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

I.
Original-Abhandlungen.

Beweis, dass der Cryptococcus keimfähig und von höheren Pilzformen abhängig ist und Widerlegung der Ansichten der Bary'schen Schule über die Bierhefe.

Erläutert an der Keimungsgeschichte des Typhus-Parasiten, der Bierhefe und anderer Pilze.

Von

Ernst Hallier.

Motto: Sie sagen, es muthet mich nicht an
Und meinen, sie hätten's abgethan.

Bekanntlich ist der Herr College de Bary meinen Arbeiten über die niederen Pilzformen mit einer an Fanatismus grenzenden Leidenschaftlichkeit auf alle Weise entgegengetreten, ohne den geringsten Beweis gegen die Richtigkeit meiner Beobachtungen beibringen zu können. Da indessen auf die Aeusserungen eines Mannes wie de Bary, der sich schon lange vor dem ersten Auftauchen meiner Arbeiten auf mykologischem Gebiet einen Namen erworben hatte, von Manchen viel Gewicht gelegt wird; — denn das Schwören auf des Meisters Wort spielt doch einmal eine grosse Rolle in allen nicht mathematischen Wissenschaften; — so blieb mir gar nichts Anderes übrig, als eine Methode zu erfinden, welche geeignet wäre, nicht nur jede Möglichkeit einer Täuschung auszuschliessen, sondern auch Jedermann die Beweisführung zugänglich zu machen. Das zu erreichen war mir vor zwei Jahren gelungen und ich führte mittelst dieser Methode zunächst den Beweis, dass der Micrococcus keimfähig ist*).

*) Zeitschrift für Parasitenkunde. Bd. II Heft 1.

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

Gegen die Methode und die Beweisfähigkeit derselben konnte Niemand etwas einwenden und die Sache war für diesen einen Cardinalpunkt erledigt.

Für den Herrn Collegen de Bary gab es dieser Darstellung gegenüber nur zwei Wege: Entweder sich der Beweisführung zu unterziehen, die ich jeder wissenschaftlichen Gesellschaft oder Commission vorzuführen bereit bin, — oder einzugestehen, dass sein Angriff auf diesen Theil meiner Arbeiten übereilt gewesen. Beides unterblieb; ich muss daher annehmen, dass der Herr College sich schämt, in dieser Frage den Rückzug anzutreten, nachdem er sich so lebhaft in derselben engagirt hatte.

Für mich war es selbstverständlich, dass ich auf diesem Punkt nicht stehen bleiben und mich nicht damit begnügen konnte, für eine einzige, wenn auch vielleicht die wichtigste aller meiner Beobachtungen, den Beweis geliefert zu haben; — vielmehr erklärte ich schon damals, dass ich nach und nach diesen Beweis für alle einzelnen Beobachtungen liefern würde. Da nun nach meiner sicheren Methode jede einzelne Controlarbeit Wochen, Monate, ja bisweilen Jahre erfordert, so kann begreiflicherweise diesem meinem Versprechen nur nach und nach für jeden einzelnen Punkt Folge gegeben werden; aber ich erkläre Herrn de Bary noch einmal, dass ich ihm nichts in dieser Beziehung schuldig bleiben werde, sofern mein Leben und meine Kräfte ausreichen.

In den letzten zwei Jahren habe ich meine Aufmerksamkeit ganz besonders derjenigen Hefe zugewendet, welche man als Urheberin der alkoholischen Gährung betrachtet. Zwar habe ich bereits in meinen „Gährungserscheinungen“ diesen Punkt bearbeitet; aber einestheils war die Untersuchung nicht ausführlich genug, anderentheils war ich damals noch nicht im Besitz einer solchen Methode, welche es auch demjenigen ermöglichte, die Richtigkeit meiner Angaben einzusehen, der entweder nicht in der Lage oder zu bequem ist, um wirkliche Controluntersuchungen vorzunehmen. Meine Ansichten über die Bierhefe sind noch heutigen Tages genau dieselben wie im Jahr 1867. Ein Unterschied besteht nur darin, dass sie jetzt so sicher begründet sind, dass sich Jedermann von ihrer Richtigkeit überzeugen kann, wenn er nur ernstlich will und nicht wie der Strauss den Kopf in den Busch steckt oder ohne weiter zu prüfen sein „non liquet“ ausspricht.

Die Quintessenz dieser meiner Ansicht über die Bierhefe be-

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

steht bekanntlich darin, dass dieselbe 1) aus kleinen Plasmaklümpchen (Micrococcus) entstehen kann, 2) sich, nachdem sie ausgebildet ist, durch Sprossung vermehrt, 3) unter günstigen Verhältnissen keimfähig ist und sogenannte höhere Pilzbildungen erzeugt, 4) ausnahmsweise und gewissermassen abnorm von höheren Pilzformen durch Sprossung erzeugt werden kann. Es geht also aus dem allen hervor, dass die Bierhefe keineswegs ein einzelliger Organismus ist, sondern vielmehr die einzellige Form eines vielzelligen Pilzes. Wie diese meine Ansicht sich zu früheren Ansichten verhält, das habe ich in jener Schrift*) bereits ausführlich mitgetheilt und verweise, um nicht der Ueberhebung über Andere geziehen zu werden, ausdrücklich auf die kleine geschichtliche Einleitung, welche ich dort vorangeschickt habe. Nur einen Punkt will ich hier noch besonders hervorheben.

H. Hofmann und Bail haben seit einer Reihe von Jahren behauptet, dass man aus der Bierhefe verschiedene Schimmelformen, namentlich Formen aus den alten Gattungen Penicillium und Mucor ziehen könne. Sie glauben auch diese Behauptung durch Versuche erwiesen zu haben. Damit wäre denn zugleich die Keimfähigkeit der Hefe erwiesen.

Ich habe an der Richtigkeit der Angaben dieser beiden Herren in diesem Punkt niemals gezweifelt und habe das auch wiederholt ausgesprochen. Indessen weiss ich nicht, ob diese Herren eine solche Beweisführung in Händen haben, welche Jedermann zur Ueberzeugung bringen kann, der sich von der Wahrheit überzeugen will.

Da ihnen nun offenbar daran liegen muss, hierin völlige Sicherheit zu erhalten, so fordere ich diese Herren speciell auf, mit mir über diese Frage in Verbindung zu treten und erkläre mich durchaus bereit, ihnen meinen Beweis vorzuführen, wenn ich dazu von ihnen Gelegenheit erhalte.

Dass der Micrococcus keimfähig ist, hatte ich nach der mehrfach erwähnten Methode vor zwei Jahren in dieser Zeitschrift am Beispiel des Parasiten der Hundswuth erläutert**). Der Micrococcus im Blut toller Hunde schwillt in passend gewählten Nähr-

*) E. Hallier, Gährungserscheinungen. Untersuchungen über Gährung, Fäulniss und Verwesung mit besonderer Berücksichtigung der Miasmen und Contagien u. s. w. Leipzig 1867.

**) Bd. II. Heft 1. Beweis, dass der Micrococcus keimfähig und von höheren Pilzformen abhängig ist und Widerlegung der leichtsinnigen Angriffe des Herrn Collegen de Bary zu Halle.

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

substraten zu einem kleinzelligen Cryptococcus an; dieser vermehrt sich eine Zeit lang durch Sprossung, kommt dann zum Stillstand; die isolirten kugeligen Zellen schwellen zu Sporoiden an und keimen. Das Keimungsprodukt ist in dem ausgeführten Fall und unter dem dort gewählten Medium eine unreife oder Schimmelform und zwar ein Penicillium.

Zur genauen Präzisirung der ganzen Frage lasse ich nun zuvörderst noch ein ähnliches Beispiel vorangehen, nämlich die Keimungsgeschichte kleiner Pilzzellen, welche sich im Urin eines Typhuskranken vorfanden.

Ich verdanke das Material für diese Untersuchung der Güte des Herrn Dr. Ottmar Hofmann zu Marktsteft bei Würzburg. Der pflanzliche Befund war folgender. Auf der Oberfläche des Urins befand sich eine äusserst zarte Haut, welche aus „Vibrionen“ bestand (Fig. 1 Taf. V.). Dieselben traten theils einzeln auf (m Fig. 1 Taf. V.), theils in längeren oder kürzeren Ketten, „Leptothrix“ der Autoren (k Fig. 1 Taf. V.). Sowohl die einzelnen Cocci als die Kettenglieder waren bald kugelig (m und mk Fig. 1), bald stabförmig oder eiförmig gestreckt (l Fig. 1, k Fig. 1). Die einzelnen Cocci befanden sich theils in Ruhe, theils in der lebhaftesten Bewegung. Diese Bewegung liess keine Deutung als Molekularbewegung zu, denn die Individuen schossen pfeilschnell bunt durch einander im Gesichtsfeld hin und her.

Die Culturen wurden in denjenigen Apparaten vorgenommen, welche in dieser Zeitschrift hinlänglich beschrieben und abgebildet worden sind und welche, da sie die direkte Beobachtung einer einzelnen Zelle während der ganzen Dauer der Cultur, und sollte dieselbe auch Jahre betragen, gestatten, jeden Einwand eines Beobachtungsfehlers oder der mangelnden Continuität völlig ausschliessen.

Ausser den erwähnten „Vibrionen“ fanden sich in dem Typhusurin noch grössere meist kugelige Zellen vor, besonders am Boden des Fläschchens. Sie sehen aus wie sehr kleine Cryptococcus-Zellen und vermehren sich auch sprossend (sp Fig. 1). Sie mögen daher als Cryptococcus bezeichnet werden, wobei ich ausdrücklich hervorhebe, dass ich mich gegen die Ansicht verwahren muss, als setzte ich voraus, der Cryptococcus müsse unter allen Umständen Biergährung oder Weingährung erregen. Der Cryptococcus ist lediglich eine zahlreichen Pilzen zukommende untergeordnete Form, aber man hat gar kein Recht zu der Voraussetzung, dass jeder

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

Cryptococcus Biergährung erzeuge. Es ist also zunächst die Annahme gerechtfertigt, dass der hier erwähnte Cryptococcus von der Bierhefe specifisch verschieden sei, ja, diese Annahme wird gestützt durch die Verschiedenheit dieser Cryptococcus-Zellen von denjenigen der Bierhefe in Form und Grösse.

Die erwähnten Culturen wurden gegen Ende October 1871 eingeleitet und sind bis jetzt ununterbrochen fortgesetzt worden. Die „Vibrionen" kann man leicht, wenn das Substrat nicht zu stickstoffarm gewählt wird, zur Vermehrung veranlassen. Diese ist die gewöhnliche, nämlich die Zweitheilung mit Beibehaltung einer und derselben Theilungsrichtung, also die linien- oder kettenförmige. Die Ketten bleiben aber nur an der Oberfläche, d. h. unter Einwirkung der Luft im Zusammenhang. Diese Entwickelung ist in meinen „Gährungserscheinungen" ausführlich dargestellt und muss ich die Leser ersuchen, dieselbe dort nachzulesen. Schwärmen können diese Vibrionen sowohl im kugeligen als im stabförmigen Zustand. In allen von mir angewandten Flüssigkeiten kommen nun sämmtliche „Vibrionen" nach einiger Zeit zur Ruhe, die Ketten zerfallen in ihre Glieder und alle Cocci runden sich kugelig ab. Jetzt fangen sie alle ohne Ausnahme langsam an zu wachsen und bilden sich zu kleinen Cryptococcus-Zellen aus, denjenigen völlig gleich, welche im Bodensatz des Typhus-Urins vorkommen. Da sie schliesslich jenen an Form und Grösse bis zur Ununterscheidbarkeit gleichen, so wird es vorläufig erlaubt sein, sie für specifisch identisch zu halten. Es soll aber hier zunächst von dem Verhältniss des Micrococcus (nebst Vibrionen, Bacterien u. s. w.) zum Cryptococcus ganz abgesehen werden, damit ich Raum für die heutige Hauptaufgabe: die Untersuchung der Weiterentwickelung des Cryptococcus gewinne.

Der erwähnte Cryptococcus vermehrt sich in passenden Flüssigkeiten sehr energisch; am schnellsten, wenn man die Flüssigkeit stickstoffarm wählt. So entstehen im Gesichtsfeld des Beobachters durch fortgesetzte Sprossung der Zellen kleinere oder grössere Colonieen, wie dergleichen in Fig. 2 Taf. V. abgebildet sind. Diese Vermehrung geht so rapide von Statten, dass in wenigen Tagen der ganze angewendete Flüssigkeitstropfen mit einer grossen Colonie erfüllt ist. Bei vorsichtiger Regulirung der Feuchtigkeit der Luft wird indessen der Tropfen von der Hefe völlig aufgezehrt und man kann nun, besonders am Rande der Colonie, jede Veränderung controliren, die mit den Hefezellen vor sich geht.

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

Früher oder später tritt unter allen Umständen Keimung der Cryptococcuszellen ein und wenn die Cultur nicht allzu unvorsichtig geführt wurde, so geschieht das schon nach wenigen Wochen. Die Zellen hören auf zu sprossen und man erblickt nur einen Haufen kugeliger völlig getrennter Zellen von der in Fig. 3 Taf. V. angedeuteten Beschaffenheit. Sie liegen eine Zeit lang unverändert, um dann zu keimen. Die Grösse dieser Zellen ist in der Regel etwas verschieden, aber auch die grössten von ihnen erreichen nicht die Grösse der gemeinen Bierhefezellen. Vor der eigentlichen Keimung strecken sich die Zellen etwas in die Länge, was bisweilen auch schon während der Sprossung eintritt, wie Fig. 4 Taf. V. versinnlicht.

Es sei hier gleich nochmals hervorgehoben, dass die Art und Energie der Entwickelung solcher niederen Pilzformen in allen bekannten Fällen abhängig ist von den Feuchtigkeitsverhältnissen und von der chemischen Mischung des Nährbodens. Eins ist so wichtig wie das andere und bei Vernachlässigung eines dieser beiden Momente kann man sich nicht wundern, wenn die Culturversuche resultatlos bleiben.

Ich versuchte auch hier eine abermalige Lösung der Frage nach dem Bedarf der Hefepilze an stickstoffhaltigen Substanzen. Ich habe schon in meinen „Gährungserscheinungen" den Nachweis geführt, dass man blosse Zuckerlösung nicht in Gährung versetzen kann durch Zusatz von Hefe, weil die Hefezellen der Stickstoffverbindungen zu ihrer Weiterentwickelung bedürfen. Aber ich liess mich die Mühe nicht verdriessen, unter grösster Vorsicht und nach den neuesten Verbesserungen an meiner Methode auch mit dem erwähnten kleinzelligen Cryptococcus Versuche anzustellen. Da zeigte sich denn die vollste Bestätigung der oben ausgesprochenen Ansicht. Die Versuche wurden zuerst in meiner Camera humida ausgefürt. In einer reinen Lösung von Stärkezucker in destillirtem Wasser vermehrte sich der Cryptococcus ungemein langsam und spärlich, etwas energischer schon, wenn die Lösung in gekochtem Brunnenwasser stattfand. Zusatz von phosphorsauren Ammoniak beschleunigte aber das Wachsthum und die Vermehrung der Hefe ungemein.

Diese Versuche wurden dann in grösseren gegen Eindringen von Staub geschützten Probirgläsern wiederholt und genau mit demselben Erfolg. Für denjenigen, welcher ähnliche Versuche anzustellen wünscht, sei bemerkt, dass die Quantität der angewen-

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

deten Hefe unter allen Umständen ein winziges Minimum sein muss. Es genügt, die Aussaat mittelst einer feinen Nadel vorzunehmen, deren äusserste Spitze man in die zu prüfende Hefe getaucht hat. In einem grösseren Glasgefäss wurde eine solche Aussaat in eine Lösung von Zucker und phosphorsaurem Ammoniak vorgenommen. Der Versuch begann am 2. November. Schon am 13. November hatte sich die ganze Flüssigkeit durch Hefebildungen getrübt und hatte einen sehr intensiven unangenehmen Geruch angenommen.

Ein ähnlicher Versuch mit Bierhefe hatte denselben Erfolg, nur ging die Hefebildung langsamer von Statten.

Dann wurden dieselben Versuche mit einer reinen Lösung von Zucker in destillirtem Wasser angestellt. Es bildete sich in dem Glas mit dem Cryptococcus des Typhus nur ein geringer Anflug von Arthrococcus an der Oberfläche und später eine schwache Schimmelbildung. Die Flüssigkeit blieb klar. Bei dem Versuch mit Weissbierhefe war das noch mehr der Fall. Zwei volle Monate nach der Aussaat zeigt sich die Flüssigkeit völlig klar und nur am Rande sieht man an der Oberfläche einige wenige Schimmelbildungen. Diese Verhältnisse werden bei einer anderen Gelegenheit ausführlich erörtert werden; hier habe ich sie nur erwähnt, weil sie bei den Culturen wohl beachtet werden müssen, da ihre Vernachlässigung den ganzen Erfolg in Frage stellt. Will man die Hefezellen zur Keimung bringen, so darf, wie aus Obigem klar ersichtlich, der Stickstoffgehalt der Nährflüssigkeit nur ein geringer sein, da Stickstoffreichthum die Hefebildung begünstigt.

Die Keimung trat bei den von mir angestellten Culturen am 3—5. Tage ein; wenn aber der Stickstoffgehalt zu gross war, weit später und bei einigen Culturen ist sie noch jetzt, nach länger als 2 Monaten, nicht eingetreten oder bei anderen noch im ersten Stadium begriffen. Am schönsten trat die Keimung in derjenigen Cultur ein, welche in meinem mikroskopischen Tagebuch (Fol. 126) mit No. 102 bezeichnet ist. Die Figur 5 Taf. V. giebt eine Abbildung der zuerst beobachteten Keimungszustände am Nachmittage des 3. Tages nach der Aussaat. Man sieht die Hefezellen theils noch kugelig, theils gestreckt, theils gestreckte Sprossen treibend und, da diese mit der Zelle in Verbindung bleiben, Hormisciumartige Bäumchen bildend. Zahlreiche isolirte Zellen aber sieht man einen oder zwei Keimschläuche treiben. Die Weiterentwickelung geht sehr langsam von Statten. Am 5. Tage fanden sich Keim-

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

linge vor wie die Fig. 6 abgebildeten. Die Keimfäden verzweigen und verästeln sich vielfach, aber es dauert Monate, bevor sie anfangen zu fructificiren. Wir werden über das Produkt dieser Keimung später bei Gelegenheit einer ausführlichen Darstellung des Typhusparasiten referiren. Hier sollte zunächst nur die Keimfähigkeit der als Cryptococcus sprossenden Zellen nachgewiesen werden.

Von der absoluten Sicherheit und Bündigkeit der Beweisführung kann sich Jeder leicht überzeugen. Nun könnte man glauben, diese Beobachtung stände vereinzelt da und meine Angabe, dass alle bis jetzt beobachteten Cryptococcus-Formen keimfähig sind, sei übertrieben. Ich theile deshalb noch ein Beispiel mit, auf einen Pilz bezüglich, der in der ganzen Art seines Vorkommens von jenem Typhusparasiten wesentlich abweicht.

Herr Medicinalrath Haubner in Dresden hatte die Güte, mir durch freundliche Vermittelung des Herrn Collegen Zürn, Haare und Borken von einem aus Frankreich zurückgekehrten Pferde zu übersenden, welches eine Hautkrankheit mitgebracht und damit schon andere Pferde angesteckt hatte. Herr Medicinalrath Haubner hatte die Krankheit mit Erfolg auf Schafe übertragen. Ueber die Diagnose der Krankheit äusserte derselbe sich nicht, bemerkte aber, dass er bei Pferden bisher nur den Favus-Pilz beobachtet habe. Ferner theilte er mit, Herr Professor Richter habe dieses Vorkommniss untersucht und die pflanzlichen Gebilde für dieselben erklärt, welche bei Porrigo decalvans und bei der Bartflechte des Menschen vorkommen und welche in Frankreich sehr häufig wären.

Mittlerweile höre ich vom Herrn Collegen Zürn, dass demselben die Uebertragung des Parasiten auf andere Thiere gelungen sei, und dass er dadurch einen ausgeprägten Favus erzeugt habe.

Ich kann mir natürlich über die Krankheitsdiagnose um so weniger ein Urtheil erlauben, als ich die geimpften Thiere nicht einmal gesehen habe und mich überhaupt in dieser Frage nicht für competent halten kann. Was aber den Pilz anlangt, so ist derselbe wesentlich verschieden von allen denjenigen Vorkommnissen, welche mir renommirte Mediciner unter dem Namen Favus zugestellt haben, und welche meiner Abhandlung über den Favus theilweise als Untersuchungsmaterial zu Grunde lagen. Auf dieses Material glaube ich schon deshalb einiges Vertrauen setzen zu dürfen, weil die darin vorgefundenen Pilze vollständig übereinstimmen

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

mit den verschiedenen vom Favuspilz (Achorion Schönleini) von verschiedenen Autoren gelieferten Abbildungen, während die Vorkommnisse im Haubner'schen Material von allen diesen Abbildungen wesentlich abweichen.

Erstlich habe ich bei'm Favus niemals Mycelien oder sonstige Pilzbildungen im Haarkanal gefunden; vielmehr wird das Haar nur hie und da vom Mycelium des Achorion umsponnen und höchstens dringen einzelne Zweige unter das gelockerte Oberhäutchen ein. Bei'm Haubner'schen Vorkommniss sind dagegen manche Haare ganz erfüllt von Ketten kleinerer oder grösserer Pilzzellen und es hat in dieser Beziehung dieser Pilz weit mehr Aehnlichkeit mit dem Trichophyton tonsurans, dem Parasiten des Herpes tonsurans, für dessen Untersuchung mir sehr schönes Material von der Jenaischen Klinik und ausserdem von Herrn Dr. Weisflog und anderen Dermatologen zu Gebote stand. Für die Authenticität dieses Materials kann ich nur anführen, dass der Pilz mit der Abbildung in Malmsten's Dissertation gänzlich übereinstimmt. Der Haubner'sche Pilz gleicht dem Trichophyton auch darin, dass die Mycelbildung geringfügig ist, dass vielmehr die ganze Pilzbildung fast lediglich besteht aus Haufen von Zellen, welche an manchen Stellen und namentlich im Haarkanal deutlich kettenförmig gereiht sind und eine Zweitheilung bei gleichbleibender Theilungsrichtung besitzen. Bei'm Favuspilz spielt aber gerade die reiche Mycelentwickelung die Hauptrolle und die Keimzellen entstehen nur durch Zerfall der Enden der Mycelzweige*). Indessen möchte ich doch nicht wagen, den vorliegenden Pilz für Trichophyton zu erklären, denn erstlich können darüber überhaupt nur Culturen entscheiden und zweitens sind doch auch ziemlich auffällige Unterschiede vorhanden. Jedenfalls aber ist von allen mir bekannten Hautparasiten das Trichophyton tonsurans Malmsten der einzige, mit welchem Haubner's Pilz Aehnlichkeit hat.

Es liegen Haufen von bald kugeligen, bald eiförmigen Zellen von sehr verschiedener Grösse (S. Figg. 7. 8. 9 Taf. V.) auf und zwischen den Epidermiszellen. Die kleineren Zellen sind meist

*) Der Herr College Zürn theilt mir mündlich mit, dass er Mycelbildungen in grosser Menge gefunden habe. Ich kann natürlich nur über denjenigen Theil das Materials ein Urtheil fällen, welchen ich selbst untersucht habe. Möglich ist es ja immerhin, dass der Pilz des Favus neben demjenigen auftritt, den ich hier beschreibe und der vom Favuspilz zuverlässig ganz verschieden ist.

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

kugelig, die grösseren oft eirund. In einem Haufen sind entweder alle Zellen nahezu von gleicher Grösse, oder man findet alle möglichen Zwischenstufen wie auf der Epidermiszelle in Fig. 9. Man erhält sehr deutliche Bilder durch Aufweichen der Borken in Aetzkali oder besser noch in Aetznatron. Die Haufen bestehen oft aus vielen hunderten von Individuen und zeigen, besonders wenn sie kleinzellig sind, eine grünliche oder bräunliche Färbung und zwar ganz deutlich schon bei gerade durchfallendem Lichte. Auch diese Färbung zeichnet das Trichophyton aus. Bei den von mir untersuchten Fällen von Herpes tonsurans zeigte sich aber keineswegs ein so grosser Unterschied in der Grösse und Gestalt der Zellen; indessen kann das ja möglicherweise vom Stadium der Krankheit abhängen. Sämmtliche Zellen sind sehr glänzend wie diejenigen des Trichophyton. Die hie und da, aber in meinen Präparaten immer nur spärlich vorkommenden Mycelbildungen sind meist sehr zart, von der Dicke der kleinsten Zellen, seltener dick wie bei'm Favuspilz. Im Innern des Haarkanals treten die kleinen Zellen in ungeheuren Massen auf, meist so massenhaft, dass die kettenförmige Vermehrung nicht mehr deutlich sichtbar ist. Dabei zerstören sie die ganze Haarsubstanz. Bei'm Trichophyton sind die im Haar befindlichen Ketten durchschnittlich meist grosszelliger. Bei unserem Pilz sind überhaupt die kleinsten Zellen weit häufiger und massenhafter entwickelt als die grösseren. Auch für diesen Pilz behalte ich mir vor, ausführlichen Aufschluss zu geben über seine specifische Natur sowie über sein Verhältniss zu den Pilzen, welche bei anderen Hautkrankheiten, insbesondere bei Favus und Herpes tonsurans vorkommen.

Hier soll zunächst seine Weiterentwickelung, insbesondere seine Keimung dargestellt werden.

Bringt man die erwähnten Zellen in destillirtes Wasser, so bilden sie durch Sprossung Cryptococcus aus (Fig. 10 Taf. V.). So entstehen Haufen von Cryptococcus-Zellen in der Flüssigkeit, welche sich rasch vergrössern. Da man nun auch in den Borken einzelne Zellen in sprossendem Zustand findet, so ist es sehr wahrscheinlich, dass die erwähnten Ketten auf die nämliche Weise entstehen; indessen mag dieser Punkt vorläufig noch dahingestellt bleiben. Nach kurzer Zeit hört die Sprossbildung auf, die kugeligen Zellen trennen sich von einander, ruhen noch kurze Zeit, vergrössern sich noch etwas und keimen. Die ersten Keimungsstadien zeigt die Figur 11 der Tafel V. In wenigen Tagen bilden die Keimlinge

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

ein reich verzweigtes Mycel, dessen Fructificationen ich später ausführlich beschreiben werde.

Es genügt für meinen heutigen Zweck, den Nachweis geführt zu haben, dass diese Cryptococcus-Zellen keimen und ein Mycelium erzeugen, analog wie diejenigen des Typhus-Parasiten. Nur soviel sei noch hinzugefügt, dass das Mycelium ein ganz eigenthümliches characteristisches Gepräge trägt und durchaus keine Aehnlichkeit mit demjenigen eines gewöhnlichen Schimmelpilzes hat. Bevor ich nun zur Beschreibung der Keimung der Bierhefe übergehe, sei noch die Keimungsgeschichte eines Brandpilzes mitgetheilt, weil diese ganz besonders lehrreich ist für das Studium der Bedingungen der Keimung der Pilze überhaupt. Es gilt hier zunächst ganz allgemein, dass Keimzellen (Conidien) und Sporen von Pilzen weit leichter zur Keimung zu bringen sind als Hefezellen.

Ich wähle dazu den gemeinen Staubbrand: Ustilago carbo Tul. Es sind zwar über die Keimung dieses Parasiten schon zahlreiche Untersuchungen veröffentlicht, insbesondere von Tulasne, Julius Kühn, H. Hoffmann und mir*), aber von einer Erschöpfung dieses scheinbar so kleinen Thema's kann noch keine Rede sein. Die früheren Beobachter hatten auf den Einfluss der äusseren Verhältnisse gar keine Rücksicht genommen; ich war der Erste, der in der Phytopathologie zeigte, dass die Keimung einen ganz verschiedenen Verlauf nehme, jenachdem sie in der Luft oder in einem flüssigen Medium stattfinde. Aber nur unvollständig hatte ich den Einfluss verschiedener chemischer Mischung des flüssigen Mediums beobachtet. Diese ist aber, wie sich neuerdings herausgestellt hat, äusserst beträchtlich. Es lassen sich hier zunächst drei Fälle unterscheiden: 1) Das Nährsubstrat ist reich an Stickstoffgehalt neben Kohlenhydraten. 2) Das Nährsubstrat ist arm an Stickstoff aber reich an Kohlenhydraten. 3) Das Nährsubstrat ist destillirtes Wasser oder gekochtes Brunnenwasser. Der erste Fall ist für die rasche Weiterentwickelung am ungünstigsten. Ich habe in Fig. 12 Tafel V. eine ganze Reihe von Keimlingen des Ustilago carbo dargestellt, welche ich auf einer diluirten Lösung von Zucker und phosphorsaurem Ammoniak gezogen habe. Fig. 12 e, f, g, h zeigt die ersten Stadien der Keimung. Es wird ein Keimschlauch getrieben (e, f, g) oder zwei (h) oder noch mehre

*) Phytopathologie. Die Krankheiten der Culturgewächse. Leipzig 1868.

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

(Fig. 12). Der Schlauch zerfällt in lanzettlich-längliche Glieder (d, i, k Fig. 12). Unter jedem Glied können Seitensprossen hervorgetrieben werden (so z. B. n, o, p, q, r, t, w, y, z, ac, ab Fig. 12). Diese Sprossen haben ebenfalls lanzettliche, seltener eiförmige oder kugelige Gestalt. Die Glieder können dasselbe Gesetz sprossender Verzweigung wiederholen (ac, y, x Fig. 12). Nach einiger Zeit lösen sich die meisten Glieder ab. Sie machen nun noch einige neue Sprossen, aber es dauert sehr lange, monatelang, bevor auf diese Weise eine merkliche Vermehrung der Zellen zu Stande kommt. Zuletzt keimen die Zellen; aber von der Keimung und deren Produkt wollen wir hier vorläufig absehen. Es sollte nur auf die Analogie zwischen diesen Keimlingen und den Hefebildungen aufmerksam gemacht werden.

Das Ansehen der von den Keimlingen abgestossenen und in dem Substrat langsam fortsprossenden Gliederzellen, habe ich in Fig. 13 Taf. V. wiedergegeben.

Wesentlich verschieden gestaltet sich aber die Keimung bei Anwendung einer Lösung von Zucker in destillirtem Wasser als Nährsubstrat. Die Keimung tritt hier wie im vorigen Fall erst spät ein, meist erst am 8. bis 10. Tage nach der Aussaat. Anfänglich sind die Keimschläuche ganz normal gestaltet (Fig. 14 Taf. V.). Aber schon 24 Stunden nach dem ersten Hervortreten des Keimschlauchs haben sie sich wesentlich verändert. So hatten die beiden Keimlinge von Fig. 14 am folgenden Tage die Gestalt von Fig. 15 angenommen. Seitliche Sprossung kommt im Ganzen wenig vor, aber der ganze Keimschlauch zerfällt in eine Anzahl stabförmig gestreckter Zellen. Diese trennen sich sofort von einander und vermehren sich in der Zuckerlösung mehre Tage mit grosser Rapidität durch Sprossung, so dass grosse Haufen von hefeartigen Zellen entstehen, wie Fig. 16 einige veranschaulicht. Die Fortpflanzuug dieser hefeartigen Zellen durch Sprossung währte vom 24. bis zum 31. December. Am 1. Januar trat bei fast sämmtlichen Zellen die Keimung ein, wofür Fig. 17 Taf. V. einige Beispiele mittheilt. Am 3. Januar waren die Keimschläuche meistens schon vielfach verästelt. Die Keimfäden sind stets merklich dünner als die Keimzellen selbst, was aus den Figg. 17 und 18 deutlich ersichtlich ist. Fig. 18 zeigt einige der kleineren Keimlinge so, wie sie am 3. Januar erschienen. Der Unterschied in der Entwickelung der Keimlinge auf einem stickstoffreichen und stickstoffarmen Medium besteht also darin, dass im ersten Fall

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

dicke und kurze Keimzellen (Fig. 12) abgeschnürt werden, welche nur sehr langsam hefeartig sprossen (Fig. 13) und erst nach sehr langer Zeit keimen. Bei einer meiner Aussaaten ist seit dem 11. November noch keine Keimung eingetreten. Es influiren bei diesen Culturversuchen offenbar zwei Momente, nämlich: die flüssige Beschaffenheit des Nährbodens und seine chemische Mischung.

Was den ersten Punkt betrifft, so ist dafür zu berücksichtigen, dass in den hier verwendeten Apparaten nur ein kleines Tröpfchen Nährflüssigkeit verwendet wird; — man kann hier also keine Micrococcus-Bildung erwarten, welche nur dann eintritt, wenn Sporen tief untergetaucht werden. In den Culturapparaten, welche hier zur Verwendung kommen, wird natürlich die Spore und ihr Keimling unmittelbar von der Luft beeinflusst. Die Micrococcusbildung wird demnächst einer besonderen Erörterung unterworfen werden. Vor der Hand muss ich auf meine „Phytopathologie“ und auf die Arbeiten in den „Landwirthschaftlichen Versuchsstationen“ hinweisen, wo die Entstehung des Micrococcus aus Sporen nachgewiesen worden.

Aber auch in dem kleinen Culturtropfen macht das flüssige Nährsubstrat seinen Einfluss auf die Keimlinge geltend, wie sogleich gezeigt werden soll. Zur Erörterung dieses Punktes wurde eine grosse Reihe von Culturen in destillirtem Wasser und von solchen in feuchter Luft ohne irgend ein Medium angestellt. Der Erfolg dieser beiden Culturreihen war ein ganz verschiedener.

Zunächst ist in beiden Fällen die Keimungszeit wesentlich abgekürzt, woraus man wohl schliessen darf, dass bei der normalen Keimung der Brandspore die normale Umgebung feuchte Luft oder reines Wasser sind. Es vergehen nur so viele Tage von der Aussaat bis zur Keimung wie bei'm Vorhandensein von Kohlehydraten und Ammoniaksalzen oder von jenen allein Wochen verstreichen. Gewöhnlich trat die Keimung (bei gewöhnlicher Zimmertemperatur im Winter) schon am 2. Tage nach der Aussaat ein.

Das erste Stadium der Keimung ist das schon bekannte Hervortreten eines einfachen Keimschlauchs (Fig. 19 Taf. V.). Dieser entwickelt sich ganz verschieden weiter, je nachdem die Spore im Wasser liegt oder nicht. Ist das erste der Fall, so zerfallen die Keimschläuche schon am folgenden Tage oder in noch kürzerer Zeit in eine Anzahl eirunder-lanzettlicher oder fast stabförmiger Zellen, wie Fig. 20 Taf. V. zeigt. Fast immer verzehrten die Keimlinge das Nährtröpfchen, in welchem sie sich befinden, binnen

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

wenigen Tagen, ja bisweilen schon am ersten Tage. Das ist niemals der Fall, wenn das Tröpfchen Zuckerlösung oder ausserdem ein Ammoniaksalz enthält. Sobald das Wasser absorbirt ist, keimen die abgeschnürten und abgestossenen Zellen sofort, indem sie sich einfach nach beiden Seiten verlängern. Verharren sie dagegen in der Flüssigkeit, so fangen sie an zu sprossen und bilden Massen von hefeartigen Zellen (Fig. 21 Taf. V.), nicht unähnlich denjenigen, welche in der Zuckerlösung entstehen, aber stärker lichtbrechend. Sobald sie trocken liegen, keimen sie ebenfalls.

Wenn die Keimlinge den Flüssigkeitstropfen schon im Lauf des ersten Keimungstages völlig absorbirt haben, so unterbleibt das Zerfallen in solche Keimzellen zunächst ganz und es tritt genau diejenige Keimungsform ein, welche stattfindet, wenn die Sporen in feuchter Luft keimen, wodurch bewiesen ist, dass dabei der Luftzutritt das einzig Massgebende ist. Diese Keimung in der Luft weicht von allen bisher geschilderten darin wesentlich ab, dass zunächst gar kein Zerfallen in Zellen eintritt, sondern die Bildung eines oder mehrer langer Keimschläuche, welche sich vielfach verästeln.

Das erste Keimungsstadium (Fig. 22 Taf. V.) ist das gewöhnliche. Die Fig. 22 zeigt die Keimlinge 24 Stunden nach der Aussaat. In Fig. 24 sind solche am 3. Tage nach der Aussaat dargestellt. Es tritt jetzt schon der charakteristische Unterschied hervor. Statt nämlich in Glieder zu zerfallen, wachsen die Keimschläuche vielmehr in die Länge und verzweigen sich, statt die Seitenzellen abzustossen. Weit deutlicher wird das am 4. Tage nach der Aussaat (Fig. 24 Taf. V.). Es wird jetzt die Gliederung der Schläuche (g Fig. 24) deutlich sichtbar. Dieselben können lange Zeit einfach bleiben (g Fig. 24) oder sie treiben hie und da unterhalb einer Scheidewand lange Zweige (z Fig. 24), die sich abermals verzweigen u. s. f. Eine Spore treibt einen Schlauch (g Fig. 24) oder zwei (x Fig. 24) oder 3 Schläuche (y Fig. 24). Diese Keimung ist wohl eigentlich, weil sie in feuchter Luft ohne Zutritt tropfbar flüssigen Wassers stattfindet, als die normale aufzufassen. Am 5. Tage nach der Aussaat hat sich das Ansehen der Keimschläuche (Figg. 25—27 Taf. V.) wesentlich verändert. Die Gliederung ist jetzt überall sehr deutlich und die Glieder zeigen grosse Verschiedenheit. Ein Theil derselben nämlich, und zwar vorzugsweise die Endglieder (eg Figg. 25—27) sind mit dichtem, glänzendem, undurchsichtigem Plasma erfüllt. Häufig ist das-

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

selbe mit interstitiellen Gliedern (ig Fig. 27) oder mit Anfangsgliedern (ag Figg. 25 u. 26) der Fall. Dazwischen kommen Glieder vor, welche fast alles Plasma verloren haben (lg Figg. 25—27) und daher sehr blass und durchsichtig aussehen. In der Regel schrumpfen sie etwas zusammen. Dieses Schicksal trifft vorzugsweise die Anfangsglieder der Keimlinge und ihrer Zweige, niemals die Endglieder. Nur in diesen leergewordenen Gliedern ist die Zellwand ohne Weiteres deutlich sichtbar. Ausserdem erblickt man in diesen leeren Gliedern in regelmässigen Abständen eine Anzahl von glänzenden Körnern, vielleicht Ueberreste des Plasma, was noch näher zu untersuchen ist. Oeltropfen scheinen es nicht zu sein. Hier kommt nun wieder ein sehr interessanter Beweis für die Abhängigkeit dieser Keimungsform von der atmosphärischen Luft vor. Wenn nämlich in einer Cultur durch Temperaturschwankungen das Deckglas, auf welchem sich die Keimlinge befinden, beschlägt, so zerfallen in den dadurch sich bildenden kleinen Tropfen destillirten Wassers die plasmareichen Partieen der Keimlinge sofort in ihre einzelnen Zellen.

Wir behalten uns die Darstellung des Beweises für die specifische Natur der Keimlinge des Ustilago, d. h. für den Zusammenhang dieser Pilzspecies mit Formen, die man bisher zu anderen Species gerechnet hat, vor und verweisen sich dafür Interessirende vorläufig auf die „Phytopathologie“.

Bei dieser Gelegenheit ersuchen wir aber Herrn Professor Dr. Julius Kühn, Direktor der landwirthschaftlichen Academie zu Halle, welcher neben Tulasne der competenteste Richter in dieser Frage ist, meine Untersuchung mit aller Strenge der Kritik zu prüfen und womöglich mir Gelegenheit zu bieten, ihm den Beweis für die Richtigkeit aller hier über Ustilago gemachten Angaben selbst vorzuführen.

Alles Bisherige betrachten wir nur als eine nothwendige Vorarbeit für die eigentliche Aufgabe: Die Lösung der Frage über die Keimfähigkeit und den Ursprung der Bierhefe. An dieser Frage habe ich auf's Neue seit zwei Jahren gearbeitet. Es kommt hier zunächst vor allen Dingen darauf an, sich eine völlig reine Bierhefe zu verschaffen. Das ist nicht so leicht wie Manche glauben und die Misserfolge und groben Täuschungen des Herrn Dr. Rees's in diesem Punkt sind hauptsächlich dem Umstand zuzuschreiben, dass er mit unreiner Hefe und ohne die nothwendigen Cautelen gearbeitet hat. Substrate wie Rüben, Mohrrüben u. s. w.

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

wie Herr Reess sie anwendet, sind ganz verwerflich. Wir fordern hier vor allen Dingen ein durchsichtiges Substrat und die continuirliche Beobachtung.

Reine Hefe habe ich aus thüringer Brauereien selten erhalten, weil hier meist leichte halb oder ganz obergährige Biere gebraut werden. Die Oberhefe ist aber niemals rein. Man muss zu den ersten beweisenden Culturen fraglos Unterhefe von schweren untergährigen Bieren nehmen. In diesem Bestreben kam mir Herr Gruber, Besitzer einer grossen Brauerei bei Strassburg sehr freundlich entgegen, indem er mir mehrfach alle seine Hefesorten einsandte. Der Krieg unterbrach leider gänzlich meine Verbindung mit Herrn Gruber: seine Brauerei wurde bombardirt und es dauerte lange, bis ich erfuhr, dass er wieder thätig sei. Nun sandte er mir auf's Neue von den reinsten Hefesorten und es sind alle meine früher gemachten Studien im Winter nochmals in aller Strenge geprüft worden, so dass ich für die im Folgenden zu machenden Angaben unantastbare Beweise beibringe. Herrn Gruber gebührt für die freundliche Unterstützung meiner Arbeit die öffentliche Aussprache meines wärmsten aufrichtigen Dankes.

Die reinste Hefe, welche ich in der Umgegend von Jena erhielt, war eine Weissbierhefe, wie sie die Bäcker verwenden; aber diese zeigte sich bei Bezug von derselben Quelle nicht immer von gleicher Güte und es gelang mir nicht, in hiesiger Gegend eine Brauerei ausfindig zu machen, welche die Hefe constant rein und kräftig lieferte. Indessen gelangen einige Culturen überaus gut und nur auf diese beziehe ich das zunächst Folgende. Es ist für alle Arbeiten über Hefe durchaus im Auge zu behalten, was ich oben über den Einfluss der Luft, des flüssigen Mediums und seiner chemischen Mischung gesagt habe; ja für die Bierhefe kommen diese Punkte noch weit mehr in Betracht. Da Hefezellen überhaupt schwieriger keimen als andere Pilzzellen, so ist demnächst absolut nothwendig, dass man sie in feuchter Luft cultivire ohne Anwendung irgend eines Nährbodens. Das ist aber keineswegs so leicht wie man glauben könnte. Man könnte meinen, es genüge, eine winzig kleine Quantität Hefe unter dem Deckglase in der Camera humida zu cultiviren. Solche Versuche führen aber deshalb zu keinem befriedigenden Resultat, weil die Hefe aus der gährenden Flüssigkeit stammt, folglich den Hefezellen noch ein Rest dieser Flüssigkeit anhaftet. Ausserdem ist es aber auch unerlässlich, die einzelnen Hefezellen von einander zu trennen, denn

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

nur an isolirten Zellen lässt sich die Keimung sicher beobachten und verfolgen. Es giebt hier nur ein Mittel, diesen Schwierigkeiten zu begegnen, das ist die Cultur in destillirtem Wasser unter besonderen Cautelen. Diese bestehen darin, dass man den Feuchtigkeitsgrad der Luft in der Camera humida genau regelt.

Wenn nämlich die Hefe, so wie sie aus der Gährflüssigkeit stammt, zur Cultur unter dem Deckglase verwendet wird, so setzt sich die Hefebildung fort, weil die den Hefezellen anhaftende Flüssigkeit zu concentrirt ist. Das muss vor allen Dingen vermieden werden, denn wenn auch in solchem Fall einzelne Hefezellen, die mit der Luft in Berührung kommen, keimen, so stört doch die sich bildende Hefe so sehr die Beobachtung, dass es meist unmöglich ist, zu constatiren, wie ein Keimling aus einer Hefezelle entsprungen ist.

Bringt man aber die Hefe in destillirtes Wasser in der Camera humida bei mit Feuchtigkeit gesättigter Luft, so treten analoge Erscheinungen auf, wie bei der Keimung von Ustilago im destillirten Wasser oder, wenn die Hefezellen zu tief untergetaucht sind, tritt gar keine Keimung, sondern nur neue Hefebildung ein.

Man erinnere sich daher der Cautelen, die ich für Keimungsversuche mit Brandpilzen angegeben habe und der Erfolg wird ein völlig gesicherter sein. Für diesen speciellen Zweck sind die Hilgendorf'schen Zellen besser geeignet als meine grössere Camera humida.

Die Keimung tritt am 3. bis 7. Tage ein (im Winter bei gewöhnlicher Zimmertemparatur). Vor der Keimung strecken sich die Hefezellen in die Länge und absorbiren das destillirte Wasser. Hat man nun Sorge getragen, dass nicht durch zu feuchte Luft in der Camera neues Wasser gebildet werden kann, so ist die Keimung gesichert.

Gehen wir nun zuvörderst zur speciellen Analyse der in dieser Hinsicht von mir angestellten Versuche über. Weissbierhefe keimte schon am 3. Tage nach der Aussaat und zeigte die in Fig. 28 Taf. VI. ausgeführte Beschaffenheit. Am folgenden Tage, also am 4. nach der Aussaat, hatten die Keimlinge das Ansehen wie in Fig. 29. An nassen Stellen des Deckglases fährt aber die Hefe fort zu sprossen und bildet hormisciumartige Bäumchen (Fig. 30 Taf. VI.). Nicht selten verzehrt sie nach den ersten Sprossbildungen das Wasser, worin sie liegt und dann keimen sofort die gebildeten Sprosszellen aus (Fig. 31 Taf. VI.), ein neuer Beweis da-

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

für, dass die Hefesprossung zunächst von der flüssigen Beschaffenheit des Nährbodens abhängt.

Die Keimfähigkeit der Hefe ist sonach ganz sicher constatirt. Dass man aber die Keimung sehr leicht übersehen kann, ist aus den peniblen Cautelen sofort klar, welche man bei den auf Keimung abzielenden Culturen zu beachten hat. Es gilt hier wieder genau dasselbe wie für die Keimungsversuche mit Brandpilzen, nur in weit höherem Grade.

Dafür zunächst ein Beispiel. Cultivirt man die Weissbierhefe in einer Lösung von Zucker und phosphorsaurem Ammoniak, so fahren die Hefezellen fort zu sprossen, aber äusserst langsam. Dabei bleiben sie nach Art eines Hormiscium im Zusammenhang, wie das stets der Fall ist, wenn die Luft Zutritt hat. So bilden sich in den ersten Monaten der Cultur zierliche Hormiscium-Bäumchen, wie sie in Fig. 32 Taf. VI. abgebildet sind.

Aehnlich ist der Erfolg, wenn man bloss Zuckerlösung anwendet. So zeigt Fig. 33 eine Hefe (Unterhefe) von Herrn Gruber am 8. Tage nach der Aussaat in eine Lösung von Zucker in destillirtem Wasser. Die Vermehrung der Zellen ist in der reinen Zuckerlösung weit rapider. Ausserdem heben sich die sprossenden Zellen in der Flüssigkeit empor, schweben und schwimmen darin, so dass sie theilweise mit der Oberfläche des Deckglases in Berührung treten. Dabei sieht man keine Kohlensäurebläschen an diesen Zellen haften, welche etwa als Vehikel dienen könnten; es muss vielmehr die hebende Kraft im Stoffumsatz und in den durch den Stoffwechsel hervorgebrachten Strömungen gesucht werden. Diese Hebung der Hefezellen ist der Grund davon, dass in der Zuckerlösung die Hefe weit mehr die Beschaffenheit des Cryptococcus cerevisiae beibehält und seltner Hormiscium-Bäumchen bildet wie in Fig. 34, denn die Hebung bewirkt ja Annäherung an das Deckglas und Entfernung von der Luft. Es finden nun bei beiden eben erwähnten Culturreihen noch andere Veränderungen der Hefezellen statt, die ich aber erst nach der vollständigen Vorerörterung der darauf bezüglichen Verhältnisse am Schluss dieser ganzen Darstellung eingehend beleuchten kann. Befindet sich die Hefe ohne irgend ein Substrat auf dem Deckglas, so kann zweierlei eintreten, jenachdem die Hefezellen die an ihnen haftende Flüssigkeit schon in den ersten Tagen absorbiren oder nicht. Im ersten Fall können sie sehr lange ganz unverändert verharren; im anderen sprossen sie ganz langsam Hor-

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

misciumförmig weiter. So habe ich auf diese Weise eine Hefe vom dunkeln Köstritzer Bier in Cultur, welche seit $1^1/_2$ Monaten nur am Rande eine Anzahl neuer Sprosse erzeugt hat (Cult. Nr. 99 Fol. 126). Dasselbe findet statt, wenn man die Hefe in eine sehr geringe Quantität Zuckerlösung in einer fast trocknen Camera aussäet. Die Hefezellen absorbiren rasch die Flüssigkeit und verharren nun ganz regungslos in der concentrirteren Lösung. Das letzte kann sogar eintreten bei Aussaaten in destillirtes Wasser; wenn man nämlich im Verhältniss zum Wassertropfen eine zu grosse Quantität Hefe aussäet.

Nachdem ich so gezeigt habe, dass die Hefe in ganz analoger Weise von den äusseren Bedingungen abhängt wie der Brandpilz, kehre ich zur näheren Betrachtung der Keimungsgeschichte zurück. Ich benutze als Beispiele nun hauptsächlich diejenigen Culturen, welche mit den trefflichen von Herrn Gruber eingesendeten Hefesorten vorgenommen wurden. Auf den ersten Blick zeigt sich eine wesentliche Verschiedenheit dieser Hefe von der Hefe der thüringischen Weissbiere, des Köstritzer Bieres u. s. w. Die Gruber'schen Hefezellen (Fig. 35 Taf. VI.) sind weit grösser als die der Bierhefe. Sie sind kugelig oder eiförmig. Man sieht in jeder Zelle eine oder mehre Vacuolen (v Fig. 35). Das Plasma schliesst ausserdem fast immer kleine Körner (Cocci) ein. Die Vacuolen sind häufig leer (vl Fig. 35), ebenso häufig aber sieht man in der Vacuole einen lebhaft kreisenden Coccus, seltener zwei oder mehre (vc Fig. 35). So verhalten sich diese Zellen in ihrem natürlichen Medium und anfänglich auch im destillirten Wasser. Wegen einiger Culturversuche lag mir daran, zu wissen, wie die Hefezellen sich verhalten würden, wenn man sie auf dem Objectträger trocken werden liesse und dann wieder anfeuchtete.

So behandelt, zeigten die Zellen die in Fig. 36 angedeutete Veränderung. Statt der einen grossen Vacuole hatten sich zahlreiche kleine gebildet und das Plasma war gewissermassen schaumig geworden, was aber der Lebensfähigkeit der Zellen keinen Eintrag that. Dieselbe Veränderung zeigen die meisten Zellen auch dann, wenn sie längere Zeit in destillirtem Wasser liegen.

Bei der reinsten Hefesorte (levure lavée B) trat am 5. Tage bei einigen Zellen die Keimung ein. Die meisten Hefezellen keimten aber erst am folgenden Tage. Die ersten Keimlinge zeigt Fig. 37 bei schwacher Vergrösserung. Deutlicher lässt sich die Form der Keimung bei Fig. 38 erkennen, welche bei doppelt so starker

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

Vergrösserung gezeichnet ist. Am häufigsten tritt ganz einfach aus der Hefezelle ein Keimschlauch hervor, welcher etwas dünner als die keimende Zelle zu sein pflegt (a, b, g Fig. 38). Bisweilen zeigen sich zwei (c Fig. 38) oder mehre Keimschläuche. Diese können an entgegengesetzten Punkten (c Fig. 38) oder dicht neben einander (d, e, f Fig. 38) hervorbrechen. Bisweilen ist der Keimschlauch anfangs an der Basis noch etwas eingeschnürt, als sollte eine Sprosszelle entstehen (h Fig. 38), und das kann sich noch mehrfach wiederholen (d, e Fig. 38).

Mit diesen Versuchsreihen sind nun die de Bary'schen Einwände völlig aus dem Felde geschlagen, denn hier kann von gar keiner Einwanderung von Sporen u. s. w. die Rede sein, da man vom Anfang bis zum Ende der Cultur die einzelnen Hefezellen im Auge behält. Diese Methode ist die einzig in diesem Falle brauchbare und entscheidende. Wären hier Keimzellen von Schimmelpilzen zugegen gewesen, so würden diese ohnedies unter so günstigen Keimungsbedingungen schon nach 24 Stunden und nicht erst am 6. Tage gekeimt sein.

Ich berufe mich hier nicht auf eine vereinzelte Cultur, sondern auf zahlreiche seit zwei Jahren eingeleitete Serien von solchen. Beispielshalber habe ich in Fig. 39 noch einige Keimlinge aus einer anderen Cultur abgebildet. Am 7. Tage hatten die Keimlinge die Grösse und Beschaffenheit erreicht, welche ich in Figur 40 beispielsweise mittheile. Fig. 41 versinnlicht zwei Keimlinge aus einer anderen Cultur von demselben Tage. Figur 42 zeigt eine Gruppe von Keimlingen aus der Cultur 128 am 11. Tage nach der Aussaat bei schwacher Vergrösserung. Bei dem weiteren Verlauf der Cultur tritt nun bisweilen wieder eine höchst interessante Störung ein. Wenn nämlich die Keimlinge durch zu grosse Feuchtigkeit in der Camera humida wieder benetzt werden, so erfahren sie ein Zerfallen in stabförmige Hefezellen (Fig. 43) an allen Zweigenden ganz ähnlich wie das bei Ustilago carbo Tul. angegeben wurde. Strenge genommen ist es in unserem Fall kein eigentliches Zerfallen, sondern die in das destillirte Wasser gerathenen Zweigenden treiben durch succedane Sprossung eine Anzahl stabförmiger Zellen (st Fig. 43) hervor.

Derselbe Process findet sich auch bei dem oben beschriebenen Haubner'schen Hautparasiten des Pferdes: wir kommen aus diesem Grunde jetzt zunächst auf dessen Weiterentwickelung zurück. Der Pilz fructificirte bei Aussaaten in destillirtes Wasser

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

gerade 4 Wochen nach der Aussaat in der Fig. 44 Taf. VI. ausgeführten Form. So lange die Zweige, die sich vielfach seitlich verzweigen, im destillirten Wasser fortwachsen, bilden sie an den Enden zahlreicher meist kurzer Seitenzweiglein durch succedane Sprossung länglich-stabförmige, später ei-lanzettliche Keimzellen, welche sich gleich nach ihrer Entstehung vom Tragfaden trennen und im Wasser fortschwimmen (wc Fig. 44). Daher sieht man in der Umgebung der kleinen als Sterigmen dienenden Zweige, oft aber auch in ziemlicher Entfernung davon, Massen solcher Keimzellen umherliegen. Sobald die Fäden aber in die Luft hinaustreten, ist das Bild (lc Fig. 44) ein ganz anderes. Die entstandenen Keimzellen bleiben nämlich am Sterigma sitzen.

Jetzt lässt sich sehr deutlich ihre Entstehung und Aufeinanderfolge studiren. Es ist diejenige Bildungsweise, welche unseres Wissens zuerst de Bary für Cephalothecium genau dargestellt hat. Man sieht zuerst (Fig. 45 a) an der Spitze eines Sterigma ein kleines Plasmatröpfchen ausfliessen und sich als Sprosszelle (Fig. 45 b) fortentwickeln. Sobald diese erste Keimzelle vollständig ausgebildet ist, entsteht unter ihr genau auf dieselbe Weise eine zweite (Fig. 45 c), wodurch die erste etwas zur Seite geschoben wird, aber nicht ganz abfällt, sondern mit der zweiten Zelle seitlich verklebt bleibt (Fig. 45 d). Unter der zweiten Keimzelle entsteht nun auf dieselbe Weise eine dritte, unter dieser eine vierte u. s. w. So bildet sich durch succedane Sprossung ein zierliches vielzähliges Köpfchen (lc Fig. 44) aus. Der Unterschied zwischen dieser Bildungsweise (succedane Köpfchenbildung) und derjenigen bei den Formengattungen Aspergillus, Penicillium u. s. w. (succedane Kettenbildung) besteht also lediglich darin, dass in unserem Fall die neugebildeten Keimzellen nicht gerade vorwärts, sondern seitlich geschoben werden. Werden sie gerade aus geschoben, so muss nothwendig eine Kette entstehen. Der Unterschied ist also eigentlich wenig wesentlich und es können beide Formen bei derselben Species, ja an demselben Mycel vorkommen.

Anfänglich bleiben die Köpfchen sehr deutlich als solche sichtbar (lc und k Fig. 44), aber dieser Zustand dauert nicht lange. Die Keimzellen scheiden nämlich wie diejenigen fast aller Schimmelpilze profus Wasser aus und liegen daher sehr bald in einer äusserst glänzenden Wasserkugel (lc Fig. 45), so dass man Mühe hat, wegen der starken Lichtbrechung, die einzelnen Conidien zu erkennen. Man hat diese Wasserkugeln früher häufig für zarte

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

Kapseln angesehen. Will man von einem derartigen Pilz wie z. B. einem Schimmelpilz aus der Formgattung Stachylidium oder Acrostalagmus gute deutliche Präparate gewinnen, so muss man zunächst absoluten Alkohol oder besser noch ein ätherisches Oel auf den Pilz einwirken lassen und ihn dann rasch in verdünntes Glycerin untertauchen. Versäumt man diese Vorsicht, so erhält man nur Sterigmen ohne Keimzellen, denn bei der leisesten Berührung mit Wasser oder wässeriger Lösung werden die in den Wassertröpfchen befindlichen Keimzellen in den entstehenden Strömungen fortgerissen und zerstiebt.

Die Bildung der Keimzellen geht ziemlich rasch von Statten. Die vier in Figur 45 a, b, c, d dargestellten Stadien umfassen die Zeit von 11—1 Uhr am Tage und es liegt zwischen je zweien dieser Zustände ohngefähr $^1/_2$ Stunde. Der Zweig, den wir in Fig. 45 dargestellt haben, ist das bei x beginnende Ende des Fruchtzweiges von Fig. 44, und Fig. 45 stellt die in zwei Stunden erfolgte Veränderung dieses Zweiges dar. Während in den Mittagsstunden eine so rasche Veränderung stattfand, hatte sich dagegen von 8 Uhr Abends des vorhergehenden Tages bis 8 Uhr Morgens kaum eine merkliche Veränderung an demselben Fruchtzweig gezeigt, woraus hervorgeht, dass dieser Pilz vorzugsweise am Tage Keimzellen ausbildet. Nicht ohne Interesse ist der Vergleich der hier mitgetheilten Resultate mit denjenigen Angaben, welche Rindfleisch neuerdings in Virchow's Archiv über den Favuspilz gemacht hat. Soweit man aus den allzu aphoristischen Beobachtungen und der zu kurzen Darstellung schliessen kann*), ist die von Rindfleisch aus dem Favuspilz gezogen Pilzform zwar nicht identisch, wohl aber nahe verwandt mit dem unsrigen. Wir kommen auf diesen Punkt noch zurück. Werfen wir zuerst einen Seitenblick auf die einfachste Fructification von Ustilago carbo Tul., so ist der Vergleich dieses Pilzes mit den Keimlingen der Hefe auch hierin sehr lehrreich. Gelingt es nämlich, die Keimlinge der Ustilago-Sporen ganz vor der Wiederanfeuchtung zu schützen, so treiben sie sehr lange und reich verzweigte septirte Fäden in die Luft, welche durch succedane Sprossung Keimzellen ausbilden auf wesentlich verschiedene Weise wie im Wasser. Diese Hyphen treiben nämlich kleine Seitenzweige (h Fig. 46), welche anfangs nur eine Kette kugeliger Keimzellen hervorsprossen lassen. Bald aber ent-

*) Vgl. im literarischen Theil die Besprechung der Arbeit von Rindfleisch.

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

stehen mehre solcher Basalzellen auf kurzen Zweigen neben einander (st Fig. 47); jede von ihnen bringt eine Kette hervor (k Fig. 47). Der kleine Seitenzweig, den ich in Fig. 46, h gezeichnet habe, veränderte sich wesentlich in der darauf folgenden Nacht. Er verlängerte sich beträchtlich (Fig. 50) und trieb am Ende 4 spindelige Sterigmen (st), welche je eine Kette von Keimzellen durch Sprossung erzeugten, also 3 neue Ketten neben der schon vorhandenen. Ich enthalte mich vor der Hand aller Folgerungen und weiteren Bemerkungen über diese Thatsache und begnüge mich damit, auf die Analogie der Sprossbildung aufmerksam zu machen.

Ehe ich nun weiter auf die Fruktification und den Fruchtwechsel oder die Plasmorphie der Hefegebilde eingehe, muss einer der schwierigsten und wichtigsten Punkte der ganzen Morphologie der Pflanzen genauer erörtert werden, da er mit der Hefebildung im innigsten Zusammenhange steht. Es ist das die Entstehung des Micrococcus aus dem Plasma der Pilzzelle. Es sei zuerst Folgendes über die Eigenthümlichkeiten der Bierhefe vorangeschickt.

Reine Bierhefe zu erhalten, ist sehr schwer. Oberhefe ist niemals rein, sondern mit verschiedenen anderen Pilzbildungen vermischt. Die käufliche Unterhefe zeigt constant sehr kleine Plasmaklümpchen (Micrococcus) als Beimengung. Davon kann sie durch Waschen in destillirtem Wasser vollständig befreit werden. Die reinste Hefe, welche ich je gesehen habe, ist die Levure lavée von Herrn Gruber.

Ferner muss man die Hefe zu Culturversuchen sofort frisch verwenden, denn sie bleibt nicht frisch, mag man sie nun der Luft aussetzen oder nicht. Hefe, welche 8 Tage im Glase gestanden hat, wimmelt von Vibrionen, welche im destillirten Wasser in die lebhafteste Bewegung gerathen. Woher kommt jener Micrococcus und woher kommen die Vibrionen? Es ist zweierlei möglich. Beide Gebilde können nothwendig mit der Hefe verknüpft sein, oder es sind zufällige Beimengungen, die sich unter günstigen Verhältnissen profus entwickeln. Auf alle Fälle stören sie die Beobachtung bei Culturversuchen und sind daher möglichst zu vermeiden. Das geschieht, indem man erstlich nur ganz frische und zweitens gewaschene Hefe verwendet. Trotz dieser Vorsichtsmassregeln tritt immer Folgendes ein. Wenn man Bierhefe in der Camera humida in destillirtes Wasser aussäet, so gehen alle Hefezellen zu Grunde, sofern sie nicht keimen, also alle, die im Wasser liegen, denn nur diejenigen gelangen zur Keimung, welche vor

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

derselben das sie umgebende Wasser vollständig absorbirt haben. Alle andern gehen zu Grunde. Dieses Zugrundegehen besteht darin, dass die Plasmaklümpchen im Innern der Zellen verschwinden und die Membranen sich auflösen. Anfangs sieht man die Membranen (Fig. 49) wie eingeschrumpfte leere Säcke beisammenliegen; zuletzt werden ihre Umrisse ganz undeutlich. Nun tritt regelmässig folgende Erscheinung ein. Es gehen alle Hefezellen ohne Ausnahme, wenn sie nicht schon Keimschläuche getrieben haben, gänzlich zu Grunde; aber an ihrer Stelle tritt neue Hefe auf. Wir bemerken ausdrücklich, dass vorläufig das Zugrundegehen der alten Hefezellen und die Ausbildung von ganz neuen als bloss gleichzeitige Erscheinungen ohne Causalnexus aufgefasst werden sollen. Die nun entstehenden Hefezellen liegen zwischen den alten Membranen, schwimmen aber in der Regel bald von dannen. Sie sind anfangs winzig klein (Micrococcus), bilden sich aber schon binnen 24 Stunden zu der in Figur 48 angegebenen Grösse aus.

Anfänglich sieht man nur Haufen kreisrunder isolirter nicht sprossender Zellen.

Was berechtigt uns also, sie als Hefezellen zu bezeichnen? Diese Berechtigung liegt in ihrer Weiterentwickelung. Im destillirten Wasser sieht man freilich bei vorsichtiger Aussaat lange Zeit diese Zellen ohne Fortpflanzung verharren. Sie absorbiren den Tropfen, während sie entstehen und zeigen dann keine Veränderungen weiter.

Ist das Wasser aber mit einer nicht zu grossen Menge nährender Lösungen verletzt, so fangen die nun entstandenen Zellen bald an zu sprossen und zeigen ganz das Verhalten der Hefe unter solchen Verhältnissen (Fig. 52), indem sie hormisciumartige Bäumchen bilden. Nach Analogieen für diese Vorgänge braucht man nicht lange zu suchen.

Bei den Aussaaten von Ustilago in destillirtes Wasser geschieht genau dasselbe. Es entsteht eine Menge kleiner kugeliger Hefezellen (Fig. 51) und auch sie sprossen unter günstigen Bedingungen. Auch für diese Gebilde enthalten wir uns vorläufig jeder Andeutung über ihre Entstehung, welche eine ganz andere Darstellung verlangt.

Wir lassen diese im nächsten Heft dieser Zeitschrift folgen und fassen das aus dem Bisherigen sich ergebende folgendermassen zusammen:

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

1) Die Bierhefe keimt, so bald man die dazu nöthigen Bedingungen herstellt.

2) So lange die Keimschläuche und ihre Zweige an einem nassen Ort wachsen, schnüren sie an den Enden stabförmige Keimzellen ab.

3) Die Bierhefe gehört also zunächst einem Schimmelpilz als einzellige Form an und hat mit dem angeblichen Ascomyceten des Herrn Reess keinen Zusammenhang. Herr Dr. Reess ist einer, bei einer so schwierigen Untersuchung begreiflichen, Täuschung anheimgefallen.

4) Ein Brandpilz (Ustilago carbo Tul.) verhält sich, wenn sein Keimschlauch an von destillirtem Wasser benetzten Stellen wächst, genau wie der Keimling der Hefe, d. h. er schnürt an allen Fadenenden stabförmige Zellen ab.

5) Der im Harn des Typhuskranken gefundene Parasit sprosst in stickstoffhaltiger Zuckerlösung und anderen gährungsfähigen Flüssigkeiten als Cryptococcus und vermehrt sich auf diese Weise.

6) Auch diese Cryptococcuszellen keimen unter den dazu nöthigen Bedingungen und ihre Keimlinge verhalten sich auf feuchter Unterlage analog denen der Bierhefe.

7) Die Keimzellen von Haubner's Hautpilz des Pferdes verhalten sich unter analogen Bedingungen denen der Hefezellen analog, d. h. sie erzeugen in gährungsfähigen Flüssigkeiten Cryptococcus-Zellen, welche unter günstigen Bedingungen keimen und auf feuchtem Boden an den Enden der Zweige längliche Zellen abschnüren.

Zum Schluss erkläre ich mich bereit, jeder Academie oder sonstigen wissenschaftlichen Gesellschaft, welche mir Gelegenheit dazu bietet, die oben mitgetheilten sieben Thatsachen durch Culturversuche unter ihrer Controle zu beweisen.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Zeitschrift für Parasitenkunde

Jahr/Year: 1872

Band/Volume: 3_1872

Autor(en)/Author(s): Hallier Ernst Hans

Artikel/Article: I. Original-Abhandlungen: Beweis, dass der Cryptococcus keimfähig und von höheren Pilzformen abhängig ist und Widerlegung der Ansichten der BaryÅ½schen Schule über die Bierhefe 217-241