschienen auf der einen Tag alten Kultur kleine Kolonien von schmutzig bräunlicher Farbe. In den nächsten Tagen war keine beträchtliche Zunahme festzustellen; nach acht Tagen waren alle Zellen tot. Ebensowenig vertrug die weiße Hefe diese Temperatur.

Somit liegt für die Rosahefe das Temperaturoptimum auf Kartoffeln zwischen 6° und 15°, das Minimum unmittelbar über dem Gefrierpunkt, das Maximum etwa bei 47°.

2. Das Wachstum auf einigen anderen Nährböden wird durch folgende Tabelle veranschaulicht.

Nährboden	2°	6—7°	15°	30°	45°
Birne, mit Sodalösung gewaschen, mit sterilem Messer im Dampfkasten zerschnitten.	In 3 Tagen kaum gewachsen.	Desgl.	Leidliches Wachstum, kein Eindringen in die lebenden Zellen.	Anfangs schwach, nach d. Absterben zahlreicher Birnenzellen reichlich.	Schwache Vermehrung, nach 3 Tagen Absterben.
Apfelsine. Behandlung wie vorher.	—	Langsames Wachstum.	Üppiges, aber nicht andauerndes Wachstum auf dem ausgetretenen Saft.	Auf den Schalen und Schnittflächen der Kerne in 9 Tagen leidliches Wachstum.	—
Citrone.	Auf dem saftigen Fruchtfleisch überhaupt kein Wachstum[1]), auf Schalen, Scheidewänden und Kernen spärlich.				
Banane, äußerl. sterilisiert, geschält u. zerteilt.	—	Bestes Gedeihen, im ganzen spärlich.	—	—	—
Feigen, getrocknete, mit Wasser sterilis.	Spärliches Wachstum.				
Weintrauben, roh, mit abgezogener Schale.	Ausgetretener Saft guter Nährboden, auch für Saccharomyces cerevisiae.				
Rote Rübe, roh.	Sehr geringes Wachstum, Belag trocken und spröde.				

[1]) Citronensäure als Zusatz zu künstlichen Nährlösungen erwies sich dagegen überall als günstig.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Nährboden	2°	6—7°	15°	30°	45°
Rote Rübe, gekocht.	Bei allen Temperaturen guter Nährboden.				
Mohrrüben, gekocht.	Nach 4 Tagen Wachstum. Zellen einzeln liegend, rund mit großer, fetthaltiger, Vakuole.	Nach 2 Tagen ist die Vermehrung deutlich. Zellen rund, einzeln, groß.	Glänzender Belag nach 24 Stunden; lebhaftes Wachstum, Obstgeruch. (Auch weiße Hefe entwickelt sich gut, wenn auch schwächer.)	Wie bei 15°. (Weiße Hefe wie bei 15°.)	Schwache Vermehrung, dann Verfärbung, Eingehen nach 8 Tagen. (Weiße Hefe stirbt nach 3 Tagen ab.)

Von den geprüften natürlichen Nährböden erwies sich also die Mohrrübe als der günstigste. Es ist ersichtlich, daß der Wassergehalt des Nährbodens für das Gedeihen der roten Hefe von großem Einfluß ist; saftigere Nährböden werden stark bevorzugt. Der Zuckergehalt spielt keine große Rolle, schwach saure Nährböden sind günstig, stärker saure ungeeignet; hoher Eiweißgehalt ist erforderlich.

3. Künstliche, feste Nährböden.

Brot, in heißes Wasser getaucht und in sterilen Deckelschalen ausgelegt, zeigte sich als ein recht ungeeignetes Substrat für die Kulturen. Als nach fünf Tagen noch keine sichtbare Vermehrung der Rosahefe aufgetreten war, wurden die Brotscheiben mit Erbsendekokt, Malzextraktlösung oder einer künstlichen Nährlösung (Pepton 1%, Dextrose 5%, Kaliumphosphat 0,3%, Magnesiumsulfat 0,2%) begossen. Erst nach weiteren fünf Tagen machten sich bei einer Kultur, die Malzextraktzusatz erhalten und bei 6° gestanden hatte, die ersten Zeichen von Wachstum bemerkbar. Die Farbe der Kolonien, die dauernd isoliert blieben, war auffallend dunkel. — Die Preßhefe gedieh auf Brot ziemlich gut; sowohl bei 6°, wie bei Zimmertemperatur, und bei 30° war nach drei bzw. zwei Tagen deutliche Zunahme zu konstatieren; am besten sagte die höchste Temperatur zu. Die Kolonien sahen trocken und kreideweiß aus.

Torfstücke, die sterilisiert und mit Nährlösung getränkt waren, erwiesen sich womöglich als noch ungeeigneter. Auf ihnen trat gar kein Wachstum auf, nur in der am Boden des Gefäßes angesammelten Flüssigkeit entwickelte sich die Hefe. (Preßhefe gedieh ebensowenig.)

Gebrühter Palmkernkuchen, bekanntlich für manche Schimmelpilze ein sehr guter Nährboden, wird von der Rosahefe gleichfalls vollständig verschmäht. Dagegen wachsen rote Hefen auf mit Nährlösung getränkten Gipsblöcken im Reagenzglas bei fast allen Temperaturen, denen sie

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

ausgesetzt werden. Die Kulturen zeigen ein eigenartiges Wachstumsbild. In der Mitte des Blockes, an der Impfstelle, bilden die Kolonien einen großen, zusammenhängenden Komplex; die übrige gesamte Oberfläche des Blockes ist mit kleinen, einzeln liegenden Kolonien übersät. Die Zellen sind rund, bei 15° gewachsen sehr klein, enthalten Vakuole und glänzende Fettröpfchen. Feste Inhaltsbestandteile sind nicht kenntlich. — Bei 2° wächst rote Hefe auf Gips mit Nährlösung noch, wenn auch schwach. Bierhefe vermehrt sich bei dieser Temperatur nicht mehr. Bei 6—7° schon sehr gutes Wachstum; nach 3 Tagen Kolonien sichtbar, nach 12 Tagen der ganze Gipsblock bewachsen. (Die Bierhefe erscheint erst nach 8 Tagen und bleibt auch weiterhin im Wachstum gegenüber der roten zurück.) Bei Zimmertemperatur hat die rote Hefe schon nach 2 Tagen einen rosa Belag auf dem Gips gebildet, nach 12 Tagen ist die ganze Oberfläche des Blockes bedeckt und erscheint glänzend rosa. Auch bei 30° noch gutes Wachstum, nur wenig ungünstiger als bei Zimmertemperatur. Bei 45° vertrocknet die Hefe auf Gipsblöcken nach wenigen Tagen.

Auf gallertartigem Nährboden gedeiht die rote Hefe bei geeigneter Ernährung ausgezeichnet. Nur eine Zusammenstellung von Kartoffeldekokt und Agar hat sich nicht bewährt. Gelatine erweist sich im allgemeinen günstiger als Agar.

Auf Koch'scher Fleischwasser-Pepton-Gelatine findet man schon nach wenigen Stunden lebhaftes Sprossen (Abbildung 5) und erhält in wenigen Tagen stattliche Kulturen. Die hier meist großen Zellen bleiben zum Teil in Sproßverbänden vereinigt. Anfangs ziemlich gleichförmig, werden die Zellen später in Größe und Form außerordentlich verschieden.

Auf Gelatine wie auf Agar findet man an älteren Kulturen nur die mittleren Partien von schleimig-glänzendem Aussehen, während sich am Rande, anscheinend infolge geringen Austrocknens, matte samtartige Zonen bilden. Die feucht glänzende Masse besteht aus normalen Zellen, die sammetartige dagegen führt stets mehr oder weniger reichlich Riesenzellen. Von diesen haben einige bei Vergrößerung auf etwa den doppelten Durchmesser die ovale Gestalt beibehalten und führen neben einer auffallend großen Vakuole nur einen dünnen Belag stark glänzenden Protoplasmas; andere sind wurstartig verlängert und umschließen 3—6 oder noch mehr Vakuolen in perlschnurartiger Anordnung (Abbildung 6). Während die ovalen Riesenzellen das Vermögen zu sprossen anscheinend verloren haben, ist es bei den wurstförmigen nur eingeschränkt. Sie sind es auch, welche zu den eigentlichen Involutionsformen überleiten. Man findet diese nur in recht auffallenden federartigen Aussprossungen alter Kulturen (Tafel, Fig. 2), hier aber oft so reichlich, daß neben ihnen

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

die normalen und die Riesenzellen stark zurücktreten[1]). Die Involutionen (Abbild. 3 u. 7) zeichnen sich aus durch einen geringeren Durchmesser, aber weit bedeutendere Länge, als wir sie bei den Riesenzellen fanden; auch sind sie reichlich mit Sprossungen versehen, die manchmal die bekannte Kronenbildung zeigen. Die Involutionsformen sind — wie bei manchen Bakterien — nicht als Zellenindividuen, sondern als Verbände aufzufassen, deren Glieder teils fast vollständig abgeschnürt, teils nur durch leichte Einschnürungen markiert sind; auch glatte Querwände treten häufig auf (Tafel, Fig. 3). Auf frische Nährböden übertragen, halten sich die Involutionen durch zwei Kulturen, gehen aber weiterhin erst in Riesenzellen, zuletzt in normale über.

Übrigens ist es wohl nicht der Wassermangel an sich, welcher die Bildung der Involutionsformen anregt, als vielmehr die durch ihn verhinderte Diffusion, durch die eine Anhäufung der Stoffwechselprodukte unserer Hefe bedingt wird. Dies wird dadurch wahrscheinlich gemacht, daß es gelang, ganz entsprechende Involutionsformen in kurzer Zeit durch Zusatz eines Giftes zu erzielen. Diese Versuche wurden in Nährflüssigkeiten ausgeführt. Auch Temperaturen nahe dem Maximum ließen auf den verschiedensten Nährböden Involutionsformen entstehen.

Erbsen-Gelatine[2]) ist ein günstiger Nährboden, auf welchem die Zellen sich normal entwickeln. (Weiße Hefe bildet schon in einem Tage kleine Kolonien, welche Spuren von Gasbildung zeigen.)

Erbsen-Agar[3]) läßt die Rosahefe gleichfalls gut gedeihen. (Weiße Hefe bildet bei 15° und 30° kleine Rasen.) Bei höherer Temperatur treten neben normalen Zellen solche von den verschiedensten Gestalten auf. Bei 45° ist erst nach 8 Tagen Vermehrung zu konstatieren; alle Kolonien sind untergetaucht — an der Oberfläche ist es wohl zu trocken — und haben ihre schöne rote Farbe eingebüßt. Die Zellen sind sehr klein und lassen auch mit der Alkannareaktion keine Ölkörper erkennen.

Auf Fleisch-Pepton-Agar zeigt sich das Wachstum in einem Tage; die Zellen haben normales Aussehen. Auf Stärkeagar erscheinen die Kolonien in drei Tagen. — Pilzdekokt-Gelatine, aus getrockneten Steinpilzen hergestellt, ist ein sehr guter Nährboden für die Rosahefe.

---

[1]) Will (Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Bierhefen, Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen, Jahrg. 25, S. 241) hat an Riesenkolonien auf 10% Gelatine schon nach 3 Tagen ähnliche fransenartige Aussprossungen („Ströme") erhalten, in welchen sich wurstförmige Zellen fanden, während sie im Zentrum der Kolonie normal geblieben waren.

[2]) 25 g Erbsen auf 1 l Wasser im Autoklaven gekocht, filtriert und mit 10% Gelatine versetzt.

[3]) Wie oben, aber 1% Agar-Zusatz.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

4. Flüssige Nährmedien.

In künstlichen Nährlösungen war das Wachstum nie so üppig, wie auf den besten festen Substraten; günstiger sind Dekokte geeigneter Vegetabilien. Die Hefe bildet an der Oberfläche dünne und nicht zusammenhängende Häute, welche sich an der Wand des Gefäßes emporziehen, und daneben einen mehr oder minder reichlichen Bodensatz. An den Glaswänden sind abnorm gestaltete Zellen häufig; in den Häuten finden sich viele längliche, im Bodenbelag meist normale runde Zellen. In Rücksicht auf das große Sauerstoffbedürfnis der roten Hefe wurden die Nährlösungen in dünner Schicht in Erlenmeyerkölbchen dargeboten; in tieferer Schicht im Reagenzglase ergaben sie sehr langsames Wachstum.

Nährlösung 1. Pepton 1%, Dextrose 5%, KH_2PO_4 0,3%, $MgSO_4$ 0,2%. Kultur im Reagenzglase.

Temperatur	Rote Hefe	Preßhefe
2°	Keine Zunahme.	
6—7°	Es entsteht ein Bodensatz, nach 6 Wochen stellt sich auch ein Wandbelag ein, dessen Zellen große Verbände und viele Involutionen bilden.	Bodensatz.
Zimmertemperatur.	Aus der sich trübenden Flüssigkeit scheiden sich teils Flocken, teils ein Bodensatz ab. An der Oberfläche entsteht ein dünnes, gefälteltes Häutchen, das nach 8 Tagen in einen hauchartigen Wandbelag übergeht. — Die Zellen mit wenigen, unregelmäßigen Vakuolen, reichliche Granulationen.	Trübung der Flüssigkeit, sodann Bildung eines Bodensatzes, einer Oberflächenhaut und eines dünnen Wandbelages. Zellen von normaler Gestalt.
30°	Starkes Wachstum, Bodensatz und Wandbelag.	Starkes Wachstum, lebhafte Gärung.

Nährlösung 2. Angesäuerte Malzextraktlösung; Kultur im Reagenzglase.

Dieser Nährboden erweist sich als ungünstig. Bei 2° bildete sich nur ein dünner Bodensatz, dessen Zellen wenige, aber große Vakuolen führten. Bei 7° trat auch ein dünner Wandbelag aus isoliert bleibenden Kolonien auf. (Preßhefe bildete bei 6—7° einen Bodenbelag, bei Zimmertemperatur trat leichte Gärung ein, wobei sich die Flüssigkeit trübte.)

Viel besser, als in Reagenzgläsern, gedeiht die Rosahefe in Erlenmeyerkölbchen. Dort steht ihr, wenn die Nährlösung den Boden nur in dünner Schicht bedeckt, viel Sauerstoff zur Verfügung, dessen sie als stark aërobe Art bedarf; Kölbchenkulturen geben daher auch ein richtigeres Bild vom Nährwert der gebotenen Flüssigkeiten, als Reagenzglaskulturen. Dekokte von Mohrrüben, Apfelsinenschalen, Korinthen, Feigen, Erbsen und roten Rüben, sowie Apfelsinensaft und

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Malzextraktlösung wurden erprobt, und alle lieferten gute Resultate, auch für Preßhefe. Hohe Temperaturen (30°) wirkten besonders günstig, aber auch bei Zimmertemperatur war das Wachstum noch gut, während es bei 6—7° merklich geringer war. Meist entstand nur ein Bodensatz, bei Verwendung von Apfelsinensaft aber auch ein Häutchen, das sich bei Schütteln nur schwer zerteilen ließ. Einige der genannten Dekokte wurden getrübt, so das von Korinthen und Feigen, ebenso der Apfelsinensaft (Korinthendekokt wurde von Preßhefe dunkelbraun gefärbt; in allen Nährflüssigkeiten bildete diese Hefe nur Bodensatz). Die mikroskopische Untersuchung ergab durchweg normale Zellen von eirunder Form mit 1—2 Ölkörperchen; infolge lebhafter Sprossung hatten sich Anhäufungen von Hefezellen gebildet.

In einer künstlichen Nährlösung — 1 g Pepton, 0,3 KH_2PO_4, 0,2 $MgSO_4$ und etwas Zitronensäure in 100 Teilen Wasser — vermehrte sich die Rosahefe bei Zimmertemperatur sehr üppig. Es war dieses das einzige künstlich zusammengestellte Substrat, das an Nährwert den natürlichen Pflanzensäften und Dekokten gleichkam; offenbar war es der Gehalt an höheren Abbauprodukten des Eiweißes, der dieses gute Gedeihen ermöglichte. An der Oberfläche der Nährflüssigkeit bildete die Rosahefe anfangs kleine Inselchen, die später zu Boden sanken und hier einen lockeren Satz darstellten. Der Wandbelag trat erst später, nach etwa 14 Tagen, auf.

Wurde statt des Pepton 1% Asparagin gegeben, so zeigte sich anfangs wenig Vermehrung, doch nach acht Tagen wurde die Entwickelung lebhafter. Immerhin blieb die Endmenge beträchtlich hinter der Peptonkultur zurück, und auch die Farbe war matter.

Endlich wurde eine Nährlösung dargeboten, welche aus 1000 g Erbsendekokt, 400 g Rohrzucker und 40 g Ammoniumnitrat bestand. Von dieser wurden 10 Verdünnungen, je um $^1/_{10}$ der vorhergehenden gegeben. In allen trat langsames, aber stetiges Wachstum auf; in den mittleren Konzentrationen war die Vermehrung relativ am üppigsten, aber gerade hier zeigten sich besonders zahlreiche Involutionsformen, ein Beweis dafür, daß diese Nährlösung der Rosahefe wenig zusagt.

Überblicken wir noch einmal die Resultate, die unsere Versuche über die Ernährung der Rosahefe gezeitigt haben, so können wir sagen, daß die Haupterfordernisse für ein üppiges Gedeihen neben genügender Feuchtigkeit des Substrates ein reichlicher Sauerstoffzutritt und besonders gute Stickstoffernährung sind, daneben natürlich günstige Temperaturbedingungen und ein nicht zu großer Säuregehalt des Nährmediums. Unser Organismus stellt, wie uns scheint, ganz besonders große Ansprüche an die Ausgiebigkeit und Assimilierbarkeit seiner N-Quelle — falls er es zu gutem Wachstum bringen soll. Hat er das, so ist seine Vermehrung außerordentlich rasch. Andererseits

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

aber vegetiert er auch unter ungünstigen Ernährungsbedingungen und ist in beiden Fällen wohl imstande, mit Bakterien einerseits, Schimmelpilzen andererseits, wenn auch in bescheidenem Maße, zu konkurrieren.

Kohlehydrate spielen für diesen Pilz eine untergeordnete Rolle. Zu vergären vermag er sie nicht und unterscheidet sich dadurch wesentlich von den eigentlichen Hefen. In gewissem Zusammenhange damit steht wohl die weitere, ihn von den echten Hefen unterscheidende Tatsache, daß er nur zu aërober Lebensweise befähigt ist.

Da die Rosahefe obendrein in mannigfaltigen und zum Teil gerade darauf abzielenden Versuchen niemals Endosporen zu bilden vermochte, so muß sie wohl aus der Gattung Saccharomyces ausscheiden und der Gattung Torula eingereiht werden. Freilich ist auch diese Gattung, die vorwiegend auf ein negatives Merkmal — die fehlende Sporenbildung — gegründet ist, vielleicht keine einheitliche, und wird von verschiedenen Forschern verschieden umgrenzt[1]). Immerhin ist es nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse besser und richtiger, die Rosahefe mit den übrigen Torula-Arten zu vereinigen, als sie in der Gattung Saccharomyces zu belassen.

Die Diagnose unserer Art, die nunmehr den Namen *Torula glutinis* (Fresenius) Pringsheim und Bilewsky zu führen hat, geben wir im Anschluß an die ursprüngliche Schroetersche Diagnose[2]) wie folgt:

Vegetative Zellen kugelig bis eiförmig, 5—6 μ lang, 4—5 μ breit, einzeln oder in kleinen, leicht trennbaren Sproßverbänden Zellen mit winzigen Granulis oder mit 1—2 größeren Ölkörperchen, ältere auch mit Vakuolen; Zellkern nicht kenntlich. Sporenbildung unbekannt. In größeren Ansammlungen rosa bis korallenrot, unter ungünstigen Verhältnissen auch schmutzig braun.

Wuchsformen: in flüssigen Medien als dünnes Häutchen und als Bodensatz, auf fester Unterlage zunächst in rundlichen Pusteln von 0,5—1 mm Durchmesser, später eventuell zusammenfließend, auf feuchtem Substrat stets glänzend, fast schleimig, auf trocknerem samtartig mattschimmernd. Riesenkolonien auf Kartoffeln zuletzt gekröseartig gewunden. Auf Agar und Gelatine in Strich- und Stichkultur anfangs glattrandig, erst nach längerer Zeit am Rande gewulstete und selbst dendritische Ausbuchtungen treibend.

Abweichungen: Nahe dem Minimum und Maximum der Temperatur sehr kleinzellig. Unter Umständen treten Riesenzellen auf (Durchmesser 10—25 μ), sowie unvollkommen sich trennende, sehr unregelmäßige Sproßverbände (Involutionsformen).

---

[1]) Vgl. Lafar, IV, S. 280 ff.

[2]) Cohns Kryptogamenflora von Schlesien, III, 2, S. 207.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Figurenerklärung.

1. Gekröseartig ausgebildete Riesenkultur auf der Oberseite einer Kartoffelscheibe; Vergr. 10.
2. Dendritische Randpartie auf Nährgelatine, alte Kultur mit viel Involutionsformen; Vergr. 20.
3. Involutionsformen aus einer dendritischen Randpartie; Vergr. 1000.
4. Normale Zellen aus einer nicht ganz frischen Kultur. Eine Zelle in der Mitte zeigt noch das Ölkörperchen, in den übrigen haben sich bereits die Vakuolen gebildet; Vergr. 1000.
5. Sprossende Zellen aus frischer Kultur; Vergr. 1000.
6. Riesenzellen aus einer alten Kultur; Vergr. 1000.
7. Abnorme Sproßverbände (Involutionen) aus einer dendritischen Randpartie; Vergr. 500.

Druck von R. Nischkowsky in Breslau.

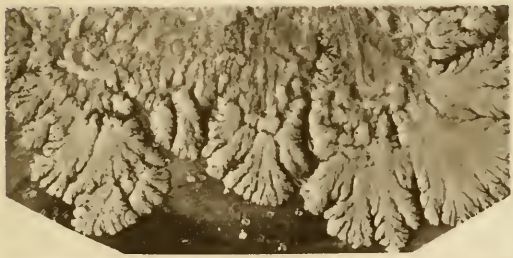
Digitized by the Harvard University, Ernst Mayr Library of the Museum of Comparative Zoology (Cambridge, MA); Original Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

1.

3.

6.

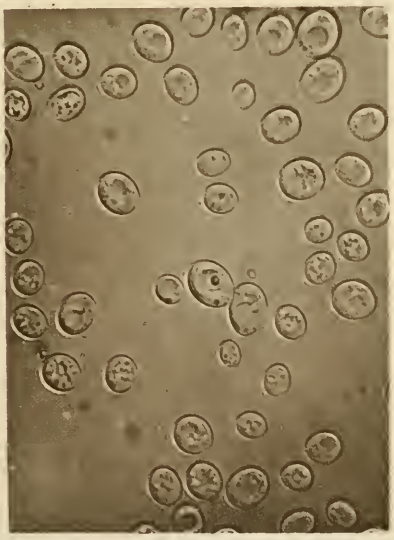
2.



5.

7.

4.



E. Pringsheim u. H. Bilewsky phot. Geliefert von Meisenbach Riffarth & Co., Berlin-Schöneberg.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Beiträge zur Biologie der Pflanzen

Jahr/Year: 1910

Band/Volume: 10_1

Autor(en)/Author(s): Pringsheim Ernst Georg, Bilewsky H.

Artikel/Article: Ober Rosahefe 118-132