

Zum Nachweise des Zellkerns bei *Saccharomyces*.

Von

CAMILL HOFFMEISTER.

(Mit einer Tafel.)

(Aus dem botanischen Laboratorium der k. k. deutschen
technischen Hochschule in Prag.)

Meine Absicht ist es in dem Nachfolgenden einen kleinen kritischen Beitrag zur Frage zu liefern, ob sich in der Hefezelle ein Kern nachweisen lässt, und welche Beschaffenheit etwa derselbe besitzt. Auch nach dem gegenwärtigen Stande der Forschung bietet die Sache noch Interesse genug, wenngleich die übereinstimmenden Resultate vieler zuverlässiger Forscher das Vorhandensein eines Zellkerns bei den Sprosspilzen mindestens sehr wahrscheinlich gemacht haben. Wir sind jedoch noch keineswegs über den feineren Bau des Kernes in hinreichender Weise orientirt. vermissen überdies vielfach genauere methodische Angaben, durch welche auch dem in diesen Dingen nicht sehr Erfahrenen das leichte und sichere Gelingen einer Kernfärbung ermöglicht wird, und endlich sind zahlreiche naheliegende Fragen noch gänzlich offen, welche die Bedeutung der cytologischen Forschungsergebnisse für die systematische Einreihung von *Saccharomyces* in das Heer der Pilze betreffen.

Einen kurzen Litteraturnachweis sende ich meinen Darlegungen voran, um der Sache Fernerstehende einigermassen über den Stand der Dinge zu orientiren und verweise bezüglich ausführlicher historischer Daten besonders auf den sehr vollständigen

Litteraturbericht in der trefflichen, unlängst erschienenen Arbeit von H. Wager.¹⁾

Für das Vorhandensein eines Kernes in der Hefezelle sprach sich zuerst Nägeli²⁾ (1844), nach Befunden an lebenden Präparaten, aus; auch Schleiden³⁾ theilte diese Ansicht.

Brücke⁴⁾ opponirte Nägeli und wies auf die leicht gebotene Möglichkeit einer Verwechslung von Zellkern mit anderen Inhaltskörpern (den „Granulis“ der jetzigen Cytologen) hin. Durch Färbungsmethoden ist wohl zuerst Schmitz⁵⁾ zur Anschauung gebracht worden, dass ein Zellkern bei der Hefe vorhanden sei. Strasburger⁶⁾ und später Zalewski⁷⁾ bestätigten die Befunde dieses Forschers. Der letztgenannte Autor will auch einen Nucleolus deutlich wahrgenommen haben, konnte jedoch das Verhalten des Zellkernes bei der Sprossung nicht sicherstellen, hatte also augenscheinlich keine genügend leistungsfähige Methode zur Verfügung. In ausgebildeten Sporen hingegen konnte ein Kern nachgewiesen werden.

Krasser⁸⁾ hingegen erlitt vollständige Misserfolge mit den verschiedensten Färbemethoden und kam zum Resultate, dass der Hefezelle kein Zellkern zukomme.

E. Chr. Hansen⁹⁾ (dessen Beobachtung auch von Möller später bestätigt wurde) sah in gewissen Entwicklungsstadien der Zellen in älteren Hefeculturen den Zellkern auch im ungefärbten Zustande.

Die Kernfärbung gelang weiterhin einer Reihe von Forschern, die sich theils vorbehaltlos, theils unter gewissen Cautelen für die Natur des betreffenden färbbaren Gebildes als wahrer Zell-

¹⁾ *Annals of Botany*. Vol. XII (1898) p. 499.

²⁾ Nägeli und Schleiden, *Zeitschr. f. wissensch. Botanik* 1844 Bd. I Heft 1 p. 45.

³⁾ Schleiden, *Grundzüge d. wiss. Bot.* 1849 p. 207.

⁴⁾ Brücke, *Die Elementarorganismen*. Sitzungsber. d. Wiener Akad. 1861 Bd. XLIV.

⁵⁾ Schmitz, *Untersuchungen üb. d. Zellkern d. Thallophyten*. Sitzungsber. d. niederrhein. Gesellschaft f. Nat. und Heilkunde Bonn. 4. August 1879 p. 18 d. Sep.

⁶⁾ Strasburger, *Botan. Practicum* 1. Aufl. 1884 p. 351.

⁷⁾ Zalewski, *ref. Botan. Centralbl.* Bd. 25 (1886) p. 1.

⁸⁾ Oesterreich. botan. *Zeitschr.* 1885 und 1893.

⁹⁾ *Recherch. sur la morphologie des ferments alcooliques VI*. Res. d. compt. rend. d. trav. du laboratoire de Carlsberg Vol. II p. 126 (1886).

kern aussprechen. Von diesen Autoren nenne ich: Zacharias¹⁾ H. Möller²⁾, O. Zimmermann³⁾, Mann⁴⁾, Janssens⁵⁾, Dangeard⁶⁾, Henneguy⁷⁾, Buscalioni⁸⁾, Wager⁹⁾, Janssens und Leblanc¹⁰⁾, A. Wilhelmi¹¹⁾, Bouin¹²⁾, L. Erréra¹³⁾.

Diesen gegenüber hält eine Anzahl anderer Forscher daran fest, dass der färbbare Körper mit den Granulis der Hefezelle identisch sei und keinen echten Zellkern repräsentire; dies ist die Ansicht von F. Krasser¹⁴⁾, J. Raum¹⁵⁾, S. Eisen-schitz¹⁶⁾ und Macallum¹⁷⁾.

Als bedeutsam bei der Entscheidung in dieser Controverse kann man von vorneherein eine ganze Reihe von Momenten ansehen: 1. ob Differenzen in der Tingirbarkeit des „Kerns“ und der „Granula“ vorhanden sind, 2. ob der „Kern“ eine Structur (Nucleolus, Chromatingerüst) zeigt, 3. ob karyokinetische Theilung oder überhaupt eine Betheiligung des fraglichen Körpers bei der Sprossung und Sporenbildung in einer für Zellkerne charakteristischen Art sich nachweisen lässt.

Alle diese Fragen sind aber bereits von verschiedenen Forschern in positivem Sinne beantwortet worden. Von vielen Autoren ist angegeben worden, dass der „Hefezellkern“ sich mit

1) Botan. Zeitg. 1887 p. 296.

2) Bacteriolog. Centralbl. Bd. 12 (1892) p. 537; ibidem Bd. 14 (1893) p. 358; Berichte d. deutsch. botan. Gesellsch. 1893 p. 402.

3) Schenk's Handbuch Bd. III 2. Hälfte p. 520 (1887); Morphol. und Physiologie d. pflanzl. Zellkerns Jena 1896 p. 128.

4) Transact. and Proceed. of the Roy. Bot. Soc. Edinburgh 1892 p. 394.

5) Bacter. Centralbl. Bd. 13 (1893) p. 639.

6) Compt. rend. Tom. 117 (1893) p. 68—70; Le Botaniste 1894 p. 232.

7) Leçons sur la cellule. Paris 1896 p. 137.

8) Malpighia 1896.

9) Report of the Brit. Assoc. Toronto 1897 p. 860; Annals of Botany Vol. XII 1898 p. 499.

10) La Cellule T. 14 (1898) p. 203.

11) Centralbl. f. Bacteriol. II. Abth. Bd. IV (1898) p. 412.

12) Arch. d'anatom. microscop. T. I (1898) p. 435.

13) Annals of Botany Vol. XII (1898) p. 567.

14) Oesterr. botan. Zeitschr. 1893 Nr. 1.

15) Zeitschr. f. Hygiene Bd. 10 (1891) p. 1.

16) Beiträge z. Morphologie d. Sprosspilze. Inaug. Diss. von Bern Wien 1895.

17) Quarterly Journ. of Micr. Scienc. 1895 p. 243.

Hämatoxylinpräparaten färben lässt, während die Granula besonders Methylenblau, Jodgrün u. a. Anilinfarbstoffe aufnehmen. Das Vorhandensein eines Nucleolus ist von Zalewski, Dangeard, Janssens und Leblanc, Henneguy und Wager behauptet worden; einzelne Forscher wollen selbst eine Kernmembran unterscheiden. Ein Chromatinnetz konnte keiner der genannten Autoren sicherstellen.

Karyokinetische Theilung des Hefezellkerns wurde zuerst von Janssens angegeben.

Wager vertritt bezüglich der Structur des *Saccharomyceten*zellkerns eine eigenthümliche gänzlich neue Ansicht, auf die später zurückzukommen sein wird.

Trotz der nicht geringen Anzahl positiver Befunde herrscht jedoch bezüglich der einzelnen Details keine grosse Uebereinstimmung zwischen den einzelnen Untersuchern, und deshalb unternahm ich auf Veranlassung des Herrn Prof. Dr. F. Czapek eine kritische Nachprüfung, über deren Ergebnisse ich im Nachfolgenden berichte.

Untersuchungsmaterial.

Dasselbe bestand aus folgenden Arten, deren Reinculturen mir aus dem bacteriologischen Laboratorium von Herrn Král in Prag freundlich überlassen worden waren:

Saccharomyces cerevisiae I,
 ellipsoideus I,
 ellipsoideus II,
 Pastorianus I. II und III,
 Ludwigii,
 apiculatus,

ferner *S. glutinis*, dessen Ausgangsmaterial ich von Maiskörnern gewann, käufliche Presshefe, aus einem hiesigen Bräuhaus stammende Bierhefe, *Mycoderma vini* und endlich *Schizosaccharomyces octosporus* (Laboratorium Král).

Als Nährsubstrat diente Bierwürze.

Fixierungsmethoden.

Es ist eine allbekannte Thatsache, dass die verschiedenen als „Fixirmittel“ empfohlenen Substanzen oft sehr weitgehende

morphologische Veränderungen im Protoplasten hervorrufen, die zu verschiedenen Irrthümern in der Deutung der Präparate Anlass geben können.¹⁾ Wie überall, so gilt es auch hier Körper anzuwenden, welche das natürliche Aussehen der lebenden Zelle so wenig als möglich verändern und die später anzuwendende Färbung nicht hindern. Ich habe die Mehrzahl aller in der histologischen Praxis gebrauchten Fixirmittel auf ihre Verwendbarkeit bei der Fixirung von Hefematerial geprüft und kann von allen nur folgende²⁾ empfehlen:

1. vom Rath'sche Lösung
2. Quecksilberchlorid
3. Merkel'sche Lösung
4. Jodjodkalium.

Die übrigen Fixirmittel brachten entweder zu starke Schrumpfung hervor, oder beeinträchtigten die Färbbarkeit in erheblichem Grade, selbst nach sorgfältigem Auswaschen des Fixirmittels.

Starke Schrumpfung und Contraction des Zellinhaltes ruft natürlich auch das Eintrocknenlassen des Materiales auf dem Deckgläschen, mit nachheriger Fixirung durch die Flamme nach Art der Bacterienpräparate, hervor, ein Verfahren, welches von Buscalioni für *Saccharomyces guttulatus* verwendet worden ist

Um den Einfluss einiger Fixirmittel zu demonstrieren, gebe ich in der nachfolgenden Tabelle eine Uebersicht über die Volumsänderungen etc. bei *S. ellipsoideus* unter dem Einflusse verschiedener Substanzen. Die Hefe wurde bei 25° C durch 24 Stunden in Bierwürze gezüchtet, durch Centrifugiren zum Absitzen gebracht, die Nährlösung wurde nun abgegossen, die Hefe mit destillirtem Wasser mehrmals aufgerührt und abcentrifugirt und schliesslich mit der Fixirflüssigkeit digerirt.

Nach 24stündiger Einwirkung des Fixirmittels bei Zimmertemperatur wurde der Hefebrei mit destillirtem Wasser ausgewaschen und mikroskopisch untersucht. Ich füge hinzu, dass Aenderungen der Concentration der einzelnen Mittel keine vortheilhafte Aenderung in der Wirkung bedingen.

¹⁾ Hiezu: A. Fischer. Fixirung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena 1899.

²⁾ Die Recepte nach A. Zimmermann. Die Morphologie u. Physiologie des pflanzl. Zellkerns (1896) p. 2 ff.

Saccharomyce- ellipsoideus I	Anzahl der Theilstriche des Ocularmikrometers Zeiss homog. Immersion 2.0 mm Ap. 1,30 Compens. Oc. 6				Anmerkung
	Zelle		Vacuole		
	Länge	Breite	Länge	Breite	
Lebend	5,1	2,75	2,39	2,13	Zellen prall, Vacuolen deutlich, nur wenige Granula. Protoplasma homogen.
Fixirt mit 2% Osmium- säure	4,47	2,08	1,44	1,44	Farbe bräunlich, Inhalt homogen, wenige Gra- nula. Vacuolen theil- weise nicht sichtbar. Farbstoffe werden nur langsam aufgenommen.
Fixirt mit vom Rath- scher Lösung	5,20	2,91	2,48	2,06	Farbe gelb. Im Proto- plasma sehr feinkörnige Fällung. Vacuolen deut- lich. Leicht färbbar.
Fixirt mit Quecksilber- chlorid	4,70	2,83	1,91	1,54	Farblos. Niederschlag gröber körnig. Vacuole zeigt oft deutliches Netz von Niederschlag. Leicht färbbar.
Fixirt mit Pikrinsäure	5,73	2,75	2,02	1,87	Gelbgefärbt. Sehr grob- körniger Niederschlag Vacuolen oft nicht sicht- bar. Kernfärbung durch die sich färbenden Niederschläge oft ge- stört.
Fixirt mit Jodjodkalium	4,45	2,44	1,48	1,33	Farblos. Vacuole deut- lich. Niederschlag fein- körnig. Gut färbbar.
Fixirt mit Merkel'scher Lösung	5,45	2,35	2,18	1,52	Gelblich. Niederschlag wie in Hg Cl ₂ . Vacuole meist deutlich. Leicht färbbar.

Man ersieht u. a. dass mehrfach eine geringe Volumvermehrung des fixirten Materiales gegen die lebenden Zellen zu constatiren war. Die Zahlen sind das Mittel aus je 12 Beobachtungen.

Schliesslich sei noch erwähnt, dass im fixirten Materiale nicht selten der Zellkern als eine dunklere, dichtere, unscharf begrenzte Masse sichtbar wurde.

Färbungsmethoden.

Bei Benützung der in der Litteratur vorhandenen methodischen Angaben stösst man vielfach auf Schwierigkeiten, weil meistens nur ungenaue approximative Daten bezüglich Concentration der Farblösung, Temperatur, Dauer der Einwirkung vorliegen, und hie und da mögen meine Misserfolge bei der Nachprüfung von Färbungsmethoden auch durch den Umstand bedingt gewesen sein, dass es dahin gestellt bleiben muss, ob ich denselben Farbstoff anwendete, wie der frühere Autor, welcher es versäumte die Bezugsquelle¹⁾ seiner Reagentien anzugeben. Als Kernfärbemittel kommen sehr viele Farbstoffe in Betracht, die freilich bei weitem nicht alle gleich gut geeignet sind. Ferner ist es im allgemeinen bei der Untersuchung des Zellinhaltes von *Saccharomyces* von Vortheil, zu überfärben, und eine nachträgliche Differenzirung unter mikroskopischer Controle anzuwenden.

Directe Färbung bis zur deutlichen Differenzirung gibt nur seltener gute Resultate.

Meine Versuche ergaben, dass man durch verschiedene Anilinfarbstoffe: Fuchsin, Gentiana-violett u. a. in Hefezellen ziemlich leicht einen sich intensiver färbenden Inhaltskörper von nicht scharfer Begrenzung nachweisen kann, welcher offenbar mit dem „Zellkern“ verschiedener Autoren identisch ist. Ein treffendes Bild dieser Verhältnisse liefern Erréra und Laurent in ihren bekannten physiologischen Wandtafeln.

Methylenblau und Jodgrün hingegen färben diesen Inhaltskörper nicht intensiver, sondern werden ungemein stark von den „Granulis“ der Hefezelle gespeichert. Man kann bei einiger

¹⁾ Meine Farbstoffe waren sämmtlich bezogen von Dr. Grübler in Leipzig.

Vorsicht mit Fuchsin-Jodgrünmischung sowohl die Granula als den Zellkern gleichzeitig tingiren. Erstere sind dann dunkelgrün, letzterer roth, wie das Protoplasma, jedoch etwas dunkler gefärbt.

Vorzügliche Dienste leisteten mir bei der Färbung des Hefezellkerns, wie bereits auch vielen meiner Vorgänger, die Hämatoxylinlösungen: Böhmersches Hämatoxylin, und vor allen anderen die Hämatoxylin-Eisenlackfärbung nach Heidenhain.¹⁾

Hämatoxylin-Kupferlackfärbung nach Weigert gab weniger günstige Resultate. Trotz Chromsäurefixirung wurde endlich mit dem Flemming'schen Dreifarbgemisch (in der bekannten Methode des Bonner botanischen Institutes angewendet) nur ein minder guter Erfolg erzielt.

Ich kann als ganz besonders sicher und leicht zum Ziele führend zur Kernfärbung bei Hefezellen demnach vor allen anderen Methoden die Eisenlack-Hämatoxylinfärbung empfehlen, welche sich bei allen geprüften Arten bewährte, und sich bei der Untersuchung verschiedener Entwicklungszustände mit gleich gutem Erfolge verwenden lässt.

Der Vorgang bei der Präparation war folgender:

Die 24 Stunden hindurch bei 25—30° C in Bierwürze cultivirte Hefe wurde nach Auswaschen der Nährlösung in der oben beschriebenen Weise mit einem geeigneten Fixirmittel fixirt.

Ich benützte meistens mit vortrefflichem Erfolge die vom Rath'sche Mischung. Nach Auswaschen des Fixirmittels wurde der aufgeschwemmte Hefebrei gleichmässig auf Deckgläschen in dünner Schichte ausgestrichen und antrocknen gelassen. Diese Deckgläschen liess ich nun in einer Petri-Schale auf einer 2,5% Eisenalaunlösung 6 bis 24 Stunden schwimmen. Nach einmaligem Abspülen mit Wasser wurden sie in eine 0,5% wässrige Hämatoxylinlösung übertragen. Die Dauer der Einwirkung der Beize war innerhalb der angegebenen Grenze ohne Einfluss auf das Resultat. Die Färbungsdauer muss mindestens 24 Stunden betragen; längere Einwirkung des Farbstoffes verlangt später eine entsprechend verlängerte Differenzirung. Die nach 24-stündiger Einwirkung der Hämatoxylinlösung tief schwarz ge-

¹⁾ M. Heidenhain, Ueber Kern und Protoplasma. Festschrift Geh. Rath A. v. Kölliker gewidmet. Leipzig 1892. p. 118 Referirt Ztsch. f. wiss Mikroskop. Bd. IX (1892) p. 204.

färbten Hefezellen wurden nun unter steter mikroskopischer Controle mit einer $\frac{1}{4}\%$ Eisenalaunlösung differenziert, bis der genügende Contrast vorhanden war. Es erschien schliesslich die Zelle fast völlig entfärbt, nur der Kern blieb tief schwarzviolett oder schwarzgrau tingirt. Bei Anwendung der Pikrinfixage erschienen meist auch dunkel tingirte Niederschlagsgranula.

Die Differenzierungsdauer war bei den einzelnen Hefearten ungleich. *Cerevisiae* I, *apiculatus*, *glutinis*, die *Pastorianus*rassen und *Mycoderma vini* waren bereits nach 5 Minuten genügend differenziert, während die beiden *Ellipsoideus*rassen, ferner *Ludwigii* und *Schizosaccharomyces octosporus* einer Zeit von 20—25 Minuten bis zur gewünschten Differenzirung bedurften.

Die Präparate kamen in unverdünntem Glycerin zur Untersuchung.

Die Haltbarkeit derselben lässt anscheinend nichts zu wünschen übrig, indem sie sich 1 Jahr (auf längere Zeiträume erstrecken sich meine Erfahrungen nicht) völlig unverändert aufbewahren liessen.

Andere Beizmittel statt Eisenalaun konnte ich nicht mit Glück anwenden. Tannin, Alaun, Kupfersalze u. a. sind ungeeignet.

An diese Eisenlack-Hämatoxylinmethode reihen sich als die noch relativ besten Methoden an: die von Buscalioni angewendete Böhmer'sche Hämatoxylinfärbung mit Differenzirung mittels Pikrinsäure und endlich die schon 1884 von Strasburger angegebene Hämatein-Ammoniakmethode. Beide Färbungen stehen jedoch an Klarheit und Sicherheit bedeutend der Heidenhain'schen Methode nach.

In historischer Hinsicht sei hervorgehoben, dass bereits 1893 von H. Möller¹⁾ auf die Bedeutung der Eisenlack-Hämatoxylinfärbung für die Untersuchung von Hefezellkernen aufmerksam gemacht worden ist, leider aber ohne nähere detaillirte Angaben. Die neueren Autoren haben anscheinend zu wenig Rücksicht auf diese wichtige Methode genommen.

Ich will noch erwähnen, dass Kernschwarz in Form der Anwendung nach G. Platner²⁾ sich mir für Hefe als Kern-

¹⁾ H. Möller, Berichte der deutsch. botan. Gesellsch. 1893 Bd. 11, p. 409.

²⁾ Zeitschr. für wissenschaftl. Mikroskop. Bd. IV. (1887) p. 350.

färbemittel nicht bewährte, und dass die in neuester Zeit von A. Wagner¹⁾ zur Färbung von Zellkernen bei *Bacterien* vorgeschlagene Methode, Azofarbstoffe innerhalb der Zelle selbst zu erzeugen, ebenfalls keinen Erfolg hatte.

Meine Untersuchungsergebnisse.

Auf Grund meiner Untersuchungsergebnisse muss ich sämtliche *Saccharomyces*-arten und hefeähnliche Organismen, welche ich einer eingehenden Prüfung unterzogen habe, als kernführende Organismen bezeichnen.

Wie besonders die nach vom Rath fixirten und mit Eisen-Hämatoxylin tingirten Präparate lehren, weicht der morphologische Character des Zellinhaltes aller untersuchten Sprosspilze nicht ab von dem Aussehen, welches wir von anderen Pflanzenzellen her gewöhnt sind. Ein protoplasmatischer Wandbeleg schliesst eine grosse, oder auch mehrere durch Plasmaplatten getrennte Vacuolen ein, und an einer Stelle des Protoplasten tritt ein rundlicher, Farbstoff intensiv festhaltender Körper hervor, welchen ich nach seinem ganzen Verhalten als sicheren Zellkern bezeichnen muss. Derselbe liegt entweder in der Zellmitte, oder ist wandständig. Seine Gestalt entspricht einer einseitig ziemlich stark zusammengepressten Kugel, er erscheint also in bestimmten Ansichten elliptisch, in anderen kreisförmig. Die Begrenzung ist scharf, die Oberfläche bei den mit Rath'scher Lösung fixirten Präparaten glatt; in manchen Fällen sind kleine tingirte Fortsätze erkennbar, von denen es fraglich bleibt, ob sie noch dem Kern angehören, oder nicht. Die intensive Ueberfärbung mit nachträglicher Differenzirung bringt es wohl mit sich, dass in den meisten Fällen eine Structur des Kernes sich nicht oder nur mit zweifelhaftem Erfolge aufzufinden lässt. In einzelnen Fällen war wohl deutlich ein kleines dunkles Körperchen im Zellkern zu unterscheiden, welches wohl nur als Nucleolus gedeutet werden kann. (Fig. 4). Bei *S. glutinis* und *Octosporushefe* beobachtete ich um den Zellkern einen deutlich lichter Hof, welchen ich dem Protoplasma zurechnen muss, und über dessen Bedeutung ich bisher keine Klarheit gewinnen konnte.

¹⁾ Referat in Zeitschr. f. wissensch. Mikroskop. Bd. XVI (189 p. 491.

Wager hat in seiner citirten Arbeit eine gänzlich neue und originelle Auffassung des Zellinhaltes von *Saccharomyces* publicirt, die im Wesentlichen darauf hinausgeht, dass Kern und Vacuole ein zusammengehöriges Ganzes darstellen, wobei dem Kern nur die Bedeutung eines Nucleolus zukommt. Ohne diese beachtenswerthe Ansicht des genannten sehr erfahrenen Mykologen ablehnen zu wollen, muss ich doch bekennen, dass ich in meinen Resultaten keine weitere Stütze der Lehre Wager's entdecken kann, und für meinen Theil eher geneigt bin, an der früheren Auffassung der Selbstständigkeit von Kern und Vacuole festzuhalten. Ein Netz von Gerüstfäden in der Vacuole habe ich nach vom Rath'scher Fixirung nicht gesehen, wohl aber nach Sublimatfixirung, mit welcher auch Wager vorzugsweise gearbeitet zu haben scheint. Ich kann dieses „Fadengerüst“ nur als Kunstproduct ansehen, was natürlich nur meine eigenen Präparate betrifft.

Die Natur des Zellkerns tritt auch bei den Sprossungsvorgängen deutlich hervor. Sobald an einer Stelle der Mutterzelle ein kleines Knöpfchen sich gebildet hat, bewegt sich der Zellkern nach dem der Sprossung benachbarten Theile der Zelle hin. Es ist an ihm noch keine Veränderung sichtbar, wenn die junge Sprossung bereits eine ansehnliche Grösse erreicht hat. Dann zerfällt er aber alsbald durch einen Theilungsprocess in zwei Kerne, von denen einer in die junge Sprossung einwandert. Er streckt sich zunächst etwas in die Länge, in manchen Fällen sah ich an beiden Polen dunklere Färbung localisirt, (eine feine Streifung von Pol zu Pol mag als unsichere Erscheinung kurz Erwähnung finden), und es erfolgt eine Trennung in der Aequatorzone, wobei öfters ein dünnes tingirtes Bändchen beide Kerne noch längere Zeit mit einander verbindet. Der eine Tochterkern tritt nun in die neue Sprossung über, der andere verbleibt der Mutterzelle.

Nach den Beschreibungen von Buscalioni an *S. guttulatus* und H. Möller an verschiedenen Hefearten haben diese beiden Forscher offenbar sehr ähnliche Dinge gesehen. Janssens und Leblanc geben an, dass sich der Hefezellkern karyokinetisch theile. Nach den ihrer ausführlichen kürzlich erschienenen Arbeit beigegebenen Abbildung scheinen diese Autoren nicht viel mehr beobachtet zu haben, als ich.

Auch ich möchte glauben, dass wir es hier mit einem karyokinetischen Theilungsprocesse zu thun haben, dessen Typus

jedoch von dem an höheren Pilzen zu beobachtenden vielleicht sogar wesentlich abweicht. Es dürfte jedoch die Aufhellung dieser Verhältnisse noch bessere Färbemethoden verlangen, als jene, über welche wir heute verfügen.

Bemerkenswerth an den Theilungsvorgängen der Hefe, sowie jenen an anderen Sprossmycelien (*Mucor*hefe, *Ustilagineen*-sprosszellen) ferner bei der Sterigmenbildung an Basidien ist jedenfalls die der Kerntheilung vorangehende Einschnürung der Mutterzelle, welche auf eine viel intensivere Initiative des Cytoplasmas bei der Zelltheilung hindeutet, als wir sie bei den höheren Pflanzen finden.

Auch bei der Sporenbildung gelang es mir Kerntheilung nachzuweisen, und es stimmen diesbezüglich meine Erfahrungen vollständig mit jenen Wager's überein. In den reifen Sporen ist ein Zellkern deutlich nachzuweisen. Von besonderem Interesse sind die Vorgänge bei der Sporenbildung von *Schizosaccharomyces octosporus*, die in ihren Grundzügen bereits von H. Schiöning¹⁾ richtig beobachtet worden sind. Dieser Forscher stellte die sehr interessante und wichtige Thatsache fest, dass die Sporenbildung eingeleitet wird durch Vereinigung der Zellkerne der beiden Zellen des vegetativen Stadiums. Der durch Verschmelzung entstandene Kern theilt sich alsbald succedan in 8 Zellkerne, welche den 8 Sporen angehören (Fig. 14—19).

Diese Vorgänge erinnern ausserordentlich an jene Processe, welche der Ascosporenbildung bei den echten Ascomyceten vorangehen, und es erscheint mir nach diesen Erfahrungen fast sicher, dass wir in *Schizosaccharomyces* einen wirklichen Ascomyceten vor uns haben, welcher systematisch den eigentlichen *Saccharomyceten* wohl fern steht.

Ob die bisher der Gattung *Saccharomyces* in der Nähe der zu den „*Hemiasci*“ gerechneten Gattungen eingeräumte Stellung noch haltbar ist, erscheint mir nach den neuesten Untersuchungen von C. Popta²⁾ sehr fraglich, und es erheischt wohl diese Angelegenheit eine erneute Behandlung.

¹⁾ Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet IV. Bd., 1. Heft Kjöbenhavn 1895.

²⁾ Flora 1899 p. 1.

Tafelerklärung.

Sämmtliche Figuren sind entworfen mit Benützung von Zeiss Homogene Immersion Apochromat 2 mm num. Ap. 1,30 und Compens. Ocular 12.

Fig. 1. *Sacch. cerevisiae* I. Verfahren nach Buscalioni.

Fig. 2. *S. Pastorianus* I. } Fixirung: vom Rath'sche Lösung. Eisen-

Fig. 3. *S. Pastorianus* II. } hämatoxylinfärbung.

Fig. 4—10. *S. ellipsoideus* I. Sprossungsstadien. Präparation wie bei Fig. 2—3.

Fig. 11. *S. Pastorianus* III. Dieselbe Präparation.

Fig. 12. *S. glutinis*. Dieselbe Präparation.

Fig. 13. *S. Ludwigii* Sprossungsstadien. Dieselbe Präparation.

Fig. 14—19. *Schizosaccharomyces octosporus*. Verschiedene Stadien der Sporenbildung. Vom Rath'sche Fixirung, Färbung nach Heidenhain.

Fig. 20. *Mycoderma vini*.

Fig. 21. *Saccaromyces apiculatus*. } Dieselbe Präparation.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Lotos - Zeitschrift fuer Naturwissenschaften](#)

Jahr/Year: 1900

Band/Volume: [48](#)

Autor(en)/Author(s): Hoffmeister Camill

Artikel/Article: [Zum Nachweise des Zellkerns bei Saccharomyces 250-262](#)