

Mycologisches Centralblatt, Bd. I, Heft 3/4.

Ausgegeben am 23. April 1912.

Über einen osmophilen Organismus, den Hefepilz *Zygosaccharomyces mellis acidi* sp. n.

Von A. A. V. RICHTER

(Kaiserliche Universität St. Petersburg).

(Mit 4 Abbildungen im Text.)

Im Herbst 1908 wurde meine Aufmerksamkeit auf eine den Bienenzüchtern schon gut bekannte, dieses Mal aber besonders auffallend auftretende Erscheinung gelenkt: der reife, aus den schon zugemachten Zellen herausgeschleuderte Honig wurde sauer, schäumte infolge von CO₂-Ausscheidung und entwickelte einen unangenehmen sauren Geruch. Der Säuerungsprozeß ging sogar im abgesetzten Honig vor sich, d. h. in einem Medium, welches zum größten Teil auskristallisiert war.

Die Besichtigung der Bienenhäuser an Ort und Stelle (Gouv. Kaluga) zeigte unerwarteterweise, daß die Säuerung und Vergärung des Honigs auf dieselbe Weise und vielleicht sogar noch intensiver unmittelbar in den von den Bienen fertig und zugemachten Waben vor sich geht. In der Tat gewährten die von mir herausgenommenen Rahmen einen originellen, für den Bienenzüchter aber traurigen Anblick: die Gasentwicklung in den Zellen war so stark, daß durch den Gasdruck die Deckel emporgeschleudert und ein Teil des Inhaltes herausgepreßt wurde, und der in Gärung geratene Honig in schäumenden Strömen über die Waben floß. Er roch eigentümlich nach Alcohol und Säure.

Ich zweifelte nicht daran, daß diese Säuerung des Honigs als eine originelle biologische Erscheinung aufzufassen war. Die Ungewöhnlichkeit derselben erhellt am besten daraus, daß der sogenannte reife Honig, der von den Bienen in die Zellen gebracht wird und leicht erstarrt, verhältnismäßig sehr wenig Wasser enthält, im Mittel ca. 20%. Die übrigen 80% bestehen beinahe ausschließlich aus wasserlöslichen Stoffen von einfacherem Molecularbau (Glycose, Fructose, Saccharose)¹⁾.

1) Nach KOENIG (Die Untersuchung landwirtschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe, 2. Aufl., 1898, S. 473) schwankt die Zusammensetzung des Honigs in folgenden Grenzen:

	Wasser	Stickstoffsubstanzen	Glycose	Saccharose	Asche
Minimum	10 %	0,03 %	64,10 %	—	0,02 %
Maximum	33,59 %	2,02 %	79,37 %	12,91 %	0,68 %
Mittel	20,60 %	0,76 %	72,88 %	1,76 %	0,25 %

Nach BROWN (Chemical analysis and composition of american honeys 1908) ist die Zusammensetzung des Honigs folgenden Schwankungen unterworfen:

Minimum	} aus 100 Analysen	12,42 %	0,106 %	62,23 %	—	0,03 %
Maximum		26,88 %	0,563 %	83,36 %	10,01 %	1,29 %
Mittel		17,59 %	0,340 %	74,44 %	1,90 %	0,45 %

Mit anderen Worten ist der reife Honig eine außerordentlich concentrirte Lösung mit sehr hohem osmotischem Index. Die darin stattfindenden Gärungsprozesse ließen auf die Anwesenheit eines entsprechend angepaßten Organismus schließen, welcher hochkonzentrierte Lösungen verträgt oder sogar bevorzugt.

Es muß betont werden, daß der Inhalt der vollkommen normal verschlossenen Honigzellen vollkommen frei von lebenden Keimen ist. Davon haben mich sowohl meine eigenen, als auch die von FR. KOLLEGORSKAJA auf meinen Vorschlag ausgeführten Aussaatversuche überzeugt. Ob hier irgend ein organisches Antisepticum (Ameisensäure?) oder die langandauernde Wirkung der concentrirten Hexoselösungen als sterilisierendes Agens auftritt, mag vorläufig dahingestellt sein.

Zur Auffindung des in Frage kommenden Organismus wurden zunächst Anreicherungskulturen in Nährlösungen von folgender Zusammensetzung unternommen:

Wasser	1 l
KH ₂ PO ₄	1 g
MgSO ₄	1 g
Pepton	10 g
Glycose	360 g

Nachdem sich die Keime deutlich vermehrt und einen Bodensatz im Kolben gebildet hatten, wurde ihre Trennung in Plattenkulturen auf derselben Nährlösung mit 12^o/_o Gelatinezusatz durchgeführt.

Die Oberfläche der Platten erwies sich mit langsam wachsenden vollkommen einheitlichen Kolonien eines kleinzelligen Sproßpilzes bedeckt. Andere Organismen fehlten in den Plattenculturen vollständig, abgesehen von *Penicillium* und *Aspergillus*, welche sich als zufällige Luftinfection am Rande der Petrischalen ansiedelten. Man konnte also mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß der kranke Honig von einem einzigen Microorganismus inficiert war. Dieser Schluß wurde durch öfters wiederholtes Plattengießen aus dem Rohmaterial bestätigt. In allen Fällen wurde nämlich ein und derselbe Organismus erhalten.

Der isolierte Organismus weist einige charakteristische morphologische Merkmale auf, nach denen sich seine Stellung unter den Sproßpilzen bestimmen läßt.

Erstens fällt die geringe Größe der einzelnen Zellen auf, welche im allgemeinen nach Form und Größe wenig variieren. Sie sind kugelförmig bis schwach elliptisch und messen nicht über 5,5 μ , gewöhnlich nur 3—4 μ im Durchmesser. Wenn man berücksichtigt, daß die Zellen unserer Culturhefen gewöhnlich etwas über 10 μ messen, so fällt die Kleinzelligkeit unseres Organismus sofort in die Augen. Auf Fig. 1 ist der Microorganismus des sauren Honigs mit den Zellen des *Saccharomyces Pastorianus* HANSEN zusammen nach einer microphotographischen Aufnahme reproducirt. Man kann daraus das Größenverhältnis beider Organismen beurteilen. Verlängerte Zellen werden von ihm nicht gebildet, auch nicht bei langem Aufenthalt in alten Nährlösungen, wie das für viele Sproßpilze, unter anderem auch für den nahestehenden *Zygosaccharomyces Priorianus* KLÖCKER charakteristisch ist.

Die einzelnen Zellen sprossen rasch an einigen Punkten ihrer Oberfläche aus; diese Tochterzellen sprossen ihrerseits mehrfach, ohne aus

dem Verbande losgelöst zu werden. In günstigen Nährsubstraten ist die Sprossung so lebhaft, daß die Cultur wie eine Ansammlung von Sandkörnern aussieht, welche beim Schütteln des Culturegefäßes die Flüssigkeit trüben, ohne ihren Zusammenhang zu verlieren. Ein typisches Bild dieser Wachstumsweise gibt Fig. 2, welche nach einer microphotographischen Aufnahme unseres Organismus in flüssigem Nährmedium ausgeführt ist.

Die Temperaturgrenzen der Sprossung sind ziemlich weit gezogen: die obere liegt bei 40° , die untere etwas unter 10° . Das Optimum ist relativ hoch — zwischen 30 und 35° . Auf festen Substraten bildet der Organismus feuchte, gleichmäßig conturierte Bezüge, welche allmählich eine feinkörnige Struktur annehmen. In flüssigen Culturmedien bildet der Organismus einen dünnen ringförmigen Wandbelag, welcher mit der Konzentration der Nährlösung zunimmt. Hautbildung wurde niemals bemerkt. Im Ring und auch auf der Oberfläche der Gelatine- und Agar-culturen (mit Honig) bilden sich Sporen in größeren und eigentümlich gestalteten Zellen: die Größe der Sporen erreicht $3,5$ und sogar $4,5 \mu$. Schon die äußere Form der sporenbildenden Zellen läßt eine vorhergehende Copulation zweier Zellen vermuten. Diese Erscheinung ist für die von BARKER¹⁾ aufgestellte Gattung *Zygosaccharomyces* charakteristisch. In der Tat konnte durch genauere Untersuchungen



Fig. 1.

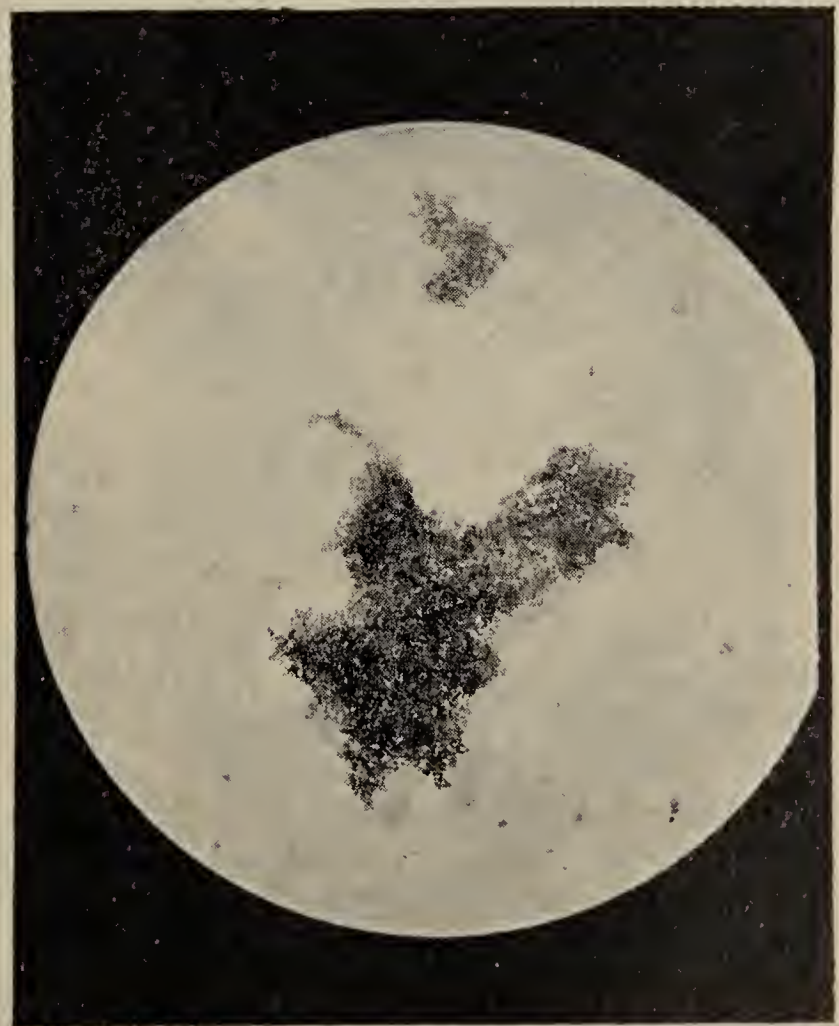


Fig. 2.

1) BARKER, Sexual spore formation among the *Saccharomyces*. Annals of Botany, 1901. — Idem, A conjugating yeast. Phil. Trans. of the Roy. Soc. of London, 1901, Serie B, 194.

einiger Fälle zweifellos festgestellt werden, daß von zwei Hefezellen zuerst Copulationsauswüchse einander entgegenwachsen (Fig. 3a) und dieselben dann zu einer großen sporenbildenden Zelle verschmelzen (Fig. 3b, c, d).

Die Gattung *Zygosaccharomyces* zählte bisher zwei Arten: *Z. Barkeri* SACCARDO et SYDOW und *Z. Priorianus*, welcher unlängst von KLÖCKER¹⁾ beschrieben wurde.

Es war natürlich von großem Interesse, diese beiden Organismen mit dem neu isolierten zu vergleichen. Als Vergleichskriterium wurde zunächst das Gärvermögen der Honighefe gegenüber verschiedenen Kohlenhydraten gewählt. Die einfache und bequeme Methode von LINDNER²⁾ ergab klare Resultate. Diese Methode besteht bekanntlich darin, daß in

die Vertiefung eines hohlgeschliffenen Objektträgers ein

Wasser- oder Hefedekottropfen getan und eine Platinoße der Hefecultur hinzugefügt wird. Dann wird der Tropfen vorsichtig mit einem Deckglas unter Vermeidung von Luftblasen zugedeckt und die Glasränder mit Vaseline umgeben. Wenn die Hefezellen die zugegebene Zuckerart zu vergären imstande sind, so bilden sich unter dem Deckglase

Kohlensäurebläschen, deren Größe die Energie des Gärungsprozesses bestimmt; das Fehlen der Gasblasen weist darauf, daß die betreffende Zuckerart von der Hefeart nicht angegriffen wird.

Die Versuche zeigen, daß unser *Zygosaccharomyces* Glycose, Fructose und Saccharose energisch, Galactose schwächer vergärt; Maltose,

Lactose, Raffinose und Dextrin bleiben unberührt. Diese Angaben genügen schon, um die Selbständigkeit unserer Art festzustellen. In der Tat zeigen die Angaben von KLÖCKER, daß *Zygosacch. Barkeri* Dextrose und Saccharose, aber nicht Maltose und Lactose, die andere Art dagegen — *Z. Priorianus* — Dextrose und Maltose, aber nicht Saccharose und Lactose vergärt. Eine genauere Untersuchung wurde auf meinen Vorschlag von FR. KOLLEGORSKAJA ausgeführt. Die Culturen der obengenannten Hefen wurden dazu von der „Centralstelle für Pilzculturen“ der Botanischen Association bezogen. Die Resultate dieser Untersuchung sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

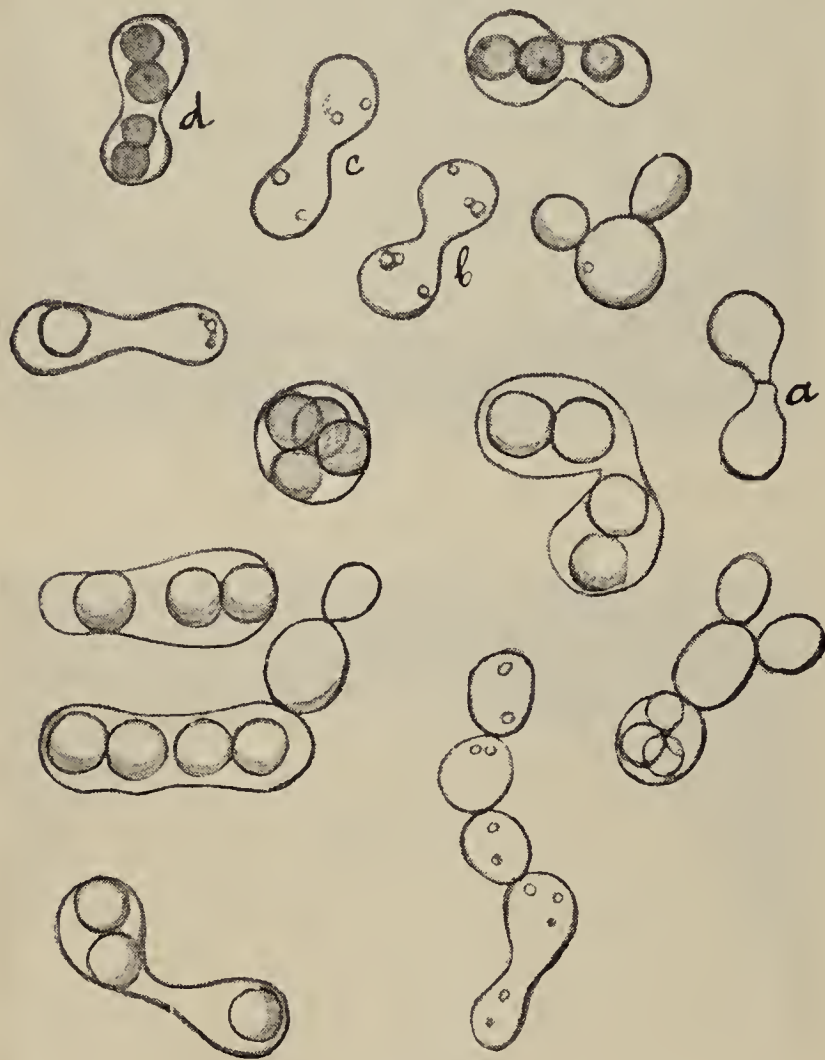


Fig. 3.

1) KLÖCKER, ALB., Die Gärungsorganismen, 2. Aufl., 1906, S. 265.

2) LINDNER, Microscopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben, 1905.

Hefeart	Dextrose	Saccharose	Maltose	Lactose	Raffinose
<i>Z. Barkeri</i>	+	+	—	—	+
<i>Z. Priorianus</i>	+	+	+	—	+
<i>Z. nov. sp.</i>	+	+	—	—	—

Diese Resultate weichen zwar von den KLÖCKERSchen ein wenig ab, erlauben uns aber, die Hefe des sauren Honigs als eine selbständige, wenn auch den anderen sehr nahe Art zu betrachten. Es mag erwähnt werden, daß *Z. Priorianus* von KLÖCKER aus dem Organismus der Honigbiene isoliert wurde. Der Vergleich der Culturen sowohl in Flüssigkeiten, als auch besonders der Riesenkolonien auf Zuckeragar lieferte neue Anhaltspunkte für die Trennung der drei Arten. Das verschiedene Verhalten gegenüber hoch concentrirten Lösungen spricht ebenfalls für die Verschiedenheit der drei kopulierenden Hefearten.

Deshalb hielt ich es für angebracht, eine neue Art der Gattung *Zygosaccharomyces* aufzustellen, und sie nach ihrem Fundort *Zygosaccharomyces mellis acid* zu nennen.

Als charakteristisches Merkmal unseres Organismus muß seine Fähigkeit zum Wachstum auf so hoch concentrirten Lösungen, wie Bienenhonig, angesehen werden. Die gewöhnlichen Concentrationen, in welchen unsere Hefen gezüchtet werden, schwanken zwischen 5 und 15% Zucker (Glycose oder Saccharose), d. h. in Molen zwischen $\frac{1}{7}$ und $\frac{5}{6}$ Mol. In diesen Grenzen liegt das Concentrationsoptimum für die Hefezellen. So findet ARCHLEB¹⁾ das Optimum bei 14% Saccharose, BROWN²⁾ bei 15° Ball., STERN³⁾ bei 12,5—15% Zucker. Eine weitere Steigerung der Concentration schwächt die Wachstumsenergie der Zellen ab, ohne zunächst die Gärungsenergie zu unterdrücken. Die Hefen können sehr hohe Concentrationen vertragen; so gibt DUBOURG⁴⁾ für *Sacch. Zopfii* 70% Zucker als Grenzconcentration für die Vermehrung der Zellen an. LAURENT⁵⁾ sagt, daß Bier- und Weinhefe ihre Vermehrung in Lösungen einstellt, welche auf 100 g 60 g Saccharose, Dextrose oder Dextrin enthalten.

LINDNER⁶⁾ isolierte zwei Arten: *Sacch. farinosus* und *Sacch. Bailii* aus Würze von 53—54° Ball., WILL⁷⁾ gibt für *Torula* 76% Saccharose als Grenzconcentration an, und WEHMER⁸⁾ sah seine eigentümliche Hefe noch in 24% Kochsalzlösungen wachsen.

1) ARCHLEB, J., Über den Einfluß der Concentration der Nährflüssigkeit auf die Vermehrung der Alcoholfermente und den Vergärungsgrad, 1887.

2) BROWN, A. J., Influence of oxygen and concentration on alcoholic fermentation. Journ. of the Chem. Soc., 1892.

3) STERN, A. L., The nutrition of yeast. Transactions of the Chemical Society, 1906.

4) DUBOURG, E., De la fermentation des saccharides. Compt. Rend., 1899, 125.

5) LAURENT, E., Études biologiques. Ann. Soc. belge de Microsc., 1890, 14, 29.

6) LINDNER, P., *Saccharomyces farinosus* und *Sacch. Bailii*. Wochenschr. f. Br., 1894, 9, 153.

7) WILL, H., LAFAR, Technische Mycologie, 1897, 715.

8) WEHMER, C., ibidem.

Für andere Organismen können die Concentrationsgrenzen noch höher sein; so fand BRUHNE¹⁾ für den Pilz *Hormodendron Hordei* die kolossal hohe Grenze von 110% Saccharose und 77% Glycose; ESCHENHAGEN²⁾ für *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum* 53—55% Gewichtsprocente Glycose, KLEBS³⁾ für *Eurotium repens* bis 100% Zucker, REINHARDT⁴⁾ für *Peziza* bis 60% Saccharose.

Viele Bakterien zeigen ebenfalls ein erstaunliches Anpassungsvermögen an hochconcentrierte Lösungen. So verträgt *B. vernicosum* ZOPF⁵⁾ 70 bis 80% Saccharose.

Etwas empfindlicher sind Algenarten⁶⁾, obgleich auch hier einige einzellige Arten eine große Resistenz aufweisen. So vertrug in ARBARIS' Versuchen *Stichococcus bacillaris* bis 30% Glycose und wuchs in 25% Zuckerlösung; für Saccharose lagen diese Grenzen bei 40—48%; die Conidienzellen von *Xanthoria parietina* entwickelten sich auf 18—20% Glycose und 38—40% Saccharose. KRÜGER⁷⁾ fand für *Chlorothecium saccharophilum* 30% Glycose als obere Concentrationsgrenze, für *Chlorella protothecoides* bis 20% Saccharose und für *Prototheca Zopfii* bis 30% Glycose. Ähnliche Zahlen führt RICHTER⁸⁾ in seiner Arbeit über die Anpassung der Algen an concentrirte Kochsalzlösungen an.

Wenn wir uns nun von den Literaturangaben zu den Existenzbedingungen unseres Hefepilzes wenden, so sehen wir, daß hinsichtlich der Concentration — d. h. des osmotischen Druckes — diese Bedingungen sehr ungünstig sind. In dem vom Pilz vergorenen Honig sind, wie schon früher erwähnt wurde, ca. 70—80% Glycose enthalten, d. h. 4—5 Mol. im Liter. Der osmotische Druck dieser Lösung beläuft sich auf 80—100 Atmosphären. Und dennoch zeigt unser Organismus eine lebhaftere Vermehrung, wobei er den Honig ansäuert und vergärt. Es entsteht unwillkürlich die Frage, ob wir nicht einen Pilz vor uns haben, welcher sich an die hohe Concentration des Nährmediums organisch angepaßt und seine Cardinalpunkte in bezug auf osmotische Verhältnisse sozusagen verschoben hat.

Um diese Frage einigermaßen aufzuklären, wurden Culturen mit verschiedenen concentrirten Nährlösungen angesetzt. Der Mineralgehalt der Lösungen war der obenerwähnte, außerdem wurde Glycose oder eine andere osmotisch wirksame Substanz in wechselnden Mengen zugesetzt. Zum Ende des Versuches wurde das Trockengewicht der in unwägbarer Menge ausgesäten Hefezellen, die ausgeschiedene Kohlensäuremenge, der Alcohol und die Säure bestimmt.

1) BRUHNE, Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen, herausg. von ZOPF, 4. Heft, 1894.

2) ESCHENHAGEN, Über den Einfluß von Lösungen verschiedener Concentration auf das Wachstum von Schimmelpilzen. Diss. 1889.

3) KLEBS, Die Bedingungen der Fortpflanzung usw., 1896.

4) REINHARDT, M. O., PRINGSH. Jahrb. 1892, 23.

5) ZOPF, W., Beiträge zur Morphologie und Physiologie niederer Organismen, 1892.

6) ARTARI, A., Der Einfluß der Concentrationen der Nährlösungen auf die Entwicklung einiger grüner Algen. I. PRINGSH. Jahrb. 1904, 40, 593.

7) KRÜGER, Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen, herausg. von ZOPF, 4. Heft, 1894.

8) RICHTER, A., Über die Anpassung der Süßwasseralgen an Kochsalzlösungen, 1892.

Über einen osmophilen Organismus, den Hefepilz *Zygosaccharomyces mellis acidi* 73

Versuch I.

Cultur des *Z. mellis acidi* auf Glycose von $\frac{1}{2}$ N bis 4 N. Versuchsdauer 30 Tage.
Temp. + 35°. 50 ccm Nährlösung.

Glycoseconcentration	$\frac{1}{2}$ N	1 N	2 N	3 N	4 N
Trockengewicht	130,4	168,6	160,8	224,4	179,6 mg

Versuch II.

Versuchsdauer 15 Tage. Temp. + 28°. 100 ccm Nährlösung. Das übrige wie oben.

Glycoseconcentration	$\frac{1}{2}$ N	1 N	2 N	3 N
Trockengewicht	190,5	220,7	228,9	296,5 mg

Versuch III.

Die Nährlösung enthält: 1 N Glycose und verschiedene Mengen von Glycerin.
Versuchsdauer 15 Tage. Temp. + 28°. 100 ccm Nährlösung.

Glycerinconcentration (außer Glycose)	1 N	2 N	3 N
Hefetrockengewicht	199,0	196,0	192,1 mg

Versuch IV.

Die Lösung enthält: 1 N Glycose und verschiedene Mengen von Kaliumsalpeter.
Versuchsdauer 15 Tage. Temp. + 28°. 100 ccm Nährlösung.

Salpeterconcentration (außer Glycose)	1 N	2 N	3 N
Hefetrockengewicht	188,2	120,6	30,5 mg

Versuch V.

Die Lösung enthält: Glycose 1 N und verschiedene Mengen von $\text{MgSO}_4 (+ 7 \text{H}_2\text{O})$.
Versuchsdauer 15 Tage. Temp. + 28°. 100 ccm Nährlösung.

Magnesiumsulfatconcentration (außer Glycose)	1 N	2 N	3 N
Hefetrockengewicht	214,8	280,5	240,3 mg

(Diese Versuchsergebnisse sind in der Tabelle S. 74 zusammengestellt.)

Man sieht, daß die Concentrationen von 2 N und 3 N die Vermehrung der Hefe nicht im entferntesten deprimieren, sondern im Gegenteil besonders hohe Ernten erzeugen. Nur die Salpeterlösungen (Kurve IV) zeigen einen raschen Abfall beim Steigen der Concentration. Weiter soll eine Reihe von CO_2 -Bestimmungen angeführt werden, welche in Culturen des *Z. mellis acidi* auf verschiedenen Concentrationen angeführt wurden.

Versuch VI.

Lösung in Apparaten von CHUDJAKOW-RICHTER. 10 ccm Nährlösung. Kaliapparat. Versuchsdauer 12 Stunden. Temp. + 28°.

Concentrationen = $\frac{1}{2}$ N Glycose	1 N Glycose	3 N Glycose	
CO_2 ausgeschieden	22,8	36,7	39,7 mg
Concentrationen	1 N Glycose + 2 N MgSO_4	1 N Glycose + 2 N KNO_3	
CO_2	39,1	12,4 mg	

Versuch VII.

Gärungskölbchen mit MEISSLSchem Verschuß und Bunsenventil. Versuchsdauer 25 Tage. Temp. + 30°. 75 ccm Nährlösung.

Concentrationen = $\frac{1}{2}$ N Glycose	2 N Glycose	4 N Glycose	
CO_2	0,830	4,28	4,34 g

In einem Teil der Flüssigkeit wurde nach Abschluß des Versuchs der Alcohol bestimmt; auf 75 ccm berechnet betrug seine Menge:

Alcohol	0,983	4,34	2,82 g
Säuremenge, auf Essigsäure berechnet	0,1305	0,3937	0,3825 g

Aldehyde waren nicht nachweisbar. Das Destillat hatte einen deutlichen Essigsäuregeruch.

Wie aus den angeführten vorläufigen Versuchen zu ersehen ist, haben wir es in dem neuen Hefepilze mit einem originellen biologischen Typus zu tun, welcher hohe Concentrationen nicht nur gut verträgt, sondern sogar gewissermaßen vorzieht. In der Tat steigt sowohl das Trockengewicht, als auch die Menge der producierten Gärungsprodukte mit der Concentration der Lösung, wobei das Optimum ungefähr in 3 N-Lösungen erreicht wird. Dieser Concentration entspricht aber ein osmotischer Druck von ca. 70 Atmosphären! Es ist interessant auf die ungewöhnliche

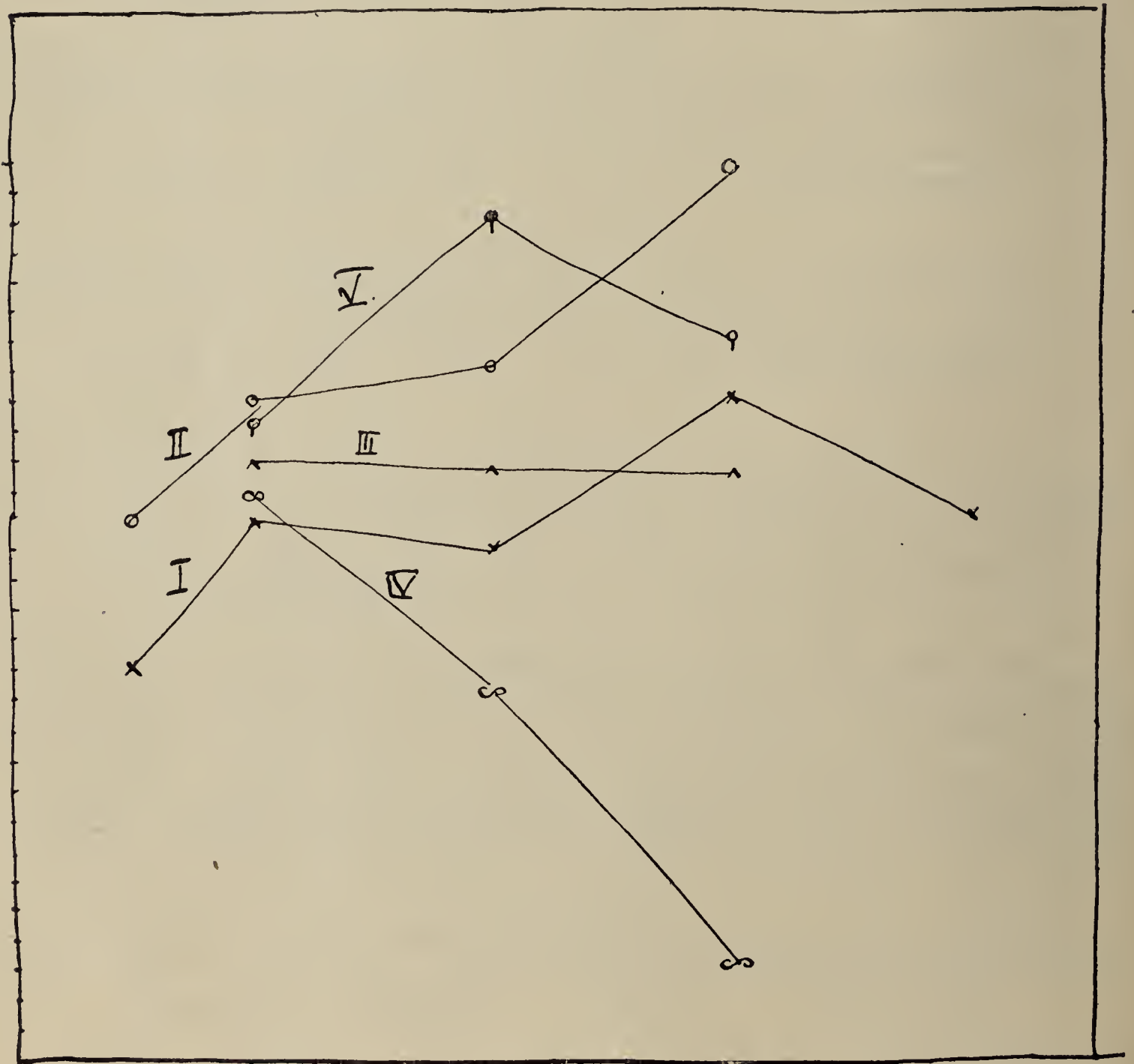


Tabelle. (Zu den Versuchen S. 73.)

Resistenz unseres Organismus gegenüber schroffen Concentrationsänderungen aufmerksam zu machen: Die Aussaat wurde immer aus $\frac{1}{4}$ N-Zuckerlösung gemacht und trotz dieses Sprunges von $\frac{1}{4}$ N auf 1—4 N-Lösungen ging die Vermehrung des Pilzes und die Vergärung des Zuckers ohne jede merkliche Störung vor sich.

Mit anderen Worten ist bei unserem Pilze die Resistenz gegen hohe Concentrationen so groß, daß wir ihn mit vollem Recht als einen speziell in dieser Richtung angepaßten osmophilen Organismus betrachten dürfen.

Über die Biologie unseres Organismus in natürlichen Bedingungen kann noch folgendes gesagt werden. Der *Zygosaccharomyces mellis acidi* und der ihm nahestehende *Z. Priorianus* KLÖCKER sind wahrscheinlich im Haushalte der Honigbiene und ihrer honigsammelnden Verwandten ständige Gäste. KLÖCKER isolierte seinen Pilz aus dem Körper dieser Insekten; ich konnte in einer Bienenzüchterei eine wahre Epidemie des sauren Honigs beobachten. Die leichte Übertragbarkeit dieser Organismen und ihre große Resistenz sichern ihnen wohl eine allgemeine Verbreitung. Und dennoch kommen solche Erscheinungen, wie die Säuerung und Vergärung des Honigs lange nicht so oft vor, wie man das erwarten könnte. Im Bienenhause sind immer günstige Bedingungen für die Entwicklung unseres Pilzes vorhanden: Die Bienen bringen zweifellos mit ihrer Beute eine genügende Menge von Hefezellen, um den Honig zu infizieren. In den Honigzellen findet der Pilz passende, wenn auch hohe Honigconcentrationen. Die hohe Temperatur (30—37°) des Bienenhauses entspricht genau seinem Temperaturoptimum. Und dennoch bleibt der Honig in gewöhnlichen Verhältnissen nicht nur unvergoren, sondern auch, wie oben erwähnt, vollkommen steril.

Es bedarf augenscheinlich eines besonderen Anstoßes, damit die fortwährend stattfindende Infection zu einer üppigen Entwicklung der Hefe und einer Vergärung des Honigs führen kann. Worin besteht nun dieser Anstoß?

Wenden wir uns wieder zu unseren Culturversuchen und werfen wir zugleich einen Blick in die Protokolle des Bienenstandes von 1908. Einerseits müssen wir constatieren, daß die vorzügliche Entwicklung unseres Pilzes in Lösungen mit genügendem Stickstoffgehalt — 1% Pepton — vor sich ging; andererseits wurde im Jahre 1908 das Auftreten von sogenanntem Honigtau, besonders auf Linden (*Tilia*), in großem Maßstabe festgestellt. Diese süßen Ausscheidungen der zu den Aphiden gehörenden Blattläuse wurden von den Bienen gierig gesammelt und bildeten an einigen Tagen den Hauptprocentsatz der Beute. Mit diesem „Honig“ wurden natürlich zahlreiche Organismenkeime in die Waben verschleppt, welche aber dank der hohen Concentration des Honigs nicht zur Entwicklung kommen konnten; eine Ausnahme machte nur der osmophile *Z. mellis acidi*. Den Anstoß zu seiner Entwicklung muß wohl der hohe Gehalt des Honigs an complicierten Stickstoffverbindungen gegeben haben. In der Tat enthält der normale Blumenhonig Stickstoffverbindungen: die Angaben schwanken zwischen 0,1—0,5% Eiweiß¹⁾; in den aus „Honigtau“ bereiteten Honigsorten ist dagegen der Stickstoffgehalt ein viel höherer. Von solchen Honigsorten spricht zweifellos KÖNIG²⁾, wenn er als maximalen Gehalt an Stickstoffverbindungen 2,02% anführt. Die Analysenergebnisse von HEFELMANN³⁾ und RAUMER⁴⁾ weisen noch höhere Zahlen auf: der gewöhnliche Lindentauhonig enthält nach ihnen 2,78—3,40% Eiweißverbindungen.

1) Cp. Schweizer Lebensmittelbuch.

BRÄUTIGAM, Pharm. Zeitung, 1902.

BROWNE, Chemical analysis and composition of american honeys 1908.

2) KÖNIG, l. c.

3) HEFELMANN, Pharm. Centralhalle, 1894.

4) RAUMER, Zeitschr. analyt. Chemie, 1902.

Dieser Honig bietet also den eingeführten Pilzsporen ganz besonders günstige Entwicklungsbedingungen durch seinen hohen Gehalt an leicht assimilierbaren Stickstoffverbindungen. Vielleicht wirken auch die Eiweißstoffe sozusagen als Gegengift gegenüber den von den Bienen in den Honig eingeführten Antiseptics. Diese günstigen Bedingungen sind es wohl, welche die Entwicklung des einzigen an hohe Concentrationen angepaßten Organismus — unseres *Z. mellis acidi* — befördern, und als deren Folge das Aufschäumen und Sauerwerden des Honigs auftritt.

Zur Morphologie und Physiologie von *Rhizopus Delemar*, dem Pilz des neueren Amylo-Verfahrens.

Von J. HANZAWA aus Sapporo (Japan).

(Mit 13 Abbildungen im Text und 2 Tabellen.)

(Aus dem Laboratorium für Technische Bacteriologie des Techn.-Chem. Instituts der
Kgl. Techn. Hochschule Hannover.)

Über den von BOIDIN als *Mucor Delemar* in das Amylo-Gärverfahren eingeführten technischen Pilz ist bislang Näheres nicht veröffentlicht, es ist nur der Name in die zutreffendere systematische Bezeichnung *Rhizopus Delemar* umgewandelt, auch darauf hingewiesen, daß die neue Art mindestens sehr schwer von anderen *Rhizopus*-Species zu unterscheiden ist¹⁾. Herr Prof. USAMI aus Tokio hat sich schon längere Zeit mit dem vergleichenden Studium dieses *Rhizopus* im hiesigen Laboratorium beschäftigt, die Ergebnisse aber noch nicht ausführlich publiciert. Einige Beiträge zu seiner Kenntnis, welche die auf Vorschlag von Herrn Prof. C. WEHMER begonnene weitere Untersuchung lieferte, scheinen deshalb von Interesse, auch die noch fehlende Diagnose habe ich zu geben versucht.

Der Pilz dient — wie vorausgeschickt sein mag — bekanntlich zur technischen Stärkeverzuckerung im sog. „Amylo-Verfahren“, Darstellung von Alcohol aus stärkehaltigen Materialien, insbesondere Mais, das in europäischen wie außereuropäischen Ländern in großem Maßstabe durchgeführt wird, so daß Betriebe mit Gärapparaten von 1200 hl Inhalt arbeiten¹⁾, in die der *Rhizopus* als Reincultur aus 1 l-Kolben ausgesät wird. Hier wandelt er in wenigen Tagen die verflüssigte Stärke des zuvor gedämpften Mais in gärfähige Zuckerlösung um. Eine ebensolche Reincultur einer Hefe führt dann die Alcoholgärung durch. Solcher riesigen Gärapparate besitzt die einzelne Amylo-Brennerei 6—12.

Ich habe diese bislang wissenschaftlich fast unbekannte Species zunächst mit einem hierfür aus Mehl isolierten typischen *Rh. nigricans*

1) C. WEHMER, Notiz über *Rhizopus*-Arten, Ber. Botan. Ges 1910, 28, 547—549.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mycologisches Centralblatt. Zeitschrift für Allgemeine und Angewandte Mycologie](#)

Jahr/Year: 1912

Band/Volume: [1](#)

Autor(en)/Author(s): Richter A. A. von

Artikel/Article: [Über einen osmophilen Organismus, den Hefe-pilz *Zygosaeoharomyces mellis aidi* sp. n. 67-76](#)