

Biologisches Centralblatt.

unter Mitwirkung von

Dr. M. Reess

und

Dr. E. Selenka

Prof. in Erlangen

Prof. in München

herausgegeben von

Dr. J. Rosenthal

Prof. der Physiologie in Erlangen.

24 Nummern von je 2—4 Bogen bilden einen Band. Preis des Bandes 20 Mark.
Zu beziehen durch alle Buchhandlungen und Postanstalten.

XVIII. Band.

1. Mai 1898.

Nr. 9.

Inhalt: **Küster**, Zur Kenntniss der Bierhefe. — **Hirth**, Energetische Epigenesis und epigenetische Energieformen insbesondere Merksysteme und plastische Spiegelungen — **Trautzsch**, Die geographische Verbreitung der Wirbeltiere in der Grönland- und Spitzbergensee, mit Berücksichtigung der Beobachtungen Nansen's. — **Pfeffer**, Pflanzenphysiologie. Ein Handbuch der Lehre vom Stoffwechsel und Kraftwechsel in der Pflanze.

Zur Kenntniss der Bierhefe.

Von **Ernst Küster** in Charlottenburg.

Die Morphologie der Sprosspilze ist schon wiederholt von Botanikern zum Gegenstande eingehender Untersuchungen gemacht worden. Was durch dieselben als sichergestellt betrachtet werden darf, ist das Vorhandensein zahlreicher Granula im Protoplasma der Hefezellen, die Existenz eines Zellkernes und das Auftreten frei umher schwimmender Körnchen in den Vakuolen. Ueber diese Körnchen — die ich zur Unterscheidung von denjenigen des Plasmas als „Vakuolenkörnchen“ bezeichnen werde — möchte ich in den folgenden Zeilen einige neue Beobachtungen mittheilen.

Die frühesten Untersucher¹⁾ der Hefezellen haben nur das Vorhandensein der Vakuolenkörnchen konstatiert. Eingehenderes Studium ist ihnen erst in den letzten Jahren gewidmet worden. Auf die Ar-

1) C. v. Nägeli dürfte wohl der erste Beobachter der Vakuolenkörnchen gewesen sein. Er erwähnt sie in seiner Abhandlung „über Zellkerne, Zellenbildung und Zellenwachstum bei den Pflanzen“ (Zeitschrift f. wissensch. Botanik, I. Band, 1. Heft, S. 45): „Die Gärungspilze im Weinmost und den Bierhefen zeigen oft regelmäßig in jeder Zelle ein der Membran anliegendes kleines Kernchen von weißlichem Schleime“. Nägeli glaubte mit Unrecht den Zellkern der Hefe in ihm zu sehen. Dass letzterer nur durch färbende Reagentien sichtbar gemacht werden kann, ist bekannt. Das von Nägeli beschriebene Gebilde kann daher nur das Vakuolenkörnchen gewesen sein.

beiten von Bernhard Fischer und Brebeck¹⁾, von Eisenschitz²⁾ und von Hallier³⁾ werden wir später wiederholt zurückzukommen haben. — Die eingehendste Würdigung haben die in Frage stehenden Körperchen wohl bei Hieronymus⁴⁾ gefunden. Andere Forscher, darunter Crato⁵⁾, der auch die Hefezellen auf ihre Plasmastruktur und ihre Physoden hin geprüft hat, übergehen die interessanten Gebilde mit Stillschweigen.

Zunächst möchte ich auf eine neue Methode aufmerksam machen, welche das Studium der Vakuolenkörnchen ungemein zu erleichtern mir geeignet scheint, — eine Methode zu ihrer „intravitalen“ Färbung. Aehnliche Versuche, lebende Hefezellen zur Aufnahme und Speicherung von Farbstoffen zu veranlassen, sind schon wiederholt gemacht worden. Der erste, der sich mit dieser Frage befasste, war Pfeffer⁶⁾. Die Behandlung der Hefezellen mit Anilinfarben führte allerdings zu keinen positiven Resultaten. Hieronymus (a. a. O. pag. 183) war in seinen Versuchen glücklicher. Es gelang ihm, mit Löffler'schem Methylenblau die Vakuolen des Plasmas vor dem Absterben der Zellen zu tingieren. Die von Eisenschitz⁷⁾ angegebenen Methoden kann ich nicht als „intravital“ anerkennen.

Eine neue Methode ist folgende: bringt man eine Probe der käuflichen Presshefe in eine dünne wässrige Lösung von Neutralrot — eine Konzentration von 1:5000 oder 1:10000 genügt, — so färben sich bei geeignetem Material schon nach wenigen Minuten die Vakuolenkörnchen intensiv rot. Alle übrigen Teile der Zelle bleiben zunächst noch farblos. Lässt man die Farbflüssigkeit hinreichend lange auf die Hefe einwirken, so speichern auch die Vakuolen schließlich den Farbstoff mehr und mehr, bis sie wie undurchsichtige, tiefrote Kugeln im farblosen Plasma liegen. Ich möchte schon an dieser Stelle darauf hinweisen, dass die zahlreichen Proben der käuflichen Press-

1) B. Fischer, „Ueber einen neuen, bei Rahmhautpilzen beobachteten Fortpflanzungsmodus“. Centralbl. f. Bakteriologie, 1893, S. 653.

B. Fischer u. Brebeck, „Zur Morphologie, Biologie und Systematik der Rahmpilze“, 1894.

2) „Beitrag zur Morphologie der Sprosspilze“, 1895, Bern (Dissertation).

3) „Pestkrankheiten der Kulturgewächse“ (1895) und „Die Hefe der Alkoholgärung“ (1896).

4) Deutsche bot. Ges., 1893, S. 176.

5) „Beiträge zur Anatom. u. Physiol. des Elementarorganismus“. Cohn's Beiträge zur Biologie, VII, S. 495.

6) „Ueber Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen“ (Unters. aus dem botan. Inst. zu Tübingen, II, S. 223).

7) Eisenschitz empfiehlt a. a. O. mit stark giftig wirkenden Stoffen wie Methylgrün und überdies in gesättigten Lösungen zu tingieren. Auch die Fällung der Farbstoffe durch Salzsäure kann ich nicht als eine Methode zur „intravitalen“ Färbung gelten lassen.

hefe, die von mir untersucht worden sind, sich ungemein verschieden hinsichtlich der Farbspeicherung verhielten. Oft trat schon nach wenigen Minuten eine intensive Tinktion der Vakuolenkörnchen in allen Zellen ein, in andern Fällen musste ich eine Stunde und länger den Farbstoff einwirken lassen, um wenigstens einige Zellen mit gefärbten Kügelchen zu gewinnen. Niemals aber blieb bei geduldigem Warten die gewünschte Reaktion gänzlich aus. Eine Erklärung für diese Unterschiede wird in ernährungsphysiologischen Verhältnissen zu suchen und vielleicht auch zu finden sein. Meine Versuche hierüber sind noch nicht abgeschlossen.

Dass die Färbung der Vakuolenkörnchen mit Neutralrot eine „intravitale“ ist, d. h. dass der Farbstoff in ihnen unbeschadet des Lebens der Zelle gespeichert wird, lässt sich leicht nachweisen. Bringt man gut ausgewaschenes, tingiertes Hefenmaterial in Zuckerlösung, so beginnt alsbald die Gährung mit ungeschmälerter Intensität. Gleichzeitig beobachtet man, dass die Zuckerlösung sich allmählich rötet: die Vakuolenkörnchen geben den gespeicherten Farbstoff allmählich an die Zuckerlösung ab. Offenbar hat die letztere eine stärkere Affinität zu dem Farbstoff als die Vakuolenkörnchen. Aus demselben Grunde misslingt es auch regelmäßig, Presshefe in gefärbter Zuckerlösung zu tingieren.

Anders als die Zellen mit tingierten Vakuolenkörnchen verhalten sich diejenigen, welche den Farbstoff bereits in den Vakuolen selbst gespeichert haben. Diese Zellen rufen keine Gährung mehr hervor, sie sind tot. Die Färbung der Vakuolenkörnchen vollzieht sich also intra vitam, die Farbspeicherung in den Vakuolen gehört dagegen schon zu den Symptomen des Absterbens. Hefezellen, die mit einem der gebräuchlichen Fixierungsmittel gefärbt sind, zeigen in Neutralrotlösung sehr bald intensive Vakuolenfärbung.

Bei *Saccharomyces cerevisiae*, wie ihn die käufliche Presshefe neben den üblichen Verunreinigungen liefert, und dessen Morphologie in den folgenden Zeilen ausschließlich berücksichtigt ist, sind die Vakuolenkörnchen bald einzeln in den Vakuolen verteilt, bald zu mehreren in einer vereinigt. Drei bis fünf Körnchen in einer Vakuole sind gerade keine Seltenheit. Andererseits sind Zellen ohne Vakuolenkörnchen ebenfalls häufige Ausnahmen von der Regel. Im allgemeinen ist jede Zelle mit ein bis drei Vakuolenkörnchen ausgestattet. Auffallend verschieden ist die Größe derselben. Die größten, welche ich beobachtete, maßen etwa 2μ im Durchmesser, die kleinsten ließen sich in gefärbtem Zustand gerade noch als dunkle Punkte wahrnehmen. Die großen sind meist einzeln zu finden, seltener von kleineren begleitet; die kleinen treten fast immer zu mehreren auf. Große wie kleine Körnchen fallen durch ihre Bewegung auf, mit der sie bald

lebhaft den verfügbaren Raum durchheilen, bald träge an ein und derselben Stelle der Vakuolenwand hin und her schaukeln. Es handelt sich dabei um Brown'sche Molekularbewegung, keinesfalls um osmotische Ströme, wie Hallier annimmt, oder gar um Eigenbewegung, wie Eisenschitz behauptet.

In den meisten Hefezellen treten die Vakuolenkörnchen als freischwimmende Kugeln auf; die größeren Exemplare setzen sich jedoch nicht selten an der Vakuolenwand fest und zeigen alsdann charakteristische Formveränderungen. Sie platten sich zunächst zu einem bikonvexen Körperchen ab und zerfließen mehr und mehr unter der Wirkung der Kapillarität auf der Vakuolenwand, an die sie die Kohäsionskraft fesselt. Ihre Substanz verteilt sich immer flacher, bis sie in gleichsam ausgewalztem Zustand wie eine Halbkugel die Hälfte der Vakuole auskleidet. An tingiertem Material lässt sich dieser Zustand neben allen Uebergangsstadien leicht studieren. Auf dem optischen Durchschnitt sehen wir die Vakuole wie von einer schmalen, roten Sichel umfasst. Oft zerfließen auf dieselbe Weise mehrere Körnchen in derselben Vakuole, die dann auf dem optischen Durchschnitt wie von einem roten Ring umsäumt erscheint. In allen Fällen handelt es sich nicht um die Metamorphosen eines lebenden, sich entwickelnden Organes, sondern um rein physikalische Erscheinungen, um die Formveränderungen eines toten, zähflüssigen Gebildes.

Ob das Schicksal der Vakuolenkörnchen damit abschließt oder ob durch die Einwirkung des Plasmas eine Lösung ihrer Substanz sich vollzieht, vermag ich nicht anzugeben. Sicher ist, dass die Vakuolenkörnchen nicht in das Plasma hineinschlüpfen, wie es Eisenschitz gesehen haben will.

Körnchen, die in Vakuolen umherschwimmen, sind meines Wissens keine häufige Erscheinung. Ich kenne nur eine Angabe in der Literatur, die über ähnliche Körperchen, wie ich sie soeben für die Bierhefe beschrieben habe, Mitteilung macht. Przesmycki¹⁾ unterscheidet im Zellkörper der von ihm untersuchten Ciliaten „Körnchen, welche sich in Vakuolen sehen lassen und diejenigen, welche in dem Entoplasma auftreten“. Es gelang ihm, die ersteren mit Methylenblau „in *travital*“ zu färben, — eine Uebereinstimmung mit den Vakuolenkörnchen der Hefe, die nicht zu unterschätzen ist. Przesmycki hält es nicht für unmöglich, die von ihm gefundenen und gefärbten Körnchen „durch eine wirkliche Anwesenheit von Bakterien oder sehr kleinen Infusorien in den Vakuolen erklären zu können.“ „Ich gebe jedoch, fügt er hinzu, dieser Erklärung nicht die Bedeutung einer dem Zweifel nicht unterliegenden Thatsache“ (a. a. O. pag. 627). Gerade im Vergleich mit den Körnchen der Hefezellen scheint es mir nicht überflüssig, auf

1) Biol. Centralbl., 1894, S. 620 ff., „Ueber Zellgranulationen bei Protozoen“.

diese Vermutung einzugehen. Gerade bei den Hefezellen wird durch die flotte, scheinbar selbständige Bewegung der Vakuolenkörnchen eine ähnliche, irrtümliche Deutung nahe gelegt. Dass bei den Hefen die Bakteriennatur der Vakuolenkörnchen ausgeschlossen ist, geht meines Erachtens aus den oben geschilderten Metamorphosen hervor. Außerdem erscheint es ausgeschlossen, dass Bakterien, die in derselben Vakuole einer Zelle aufwachsen, also unter durchaus gleichen Bedingungen leben, sich in der Größe so stark unterscheiden, wie es die Vakuolenkörnchen der Hefe thun¹⁾. Ueberdies würde es als auffällig gelten müssen, dass selbst bei geeigneten Temperaturen die fraglichen Gebilde sich niemals innerhalb der Vakuolen durch Teilung vermehren. Die Möglichkeit, dass Spaltpilze von außen in das Zellinnere der Hefen eindringen, ist an sich nicht zu bestreiten. Unverkennbare Stäbchenbakterien, die in der Vakuole der Hefezellen schaukelten, habe ich wiederholt beobachten können²⁾.

Eine andere Theorie zur Erklärung der Vakuolenkörnchen ist die von Bernhard Fischer, Brebeck und E. Hallier vertretene, nach welcher die fraglichen Gebilde endogen entstandene Zellen sind (Halliers „Notknospen“). Sie wachsen angeblich in den Vakuolen zu relativ großen Gebilden heran und verlassen dann die Mutterzelle, um zu einem ihr gleichwertigen Organismus zu werden. Dass von den genannten Autoren dieselben Gebilde gemeint sind, die ich als Vakuolenkörnchen bezeichnet habe, scheint mir außer Zweifel. Dafür spricht schon das immer betonte „starke Lichtbrechungsvermögen“ der Körperchen. Ich habe bei meinen Untersuchungen an *Saccharomyces cerevisiae* nichts von einem derartigen neuen Fortpflanzungsmodus entdecken können, der wohl in das Reich der optischen Täuschungen bei Hefeuntersuchungen zu verweisen sein dürfte.

Bei seinen bereits citierten Studien über die Plasmagranulationen der Protozoen kommt Przesmycki (a. a. O. pag. 625) zu dem Schluss: „Ich halte es für möglich, anzunehmen, dass die Granulationen, welche in den so charakterisierten Vakuolen auftreten, die beste Bestätigung für die Anschauung jener Autoren sind, wonach ‚die Zellgranula sich als morphologisches Zeichen der biologischen Prozesse vorstellen, welche innerhalb der Zellen ablaufen‘, die Körnchen von vakuolärem Charakter treten als Stoffwechselprodukte auf“. — Dieselbe Bedeutung, wie sie Przesmycki bei den Vakuolenkörnchen der Infusorien vermutet, ist auch denjenigen der Hefen zuzuschreiben: sie sind Stoffwechselprodukte und stammen aus dem Plasma. Vermutlich werden sie aus diesem in der kleinkörnigen Form in die Vakuolen abgeschieden und

1) Die Vakuolenkörnchen als Spaltpilze („Cocci“) zu deuten, ist von Hallier versucht worden, wenn anders ich seine Darlegungen (Die Hefe der Alkoholgärung, S. 23) richtig verstehe.

2) Vergl. Lindner's Referat. Wochenschr. f. Brauerei, 1896, S. 805 u. 806.

vereinigen sich in diesen zu größeren Gebilden. Ihr halbflüssiger Aggregatzustand, auf den das Zerfließen an der Vakuolenwand schließen lässt, und auf den wir bereits früher aufmerksam gemacht haben, lässt eine derartige Vergrößerung durchaus als möglich erscheinen. — Die Vakuolenkörnchen stammen nicht nur aus dem Plasma, sondern sind den „Granulationen“ des letzteren substantiell gleichartig. Hieronymus hat bereits diese Behauptung für die Krystalloide aufgestellt, für welche er die Körnchen des Plasmas irrthümlich hielt. Bei langsamer Vergiftung durch Kalkwasser sah er allmählich ein Körnchen nach dem andern aus dem Plasma in die Vakuole schlüpfen, bis diese gänzlich gefüllt war und die Brown'sche Molekularbewegung an ihnen sich nicht mehr geltend machen konnte. Es ist mir nicht gelungen, mit Kalkwasser das beschriebene Experiment in mustergiltiger Weise zu wiederholen; bei leicht angetrockneter Presshefe habe ich aber ohne vergiftende Reagentien ganz ähnliche Degenerationserscheinungen beobachten können. In vielen Zellen werden die Vakuolen mit zahlreichen Körnchen geradezu vollgestopft, in anderen bilden sich neue, oft sehr zahlreiche Vakuolen, deren jede ein oder mehrere Körnchen birgt. Ueber die Größe der kleinen, neu entstandenen Vakuolen und über ihre Vakuolennatur überhaupt könnte man vielleicht zuweilen in Zweifel geraten, wenn nicht die lebhafte Bewegung ihrer Körnchen und die Grenzen, die ihren Bewegungen gesteckt sind, über das Vorhandensein und über die Größe der Vakuolen Aufschluss gäben. Diese neu hinzutretenden Vakuolenkörnchen haben dieselbe Tinktionsfähigkeit wie die ursprünglichen und entfärben sich ebenso wie diese, sobald man den gefärbten Zellen Gelegenheit zum Vergähren von Zucker giebt. Auch in diesem Falle ist also die Farbspeicherung eine „intravitale“, d. h. sie vollzieht sich *intra vitam*, während des Lebens der Zelle. Ich möchte nicht unterlassen, auf den Doppelsinn des Wortes hinzuweisen. Eben so häufig versteht man unter „intravitaler“ Färbung auch die Farbspeicherung, die sich in lebenden Zellteilen selbst vollzieht, nämlich in Kernen. Färbungen, wie sie an den Vakuolenkörnchen der Hefe u. s. w. zu beobachten sind, dürfen durchaus als intravital gelten; aber wie ich fürchte, legt diese Bezeichnung den Schluss nahe, dass es sich in solchen Fällen, wie sie uns soeben beschäftigten, um lebende, farbspeichernde Organe handeln müsse, wie bei den zahlreichen Versuchen zur intravitalen Kernfärbung u. a., für die ebenfalls nur derselbe Ausdruck zur Verfügung steht. Bei den Vakuolenkörnchen der Hefe handelt es sich um intravital gefärbte, leblose Gebilde, ebenso wie z. B. bei Gerbstoffbläschen. Dasselbe dürfte nach meiner Vermutung auch bei den Vakuolenkörnchen der von Przesmycki untersuchten Infusorien der Fall sein; die endgiltige Entscheidung hierüber muss ich selbstverständlich den Zoologen überlassen.

Wenn die Vakuolenkörnchen den Granula des Plasmas substantiell gleichartig sind, so muss sich die Frage aufdrängen, warum diese farblos bleiben und nur jene sich färben. Färbung kommt „nach bekannten Gesetzen nur da zustande, wo der in die Zelle eingedrungene Farbstoff in irgend einer Weise in Verbindung übergeführt und dadurch das Fortschreiten der diosmotischen Bewegung in der Zelle verursacht wird“. (Pfeffer.) Derjenige Stoff, der in den Körnchen der Hefe die Speicherung des Farbstoffes bedingt, ist vermutlich in der Vakuolenflüssigkeit gelöst. Die Thatsache, dass bei längerer Einwirkung des Farbstoffes auch die Vakuolen selbst zu starker Farbspeicherung inklinieren, spricht meines Erachtens für diese Annahme. Anders als auf dem Wege der Hypothese bin ich nicht im stande, dieser Frage näher zu treten.

Nachdem wir uns darüber klar geworden sind, dass die Vakuolenkörnchen eine leblose, plastisch formbare, halbflüssige Masse darstellen, und dass der Unterschied zwischen ihnen und den Körnchen des Plasmas nur ein topographischer sein kann, ist es vielleicht nicht uninteressant, auf Crato's Arbeit über Plastinlamellen und Physoden, die wir bereits erwähnten, zurückzukommen. Nach Crato (a. a. O. pag. 418, 419 u. a.) sind die Physoden „bläschenartige, die Lamellen stets torulös auftreibende Gebilde“, welche gelegentlich in die Substanz der Plastinlamellen, ihrer Trägerinnen, aufgehen und mit ihr verschmelzen. Vor allem sind die Physoden lebendige Substanz, Centralstätten der Lebensvorgänge, insbesondere der Atmung. (a. a. O. pag. 528, 529.)

Wenn nun Crato die Granula der Hefenzellen als Physoden im Sinne der eben resumpten Definition anspricht (a. a. O. pag. 495) und sie mit den Elementarorganen hoch entwickelter Algen etc. auf gleiche Stufe stellt, so kann ich, wie aus dem oben Gesagten hervorgeht, dieser Deutung keinesfalls beistimmen. Der Crato'schen Lehre wird es wahrlich keinen Abbruch thun, wenn die bei hoch entwickelten Pflanzengruppen beobachteten Organe bei einfacheren Organismen fehlen, und es liegt meines Erachtens kein Grund vor, die plasmatischen Organe aller Pflanzen unbedingt nach demselben Schema sich konstruiert zu denken.

Berlin, Botanisches Institut d. Univ. Febr. 1898.

Georg Hirth, Energetische Epigenesis und epigenetische Energieformen insbesondere Merksysteme und plastische Spiegelungen.

Eine Programmschrift für Naturforscher und Aerzte. 1898.

Wer sich für allgemeine biologische Fragen interessiert, wird aus diesem Buche Hirth's gewiss vielfache Anregung erhalten; man muss staunen, in wie hohem Maße es dem Verfasser, der als Zeitungsherausgeber, Verleger, Kunstschriftsteller und Psychologe eine so vielseitige Thätigkeit entfaltet, gelungen ist, sich auch das Gebiet der exakten Natur-

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Biologisches Zentralblatt](#)

Jahr/Year: 1898

Band/Volume: [18](#)

Autor(en)/Author(s): Küster Ernst

Artikel/Article: [Zur Kenntnis der Bierhefe. 305-311](#)