

[Aus dem patholog. Laboratorium an der Kaiserl. Universität Warschau.]

Zur Morphologie und Biologie der Sprosspilze.

Von

Dr. med. **Johannes Raum**
in Warschau.

(Hierzu Taf. I u. II.)

Wenn ich im Nachstehenden von Sprosspilzen sprechen werde, so liegt es mir fern, damit andeuten zu wollen, dass ich die landläufige, von Rees und de Bary begründete Lehre von der Existenz einer selbstständigen Art der Sprosspilze für ein unantastbares Dogma betrachte. Vielmehr erscheint mir die auf Untersuchungen an Ustilagineen und Tremellinen fussende Lehre Brefeld's, dass alle Sprosspilze „nichts anderes, wie die Conidienfruchtformen anderer Pilze sind“,¹ recht wahrscheinlich, zumal dieselbe eine mächtige Stütze findet sowohl in der Plaut'schen² Entdeckung der Identität des Soorpilzes mit *Monilia candida* B., einem Schimmelpilz, als auch in der allgemein bekannten Thatsache, dass Schimmelarten, wie *Mucor racemosus*, zur Gährthätigkeit veranlasst, Hefeform annehmen. Allein so lange man exacte Beweise der Zusammengehörigkeit mit höher organisirten Kryptogamen für alle uns bekannten Sprosspilze nicht erbracht haben wird, ist das Eintragen der Beobachtungen und Experimente, welche die noch nicht identificirten Formen betreffen, in die Rubrik Sprosspilze zum mindesten gerechtfertigt.

¹ Botanische Untersuchungen über Hefenpilze. *Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie*. Leipzig 1883. Hft. V. S. 191.

² *Neue Beiträge zur systematischen Stellung des Soorpilzes in der Botanik*. Leipzig 1887.

Die den Arzt am meisten interessirende Frage nach den pathogenen Qualitäten der Hefe wurde in der vorliegenden Arbeit nur kurz berührt. Dieselbe ist zwar wiederholt angeregt worden, allein man hat die bezüglichen Versuche, meines Wissens, bislang nur mit Bierhefe angestellt und zwar solcher, wie sie von der Industrie geliefert wird, also mit einem Gemenge von Hefen, Bakterien und Schimmelpilzen. Die gewonnenen Resultate bedürfen daher einer eingehenden Prüfung an der Hand schulgerechter bacteriologischer Methoden. Meinen Untersuchungen lag vornnehmlich die Absicht zu Grunde, sowohl die Morphologie als auch die Biologie der Sprosspilze näher kennen zu lernen, um auf die gefundenen Thatsachen gestützt unsere Gebilde inmitten der thierischen Gewebe event. nachweisen zu können, zumal da das wenige darüber Ermittelte uns zu befriedigen keineswegs im Stande ist. Es mag hier nur an die noch immer offene Frage nach dem Zellkerne des Hefepilzes erinnert werden.

Da meine nach den angedeuteten Richtungen hin vorgenommenen Untersuchungen einige nicht uninteressante Facta zu Tage förderten, so erachte ich eine Schilderung der bezüglichen Versuche für angezeigt, ohne indessen die berührten Fragen als definitiv erledigt zu betrachten.

Die vorliegende Arbeit habe ich im Laboratorium des Hrn. Prof. S. M. Lukjanow ausgeführt, dem ich meinen wärmsten Dank für das rege Interesse, welches er auch dieser meiner Arbeit entgegenbrachte, hiermit aussprechen möchte.

I. Morphologisch-biologische Studien.

Bei vorliegenden Untersuchungen standen mir folgende Hefearten zur Verfügung:

1. *Saccharomyces cerevisiae* I. Hansen;
2. „ „ *ellipsoideus* I. Hansen;
3. „ „ *ellipsoideus* II. Hansen;
4. „ „ *pastorianus* I. Hansen;
5. „ „ *cerevisiae*, der aus hiesiger käuflicher Presshefe isolirt wurde;
6. kleine, sporenbildende, weisse, wohl aus der Luft stammende Hefe;¹
7. *Saccharomyces glutinis* (Rosahefe);
8. aus Kefir erhaltene Hefe;
9. aus Sauerkraut gewonnene Hefeart;
10. schwarze Hefe aus der Luft.

¹ Diese Hefeform ist von mir neben zahlreichen Kokkenarten auf Platten erhalten worden, welche ich mit dem Lungensaft einer an Lungenseuche erkrankten Kuh beschickt habe.

Die vier zuerst aufgezählten Sprosspilzarten verdanke ich der überaus grossen Liebenswürdigkeit des Hrn. Prof. Dr. E. Chr. Hansen, Chef des Laboratoriums Carlsberg in Kopenhagen, die übrigen Arten habe ich selbst reingezüchtet.

Angesichts der von Hansen, Holm und Miquel ermittelten Thatsache, dass die auf Platten aufkommenden Colonieen nicht immer aus Individuen einer Art bestehen, lag es mir zunächst ob, die verfügbaren Hefearten dem für Hefe zuerst von Hansen ausgearbeiteten und empfohlenen Verfahren der Ein-Zell-Cultur¹ zu unterwerfen. Zu diesem Zwecke habe ich drei Probirgläser mit Nährgelatine versehen, behufs Verflüssigung der letzteren in warmes Wasser getaucht und mit einer Oese voll Hefe, die in Bierwürze cultivirt wurde, beschickt. Nach gleichmässigem Vertheilen der Keime im besagten Nährsubstrat übertrug ich drei Oesen desselben in das zweite Probirglas und nach sorgfältigem Aufschütteln eine gleiche Menge Gelatine vom letzteren in's dritte Gefäss. Einige Tropfen der so erhaltenen nur wenige Keime beherbergenden Gelatine brachte ich auf ein Deckgläschen, liess sie darauf erstarren und benutzte es zum Abschliessen der feuchten Kammer;² natürlich war die erstarrte Masse der Kammer zugekehrt. Schliesslich wurde unter dem Mikroskop die Lage einzeln liegender Zellen gemerkt und ihre Nachkommenschaft allein zur weiteren Aussaat benützt. Nachdem auf diese Weise von einer einzigen Zelle stammende Culturen obiger Hefearten hergestellt waren, trat ich zur mikroskopischen Untersuchung morphologischer Verhältnisse heran, wobei auch die physiologischen eine gebührende Berücksichtigung fanden. Den Gang meiner Untersuchung sowohl, als auch die Ergebnisse derselben, will ich im Nachstehenden je nach der Art des Sprosspilzes schildern. Bevor ich aber zur besagten Schilderung übergehe, möchte ich einige aus der Litteratur gesammelte Data besprechen, welche sich auf Kerne, kernartige Gebilde, Vacuolen, Sporen- und Sprossbildung der Hefezellen, also auf Fragen beziehen, welche eine Nachprüfung dringend erheischen.

Die Frage nach dem Kern der Hefezellen harrt noch immer ihrer Lösung. Die Versuche, sie zu beantworten, führten zur Bildung zweier sich entgegenstehenden Lager. Die einen Forscher, wie Nägeli,³ Schlei-

¹ *Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie*. 1884. Bd. I. S. 191. — *Compt. rend. des travaux du laborat. de Carlsberg*. 1881—1886. — F. Hüppe, *Die Methoden der Bacterienforschung*. Wiesbaden 1889. S. 256—276. — A. Jörgensen, *Die Mikroorganismen der Gährungsindustrie*. 1890. 2. Aufl. S. 20—24.

² Hüppe, a. a. O. S. 41. Fig. 4.

³ Schleiden und Nägeli, *Zeitschrift für wissenschaftliche Botanik*. Bd. I. Hft. 1. S. 45.

den,¹ Schmitz,² Strasburger,³ Zalewski,⁴ Zacharias,⁵ Zimmermann,⁶ wollen ihn gesehen haben, wogegen Brücke⁷ und Krasser⁸ das Vorhandensein desselben negiren. Von den Erstgenannten spricht sich nur Zimmermann sehr reservirt aus, indem er zwar zugiebt, in Alkohol-hämatoxylinpräparaten im Innern der Zellen des *Sacch. cerevisiae* einen dunkler gefärbten Körper wahrgenommen zu haben, doch scheint ihm die Kernnatur dieses Gebildes immerhin noch fraglich. Wenn wir einerseits den Umstand berücksichtigen, dass Schmitz, Zalewski und Zacharias sich gleichfalls des Hämatoxylins bedienten, und andererseits im Auge behalten, dass das Hämatoxylin nach vorausgegangener Alkoholbehandlung uns die bei specieller Schilderung der einzelnen Hefearten näher zu beschreibenden schwarzen Granula in den Hefezellen sichtbar zu machen verhalf, so können wir uns der Vermuthung nicht enthalten, dass Zimmermann, Schmitz, Zalewski und Zacharias höchst wahrscheinlich unsere Gebilde vor sich hatten und dieselben für Kerne ansprachen. Wenn wir ferner bedenken, dass Behandlung der Hefe mit Jodlösung bei unseren Versuchen nur eine diffuse Färbung hinterliess und dass die künstliche Verdauung die obigen Granula unsichtbar zu machen pflegt, so kann es uns nicht Wunder nehmen, wenn Brücke und Krasser, welche sich der angeführten Reagentien bedienten, das Vorhandensein eines Zellkerns bei der Hefe in Abrede stellen. Auch Nägeli und Schleiden haben offenbar unsere Granula als Kerne gedeutet, da die etwas grösseren Exemplare dieser Gebilde selbst an frischen nicht tingirten Objecten leicht zu sehen sind. Es unterliegt schliesslich wohl keinem Zweifel, dass auch die von Zalewski⁹ z. B. in Figg. 3, 4, 5, 6 u. s. w. von frischen Hefezellen abgezeichneten Vacuolen nichts anderes als die erwähnten Granula sind.

¹ *Grundzüge*. 1849. S. 207.

² Untersuchungen über den Zellkern der Thallophyten, *Sitzungsber. d. niederrhein. Ges. für Natur- und Heilkunde zu Bonn*. Sitzung am 4. Aug. 1879. S. a. S. 18.

³ *Botan. Practicum*. 1884. S. 351.

⁴ Ueber die Sporenbildung in den Hefezellen. *Verhandlungen und Sitzungsber. der Krakauer Akademie der Wissenschaft*. Math.-naturw. Section. 1886. Bd. XIII. S. 124 (polnisch); Ref. *Botanisches Centralblatt*. Bd. XXV.

⁵ Beiträge zur Kenntniss des Zellkerns und der Sexualzellen. *Botan. Zeitung*. 1887. Nr. 18—24.

⁶ *Die Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle*. Breslau 1887. S. 25.

⁷ Die Elementarorganismen. *Sitzungsberichte der K. Akademie der Wissenschaft zu Wien*. Math.-naturw. Classe. 1861. Bd. XLIV. Abth. 2.

⁸ Ueber das angebliche Vorkommen eines Zellkerns in den Hefezellen. *Oesterr. Botanische Zeitschrift*. 1885. Nr. 11.

⁹ A. a. O.

Nachdem wir uns nun zur Genüge überzeugt haben, dass die Zellkerne der Autoren mit unseren schwarzen Kügelchen höchst wahrscheinlich identisch sind, soll es unsere Aufgabe sein, der Natur derselben näher zu treten.

Elemente, welche diesen schwarzen Kügelchen gleich auf Behandlung mit Methylenblau und Bismarckbraun antworten, hat vor etwa zwei Jahren P. Ernst¹ in verschiedenen Bacterienarten und manchen anderen kryptogamischen Pflanzen entdeckt, „sporogene Körner“ genannt und sie für Zellkerne, denen die Fähigkeit selbst zu Sporen zu werden zukommt, erklärt. Neisser² hält dieselben Einschlüsse für sporenartige Gebilde, wogegen Babes³ sich dahin ausspricht, dass sie wohl bei dem Theilungsprocesse und bei der Sporenbildung eine Rolle spielen, dass es aber noch nicht bewiesen sei, dass sie Sporen im strengen Sinne des Wortes sind. Die ersten, von denen die besagten Granula beobachtet wurden, sind wohl Löffler und Klebs,⁴ und zwar beim Diphtheriebacillus, welchen sie mit Methylenblaulösung tingirten und mit Alkohol entfärbten. Der Erstgenannte stellt die Sporennatur dieser Gebilde in Abrede, indem er das Vorkommen von Dauersporen beim angeführten Mikrobion leugnet, wohingegen Klebs der Vermuthung Raum giebt, dass die blau gebliebenen Körner von stark färbbarer Substanz eingehüllte Sporen sind. Auch Steinhaus,⁵ welcher unter S. M. Lukjanow seine Versuche vollzog, bestätigt die Angaben von Babes in Bezug auf eine gewisse Rolle, welche den „sporogenen Körnern“ sowohl bei der Theilung, als auch bei der Sporenbildung zukommt, und meint, dass es verfrüht wäre, in allen Fällen die „sporogenen Körner“ morphologisch einander gleich zu stellen. Er schlägt auch deshalb vor, diese Gebilde mit dem nichts präjudicirenden Namen „Granula“ zu nennen. Aus all' dem Gesagten ersehen wir, dass es gegenwärtig noch ganz unmöglich ist, etwas Bestimmteres über das Wesen dieser Bacteriengranula zu äussern. Gegen ihre Kernnatur wäre auch der Umstand anzuführen, dass Schottelius⁶ ganz andere mittels

¹ Ueber den Bacillus xerosis und seine Sporenbildung. *Diese Zeitschrift*. 1888. Bd. IV. S. 25. — Ueber Kern- und Sporenbildung in Bacterien. *Ebenda*. 1889. Bd. V. S. 428.

² Versuche über die Sporenbildung bei Xerosebacillen, Streptokokken und Choleraspirillen. *Ebenda*. 1888. Bd. IV. S. 166.

³ Ueber isolirt färbbare Antheile von Bacterien. *Ebenda*. 1888. Bd. V. S. 173.

⁴ *Die Allgemeine Pathologie*. 1887. Th. I. S. 194.

⁵ Zur Lehre von den sporogenen Körnern. *Verhandlungen der biolog. Section der Warschauer Naturforscher-Gesellschaft*. 1889. Nr. 3 (russisch). *Biolog. Centralbl.* 1889. Bd. IX. Nr. 17. — Les granules des microbes. *Association Française pour l'avancement d. sciences. Congrès de Paris*. 1889.

⁶ Beobachtung kernartiger Körper im Inneren von Spaltpilzen. *Centralblatt f. Bacteriologie und Parasitenkunde*. 1888. Bd. IV. Nr. 23.

wässriger oder Anilin-Fuchsinlösung (auch Gentianaviolett) differenzirbare Dinge für Zellkerne der Bacterien anspricht. Die Altmann'sche¹ Theorie, wonach die Mikroorganismen den Werth der Zellengranula nicht überschreiten sollen, dürfte ebenfalls nicht zu Gunsten der Ernst'schen Annahme sprechen.

In Bezug auf Litteraturangaben über Hefezellengranula sei darauf hingewiesen, dass Ernst dieselben erfolglos bei *Sacch. glutinis* gesucht hat und dass Neisser mit Rücksicht auf die in Rede stehenden Elemente eine kurze Anmerkung macht, dass „auch in Hefen, besonders einer ovalen Form, sich wunderbare sporoiden Gebilde finden.“ Das ist aber auch Alles, was ich darüber habe ermitteln können.

Gleich den oben angeführten Kernen, bedarf auch die Frage nach der Sporenbildung der Hefe einer weiteren Bearbeitung, wiewohl sie des Oeffteren ventilirt wurde.

Rees,² ein Schüler de Bary's, war der erste, welcher Sporen in Hefezellen bemerkt hat. Die beiden genannten Forscher betrachten die Sporenbildung als einen Fall freier Zellbildung oder partieller Zelltheilung,³ bei welcher die beobachteten Thatsachen vollständig den von der Sporenbildung in kleineren Ascis (*Exoascus*, *Eurotium*) bekannten entsprechen. Dieser letztere Umstand veranlasste de Bary die *Saccharomyceten* zu den „zweifelhaften *Ascomyceten*“ zuzurechnen. Andere Beobachter, wie Schumacher,⁴ Cienkowski⁵ und Zalewski,⁶ leiten die Sporen ebenfalls vom Protoplasma der Hefezellen ab. Der letztere in-

¹ *Die Elementar-Organismen und ihre Beziehungen zu den Zellen.* 1890. Vgl. S. 125.

² Zur Naturgeschichte der Bierhefe „*Saccharomyces cerevisiae*.“ *Botan. Zeitung.* 1869. S. 105. — *Botanische Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze.* 1870. S. 9. — Ueber die Alkoholgährungspilze der Weinhefe. *Annalen der Oenologie.* 1871. Bd. II. Hft. 2. — de Bary, *Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze etc.* Leipzig 1884.

³ Unter freier Zellbildung oder partieller Zelltheilung versteht de Bary (a. a. O. S. 64 u. 290) im Gegensatze zur totalen Zelltheilung denjenigen Fall, wo nur eine von den übrigen Theilen gesonderte Protoplasmaportion einschliesslich Zellkern zur Tochterbildung verwendet wird und ein Rest hierzu unverbraucht bleibt, um dann eventuell anderweite Verwendung zu finden.

⁴ Beiträge zur Morphologie und Biologie der Hefe. *Sitzungsber. der K. Akad. der Wissenschaften.* Naturw. Classe. 1874. Bd. LXX. S. 157—188.

⁵ Die Pilze der Kahlhaut. *Mélanges biol. tirés du Bullet. de l'Académie imper. de sc. de St. Petersburg.* Bd. VIII. S. 577.

⁶ Ueber die Sporenbildung in den Hefezellen. A. a. O.

dessen, welcher, wie das aus seinen Worten ersichtlich, bei bezüglichen Untersuchungen von de Bary und Strasburger unterstützt wurde, weist eine Theilung des Protoplasmas bei der Bildung von Hefesporen auf's Entschiedenste zurück. Seine Beobachtungen machte er an lebenden Zellen des *Sacchar. cerevis.*, die nach 20 bis 24stündigem Verbleiben im Wasser im hängenden Tropfen untersucht wurden. Folgendes hat sich ergeben: das deutlich feinkörnige Protoplasma giebt zunächst einen Theil seiner Feuchtigkeit ab, indem sich eine Anzahl kleiner Vacuolen bildet. Dieselben fließen zusammen, bilden dadurch grössere Vacuolen, welche sich zu gewisser Zeit in einen unserer Fig. 3 ähnlichen Kranz von 7 bis 5 Vacuolen gruppieren. Allmählich vereinigen auch diese Gebilde ihren Inhalt, indem zunächst nur 4, dann 3, nachträglich 2 und schliesslich eine einzige, aber mächtige, den grössten Theil der Hefezelle ausfüllende, mit Hyaloplasma bedachte Vacuole sichtbar wird. Durch diesen Vorgang ist das Protoplasma an die Zellwand verdrängt worden und bildet die an einer oder mehreren Stellen etwas stärkere wandständige Protoplasmaschicht. An diesen Verdickungen entwickelt sich bald eine von der Vacuole aus vordringende Vertiefung, welche aber niemals die Zellwand erreicht. In jeder der beiden auf diese Weise getrennten, der obigen Furche anliegenden, fast homogenen Protoplasmaportionen, erblickt man darauf je einen dunkleren, undeutlich conturirten Punkt, welchen Zalewski als Kernkörperchen anspricht. Das Protoplasma, inmitten dessen die besagten Punkte liegen, hebt sich nun gemeinschaftlich mit den letzteren von der Umgebung immer deutlicher ab. Die so entstandenen Sporen wachsen durch Apposition, theils des Protoplasmas, theils des Hyaloplasmas. Ist die ihnen zukommende Grösse erreicht, so umgeben sie sich mit einer Membran, welche nach und nach an Dicke zunimmt. Auf ganz analoge Weise können auch 3 oder 4 Sporen entstehen. In reifen Sporen will Zalewski kernkörperchenhaltige Kerne, deren Durchmesser $\frac{1}{3}$ bis $\frac{2}{5}$ des Sporendurchmessers ausmache, bemerkt haben. Die angeführten Thatsachen habe ich an frischen Objecten nicht geprüft, an fixirten Hefepilzen aber war kein ähnlicher Vorgang zu bemerken. Dass die von Zalewski beschriebenen und abgebildeten mittelgrossen, kranzartig gelagerten Vacuolen mit unseren Granula identisch sind, unterliegt, wie gesagt, wohl keinem Zweifel.

Indem wir nun zur Besprechung der Vacuolen, welche einen nicht minder häufigen Bestandtheil der Hefezellen bilden, übergehen, wollen wir hervorheben, dass man in der letzteren Zeit immer mehr Beweise erbringt, um dieselben bei Pflanzen für active, gewisser Umwandlungen fähige, etwa den Kernen, Chlorophylkörnern u. s. w. vergleichbare Organe des Zellplasmas zu betrachten. Es mag hier nur auf die Arbeiten von Wer-

minski¹ und Went² hingewiesen werden. Der erstgenannte beobachtete in Endospermzellen der reifen, resp. wasserverlierenden Samen von *Ricinus* Bildung von Aleuronkörnern aus den zahlreichen, darin enthaltenen, oft zusammenfließenden Vacuolen. Umgekehrt beim Keimen reifer Samen, resp. bei Wasseraufnahme wandelten sich die Aleuronkörner in Vacuolen um.

Went, welcher zwischen normalen und pathologischen Vacuolen unterscheidet, ist zu folgenden Resultaten gelangt:

1. abgesehen von den Spermatozoiden, Cyanophyceen und Bacterien, bei welchen eine Entscheidung der Kleinheit der Objecte wegen nicht gut möglich ist, besitzen alle lebenden Zellen der Pflanze, auch die jüngsten, in der Scheitelregion Vacuolen.

2. In allen jungen Zellen findet Theilung und Verschmelzung von Vacuolen statt.

3. Die Vacuolen der Eizelle liefern durch fortwährende Theilung alle Vacuolen der jungen Pflanze.

4. Die Tonoplaste (Vacuolenwände) stehen als Organe des Protoplasmas in gleichem Range mit Kernen und Chromatophoren.

5. Normale Vacuolen können nicht aus Protoplasma entstehen (wo man das bis jetzt zu sehen glaubte, hatte man nur ein Anschwellen schon vorhandener Vacuolen vor sich).

6. Das Quellen von Kernen und Chromatophoren ist eine pathologische Erscheinung, die in keiner Beziehung zu dem Auftreten normaler Vacuolen steht.

Es wird demnach unsere Aufgabe sein müssen, weiter unten die Rolle der Vacuolen in der Hefezelle, ihr Verhältniss sowohl zur Spross- und Sporenbildung, als auch zu den Granula, nach Kräften zu beleuchten. Eins möchten wir gleich hier vorwegnehmen und zwar, dass es wohl mehrere Arten dieser Gebilde in den Hefezellen geben müsse, folglich, dass sie keineswegs alle einander gleichzustellen sind.

Auf die Sprossbildung bei den Hefezellen will ich mich nicht näher einlassen, indem ich den Leser auf die gangbaren botanischen Lehrbücher (de Bary) verweise. Für den Mediciner mag genügen, was Flügge³ darüber sagt: „Allen Hefeformen gemeinsam ist das Kennzeichen, dass sie aus mikroskopisch kleinen Zellen bestehen, die sich durch Sprossung

¹ Ueber die Natur der Aleuronkörner. *Berichte der Deutsch. Botan. Gesellschaft.* 1888. Bd. VI. Hft. 6. S. 199. — Vergl. auch *Compt. rend. de la séance de la section de biologie de la Société de naturalistes de Varsovie.* 10. October 1890.

² Die Vermehrung der normalen Vacuolen durch Theilung. Pringsheim's *Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik.* Bd. XIX. Hft. 3. S. 295.

³ *Die Mikroorganismen.* Leipzig 1886. S. 113.

vermehren, d. h. dadurch, dass sich an einem oder an beiden Enden der Zelle die Zellmembran blasenartig ausstülpt, dass sich diese Ausstülpung dann mit einem Theile des Inhalts der Mutterzelle füllt, allmählich Grösse und Form derselben annimmt und sich schliesslich an der Ausstülpungsstelle durch eine Querwand von der Mutterzelle abgrenzt“.

Nachdem nun die wichtigsten Litteraturangaben bezüglich der uns im Nachstehenden interessirenden Fragen erörtert worden sind, lassen wir die Beschreibung unserer Beobachtungen je nach den Hefearten folgen.

§ I. *Saccharomyces cerev.* I. H. (Figg. 1 bis 14). — Eine Oese voll Reincultur wird in's Glaskölbchen mit Bierwürze ausgesäet und in den Brutschrank bei 25° C. gestellt. Bald darauf sieht man Kohlensäurebläschen vom Boden zur Flüssigkeitsoberfläche aufsteigen, an der letzteren weisslichen Schaum bildend. Nach 24 Stunden ist die Gährung im vollsten Gange, die am Boden des Gefässes angesammelte Hefe reichlich. Beiläufig sei bemerkt, dass ich die benutzte Bierwürze aus einer der hiesigen Brauereien bezogen habe, was für mich recht umständlich war. Aus diesem Grunde verfertigte ich ein sterilisirtes Gemisch von 10 Procent Traubenzucker und 5 Procent Malzextract mit 100 Theilen Brunnenwasser. Alle von mir untersuchten Hefearten gediehen darin vorzüglich.

Behufs Anfertigung mikroskopischer Praeparate werden aus der Bierwürzecultur mittelst sterilisirten Platindrahtes Proben entnommen, in dünner Schicht auf Objectträgern vertheilt und entweder an der Luft getrocknet und darauf einige Mal vorsichtig durch die Flamme gezogen, oder nach dem Lukjanow'schen Verfahren¹ erst mit Sublimat fixirt und darauf getrocknet. Um die morphologischen Détails im Innern der Hefezellen zu differenziren, wandte ich die Gaule'sche vierfache Tinction an. Da aber dieselbe wegen diffuser Vertheilung der Farbstoffe als ungeeignet befunden wurde, empfahl es sich zunächst, die von Ernst² angegebene Färbung zu versuchen, welche auf Behandlung der Objecte mit gelinde erwärmter Löffler'scher Methylenblaulösung und kalter Solution von Bismarekbraun beruht. Bei Anwendung homogener Immersion lässt sich in den so verfertigten Präparaten im Inneren der Zellen eine wechselnde Menge (1 bis 15 und mehr) verschieden grosser, kugelförmiger, schwarz gefärbter Körner wahrnehmen, während das sie umgebende Protoplasma mehr oder weniger gleichmässig braun tingirt erscheint (vgl. Figg. 1—5). Eine Structur haben wir in unseren Kügelchen nicht nachweisen können, auch war kein engeres Verhältniss zwischen ihrer Grösse und den Dimen-

¹ Raum, Zur Aetiologie des Tetanus. *Diese Zeitschrift.* 1889. Bd. V. S. 509.
— Steinhaus, *Die Aetiologie der acuten Eiterungen.* Leipzig 1889.

² A. a. O.

sionen der sie beherbergenden Zellen zu bemerken: nicht selten bin ich auf ein grosses Granulum gestossen, welches in einer kleinen Zelle lag, und umgekehrt. Mit Rücksicht auf die Lagerung der angeführten Gebilde im Zellkörper sei hervorgehoben, dass sie entweder central, oder, was bei weitem häufiger der Fall ist, peripher placirt sind. Bei ovalen Hefeexemplaren erscheinen diese Granula gewöhnlich um einen der beiden Pole gruppiert. In ihrer Anordnung äussern sie nahezu constant eine gewisse Regelmässigkeit, indem sie Kreise oder deren Segmente bilden. Auf Grund ihrer tinctoriellen Eigenschaften müssen die besagten schwarzen Granula mit den sogenannten sporogenen Körnern der Bakterien identificirt werden.

Ausser dem bereits erwähnten Tinctionsverfahren von Ernst haben auch andere Färbungsmethoden uns die in Rede stehenden Granula sichtbar zu machen erlaubt, und zwar: das Löffler'sche Methylenblau mit nachfolgendem Entfärben mittels angesäuerten Alkohols; das Hämatoxylin sowohl von Böhmer als auch von Delafield, aber nur nach vorausgegangenem Auswaschen des Präparates mit Alkohol; schliesslich Eosin oder Rose-Bengale und Nachfärbung mit Methylenblau. Weder Carbol-fuchsin, noch Platner's Kernschwarz, noch mit Essigsäure angesäuertes Methylgrün haben positive Resultate gegeben. Auch das von Zimmermann¹ für Pflanzenobjecte empfohlene Verfahren von Altmann hat uns im Stiche gelassen.

Bei der Sprossung scheint unseren Granula keine geringe Rolle zukommen, wir haben dieselben beim Einwandern in die Sprossen oft ertappen können. Ihr Inhalt muss wenigstens in vielen Fällen als zäheflüssig angenommen werden, sie behalten nämlich beim Passiren der Verbindungsbrücke zwischen der Mutterzelle und ihrer Tochttersprosse nicht immer die kugelige Gestalt, vielmehr strecken sich mitunter in die Länge und scheinen sich hineinzugiessen. Auch eine Zerstäubung ihrer Substanz tritt bei dieser Ueberwanderung nicht selten ein (vgl. Figg. 6 bis 11). Im Allgemeinen habe ich den Eindruck davon getragen, als ob die Mutterzellen den grösseren Theil obiger schwarzer Granula beibehalten, den geringeren Theil davon den Sprosszellen abzugeben pflegen. Sofern meine diesbezügliche Erfahrung reicht, sind alle Zellen einer auf der Höhe ihrer Entwicklung befindlichen Hefecultur, ob alt, ob jung, d. h. sowohl die Mutter-, als auch die Sprosszellen, mit schwarzen Granula versehen.

Um irgend welche Anhaltspunkte über die chemische Natur der von uns in der Hefe gefundenen schwarzen Kügelchen zu gewinnen, habe ich

¹ *Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle*. Tübingen 1890. Heft 1.

eine Reihe von Reactionen an verschieden alten Hefezellen ausgeführt. Zu allererst wurden dieselben der 24- bis 48stündigen Einwirkung künstlichen Magensaftes¹ im Thermostat bei 40° C. ausgesetzt. Dabei ergab es sich, dass durch künstliche Verdauung und nachfolgendes Auswaschen des Objectes mit Aether-Alkohol unsere Granula zum Verschwinden gebracht werden, so dass keines der genannten Tinctiionsverfahren dieselben dem Auge zugänglich zu machen vermag. Gleiches geschah in Folge kurz dauernder Berührung mit 0.5 procentiger Aetzkalklösung. Das einfache Behandeln der Hefe mit siedendem Aether-Alkohol that der besagten Färbereaction keinen Eintrag. Ueberosmiumsäure rief keine für Fett charakteristischen Veränderungen hervor. Die Jodjodkaliumlösung hinterliess eine diffuse gelbe oder rothbraune Färbung. Die erste Nüance tritt zum Vorscheine bei Zellen, die im ausgehungerten Zustande, die zweite bei Zellen, die sich in günstigen Ernährungsverhältnissen befanden. Wenn ich den Ausdruck „diffus“ wähle, so will ich damit andeuten, dass die Jodreaction sich auf keine bestimmten morphologischen Zellenbestandtheile beziehen liess. Zwar habe ich des Oefteren Zellen gesehen, in deren Leibe grössere Substanzportionen in rothbrauner Farbe erschienen, doch war ich nie im Stande, irgend welche genaue Schlüsse in Bezug auf das Verhältniss dieser Substanzportionen zu den Anhäufungen von Granula u. s. w. zu ziehen. Ferner muss beachtet werden, dass nicht selten das vollständige Ausbleiben der Jodreaction mit der Anwesenheit einer grösseren oder kleineren Anhäufung von Granula zusammenfiel.² Eine blaue Färbung, die auf Stärke hindeuten würde, haben wir nicht constatirt. Ich möchte diesen Umstand nicht unerwähnt lassen, da auch Ernst³ mittels Jodreaction in seinen sporogenen Bakterienkörnern keine Kohlehydrate nachzuweisen versuchte. Das Erwärmen des Hefepräparates mit dem Millon'schen Reagens hatte eine gleichmässige Rothfärbung des ganzen Zelleninhaltes zur Folge. Die soeben aufgezählten mikrochemischen Reactionen habe ich

¹ Zur Herstellung künstlichen Magensaftes bediente ich mich der von Schwarz (Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. *Beiträge z. Biologie der Pflanzen* von Cohn, 1887, Bd. V. Hft. 1) empfohlenen Vorschrift (3 Volumtheile Salzsäure von 0.2 Procent und 1 Volumtheil Pepsinglycerin).

² Ueber das Vorhandensein des Glykogens in Hefezellen vergleiche: Errera, Sur le Glycogène chez les Basidiomycètes. *Extrait des Bulletins*, 1884, 3. Série, T. VIII, Nr. 12 et des *Mémoires de l'Académie Royale de Belgique*, 1885, T. XXXVII. — Ueber den Nachweis des Glykogens bei Pilzen. *Botanische Zeitschrift*. 1886. S. 316. — Anhäufungen und Verbrauch von Glykogen bei Pilzen. *Botan. Centralbl.* 1887. Bd. XXXII. — Schliesslich Wortmann's Referat über Errera's Arbeit. *Botanische Zeitschrift*. 1886. S. 200.

³ A. a. O.

an allen von mir untersuchten Hefearten wiederholt, und zwar stets mit demselben Resultate.

Beim Züchten der besagten Bierhefe auf festem Nährboden kommt es selbst bei gewöhnlicher Zimmertemperatur zur Bildung schwarzer Granula, nur müssen dem Agar oder der Gelatine einige Procente Traubenzucker hinzugefügt werden. Die Abwesenheit von Zucker, oder die Gegenwart von Glycerin (6 Procent) im Nährsubstrat sind für das Zustandekommen derselben hinderlich. Haben wir z. B. dem Agar 2 Procent Traubenzucker beigemischt, so geht die Granulabildung, der Sprossung parallel, recht lebhaft vor sich, besonders aber bei einer Temperatur von 25° C. Nach ungefähr 14 Tagen hat die Vermehrung allmählich nachgelassen. Neben körnchenreichen bemerken wir jetzt körnchenarme, ja körnchenlose Zellen, auch solche, die ausser einem grösseren oder kleineren Granulum in der Regel eine oder mehrere schwach gefärbte Vacuolen von rundlicher Gestalt aufweisen (vgl. Fig. 14).

Die Sporen bieten ein abweichendes tinctorielles Verhalten (vgl. Figg. 12 u. 13). Beim Färben mit Methylenblau und Bismarckbraun findet hier, mit Ausnahme der schwarzen Körnchen, welche sich für gewöhnlich an der Peripherie der Sporen etabliren, keine Mischung der Farben statt, sondern die Sporen nehmen nur den blauen, das Protoplasma aber wie gewöhnlich den braunen Farbstoff auf. Die Grösse der Sporen übertrifft in der Regel diejenige der sogenannten Granula und kommt derjenigen der Vacuolen nahe. Ihre Zahl pflegt in der Regel nicht grösser als die Zahl der Vacuolen zu sein; das von mir notirte Maximum beläuft sich in einer Zelle auf 4 Exemplare. In Bezug auf ihre Lagerung im Protoplasma muss bemerkt werden, dass sie bald regellos neben einander, bald der Längsaxe der Zelle entlang zu liegen kommen. In ihrem Inneren nimmt man oft hellere Partien wahr; ausserdem bemerkt man aber an ihrer Peripherie die winzigen schwarzen Körnchen, welche den bereits oben erwähnten ähnlich sind, und entweder zu grösseren Convoluten vereinigt oder solitär gefunden werden. Was die Gestalt der Hefesporen anbelangt, so sind sie meist kugelförmig, oft aber von dem Aussehen eines Hühnereies. Neben den wohlgefärbten Exemplaren stossen wir gar nicht selten auf gleich grosse, mitunter etwas kleinere Gebilde, welche sich mit Bismarckbraun gefärbt haben. Einen kernkörperchenhaltigen Kern, wie ihn Zalewski¹ gesehen haben will, gelang es mir nicht in den Sporen zu erblicken.

Wurde Hefe auf zuckerlosen Agar gebracht, so bildeten sich von vornherein Vacuolen und Sporen vom obigen Habitus, ohne dass es zu

¹ A. a. O.

einer üppigen Entwicklung von schwarzem Granula gekommen wäre. Auch auf Gyps (Hansen), welchen ich in Probirgläsern unter Bildung schiefer Ebene erstarren liess, habe ich Sporen erhalten. Desgleichen im destillirten Wasser und auf feuchtem Filtrirpapier (Wasserzug¹). In späteren Phasen ihres Wachstums, in welchen die Sporen successive an Volumen zunehmen, schwindet allmählich das sie umgebende Protoplasma und sie scheinen dann frei zu liegen unter Beibehaltung ihrer früheren Anordnung.

§ II. *Saccharomyces ellipsoideus* I. H. (Figg. 15 bis 23). — Sowohl in diesem, als auch in allen folgenden Fällen sind ganz dieselben Züchtungs- und Präparationsmethoden wie bei den vorausgegangenen Untersuchungen zur Anwendung gekommen. Wir hatten hier Gelegenheit, uns mit Hilfe des Mikroskops zu überzeugen, dass die Zahl der grösseren schwarzen Granula in jeder einzelnen Zelle etwas geringer ist (vgl. Figg. 15 und 16). In Hinsicht auf Grösse, Gestalt und Gruppierung aber lässt sich bei ihnen eine Uebereinstimmung mit *S. cerev.* I. H. feststellen. Dasselbe gilt im Allgemeinen auch von den Sporen (vgl. Figg. 17, 18 und 19). Die Form der Sporen ist eine regelmässig kuglige. Sie enthalten gleichfalls mehrere dunkel gefärbte Granula, welche meist an der Peripherie liegen. Neben den gut gefärbten Sporen tauchen hie und da etwas kleinere, oder gleich grosse, schwach braun gefärbte und sich dadurch nur wenig vom Zellplasma abhebende Gebilde auf. An der Seite sporenhaltiger Hefeexemplare stossen wir in alten Culturen auch auf Zellen, die grössere Mengen schwarzer, kleiner Granula enthalten (vgl. Figg. 20 und 21), welche meist planlos im Zellprotoplasma zerstreut sind. Auch vacuolenhaltige Zellen sind hier keine Seltenheit (vgl. Figg. 22 und 23).

§ III. *Saccharomyces ellipsoideus* II. H. (Figg. 24 bis 29). — Die besagten Granula scheinen bei dieser Hefeart im Allgemeinen nicht diejenige Ueppigkeit zu erreichen, wie bei den zweien bereits angeführten. Neben kleineren Exemplaren dieser Gebilde begegnen wir hier auch grösseren, ebenfalls schwarz gefärbten Massen, welche ihr Dasein offenbar der Verschmelzung einiger kleinerer Granula verdanken (vgl. Figg. 24 und 25). Unter sporenhaltigen Zellen erblicken wir solche, die ausser einer Spore mehrere schwarze Granula besitzen (vgl. Fig. 26). Auch gar nicht selten sind Zellen vorhanden, die neben einer oder mehreren wohlgefärbten Sporen noch Gebilde beherbergen, welche denselben ähnlich aussehen, aber entweder mit Bismarckbraun (vgl. Fig. 28) oder leicht mit

² Sur les spores chez les levures. *Bulletin de la Société botanique de France*. 1888. T. CXXX. Refer. *Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde*. 1888. Bd. IV. S. 232.

Methylenblau tingirt werden (vgl. Fig. 27). Schwarze kleine Körnchen sind an den Sporen des *S. ellips. II. H.* recht spärlich, meist solitär vorhanden.

§ IV. *Saccharomyces pastorianus* I. H. (Figg. 30 bis 48). — Er bietet schon auf den ersten Blick durch die längliche, fast cylindrische Form seiner Zellen deutliche Unterschiede gegenüber den drei obigen, mehr rundlich ovalen Hefearten dar. Ferner zeichnet sich dieser Sprosspilz durch die Grösse der in Rede stehenden schwarzen Granula aus. Sehr häufig finden wir hier nur ein einziges oder zwei grössere lappige Granula, die man als Kerne anzusprechen leicht verleitet sein könnte. Allein die Abwesenheit einer inneren Structur und die überaus grosse Unregelmässigkeit ihrer Contouren sprechen gegen diese Annahme (vgl. Figg. 30, 31, 32, 33 und 34). In manchen Hefezellen treffen wir eine grössere Anzahl kleinerer Kügelchen (vgl. Figg. 35 und 36). Ihr Antheil an der Sprossung fällt leicht in die Augen: man sieht sie in die Sprosse hineinschlüpfen oder sich hineingiessen (vgl. Figg. 37, 38 und 39). In älteren Zellen nehmen wir eine rundliche Vacuole, oder mehrere derselben wahr und daneben zuweilen schwarze Granula (vgl. Figg. 40, 41, 42 und 43). Auch die jungen Sprossen sind mit Vacuolen bedacht (vgl. Fig. 44). Erwähnenswerth scheint es mir, dass Sprosszellen auch ohne jegliche Betheiligung schwarzer Granula zur Entwicklung gelangen können (vgl. Fig. 45). Hier und da kamen mir junge Sprosszellen zu Gesicht, welche keine Andeutung der sich schwarz tingirenden Substanz, wohl aber ausgebildete Vacuolen enthielten (vgl. Fig. 46). Die Sporen des *S. pastorianus* I. H. sind kleiner, als dieselben Gebilde bei den früher beschriebenen Hefearten, doch zeigen sie auch hier kugelige Gestalt und verhalten sich den Farbstoffen gegenüber ganz identisch. In Bezug auf ihre Grösse stehen sie den schwarzen Granula recht oft nach. Mehr als drei Sporen habe ich in einer Hefezelle nicht gefunden. Neben wohl tingirten Sporen sind mir häufig auch vacuolenartige, hell braun gefärbte Gebilde aufgefallen (vgl. Figg. 47 und 48). Bei genauerer Betrachtung der Präparate wollte es mir scheinen, als ob die Vacuolen sich auch theilen könnten (vgl. Figg. 43 und 48). Auf Fig. 47 sind an Sporen schwarze Körnchen sichtbar.

§ V. *Saccharomyces cerevisiae* (Figg. 49 bis 62), den ich aus hiesiger käuflicher Presshefe isolirt habe, zeichnet sich ganz besonders von *S. cerev. I. H.* durch die viel stürmischeren Gährungserscheinungen aus. Bei mikroskopischer Untersuchung fallen zuvörderst die verhältnissmässig bedeutenden Dimensionen sowohl der Zellen selbst, als auch ihrer Theile, wie der Granula, Sporen und Vacuolen, auf. Die ersterwähnten,

an Zahl und Grösse wechselnd, besitzen, wenn sie grösser sind, unregelmässige Gestalt, wenn kleiner — kugelige Form. Beim Färben mit Hämatoxylin von Delafield und Safranin nehmen diese Granula intensiv violetten Ton an, wobei im Zellprotoplasma schärfer tingirte Abschnitte auftreten (vgl. Figg. 49, 50 und 51). In etwas älteren Culturen sind grosse, formlose, unregelmässig contourirte, durch Methylenblau und Bismarckbraun schwarz gefärbte Massen sichtbar (vgl. Fig. 52). Bei noch älteren Zellen erblicken wir einzelne grössere schwarze Granula und daneben centrale, fast gänzlich farblose Vacuolen (vgl. Fig. 53). In alten Bierwürzeculturen bin ich auf Hefezellen gestossen, in deren Innerem sphärische Agglomerate grösserer und kleinerer schwarzer oder tiefbrauner Granula zu sehen sind (vgl. Figg. 54, 55 und 56). Diese letzteren Formen scheinen besonders wichtig zu sein für die Lösung der Frage nach dem Vorhandensein der Kerne in den Hefezellen. Haben wir in der That vor uns ein aus regelmässig gruppirten Körnchen bestehendes Sphäroid, in dessen Mitte ein grösseres Granulum liegt, so könnten wir den Verdacht hegen, es handele sich hier um den Kern mit einem Kernkörperchen. Da wir aber eine ganze Reihe von Uebergangsformen besitzen, so ist es wohl angezeigt, eher von einer besonderen Anordnung der Granula, als von genuinen Kernen zu reden. Für das traditionelle Schema des Kernes fehlt hier vor allen Dingen, abgesehen schon von eventuellen Verschiedenheiten im chemischen Verhalten, das Kerngerüst und die Kernmembran. Ferner ist es kaum annehmbar, dass die genuinen Kerne unter Umständen entstehen und wieder verschwinden könnten, was bezüglich unserer Gebilde ja zugegeben werden muss. Mit alledem soll indessen nicht gesagt werden, dass auch von anderem Standpunkte aus der Kerncharakter der schwarzen Granulacomplexe sich so leicht negiren liesse. Es sei dabei nur auf die Altmann'sche Theorie der Kernstructur hingewiesen.

An Sporen von wechselnder, aber im Allgemeinen bedeutender Grösse, befinden sich auch hier spärliche, dunkle Granula. Die Sporen liegen bald ordnungslos, bald aber der Längsaxe der Zelle entsprechend (vgl. Figg. 57, 58 und 59). In Fig. 59 sehen wir eine kleine blau gefärbte Sporenanlage. In einigen Hefezellen habe ich auch die mit Bismarckbraun tingirten, kugeligen Gebilde angetroffen. Vacuolen werden in dieser Hefeart ebenfalls nicht vermisst. Ein besonders interessantes Bild ist in Fig. 62 dargestellt: hier sehen wir zwei längliche Zellen, die bei flüchtiger Besichtigung wohl den Eindruck einer einzigen Zelle machen könnten. In einer derselben constatiren wir die Anwesenheit von vier Sporen, in der anderen ist nur eine einzige wohltिंगirte Spore zu sehen, während der übrige Theil des Zellenleibes von vier kugelförmigen „Vacuolen“ in Anspruch

genommen wird. Beachtenswerth ist es, dass diese „Vacuolen“, was ihre Grösse und Anordnung der Längsaxe der Zelle nach anbetrifft, vollkommen dem Habitus der blau gefärbten Sporen entsprechen. Auch das Verhältniss der kleinen schwarzen Körner zu den „Vacuolen“, resp. zu den Sporen, wird durch das erwähnte Object recht hübsch illustriert. Wir sehen, dass diese Körner thatsächlich nur an der Peripherie der „Vacuolen“ zu finden sind.

§ VI. Kleine weisse Hefe (Figg. 63 bis 67) unterscheidet sich durch Sporenbildung von der weissen Hefe Lindner's.¹ Ihre Zellen von meist sphärischer Form enthalten sehr oft vereinzelte schwarze Granula (vgl. Figg. 63 und 64). Auch in Sprosszellen, die noch im Zusammenhange mit ihren Mutterzellen stehen, bemerken wir diese Granula, welche wenigstens zu Anfang der Sprossung unverhältnissmässig klein erscheinen. In der auf Gyps oder in destillirtem Wasser gezüchteten Hefe tritt neben Sporen- auch Sprossbildung ein. Die Sprossen erscheinen hier in ungewöhnlicher Ueppigkeit. So sah ich häufig mit 10 Sprossen beladene Mutterzellen. Die Hefezelle wird in diesem Falle zu einem Schlauche verwandelt. Dieser Umstand tritt besonders deutlich zu Tage bei Behandlung des Präparates mit 2procentiger Ueberosmiumsäure und nachträglicher kurz dauernden Tinction mit Löffler'schem Methylenblau (vgl. Fig. 66), während die Ueberosmiumsäure allein selbst nach einer einstündigen Einwirkung nur eine etwas dunklere Nuancirung der erwähnten Gebilde hervorruft. Auch das Ziehl-Neelsen'sche Carbolfuchsin liefert recht elegante Bilder. Diese schlauchartigen Vacuolen scheinen mit den von Hansen² bei einer der von ihm aufgestellten drei Arten von Rosahefe beschriebenen Keimschläuchen identisch zu sein. Die Sporen liegen stets solitär, sind von kugelförmiger Form und besitzen kleine schwarze Granula (vgl. Fig. 65).

§ VII. *Saccharomyces glutinis* (Rosahefe) (Figg. 68 bis 75). — Die Zellen nicht gross, länglich oval, enthalten auf der Höhe ihrer Entwicklung grössere oder kleinere, bald mehr, bald weniger zahlreiche schwarze Granula. Sie liegen theils central, theils einem der Zellenpole nahe, bald einzeln, bald zu grösseren Convoluten vereinigt (vgl. Figg. 68, 69 und 70). Unter keinem der oben erwähnten Umstände habe ich Sporenbildung beobachten können, dagegen bei älteren Zellen fand ich die bereits angeführten schlauchartigen Vacuolen, welche mit gleicher

¹ *Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde*. 1888. Bd. III. Nr. 11.

² *Compt. rend. des Meddel. fra Carlsberg Laboratoriet*. 1879, Bd. I, Hft. 2 und *Allgemeine Brauer- und Hopfenzeitung* (Nürnberg), 1887, Nr. 95. Refer. im *Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde*. 1880. Bd. III. Nr. 11.

Reaction, wie das bei der kleinen weissen Hefe der Fall war, auf Behandlung mit Ueberosmiumsäure und Methylenblau antworten (vgl. Figg. 71 und 73). Mitunter können diese Gebilde auch sehr winzig sein (vgl. Fig. 72). Die Sprossung scheint auf zweierlei Art möglich zu sein, und zwar mit Betheiligung entweder der schwarzen Granula oder der schlauchförmigen Vacuolen (vgl. Figg. 74 und 75). Gährungserscheinungen habe ich nicht wahrgenommen.

§ VIII. Hefe, die ich aus Kefir (Figg. 76 bis 81) erhalten habe, weist recht kleine Dimensionen auf. Dementsprechend sind auch die schwarzen Granula viel kleiner, als bei den früher angeführten Arten. Gruppierung und Zahl derselben ist wie oben. Es ist bemerkenswerth, dass die Zahl und Lagerung unserer Körner in den Sprossen häufig denjenigen bei der Mutterzelle vollkommen gleichen (vgl. Figg. 76, 77, 78, 79, 80 und 81). Weder Sporen noch Vacuolen nachweisbar. Gährung nicht beobachtet. Vielleicht, dass wir hier mit einer Torulaart (im Hansen'schen Sinne) zu thun haben.

§ IX. Hefe, aus dem Sauerkraut (Figg. 82 bis 90) isolirt, stellt rundliche ziemlich grosse Zellen dar. Was die Grösse, Lage und Gruppierung der Granula anbetrifft, so gilt auch hier das früher Gesagte (vgl. Figg. 82, 83 und 84). Bei älteren Culturen treten in den Zellen fast gänzlich ungefärbte Vacuolen auf, von denen das Protoplasma sammt den darin enthaltenen zuweilen ziemlich grossen Granula als ein sichelförmiges Gebilde an die Zellwand gedrängt wird (vgl. Figg. 85 und 86). Die Zellen wachsen nicht selten in die Länge aus. Auch in solchen Exemplaren erblicken wir unsere schwarzen Granula, welche selbst in jungen Sprosszellen nie fehlen (vgl. Figg. 87 und 88). In späteren Entwicklungsstadien der Cultur begegnen wir langgestreckten, körnerlosen Formen, die sich aber noch immer durch Sprossung fortpflanzen können (vgl. Figg. 89 und 90). Keine Sporen. Gährung schwach.

§ X. Schwarze Hefe (Figg. 91 bis 99) ruft in zuckerhaltigen Flüssigkeiten keine Gährungserscheinungen hervor. Enthält die uns interessirenden Granula, welche bald in der Mitte, bald endständig placirt sind. Vacuolen und Sprossen sind hier auch zu sehen, aber keine Sporen. In älteren Culturen bildet die angeführte Hefe Sprossverbände, deren Glieder entweder ein grösseres oder mehrere kleinere Granula beherbergen. Indem die einzelnen Zellen Längswachsthum eingehen, bilden sie verzweigte, mit Querwänden versehene Mycelien. Sie enthalten meist in der Nähe dieser Scheidewände gelagerte Körnchen, welche aber nicht mehr die charakteristische schwarze Färbung zeigen (vgl. Figg. 91 bis 99).

Anhangsweise füge ich noch Bilder von *Monilia candida* B. (Soorpilz) (Figg. 100 bis 106) bei, welche durch Färben mit Methylenblau und Bismarckbraun erhalten wurden. Von einer näheren Beschreibung derselben nehme ich jedoch Abstand, indem ich auf die bezüglichlichen recht ausführlichen Arbeiten von Plaut¹ und Roux-Linossier² verweise.

In der obigen Schilderung habe ich den Leser mit verschiedenen Einzelheiten bekannt gemacht, welche sich auf die Morphologie und Biologie von zehn Hefearten beziehen. Es ist leicht zu ersehen, dass alle diese Arten viel Aehnliches mit einander haben: vollkommen gerechtfertigt erscheint daher der Wunsch, die erbrachten Thatsachen zusammenzustellen, um auf diese Weise ein gewissermassen für alle Hefearten geltendes Bild zu entwerfen.

Es fragt sich zunächst: ist die Annahme eines Zellkernes in der Hefezelle zulässig?

Eine bestimmte Antwort auf diese Frage zu geben, fällt es schwer da selbst der Begriff von Zellkern überhaupt als noch nicht definitiv festgestellt betrachtet werden muss. Der gangbarsten Ansicht zu Folge verstehen wir unter Zellkern scharf begrenzte, aus Membran, Gerüst, Kernsaft und Kernkörperchen aufgebaute Gebilde; ein sehr charakteristisches Merkmal des Kernes ist ausserdem sein erheblicherer oder geringerer Nuclein Gehalt; schliesslich ist es ja bekannt, dass die Kerne der Zellen stabile Gebilde sind, dass sie autochthon nicht entstehen, sich vielmehr continuirlich fortpflanzen.³ Wenn wir an der Hand dieser Kriterien in den Hefezellen nach Kernen suchen, gelangen wir zur Ueberzeugung, dass in diesen Zellen ausser den indifferenten Plasmakörnern kein constant vorkommender Bestandtheil festgestellt werden kann. Wohl finden wir in der Hefezelle recht oft distincte Gebilde, welche weiter unten zur Rede gelangen werden; doch sind dieselben weder auf Grund ihrer morphologischen, noch auf Grund ihrer chemischen Structur den Kernen ohne Weiteres zuzuzählen. Ich bin daher zu behaupten geneigt, dass die Hefezellen keine Kerne im eigentlichen Sinne des Wortes besitzen. Wenn auch manche

¹ A. a. O.

² Recherches morphologiques sur le champignon du Muguet. *Archiv. de médecine expérimentale et d'anatomie pathol.* 1890. T. II. S. I. Nr. 1. p. 62.

³ Vergl. übrigens: Bobrecky, *Grundzüge der Zoologie*. Kiew 1884. Lief. I. S. 124. (Russisch.) — Rhumbler, Die verschiedenen Cystenbildungen und die Entwicklungsgeschichte der holotrischen Infusoriengattung Colpoda. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie*. 1888.

Autoren vom Zellkerne der Hefe sprechen, so geschieht dies höchst wahrscheinlich darum, dass man entweder dem Worte Kern keinen streng präcisierten Begriff substituirte, oder dass man nicht aufmerksam genug die bezüglichlichen mikroskopischen Bilder prüfte. Dass in den Hefezellen in der That Dinge angetroffen werden, die an den Kern erinnern, unterliegt wohl keinem Zweifel. Indem ich den Leser hinsichtlich näherer Détails auf die vorangegangenen Paragraphen verweise, will ich mich hier mit dem alleinigen Hinweis auf Figg. 30, 82 und 54, 55, 56 begnügen. Ganz besonders fesseln unsere Aufmerksamkeit die drei letztgenannten Figuren. Wir sehen hier Gebilde, welche man auf den ersten Blick unwillkürlich Kerne nennen möchte. Verfügt man nicht über noch andere Anhaltspunkte rücksichtlich der Körnelungen in den Hefezellen, besäßen wir nicht charakteristische Tinctionsmethoden und hätten wir auch den Uebergangsbildern die ihnen zukommende Würdigung nicht geschenkt, so würde hier zweifelsohne von Kernen leicht die Rede sein können. In Nachstehendem hoffe ich jedoch darzuthun, dass selbst die soeben angeführten Figuren, welche wohl die meiste Veranlassung zur Annahme eines Zellkernes bei den Hefen abgeben könnten, ganz anders interpretirt werden müssen.

Nachdem wir also die Frage nach dem Kerne in den Hefezellen erwogen haben, wenden wir uns zur Besprechung noch anderer Thatsachen, welche die Structur der Hefezellen betreffen.

Es genügt, einen flüchtigen Blick auf die beigegeführten Tafeln zu werfen, um einzusehen, wie allgemein verbreitet die eigenthümlichen Granula sind, welche in Folge von Mischfärbung mittels Methylenblau und Bismarckbraun gesättigt schwarzen oder dunkelbraunen Ton annehmen; diese Granula färben sich bei Anwendung anderer Doppelfärbung — Eosin resp. Rose-Bengale + Methylenblau — dunkel violett. Sie können, wie das aus unserer Litteraturbesprechung hervorgeht, den sporogenen Körnern resp. den Granula der Bacterien, welche man erst vor Kurzem eingehenden Studien unterworfen hat, gleichgestellt werden. Angesichts der Neuheit des Gegenstandes dürfte wohl nicht überflüssig sein, die wesentlichsten Merkmale dieser Gebilde beim Hefepilz an dieser Stelle etwas ausführlicher zu beschreiben.

Es muss 1. hervorgehoben werden, dass ich die besagten Körner ausnahmslos bei allen von mir benützten Hefearten vorgefunden habe und

2. dass diese Gebilde keineswegs ein constantes Attribut jeder einzelnen Hefezelle darstellen.

3. Sowohl die Grösse, als auch die Form, die Zahl und die Lage der Granula bieten die grösste Mannigfaltigkeit.

4. Beim Vergleich recht vieler Präparate überzeugt man sich leicht, dass, der zahlreichen Variationen ungeachtet, sich eine einigermaßen typische Form der Granula für jede Hefeart constatiren lässt.

5. Die Granula besitzen augenscheinlich keine Membran; auch ist in denselben keine bestimmte Structur zu sehen.

6. Die in Rede stehenden Gebilde haben halbflüssige Consistenz; sie vermögen unter temporärem Verluste ihrer sphärischen Form von einer Stelle nach einer anderen zu überwandern.

7. Ueber chemische Constitution derselben darf man zur Zeit nichts Bestimmteres sagen.

8. Unseren Granula fällt nicht allein in den ruhenden, sondern vielleicht auch in den sprossenden und sporenbildenden Hefezellen eine Rolle zu.

Die angeführten Thesen bedürfen einiger Erläuterungen. Uebrigens werden sich die letzteren nicht auf alle Sätze beziehen.

Ad 2. Es wäre nicht ohne Interesse, sich die Frage aufzuwerfen, unter welchen Umständen diese Granula in den Hefezellen entstehen. Sofern ich es zu beurtheilen vermag, sind dieselben ein Merkmal von Zellen, die sich in sehr günstigen Ernährungsverhältnissen befinden und auf der Höhe ihrer Lebensthätigkeit stehen. Als Beweis dieser meiner Ansicht mögen die Anfangs- und Endfiguren der den einzelnen Hefearten gehörenden Bilderreihen dienen. Es leuchtet ein, dass in den Anfangsfiguren, welche die wohlernährten, Gährung unterhaltenden Zellen darstellen, vollkommen deutliche Granula vorhanden sind, während in den Endfiguren, welche den schlecht ernährten oder senilen Formen angehören, bald nur wenige, bald keine Granula wahrgenommen werden. Beiläufig sei hier gesagt, dass die braune Färbung bei Jodanwendung, dem obigen gemäss, nur bei wohlgenährten Hefezellen sich constatiren liess. Man könnte daraus die Vermuthung schöpfen, dass die Glykogenablagerung irgend etwas mit der Granulaanhäufung zu thun habe; wir wissen aber, dass es doch kaum möglich wäre, behaupten zu wollen, dass die Granula privilegierte Träger des Glykogens seien.

Ad 3 und 4. Um den in der dritten These geäusserten Gedanken zu illustriren, erlaube ich mir hinzuweisen einerseits auf die sub § VI verzeichnete kleine weisse Hefe, bei welcher unsere Granula grösstentheils solitär vorkommen, und auf S. pastor. I. H. (§ IV), bei welchem diese Gebilde eine ansehnliche Grösse erreichen, andererseits aber auf S. ellips. I und II H. und sub § VIII notirte, aus Kefir stammende Hefe, wo die Körnchen vorwiegend recht klein sind. Ferner müssen die Bilder, wie auf Fig. 3 und die bereits erwähnten auf Figg. 54, 55 und 56 mit den-

jenigen auf Figg. 20, 35, 52 und 51 verglichen werden. Die angeführten Beispiele reichen unstreitig aus zur Bestätigung des Satzes 3. Alles Beobachtete drängt uns zur Annahme, dass die geschilderten Granula der Hefezellen einen ebenso grossen Reichthum mannigfaltigster Détails bieten, wie die Granula der Bakterien. Angesichts dieses Umstandes wäre es schwer zu glauben, dass die Granula der Hefezellen den Charakter von Zellkernen besitzen: selbst in denjenigen Fällen, in welchen wir Hefearten vor uns haben, deren Granula eine gewisse Tendenz zur Annahme typischer Kernform verrathen, bemerken wir keine irgendwie auffallendere Constanz, allenfalls keine solche, wie wir sie als dem Kerne eigenthümlich zu betrachten gewöhnt sind. An alles eben Gesagte anlehnd, müssen wir nun die Art und Weise der Entwicklung der Granula berühren. Wenn wir berücksichtigen, dass diese Gebilde meist keinen bestimmten Theil des Zellleibes in Anspruch nehmen; wenn wir ferner bedenken, dass manche von ihnen ungemein klein erscheinen (sie haben oft so geringe Dimensionen, dass sie recht leicht übersehen werden können, es sei denn, dass die specifischen Tinctionsmethoden zur Hülfe genommen werden), so können wir nicht umhin, dem Gedanken Raum zu geben, dass unsere Granula nichts anderes als eigenthümlich modificirte Körner des allgemein für feinkörnig gehaltenen Zellprotoplasmas selbst sind. Es ist sehr wahrscheinlich, dass bei abweichenden Ernährungsbedingungen die Körnchen des Zellplasmas mit solchen Substanzen besonders reich dotirt werden, welche die uns wohlbekannte Reaction geben. Dementsprechend wären die nicht schwarz, sondern tiefbraun gefärbten Granula als frühere, resp. spätere Entwicklungsstadien unserer Gebilde aufzufassen. Was die Grössenzunahme der Granula anbetrifft, so geschieht sie offenbar auf zweierlei Weise: einerseits können die Granula untereinander confluiren, andererseits kann ein jedes derselben für sich bis zu einem gewissen Grade an Umfang zunehmen.

Ad 6. Um sich einen richtigen Begriff von der Plasticität der Granula zu bilden, wäre angezeigt, unsere Aufmerksamkeit auf Figg. 6, 7, 9, 11 und 38 zu richten. Hier sind verschiedene Momente des Sprossungsvorganges dargestellt. Wir erblicken die Granula aus der Mutterzelle in die Sprosse gleiten, wobei sich ihre Substanz fadenförmig zieht. Auch die Bilder Figg. 31, 33 und 52 sind von Belang. In denselben bemerken wir viel grössere Granula, von deren Peripherie in das Zellplasma feine Fortsätze einzudringen scheinen. Angesichts dieser Bilder allein wird es verständlich, warum das Vorhandensein einer Membran bei diesen Gebilden mir zweifelhaft vorkommt. Ob die Granula active Contractilität besitzen, bleibt vorläufig dahingestellt.

Ad 7. Von den mikrochemischen Reactionen, die ich geprüft habe, möchte ich an dieser Stelle nur der Verdauungsversuche gedenken. Angesichts der Thatsache, dass die Granula bei Pepsinverdauung verschwinden, wäre es wohl schwer, an einen bedeutenden Nucleïngehalt in denselben zu denken. Freilich müssen wir gestehen, dass das Verhalten der Granula der Aetzkallilösung gegenüber an die Eigenschaften des Nucleïns erinnert; doch behält die erste Thatsache ihre massgebende Bedeutung. Da an der Hand makrochemischer Untersuchung nachgewiesen wurde, dass die Hefezellen nucleïnhaltig sind, so muss angenommen werden, dass das Nucleïn über den ganzen Zellenleib diffus vertheilt ist, ohne constant an irgend welche Structurelemente gebunden zu sein. Es sei dem wie ihm wolle, auch in Bezug auf die chemische Zusammensetzung sind die Granula der Hefezellen nicht ohne Weiteres mit Kernen zu identificiren.¹

Ad 8. Von der Spross- und Sporenbildung der Hefezellen wird noch im Nachstehenden die Rede sein. Jetzt will ich nur bemerken, dass wir auf unsere Granula in verschiedensten Perioden der Lebensthätigkeit der Hefezellen stossen (vgl. übrigens die Bemerkung ad 2); ebenso steht es fest, dass diese Gebilde weder bei der Sprossung, noch bei der Sporenbildung ein obligatorisches Zubehör sind. Die beiden genannten Processe können bei der Hefe bald in Gegenwart dieser Granula, bald in Abwesenheit derselben vor sich gehen. In dieser Beziehung lässt sich keine Analogie zwischen unseren Granula und den sogenannten sporogenen Körnern der Bacterien constatiren, denn die letzteren erscheinen, wie das Babes und Steinhaus hervorheben, nur zur Zeit der Theilung und Sporulation der betreffenden Mikroben.

Aus dem allgemeinen Charakter unserer Granula muss gefolgert werden, dass sie eine Art von paraplasmatischen Einschlüssen ausmachen. Ihre Entwicklung ist mit gewissen Existenzbedingungen der Hefezellen verbunden; dasselbe kann auch über ihr Verschwinden gesagt werden. Mit Rücksicht auf die Abwesenheit einer inneren Structur und einer distincten Membran in denselben, ferner wegen der Fähigkeit zu wachsen und zu confluiren, theils aber auch wegen ihres Verhaltens den Tinctionsmitteln gegenüber, könnte man diese Granula verschiedenen anderen

¹ Aus gewöhnlicher Presshefe habe ich nach Drechsel (*Anleitung zur Darstellung physiologisch-chemischer Präparate*, 1889) Nucleïn dargestellt. Dasselbe in Hühnereiweiss auf Objectgläsern vertheilt und mit Methylenblau und Bismarckbraun behandelt zeigte die Ernst'sche Reaction nicht. Die Nucleïnpartikelchen nahmen bräunliche, das Eiweiss schwach gelbe Farbe an; eine deutliche schwarze Mischfärbung, wie sie bei den typischen Granula beobachtet wird, konnte nicht constatirt werden.

Körnelungen, die sowohl in den pflanzlichen als auch thierischen Zellen gefunden werden, an die Seite stellen. Dass die besagten Granula in irgend einem directen Verhältnisse zu dem Vorgange der Spross- oder Sporenbildung stehen, ist zum mindesten zweifelhaft.

Beim Studium der Hefezellen haben wir wiederholt Gelegenheit gehabt, auch Vacuolen zu beobachten, deren alle Autoren, welche sich mit der Hefezelle befassten, Erwähnung thun. Mit Rücksicht auf diese Gebilde möchte ich hervorheben, dass ihre Charakteristik wesentlich eine negative ist. Ihrer Form und Grösse, wie auch ihrer Zahl nach scheinen die Vacuolen sowohl von den Granula, über welche wir uns oben ausgesprochen haben, als auch von den Sporen, die im Nachfolgenden zur Sprache kommen werden, nicht allzuweit zu stehen. Das einzige Merkmal, welches vollkommen scharf die Vacuolen von anderen ähnlichen Gebilden unterscheidet, ist ihr refractäres Verhalten den Färbemitteln gegenüber. Man muss übrigens nicht ausser Acht lassen, dass die soeben ausgesprochenen Bemerkungen keine absolute Bedeutung haben. Erstens darf nicht verschwiegen werden, dass die Vacuolen niemals diejenigen an unregelmässigen Fortsätzen so reichen Formen präsentiren, wie wir sie zuweilen bei den Granula finden. Ferner beobachten wir mitunter an der Peripherie der Vacuolen kleine schwarze Körnchen, welche an der Peripherie der grösseren schwarzen Granula für gewöhnlich nicht angetroffen werden. Endlich lässt es sich gar nicht behaupten, dass die Vacuolen die Fähigkeit, Farbstoffe zu fixiren, gänzlich entbehren. Ich will bei dieser Gelegenheit nur an meine kleine weisse Hefeart und an den *S. glutinis* erinnern, bei denen es mir gelungen war, mittels Ueberosmiumsäure und Methylenblau auch die Vacuolen als electiv tingirbare Gebilde zu differenziren, wie das aus den Figg. 66, 71 und 72 ersichtlich ist. Man könnte natürlich, um die Vacuolen von anderen ähnlichen Gebilden zu unterscheiden, auf ihr specifisches Lichtbrechungsvermögen und auf ihre chemische Constitution hinweisen. Leider ist die Abschätzung dieser Merkmale mit grossen Schwierigkeiten verbunden, weil die Anwendung eines objectiven Massstabes für Lichtbrechung hier nicht üblich ist und weil über die chemischen Eigenschaften der Stoffe, aus welchen die Vacuolen aufgebaut, wir noch wenig unterrichtet sind. Die erwähnten Umstände gebieten uns auch in Bezug auf Vacuolen recht zurückhaltend zu sein.

Nach allen diesen Erwägungen summiren wir nun die sämmtlichen von uns gemachten Erfahrungen hinsichtlich der sogenannten Vacuolen resp. Gebilde von überwiegend sphärischer Form, welche bei Behandlung mit sehr vielen Farbstoffen, unter Anderem auch bei Anwendung von Methylenblau mit Bismarckbraun, fast vollkommen farblos bleiben.

Die erste auf Vacuolen sich beziehende These kann folgendermassen formulirt werden: wenn auch die Vacuolen den integrireenden Theil vieler Hefezellen bilden, sind sie doch kein nothwendiges Attribut jeder einzelnen Zelle, resp. aller Arten von Hefe. Zur Bekräftigung des eben Gesagten genügt wiederum der Hinweis auf die unserer Arbeit beigelegten Tafeln, welche anschaulich genug demonstrieren, innerhalb wie breiter Schranken die Vacuolen vorzukommen pflegen. Ferner ist es bemerkenswerth, dass von den zehn Hefearten, über welche ich disponirte, nur die im Kefir vorgefundene Hefe in Bezug auf die Vacuolen negative Resultate geliefert hat. Auffallend ist es, dass gerade bei der letztgenannten auch die Granula ungemein klein sind; sie können nur mittels Tinction dem Auge zugänglich gemacht werden. Damit möchte ich den Gedanken nahe legen, dass es möglicher Weise auch die Vacuolen hier nur verschwindend kleine Dimensionen erreichen. Wie es dem auch sei, habe ich mich, des wiederholten Suchens ungeachtet, von ihrer Anwesenheit nicht überführen können.

Zweitens wäre hinsichtlich der Vacuolen zu bemerken, dass dieselben, den Granula gleich, sich als unbeständige Gebilde erweisen, indem sie unter gewissen Umständen von Neuem aufzutauchen scheinen, unter anderen aber spurlos verschwinden. Auf Grund meiner Beobachtungen bin ich bereit zu glauben, dass ein Antagonismus zwischen den die Entwicklung von Granula begünstigenden Momenten einerseits und den das Entstehen von Vacuolen fördernden Umständen anderseits existire. Ich habe auch wirklich den Eindruck davongetragen, als ob gerade die in ungünstigen Ernährungsbedingungen lebenden Hefezellen ausserordentlich häufig Vacuolen bildeten. Die sich darauf beziehenden Détails findet der Leser in vorausgegangenen Paragraphen. Man darf indessen nicht denken, dass Granula und Vacuolen sich gegenseitig absolut ausschliessen.

Drittens wollen wir Einiges über die Grösse der Vacuolen und über ihre Lage in den Hefezellen sagen. Mit Rücksicht auf die erstere sei hervorgehoben, dass sie nicht so häufigen Schwankungen unterworfen ist, wie die Grösse der Granula. Zur richtigen Würdigung der Frage nach dem Entstehen dieser Gebilde ist es ferner wichtig, sich die Thatsache zu merken, dass mitunter in einer und derselben Zelle neben umfangreicheren Vacuolen wir auch kleinere sehen. Ich muss mich hier auf Fig. 23, ganz besonders aber auf Fig. 72, berufen. Das zuletzt bezeichnete Bild lenkte schon damals unsere Aufmerksamkeit auf sich, als vom Behandeln der Vacuolen mit Ueberosmiumsäure und Methylenblau die Rede war. In der That sehen wir auf demselben eine grosse und in gewisser Entfernung eine zweite, sehr kleine Vacuole, welche ohne entsprechende Färbung uns sehr leicht entgangen sein würde. Das Vor-

handensein so winziger Vacuolen nebst Anwesenheit von Uebergangsformen ruft in uns den Gedanken wach an die Fähigkeit der Vacuolen, aus irgend welchen kleinen Anlagen emporzuwachsen. Die Zahl der Vacuolen in einer einzelnen Hefezelle ist für gewöhnlich nicht erheblich. Dieselbe steht in keinem directen Verhältniss zu der Zahl der Granula. Man könnte schon mit grösserer Triftigkeit von einer Beziehung zwischen der Zahl der Vacuolen und derjenigen der Sporen, welche in bezüglichen Hefezellen zur Entwicklung kommen, sprechen. Von diesem Standpunkte aus ist Fig. 62, auf die ich im Nachfolgenden noch einmal zurückzukehren gedenke, von ungemein grossem Interesse. Es fragt sich nur: liegt hier nicht Selbsttäuschung vor? mit anderen Worten, wenden wir den Ausdruck Vacuole stets nur auf identische Gebilde an? Nicht ohne Grund habe ich jedenfalls die allgemeine Charakteristik der Vacuolen vorausgeschickt. Es unterliegt, glaube ich, wohl keinem Zweifel, dass die mit dem gemeinschaftlichen Namen Vacuolen benannten Gebilde verschiedener Natur sein können, da unter negativer Charakteristik die differentesten Dinge sich zusammenfassen lassen. Ich hoffe, dass mir gelingen wird, die Billigkeit dieser meiner Bemerkung bei Besprechung der Sporenbildung zu beweisen. Indem wir nun zur Lage der Vacuolen in den Hefezellen übergehen, bemerken wir, dass in manchen Fällen diese Gebilde central liegen, in anderen aber excentrisch. Eine genau bestimmte Stelle ist ihnen also in der Hefezelle nicht angewiesen. Ferner soll des Umstandes gedacht werden, dass nicht allzu selten die Vacuolen von kleineren Granula umgeben werden. Innerhalb der Vacuolen finden wir aber keine Granula. Diese Thatfachen werden treffend durch Fig. 86 illustriert. Hier wird fast der ganze Zellenleib von einer einzigen verhältnissmässig grossen Vacuole in Anspruch genommen, welche von einer Seite her durch den aus geringer Quantität Zellplasmas mit regelmässig darin eingestreuten Granula bestehenden Halbmond umsäumt wird. Die betreffende Figur zeigt gewisse Aehnlichkeit mit den fettig infiltrirten thierischen Zellen. Die Vacuole entspricht dem grossen Fetttropfen, der protoplasmatische mit Granula bedachte Saum — dem Reste intact gebliebenen kernhaltigen Protoplasmas.

Viertens möchte ich dasjenige notiren, was die physiologische Rolle der Vacuolen anbelangt. Die diesbezüglichen von mir an zehn Hefearten studirten Verhältnisse berechtigen mich den Schluss zu ziehen, dass es irrig sei, den Granula analog, auch den Vacuolen irgend welche directe und constante Theilnahme an den Spross- und Sporulationsvorgängen zu octroiren. Allerdings sehen wir nicht selten, dass in den Sprossen Vacuolen vorhanden sind. Als Beispiel mögen Figg. 46 und 75 dienen. Doch müssen auch diejenigen Fälle nicht ausser Acht gelassen werden, in denen wir weder in der Mutterzelle noch in der Tochterzelle Vacuolen

finden. Betrachten wir nur Figg. 7, 8, 9, 10, 11 u. s. w. Schliesslich wollen wir noch einmal an Fig. 45 erinnern, welche zwei deutliche Vacuolen in der Mutterzelle darstellt, während in der Sprosse keine Spur von denselben wahrgenommen wird. Dies alles zeigt zur Genüge, dass der Process der Sprossung sowohl bei An- als auch bei Abwesenheit der Vacuolen gleich gut sich abspülen kann. Auch darf hier nicht verschwiegen werden, dass die aus dem Kefir isolirte Hefe recht schöne Bilder des Sprossungsvorganges liefert, wiewohl, dem Gesagten gemäss, die Nachforschung nach den Vacuolen bei diesem Hefepilze negativ ausfiel. Annähernd dasselbe darf auch über das Verhältniss der Vacuolen zur Sporulation gesagt werden. Ungeachtet des Umstandes, dass die in Sporulation begriffenen Zellen nicht selten mehr oder weniger reich an Vacuolen sind, finden wir ab und zu Individuen, welche neben einer Spore keine Vacuolen besitzen. Fälle letzterer Art sind vornehmlich deshalb interessant, weil es uns eben bei der Untersuchung derselben gelingt, gewisse vacuolenartige Elemente im Zellenkörper zu bemerken, über deren Bedeutung ich noch Einiges nachträglich sagen werde. Es muss daher angenommen werden, dass die Rolle der Vacuolen weder mit den Mechanismen, von welchen der Process der Sprossung bedingt wird, noch mit denjenigen, von welchen der Sporulationsvorgang abhängt, in einem directen Zusammenhange stehe.

Indem wir nun die Frage nach der Herkunft der Vacuolen in Angriff nehmen, können wir keinen Augenblick über die Wahl einer Hypothese im Zweifel sein. Am wahrscheinlichsten ist es, dass die Vacuolen, was ihre Genese anbetrifft, in eine Reihe mit den schwarzen Granula, mit denen sie auch in mancher anderen Beziehung gewisse Aehnlichkeit haben, placirt werden können. Die Vacuolen stellen offenbar nichts anderes dar, als specifisch veränderte protoplasmatische Körner, welche allmählich emporgewachsen resp. bis zu dieser oder jener Grenze aufgequollen sind. Derartige Bilder, wie auf Fig. 43, können in zweierlei Weise gedeutet werden und zwar entweder im Sinne der Theilung einer grösseren Vacuole in zwei kleinere, oder im Sinne einer Verschmelzung zweier kleiner Vacuolen zu einer grossen. Zweifelsohne ist die definitive Entscheidung, welche von diesen zwei Deutungen der Wirklichkeit entspricht (zulässig sind beide Möglichkeiten), nur mittels Untersuchung lebender Objecte erreichbar. Jedenfalls können wir einstweilen an der Ansicht festhalten, dass die Vacuolen der Hefezellen ihrer Abstammung nach mit dem Zellplasma selbst im Zusammenhange stehen.

Nicht um etwa neue Theorien zu gründen, sondern vielmehr zum Zwecke einer Klärung meiner eigenen Anschauungen, will ich noch weitere Parallelen zwischen den Granula und Vacuolen ziehen. Liesse sich nicht

auch von den Vacuolen sagen, dass sie eine Art paraplasmatischer Einschlüsse darstellen? Könnte man nicht annehmen, dass die Bildung von Granula und diejenige von Vacuolen sich gewissermassen wie zwei Arten von Umwandlungen der Hefezelle verhalten? Allerdings wird der Ausdruck Umwandlung hier im weitesten Sinne gebraucht, womit keineswegs gesagt werden soll, dass die im Zustande von Umwandlung befindlichen Zellen Individuen mit beeinträchtigter Lebensthätigkeit sind. Wie es dem auch sein mag, der allgemeine Sinn des ganzen Vorganges ist der: indem die indifferenten Körner des Protoplasmas, welche normaler Weise nur Bismarckbraun aufnehmen, unter Aufspeicherung von gewissen Substanzen wachsen oder aufquellen, acquiriren sie die Fähigkeit sich mit Methylenblau und Bismarckbraun schwarz oder dunkelbraun zu färben; indem sie unter Aufquellen andere Substanzen aufspeichern, oder gewisse Stoffe einbüssen, werden die besagten Körner den genannten Farbstoffen gegenüber refractär. Im ersten Falle bekommen wir statt der indifferenten Protoplasmakörner typische Granula, im zweiten Vacuolen. Das Gesagte will ich durch ein Beispiel aus der Biologie der thierischen Zelle erläutern. Indifferente Körner des Protoplasmas, indem sie synthetisch Fett assimiliren, wandeln sich in Fettkügelchen um; indem sie Pigment aufnehmen, werden sie zu Pigmentkörnern (Altmann). Es zeigt sich also, dass ein und dasselbe indifferente Element zum Ausgangspunkte zweier so differenten Metamorphosen werden kann.

Aus alledem erhellt es, dass wir die Bildung der Granula und Vacuolen als Ausdruck dieser oder jener Modification der Ernährungsvorgänge in den Hefezellen ansehen müssen. Nunmehr fragt es sich, was bezüglich der Fortpflanzungsfunktion sich sagen lässt.

Zunächst werde ich bei den Thatfachen stehen bleiben, welche die Sprossung betreffen, da dieser Vorgang unzweifelhaft einen viel allgemeineren Charakter besitzt, als derjenige der Sporenbildung. In der That habe ich bei Untersuchung meiner zehn Hefearten stets Gelegenheit gehabt, die Sprossung zu beobachten, was indessen von der Sporenbildung, die in manchen Fällen fehlte, nicht gesagt werden darf.

Die wesentlichsten Détails hinsichtlich der Sprossung lassen sich folgendermassen formuliren.

In überwiegender Mehrzahl der Fälle ist die Quantität der Sprossen keine so bedeutende: für gewöhnlich finden wir neben der Mutterzelle nur eine Sprosse. Bei der Rosahefe stossen wir auf entgegengesetzte Erscheinung. Hier kann eine Mutterzelle gleichzeitig 3, 5 und mehr Sprosszellen tragen. Ich sage „gleichzeitig“, da nicht selten die Sprossen gleich gross erscheinen. Die Lage der Sprosszellen gegenüber der Mutterzelle äussert mannigfaltige Schwankungen. Grösstentheils entwickelt sich die

Sprosse an dem schmälern Ende der Hefezelle. Mitunter geht die Längsaxe der Mutterzelle direct in die Längsaxe der Tochterzelle über; es kommt indessen auch vor, dass die besagten Axen miteinander einen Winkel bilden. Was die äussere Form der Sprossen anlangt, so sind augenscheinlich selbst die winzigsten resp. die jüngsten unter ihnen bestrebt die Form der Mutterzelle zu wiederholen.

Die Bedingungen zu bestimmen, von welchen die Sprossung im Allgemeinen gefördert wird, fällt nicht schwer. Gleich anderen Beobachtern, habe ich mich überzeugt, dass bei Gegenwart eines reichlichen Nahrungsvorrathes, der von energischer Gährung begleitet zu werden pflegt, die Hefezellen eifrig Sprossen treiben. Uebrigens erlischt die Sprossungsfähigkeit nicht einmal in älteren Culturen gänzlich, selbst bei den für die Sprossung verhältnissmässig ungünstigen Bedingungen nicht, unter denen die Sporenbildung die Situation zu beherrschen pflegt. Die That-sachen, welche zu Gunsten des Angeführten sprechen, habe ich bereits oben gewürdigt.

Zum Studium der intimsten Vorgänge bei der Sprossung haben sich unsere der zusammengesetzten Tinction unterworfenen Präparate als recht geeignet erwiesen. Beim Durchmustern der hierher gehörenden Bilder gelange ich zum Schluss, dass die Sprossung auf vierfache Weise möglich ist:

1. ohne Antheil von Granula und Vacuolen;
2. unter Mitwirkung der Granula allein;
3. unter alleiniger Theilnahme von Vacuolen;
4. unter Mithilfe sowohl der Granula als auch der Vacuolen.

Ueber jede dieser Eventualitäten wollen wir einige Worte sagen.

Um die erste derselben zu beleuchten, möchte ich mich auf Fig. 45 berufen, welche eine in unmittelbarem Zusammenhange mit der Mutterzelle stehende Sprosse von *S. pastor*. I. H. darstellt. Dieselbe besteht aus zarter protoplasmatischer Masse, welche frei von jeglichen Einschlüssen ist. Offenbar haben wir hier den einfachsten Fall einer Sprossung vor uns.

Um die zweite Möglichkeit zu veranschaulichen, will ich wieder auf Figg. 6, 7, 8, 9, 10, 11, 37, 38, 39, 64, 74, 81, 87 u. s. w. hinweisen. Beim Betrachten dieser langen Reihe von Bildern ist nicht schwer, die ihnen allen gemeinschaftlichen Züge zu bemerken. Wir sehen, dass die Sprossen ausser der mit Bismarckbraun tingirbaren protoplasmatischen Masse auch die uns wohlbekannten schwarzen Granula enthalten, welche in keiner der hierher gehörenden Mutterzellen vermisst werden. Einige der soeben aufgezählten Bilder, nämlich die ersten sechs Figuren und Fig. 81, verdienen ganz besonderes Interesse. Am einfachsten wäre es

anzunehmen, dass diese Gebilde aus dem Leibe der Mutterzelle in die Sprosse dringen. Damit würde aber die Möglichkeit einer selbständigen Entwicklung der schwarzen Granula in den Sprossen nicht ausgeschlossen. In Anbetracht des allgemeinen Charakters unserer Anschauungen bezüglich der Granula ist es leicht begreiflich, dass wir nicht die geringste Neigung haben können, die genetische Abhängigkeit der Granula in den Sprossen von den Granula der Mutterzellen zu behaupten. Es sei dem wie ihm wolle, die oben angeführten Bilder dürfen nicht schweigend übergangen werden: sie machen die Annahme recht wahrscheinlich, dass wenigstens in manchen Fällen die Mutterzelle neben einem Theile ihres Protoplasmas auch einen Theil ihrer Granula dem Tochterelemente abgibt. Was Fig. 81 anbelangt, so überrascht sie uns durch die auffallende Symmetrie der Mutterzelle und der Sprosse. In beiden finden wir je drei reihenweise gruppirte Granula.

Zur Veranschaulichung des dritten Falles will ich auf Figg. 46, 66, 67, 75 u. s. w. verweisen. Auch hier ist es nicht schwer, die gemeinschaftlichen Merkmale zu fassen: in jeder Sprosse erblicken wir eine, seltener zwei Vacuolen, welche vollständig denjenigen gleichkommen (die Grösse ausgenommen), die sich in der Mutterzelle vorfinden. Auf welche Weise die Sprosszellen zu ihren Vacuolen kommen, unternehme ich nicht zu entscheiden. Bilder, welche die Meinung rechtfertigen würden, dass die besagten Gebilde aus dem Mutterkörper in die Sprosszelle überwandert sind, habe ich nicht gesehen. Demjenigen entgegen, was von den schwarzen Granula gesagt wurde, lässt sich behaupten, dass die Vacuolen der Tochterelemente stets im Leibe der letzteren selbständig entstehen.

Schliesslich, um die vierte Möglichkeit zu erläutern, sind die Bilder 102, 104, 105 und 106 zu nennen, welche übrigens nicht der echten Hefe, sondern dem Soorpilz angehören. Hier finden wir in der Substanz der Sprossen je eine sphärische Vacuole, deren Peripherie mit wechselnder Menge schwarzer Granula bedacht ist. Wir haben Gründe zu glauben, dass diese Granula secundäre Gebilde darstellen. In der That stossen wir nicht nur in Fig. 103, sondern auch in manchen der eben aufgezählten Bilder auf Sprossen, die ausschliesslich nur Vacuolen beherbergen.

Beim Ueberblick aller auf Sprossung sich beziehenden Détails, gelangen wir zur Ueberzeugung, dass weder die Vacuolen noch die schwarzen Granula für den genannten Vorgang von hervorragender Bedeutung sind. Wenn wir in der Mehrzahl der Fälle in den Sprossen schwarze Granula finden, so hängt dieser Umstand damit zusammen, dass die Bedingungen, von welchen die Entwicklung der letzteren begünstigt wird, gleich anregend auch für die Sprossung sind.

Angesichts einiger Litteraturangaben habe ich die grösste Aufmerksamkeit den jüngsten Entwicklungsphasen der Sprossung geschenkt. Ich muss aber gestehen, dass es mir dabei nicht glücken wollte, diejenigen Einzelheiten wahrzunehmen, auf welche die Autoren hinweisen: ich habe hier die Angaben über die primäre Betheiligung der Zellmembran und secundäre des Zellplasmas im Sinne. Die kleinsten der von mir gesehenen Sprossen kommen stets in Gestalt winziger Sphären vor, welche gleich dem Mutterleibe sich mit Bismarckbraun färben. Nie aber bot sich mir die Gelegenheit, am Körper der Mutterzelle einen primär in Form von Membranausstülpung sich bildenden Vorsprung zu beobachten u. s. w.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich bemerken, dass ungeachtet der verschiedensten Tinctionsverfahren es mir nicht gelang, eine distinct gefärbte Zellmembran zu differenziren; auch habe ich nie an der Peripherie der Zelle doppelte Contouren constatiren können. Möglicherweise sind meine Angaben über die Nichtbetheiligung der Zellmembran an der Sprossung nur ein Resultat derjenigen Methodik, deren ich mich bedient habe.

Beim Ueberblick der Thatfachen, welche den Sprossungsprocess betreffen, ergibt es sich, dass die wichtigste Rolle hier dem Zellprotoplasma selbst gehört. Von der Zelle schnürt sich ein verhältnissmässig geringer Theil ihrer Substanz ab, welcher von der Mutterzelle gewissen Vorrath an schwarzen Granula erhalten kann. Im Laufe weiterer Entwicklung nimmt das Tochterelement an Grösse zu, wird der Mutterzelle ähnlich und erleidet, diesen oder jenen äusseren Bedingungen entsprechend, dem Mutterelemente gleich, entweder die granuläre oder vacuoläre Metamorphose.

Einer allgemeinen Uebersicht der auf Sporulation sich beziehenden Facta ist es angezeigt, die Besprechung einer allgemeinen Frage voranzuschicken: bilden die oben beschriebenen Granula und Vacuolen eine dem Sporulationsprocess obligatorisch vorhergehende oder denselben nothwendig begleitende Erscheinung? Diese oder jene Beantwortung der gestellten Frage kann offenbar nicht ohne Einfluss auf die Auffassung des Sporulationsvorganges selbst bleiben.

Beim Durchblättern meiner gelegentlich der Untersuchung mikroskopischer Präparate gemachten Notizen, komme ich vor allen Dingen zu dem Schlusse, dass manche Hefearten, welche deutliche Granula und Vacuolen zur Schau tragen, keine Spur einer Sporenbildung verrathen. Als Beispiel möge hier *S. glutinis* dienen, dessen ausführlichere Beschreibung oben zu finden ist. Auch andere auf Taf. II wiedergegebenen Hefearten sind in dieser Hinsicht sehr lehrreich. Daraus muss gefolgert werden, dass in Hefezellen, selbst wenn die betreffenden Hefearten keine Tendenz

zur Sporenbildung äussern, sich Granula und Vacuolen entwickeln können. Ferner will ich bemerken, dass die sporentragenden Hefezellen gar nicht selten frei von Granula und Vacuolen sind. Dieser Umstand bewegt uns selbstverständlich zur Annahme, dass zwischen Sporulation in den Hefe-elementen und dem Auftreten von Granula und Vacuolen kein nothwendiger Zusammenhang existirt. Genügen aber die vorgeführten That-sachen zur Beantwortung der oben aufgestellten Frage in streng negativen Sinne? Zweifellos nicht. Es liesse sich in der That von *S. glutinis* und ihm ähnlichen Hefearten sagen, dass hier das negative Resultat in Bezug auf Sporulation ein Spiel des Zufalls sei: vielleicht, dass es uns nicht geglückt hat, die Bedingungen ausfindig zu machen, unter welchen Sporenbildung statt zu haben pflegt. Ebenso können auch hinsichtlich derjenigen Bilder, welche granula- und vacuolenlose Zellen wiedergeben, billige Einwände erhoben werden: es ist wohl denkbar, dass während früherer Lebensperioden in denselben Zellen sowohl Granula als auch Vacuolen zugegen waren; es ist sogar möglich, dass die Sporen auf Kosten gerade dieser Elemente entstanden sind. Daraus folgt, dass wir über eindeutige Facta, welche die Behauptung direct zulassen würden, dass die Granula und Vacuolen in keinem unmittelbaren Connex mit der Sporulation und Sprossbildung stehen, nicht verfügen. Um den wahren Mechanismus der Entstehung der Sporen nach Möglichkeit zu enthüllen, müssen demnach einzelne Bilder eingehender studirt werden. Sollte sich dabei herausstellen, dass die Hefesporen auf gewisse selbständige Anlagen, die ihrerseits einen selbständigen Entwicklungsmodus besitzen, genetisch zurückzuführen sind, so würden auch die eben besprochenen zwei That-sachen einen viel eindeutigeren Werth in unseren Augen erlangen.

Indem wir nun die Frage nach dem Vorhandensein eines Zusammenhanges zwischen Sporulation und granulärer und vacuolärer Metamorphose der Hefezellen einstweilen bei Seite lassen, wollen wir alle diejenigen Daten, welche den Sporulationsprocess als solchen betreffen, einer systematischen Betrachtung unterziehen.

Vor Allem möge über vollständig reife Sporen bei verschiedenen Hefearten gesagt werden. Wie aus Figg. 12, 13, 17, 18, 19, 26, 27, 28, 29, 47, 48, 57, 58, 59, 60, 61, 62 und 65 ersichtlich, treten die unter dem Namen Sporen bekannten Elemente, Dank der von uns angewandten Tinction, recht deutlich hervor: im Gegensatz zu dem gelben Plasma, zu den bräunlich, resp. tief schwarzen Granula und farblosen Vacuolen erscheinen die Sporen mehr oder minder intensiv blau gefärbt. Wenn auch die Zahl, Form, Grösse und Lage der Sporen bei verschiedenen Hefearten ungleich sind, zeigen dieselben jedoch nicht diejenige Mannigfaltigkeit, wie wir sie bei den Granula beobachtet haben. Man könnte sagen, dass die

Sporen in Anbetracht sowohl ihrer Zahl als auch ihrer Form, Grösse und Lage näher den Vacuolen als den Granula stehen. Was speciell die Zahl der Sporen anbelangt, so habe ich bei der kleinen weissen Hefe in der Regel nur je eine gesehen. In dem sub § V notirten *S. cerevisiae*, welcher aus der hiesigen Presshefe erhalten wurde, fand ich je vier Sporen, in *S. cerevisiae* I. H. — ebenfalls je vier Sporen, in *S. ellips.* I. H. — je drei, in *S. ellips.* II — je vier u. s. w., wobei hinzugefügt werden muss, dass mit den genannten Zahlen Maxima ausgedrückt sind. In Hefezellen der beliebigen Hefespecies, in denen eine geringere Zahl von Sporen gefunden wurde, habe ich nicht selten eigenthümliche Gebilde bemerken können, die ich, wie das aus dem Nachfolgenden sich noch ergeben wird, für Sporenanlagen halten möchte. Mit einem Worte, man bekommt den Eindruck, als hätten wir in diesem Falle Zellen vor uns, welche noch nicht alle ihre Sporen fertiggestellt haben. Ich kann nicht umhin, auch an dieser Stelle Fig. 62 anzuführen, welche zwei langgestreckte, scheinbar zu einem Ganzen verbundene Zellen darstellt. Einstweilen möchte ich in Bezug hierauf nur Folgendes bemerken: es ist höchst wahrscheinlich, dass an ungefärbten Präparaten diese beiden Zellen leicht für eine einzige genommen werden konnten, wodurch natürlich auch die Zahl der Sporen das von mir angegebene Maximum übersteigen würde. Ich will damit übrigens nicht gesagt haben, dass die Zahl der Sporen, welche in Zellen dieser oder jener Hefeart zur Entfaltung kommen, eine constante ist. Man kann in der That nicht ausser Acht lassen, dass in den einander nahestehenden Arten, ja sogar in verschiedenen Elementen einer und derselben Art die Zahl der Sporen vielfach variirt. Ferner, was die Grösse derselben anbelangt, so habe ich die voluminösesten Exemplare in dem aus der Warschauer Presshefe isolirten *S. cerevisiae* vorgefunden; etwas kleinere Sporen werden bei *S. ellips.* I et II beobachtet; noch kleinere traf ich im *S. pastorianus* I und in meiner kleinen weissen Hefe. Auch die Dimensionen der Sporen sind keineswegs constant zu nennen. Man braucht nur Figg. 60 und 62 mit einander zu vergleichen, um die Richtigkeit dieser Bemerkung anzuerkennen. Ueber die Form der Sporen sind nicht viele Worte zu verlieren. In der überwiegenden Mehrheit der Fälle erweisen sie sich als sphärisch oder leicht ellipsoidisch; Vorsprünge welcher Art auch immer werden für gewöhnlich nicht wahrgenommen. In Bezug auf die Lagerung der Sporen ist hervorzuheben, dass in länglichen Zellenexemplaren eine reihenweise Gruppierung vorwieg, in den mehr oder weniger sphärischen aber die Sporen in Haufen neben einander liegen.

Bei der Beschreibung der Granula und Vacuolen habe ich bereits Gelegenheit genommen darauf hinzuweisen, dass diese Elemente keine

Anzeichen einer inneren Structur verrathen. Fast ebenso wenig complicirt erscheinen auch die Sporen. Ich sage deshalb „fast“, weil die Sporen immerhin stellenweise Andeutungen einer inneren Differenzirung zur Schau tragen: manche Theile derselben nehmen viel dunkleren Ton an. Ferner muss constatirt werden, dass gar nicht selten sehr feine, den Granula recht ähnliche Körnchen an der Oberfläche der Sporen angetroffen werden. Bilder, welche gestatten würden, von einer Vertheilung dieser Körnchen im Inneren der Sporen selbst zu reden, habe ich nicht gesehen; auch konnte ich in denselben keine präzise differenzirten Kerne beobachten. Ueber die Membran habe ich mich schon oben ausgesprochen.

Wenn wir jetzt die Frage, auf welche Weise die Sporen in den Hefezellen entstehen, in Augenschein nehmen, so müssen wir vor Allem der Fig. 27 ähnliche Bilder in Betracht ziehen. Hier finden wir in einer und derselben Zelle eine vollständig ausgebildete Spore und daneben ein der Spore sehr ähnliches, aber viel schwächer blau tingirtes Element. Angesichts solcher Bilder wäre es schwer, sich von der Vermuthung zu enthalten, dass, bevor die Sporen den Zustand erreichen, in welchem sie das Methylenblau gierig aufnehmen, sie ein Stadium passiren, in welchem ihre Affinität zum genannten Färbemittel noch schwach ausgeprägt ist. Womit haben wir aber diese blass gefärbten Elemente in Zusammenhang zu bringen? Auf Grund aller unserer Bilder muss zugegeben werden, dass in genetischer Beziehung die obigen Elemente entweder mit den uns bereits bekannten Vacuolen, oder mit den eigenthümlichen Anlagen zusammenhängen, von denen wir hier eingehender zu sprechen beabsichtigen. Auf Figg. 17, 18, 28, 48, 57 u. a. treten uns verschieden grosse Sphären oder Ellipsoide entgegen, welche sich mit Bismarckbraun bald gleich intensiv wie das Plasma, bald etwas stärker färben; sie scheinen dabei schwach ausgesprochenes Lichtbrechungsvermögen zu besitzen. Es ist auffallend, dass wir diese Elemente in Zellen antreffen, welche Sporen produciren und in welchen die maximale Zahl dieser Gebilde noch nicht erreicht ist. Sofern es sich urtheilen lässt, erlangen die in Rede stehenden Elemente die Dimensionen der Sporen nicht, doch stehen sie in dieser Beziehung immerhin ihnen sehr nahe. Irgend eine Structur lässt sich hier nicht erblicken; man könnte hinsichtlich derselben höchstens sagen, dass sie derjenigen des Plasmas gleich ist. In Fällen geringster Differenzirung erscheinen die erwähnten Gebilde, wie gesagt, als einfach abgegrenzte Abschnitte des Zellplasmas. Beim Vergleich verschiedener Bilder gelange ich zur Ueberzeugung, dass gerade in diesen Elementen und nicht in den typischen, fast vollkommen farblosen Vacuolen, welche, wie bekannt, mitunter recht gross oder sehr klein sein können, wir den Beginn der Sporulation erblicken müssen. Den ganzen Vorgang

lege ich mir folgendermassen zurecht: zuförderst grenzt sich im Zellplasma ein sphärischer nicht allzu kleiner Theil desselben ab, welcher die Fähigkeit, sich mehr oder minder intensiv mit Bismarckbraun zu färben, behält; allmählich wächst diese Sphäre an, indem sie die Fähigkeit, Bismarckbraun aufzunehmen, einbüsst, die Affinität zu Methylenblau aber erwirbt; in dem Maasse als die Sporen reifer werden, wird auch ihre blaue Farbe successive immer gesättigter. Doch nicht alle Abschnitte des Zellplasmas, welche als Anlagen der Sporen zu dienen haben, machen den ganzen Entwicklungszyklus gleich schnell durch: zur Zeit wo einige von ihnen die höchste Stufe ihrer Entfaltung erreicht haben, befinden sich die anderen noch in früheren Phasen. Die schwarzen Granula, welche eventuell in den Hefezellen während ihrer Sporulation vorhanden sind, gruppieren sich meistentheils an der Peripherie der Anlagen resp. der Sporen selbst.

Es fragt sich nun: können wir nicht, von den typischen Vacuolen ausgehend, ein uns in gleichem Maasse befriedigendes Schema für die Sporenbildung construiren? Aus den Schwierigkeiten, welche durch diese Frage erzeugt werden, ist nicht so leicht, sich herauszuarbeiten. Es ist in der That bekannt, dass bei kärglichen Ernährungsbedingungen wir in den Hefezellen einerseits die vacuoläre Metamorphose, andererseits aber die Sporulation beobachten; auch mag hier an das über die Zahl, Grösse, Form und Lagerung der Sporen und Vacuolen Gesagte erinnert werden; schliesslich möchte ich noch einmal der Fig. 62, auf welche wir uns wiederholt berufen haben, Rechnung tragen. Es liegen augenscheinlich manche Thatsachen vor, welche gestatten, die Sporen für specifisch veränderte Vacuolen zu erklären. Wenn ich nichtsdestoweniger bei der Annahme einer Entwicklung der Sporen aus gewissen selbständigen Anlagen beharre, so geschieht dies nur darum, weil mir die genannte Hypothese als der Gesamtheit meiner Beobachtungen mehr entsprechend erscheint. Nur müssen wir eine Schwierigkeit von mehr formellem Charakter zu beseitigen trachten. Wenn wir auf Fig. 62 in der oberen Zelle vier vacuolenähnliche Elemente finden, so geht daraus noch nicht hervor, dass alle diese Elemente unsere typischen Vacuolen sind. Eine nichtssagende Aufnahme von Bismarckbraun hat freilich noch keine entscheidende Bedeutung; viel gewichtiger ist der Umstand, dass auch von dem Standpunkte unserer Hypothese betrachtet, die Sporen eine Entwicklungsphase passiren, wo die Fähigkeit, Bismarckbraun aufzunehmen, verloren gegangen, die Eigenschaft aber, sich mit Methylenblau zu tingiren, noch erst zu erwerben ist. Es ist offenbar recht leicht, auf den Gedanken einzugehen, dass es in der Entwicklung der Sporen ein Moment giebt, wo ihre Anlagen das Aussehen von Vacuolen besitzen. Dasselbe lässt sich auch über andere analoge Bilder sagen, welche zur Bestätigung der Hypothese von dem

directen Zusammenhang zwischen Vacuolen und Sporen dienen könnten. Indem wir die sich nicht tingirenden sphärischen Elemente Vacuolen nennen, ertheilen wir denselben, wie das bereits oben erläutert wurde, eine nur recht dürftige negative Charakteristik. Durch Ermittlung der Genese und des weiteren Schicksales der besagten Elemente können wir zu einer vollkommeneren Charakteristik und zu einer schärferen Trennung der ihrem Aeusseren nach ähnlichen Gebilde gelangen.

Die auf den Sporulationsprocess sich beziehenden Resultate sind also folgendermassen zu formuliren: unter gewissen Bedingungen Seitens der Ernährung differenziren sich in manchen Hefezellen kleine sphärische, protoplasmatische Gebilde, welche als Sporenanlagen zu betrachten sind und die sich nur successive in Sporen umwandeln; einen directen Antheil nehmen die typischen Vacuolen nicht daran; auch die Betheiligung der Granula ist hier nur eine secundäre und keineswegs eine absolut nothwendige.

Nachdem wir nun diesen Satz aufgestellt haben, kehren wir zu derjenigen allgemeinen Frage zurück, mit welcher wir unsere Erwägungen hinsichtlich der Sporenbildung begonnen haben. Es ist klar, dass diejenigen Thatsachen, welche eine negative Beantwortung dieser Frage voraussetzen liessen, im vollkommensten Einklange mit der ganzen Reihe unserer Erwägungen stehen. Mit um so grösserer Wahrscheinlichkeit dürfen wir sonach annehmen, dass weder die granuläre, noch die vacuoläre Metamorphose eine dem Sporulationsvorgange nothwendig vorausgehende oder denselben begleitende Erscheinung darstellen.

II. Impfversuche.

Bereits in der Einleitung habe ich darauf hingewiesen, dass mit den Sprosspilzen vielfach an Thieren experimentirt wurde, und dass dabei fast ausschliesslich nur die von der Industrie gelieferte Hefe zur Anwendung kam. Man arbeitete also mit einem wechselnden Gemisch von verschiedenen Hefearten, Bacterien und Schimmelpilzen. Daher wollen wir die bezügliche Litteratur nur kurz besprechen.

Cl. Bernard¹ war wohl der erste, der behufs Feststellung der Einwirkung der Bierhefe auf den thierischen Organismus Versuche an Hunden und Kaninchen unternahm. Nach gleichzeitiger Injection der Bierhefe-aufschwemmung und Rohrzuckerlösung in die Blutbahn beobachtete dieser Forscher das tödtliche Erkranken dieser Thiere unter typhösen Symptomen.

¹ *Archives générales de médecine*. 1848. — *Leçons de physiologie expérimentale*. 1855. T. I. p. 246 et 239.

Im Jahre 1856 berichtet F. Hoppe,¹ dass beim Verabreichen den Hunden per os von 200 grm 10 procentiger Zuckerlösung mit 40·0 grm Kreide und etwas ausgewaschener Bierhefe weder Erbrechen noch irgend ein Symptom auftrat, welches eine Bildung von Alkohol, Kohlensäure und Essigsäure im Magen verrathen hätte.

Nach Grohé² erfolgt bei Thieren nach Einbringung von Bierhefe ins Blut schon nach wenigen Stunden der Tod. Die Cadaver der bezüglichen Versuchsthiere sollen eine länger anhaltende Widerstandsfähigkeit gegen die Fäulniss besitzen.

Selbst erhebliche Mengen von Bierhefe den Hunden in den Magen eingeführt blieben nach Mosler³ ohne merkliche Wirkung, haben aber bei Kaninchen Diarrhoe verursacht.

L. W. Popoff,⁴ welcher zu Anfang der siebziger Jahre auf dem uns interessirenden Gebiete arbeitete, gelangte zu folgenden Resultaten. Beim intravenösen Einverleiben grösserer Mengen von Bierhefe erkrankten Hunde acut und gingen nach 2 $\frac{1}{2}$ bis 22 Stunden zu Grunde. Die während des Lebens beobachteten Erscheinungen sowohl, als auch die postmortalen Befunde zwangen den Genannten zur Annahme einer äusserst acuten septischen Infection. In demselben Maasse, als die Quantität der injicirten Hefe kleiner genommen wurde, nahmen auch die Krankheits-symptome ab, so dass die Thiere dann nicht mehr starben. Da Popoff's Hefe auch mit Stärkekörnern verunreinigt war, lag der Gedanke nahe, dass von diesen Gebilden Blutgefässe obturirt werden und dadurch die Krankheit entstehe. Alle die mit Stärke, Mehl und Kohle angestellten Versuche haben dargethan, dass, wiewohl von ihnen annähernd gleiches Krankheitsbild wie durch Hefeinspritzung hervorgerufen wird, die Intensität der Erkrankung aber nie die nach der letzteren beobachtete Höhe erreicht. Daher kann die Hefe den kleinen, septische Agentien enthaltenden Embolis an die Seite gestellt werden. Bei einem gesunden Hunde war die Einführung von 10·0 grm Hefe per os von keinen Störungen gefolgt, wogegen bei den mit Magenkatarrh behafteten Thieren eine Steigerung der Krankheit beobachtet werden konnte. In geringerer Menge subcutan oder intraperitoneal eingeführt, rief die Hefe unerhebliche locale Erscheinungen, in grösserer Quantität stärkere entzündliche Reaction hervor.

¹ Ueber den Einfluss des Rohrzuckers auf die Verdauung und Ernährung. Virchow's Archiv. 1856. Bd. X. S. 145 u. 168.

² Vortrag in der Berliner ärztl. Gesellschaft. 27./X. 1869. — Berliner klin. Wochenschrift. 1870. Nr. 1. S. 9.

³ Mykologische Berichte von Hermann Hofmann. 1870.

⁴ Berliner klin. Wochenschrift. 1872. S. 513. — Archiv der Botkin'schen internen Klinik. 1870 u. 1871. Bd. IV. S. 312 (russisch).

Nach 2 $\frac{1}{2}$ Monat getödtet boten die Thiere gelblichgraue hirsekorngrosse, in Leber und Lungen zerstreute Knötchen. Mycelien sind darin nicht gefunden worden. Die Hefezellen sollen nach Popoff die Fähigkeit besitzen, in lebenden Geweben sich durch Sprossung zu vervielfältigen.

In seiner ersten diesbezüglichen Arbeit hat Falk¹ den Einfluss der Verdauung auf die Lebensfähigkeit der Hefezellen geprüft und dabei gefunden, dass, während der Speichel und der Pankreassaft die Hefezellen nicht bemerkbar afficiren, der Magensaft schon nach einigen Stunden die Gährung vollständig unterbricht oder wenigstens stark behindert. Die Säure des künstlichen Magensaftes allein wirkt ähnlich; durch Neutralisiren derselben kann man den Hefezellen ihre verlorene Gährungsthätigkeit zurückgeben. Gallenzusatz stört die Alkoholgährung sehr lebhaft, ja vernichtet sogar die Hefezellen.

In seiner zweiten Arbeit, nämlich: „Ueber Hefe-Einspritzung“, prüfte Falk² die Angaben von Cl. Bernard nach und suchte dieselben zu erweitern. Der Letztgenannte sagt, dass, wenn man Rohrzucker an Thiere verfüttert, derselbe im Urin nicht nachgewiesen werden kann, da er im Körper einer Zersetzung unterliegt. Hat man aber Rohrzucker entweder subcutan, oder in eine der serösen Höhlen, oder direct in die Blutbahn gebracht, so wird er dann als Rohrzucker mit dem Harn ausgeschieden. Schickt man nun der Zuckereinspritzung eine Injection von Hefe voraus, so findet sich im Urin kein Zucker, derselbe wurde von der Hefe gespalten. Was die alleinige Einspritzung des Zuckers in die Blutbahn anbetrifft, so haben die Falk'schen Versuche ergeben, dass 1. die Intensität der Rohrzuckerausscheidung zu verschiedenen Zeiten, sogar bei nämlichem Thier, eine verschiedene ist und 2. dass auch Fälle vorkommen, wo die Urinuntersuchung zu keinem Ergebnisse führt, keinerlei unzweideutige Zucker-Reaction aufweist. Bei Injection von Hefe und Rohrzucker wurde der Urin stets zuckerfrei befunden. Ausserdem, spritzte Falk den durch Chloralhydrat oder Amylnitrit, Piqûre oder Elektrisirung centraler Enden der Vagi diabetisch gemachten Thieren intravenös Hefe ein, so war im Urin kein Zucker mehr nachweisbar. Auch bei Hunden, bei denen durch Orthonitrophenylpropionsäure Diabetes hervorgerufen wurde, blieb derselbe nach intravenöser Hefeinjection aus. Diese Fermentkraft der Hefe soll verhältnissmässig bald erlöschen, was mit dem Fehlen des Auswachsens der Hefe im thierischen Körper wohl in Verbindung steht. Welches Schicksal die Hefe im Körper weiter erfährt, blieb indessen unbekannt.

¹ Ueber die Wirkung von Verdauungssäften auf Fermente. *Archiv f. Anatomie und Physiologie*. 1882. S. 187.

² *Archiv für Anatomie und Physiologie*. 1886. Suppl.-Band.

Schliesslich sei bemerkt, dass auch die von Falk gebrauchte Hefe, „bei sonstiger Reinheit, von der technischen Hefebehandlung her Stärkekörner“ enthielt.

Der von Falk gemachten Beobachtung über den deletären Einfluss des Magensaftes auf Bierhefe entgegen fand Simanowsky,¹ dass die Bierhefe eine ausserordentliche Resistenz gegen Magensaft besitzt. Mögen auch einige Zellen geschädigt sein, die anderen gedeihen und vermehren sich. Nach 24—32 stündigem Verweilen im Magensaft bestand die Hefe stets aus schönen, kräftigen, ovalen, von vielen jungen Sprossen bedeckten Zellen; bei längerer Einwirkung des Verdauungssaftes (2—2½ Wochen) dagegen verminderte sich die Zahl dieser ovalen Zellen und es trat die feine, röthlichgelbe, für Hefe charakteristische Haut auf, welche sich successive auf der Oberfläche des Kolbens bildete und vorwiegend feine sehr verlängerte Hefezellen erkennen liess; dieselben waren baumartig untereinander verbunden. Den künstlichen Magensaft stellte Simanowsky nach Hoppe-Seyler² dar, indem er die fein zerhackte Schleimhaut des Schweinemagens mit recht verdünnter Salzsäure extrahirte.

Ferner sei hier Buist³ angeführt, welcher fand, dass die Impfung mit getrockneter Bierhefe pockenähnliche Hautpapeln und fieberhafte Allgemeinerscheinungen hervorzurufen im Stande ist. Affen, welche mit getrockneter Hefe vorgeimpft worden waren und den darauf folgenden fieberhaften Zustand durchgemacht hatten, reagierten auf die Impfung mit Vaccine und Variola viel weniger intensiv, als nicht derartig behandelte Affen. Da ich diese Arbeit nur aus dem Referat kenne, so bin ich nicht in der Lage, über Provenienz der benutzten Hefe Näheres anzugeben.

Schliesslich müssen die recht interessanten Versuche Roussy's⁴ erwähnt werden. In Bouillon gezüchtete Bierhefe mit sterilisirtem Wasser gewaschen und darin drei Tage lang sich selbst überlassen, sammt dem Wasser, in welchem sie suspendirt war, Kaninchen und Hunden intravenös beigebracht, ruft stürmische Fiebererscheinungen hervor, die nach 12 bis 15 Stunden spurlos verschwinden. Injection mit frisch sterilisirtem Wasser gewaschener, bei 120° C. eine Stunde lang getrockneter und darauf mit destillirtem Wasser verriebener Bierhefe bedingte ein Ansteigen der Temperatur kaum um 0.3 bis 0.4° C. Demnach sind hier die lebenden Hefe-

¹ Ueber Gesundheitsschädlichkeit hefetrüber Biere und über den Ablauf der künstlichen Verdauung bei Bierzusatz. *Archiv für Hygiene*. 1886. Bd. IV. S. 11.

² *Handbuch der physiol.-chem. Analyse*. 1883. S. 305.

³ *Vaccina and Variola. A study of their life history*. London 1888. Refer. in Baumgarten's *Jahresberichten*.

⁴ *Recherches expérimentales sur la pathogénie de la fièvre*. *Archiv. de Physiol.* 1890. XXII. 2. p. 354.

zellen resp. ihre Stoffwechselproducte als die eigentlichen Fiebererreger anzusehen. Es gelang Roussy, das giftige Princip, Pyretogenin, zu isoliren. Spritzt man nun von diesem Stoffe einem Hunde 0.5^{mg} pro Kilo in die Ohrvene, so beobachtet man stets nach ca. 1/2—1 Stunde intensive Temperatursteigerung (bis 42° C.) mit Schüttelfrost, Uebelkeit, Erbrechen, Durchfall u. s. w. Der Puls wird klein, hart, aussetzend, sehr frequent, die Haut trocken, die Respiration sehr beschleunigt. Nach 6 bis 7 Stunden kehrt das Thier zur Norm zurück. Was die chemische Natur des pyrogenen Stoffes anbetrifft, so hat sich die zum Zwecke einer Nachprüfung ausgesetzte Commission dahin ausgesprochen, dass das Pyretogenin von Roussy Invertin sei.

Indem wir nun die Reihe der sich auf Infection mit Hefe beziehenden Arbeiten schliessen, darf nicht verschwiegen werden, dass sowohl Bierhefe, als auch andere Hefearten in manchen Secreten und Excreten des menschlichen Körpers gelegentlich gefunden werden und zwar im Auswurf, im Erbrochenen, in den Fäces und in den Vaginalsecreten.

Der Vollständigkeit wegen seien noch folgende Arbeiten in aller Kürze citirt.

In seinen Untersuchungen „über die ersten Entwicklungsstadien der Eizelle“ giebt Bütschli¹ an, dass in Anguilluliden hefeartige Pilze parasitiren können. Metschnikoff² rechnet diese schmarotzenden Sprosszellen zu seiner Saccharomyceten-Gattung *Monospora*, worin ihm Zopf³ beistimmt.

Ferner sei Grohmann⁴ genannt, welcher gefunden hat, dass, wenn man Bierhefe dem zellfreien Pferdeblutplasma hinzufügt, eine Beschleunigung der Gerinnung eintritt. Die Entwicklung der auf diese Weise behandelten Pilze auf entsprechenden Nährböden erfährt bedeutende Verlangsamung.

Auch dürfen die Versuche von Biernatzki⁵ nicht übergangen werden, welcher fand, dass gewisse Antiseptica, gehörig verdünnt, die alkoholische

¹ *Abhandlungen der Senckenberg. Naturforscher-Gesellsch.* Frankfurt 1876.

² Ueber eine Sprosspilzkrankheit der Daphnien. *Virchow's Archiv.* 1884. Bd. XCVI.

³ Zur Kenntniss der Infectionskrankheiten niederer Thiere und Pflanzen. *Nova Acta der Kaiserl. Leop.-Carol. Deutschen Akademie der Naturforscher.* Halle 1888. Bd. LII. Nr. 7.

⁴ Ueber die Einwirkung des zellfreien Blutplasmas auf einige pflanzliche Mikroorganismen. *Dissertation.* Dorpat 1884.

⁵ Beobachtungen über die Einwirkung von Salicylsäure auf alkohol. Gährung. *Klinische Wochenschrift.* 1887. Jahrg. VII. Nr. 15, 16, 17 (russisch). — Von der Fähigkeit der antifermentativen Substanzen die alkoholische Gährung anzuregen und zu unterdrücken. *Ebenda.* Nr. 21 ff. (russisch).

Gährung beschleunigen. Zur Untersuchung kamen: 1. Kupfersulfat (1:600 000), 2. Sublimat (1:300 000), 3. Chinin (1:100 000), 4. Kali hypermanganicum (1:80 000—1:100 000), 5. Brom (1:50 000), 6. Thymol (1:20 000), 7. Schwefelsäure (1:10 000), 8. Benzoësäure (1:10 000), 9. Salicylsäure (1:6000), 10. Pyrogallussäure (1:4000), 11. Resorcin (1:2000), 12. Chloralhydrat (1:1000) und 13. Carbolsäure (1:1000).

Gleiches hat auch Schulz¹ ermittelt und zwar für Sublimat (1:500 000), Jod (1:600 000), Brom (1:300 000), arsenige Säure (1:40 000), Chromsäure (1:5000).

Aus dieser kurzen Zusammenstellung ist ersichtlich, dass die Forscher, welche sich mit der Frage nach dem Einflusse der Hefepilze auf den thierischen Organismus befasst haben, zu ihren Versuchen keineswegs einwandfreies Impfmateriel heranzogen. Wir vermissen bei den bezüglichen Autoren irgend welche Angaben, die uns die Annahme gestattet hätten, dass ihre Injectionsmassen auf dem Wege sorgfältiger, den modernen Erfordernissen entsprechender Reinzucht erhalten wurden. Ausserdem fällt uns der Umstand auf, dass nur eine Hefeart, nämlich die Bierhefe, zur Untersuchung gelangte. Wie sich andere Arten der Hefe dem thierischen Organismus gegenüber verhalten, sind wir nicht in der Lage, auf Grund litterarischer Angaben zu beurtheilen. Folglich auch in dieser Beziehung genügen die mit Hefe angestellten Versuche nicht denjenigen Regeln, welche von der Mikrobiologie ausgearbeitet wurden. Angesichts des eben Gesagten ist es einleuchtend, dass bei diesbezüglichen Versuchen unsere Aufgabe in der Ermittlung der Einwirkung von Reinculturen verschiedener Hefeformen auf den Organismus der Thiere zu bestehen hat. Um dieser Aufgabe nach Kräften gerecht zu werden, habe ich die im Nachstehenden zu beschreibende Reihe von Versuchen angestellt, bei deren Ausführung ich mich von dem Gedanken leiten liess, absolut reine Culturen möglichst zahlreicher Hefearten einer genauen Prüfung zu unterwerfen. Freilich sind meine bezüglichen Versuche nur als Vorversuche anzusehen, doch bieten sie immerhin einiges Interessante und daher erachte ich die Beschreibung derselben für lohnend.

I. Versuch.

Wohlgenährtes, gesundes, männliches Kaninchen. Ein zur Hälfte mit Malzextract-Zuckerlösung gefülltes Kölbehen wird mit einer Oese voll der Reincultur des sub § V beschriebenen *S. cerevis.* beschickt. Nach 48stündigem Verweilen der Flüssigkeit im Thermostat sehen wir dieselbe in lebhafter Gährung begriffen und den Hefebodensatz üppig entwickelt. Die Nährflüssigkeit wird behutsam abgegossen, die zurückgebliebene Hefe mit

¹ Ueber Hefegifte. *Archiv für Physiologie.* 1888. Bd. XLII. S. 517.

sterilisirter 0·6 procentiger Kochsalzlösung einige Mal gewaschen und schliesslich in geringer Quantität derselben suspendirt gelassen. Drei Pravaz'sche Spritzen von der so erhaltenen milchweissen, hefehaltigen Kochsalzlösung werden am 19./II. 1890 dem obigen Kaninchen in eine der äusseren Ohrvenen centralwärts eingespritzt. Der Einspritzung ging ein sorgfältiges Abwaschen der Haare und Abreiben der bezüglichen Haut mit Seife und 5 procentiger Carbollösung voraus. Die Pravaz'sche Spritze gewöhnlichen Typus wurde sowohl vor als auch nach jedem Versuche auf's Peinlichste mit 5 procentiger Carbollösung desinficirt und darauf mit sterilisirter Kochsalzlösung gewaschen. Die Stichöffnung ocludirte ich mittels Jodoformcollodium. Ein für alle Mal sei hier bemerkt, dass die sämtlichen nachstehenden Versuche unter gleich strenger Beobachtung antiseptischer Cautelen ausgeführt wurden und dass wir zu Injectionen nur notorisch reine Culturen zur Anwendung gebracht haben. Indem wir nunmehr zu unserem Versuchsthiere zurückkehren, müssen wir Folgendes bemerken. Eine halbe Stunde nach der besagten Einspritzung beginnen die dyspnoëtischen Erscheinungen bemerkbar zu werden, welche allmählich zunehmen. Das Thier ist theilnahmslos und niedergeschlagen. Nach zwei Stunden findet man die Temperatur unter die Norm gesunken, das Thermometer zeigt $38\cdot4^{\circ}\text{C}$. Nahrung wird von dem Thiere nicht genommen. Es entleert normalen Stuhl. Collapserscheinungen steigern sich und nach 11 Stunden tritt der Tod ein. Die nach drei Stunden vorgenommene Necropsie zeigt: Lungen hyperämisch, ziemlich consistent, lufthaltig. Herz, Milz und Nieren von normalem Aussehen. Harnblase stark angefüllt. Im Magen, Leber und Darm nichts Bemerkenswerthes. Zuckeragar, welchen ich mit den *intra vitam* (eine Stunde nach der Injection) dem Kaninchen von der Nasenhaut entnommenen Blutropfen inficirte, blieb steril. Bei Betrachtung der in Sublimat fixirten, mit Hämatoxylin und Safranin tingirten Präparate fanden wir in sämtlichen Organen, mit alleiniger Ausnahme der Lunge, nichts von der Norm Abweichendes. Wir sehen hier zahlreiche Blutgefässe mit Hefezellen ausgefüllt. Die Granula der letzteren sind mit Hämatoxylin dunkel-violett, ihr Plasma aber vom Safranin roth mit einem Stich in's Gelbe tingirt. Auch die Behandlung der Schnitte mit Eosin oder Rose-Bengale und Methylenblau liefern sehr hübsche Bilder, indem sich die Hefezellen blau färben. Um die Gefässe herum beobachteten wir eine reichliche Infiltration von Körnern, welche intensiv mit Safranin gefärbt sind. Die Gefässe erscheinen im Allgemeinen dilatirt und, sofern sie von der Hefe nicht in Anspruch genommen werden, mehr oder weniger stark mit Blutkörperchen angefüllt.

II. Versuch.

Gesundes, männliches Kaninchen. In ein Probirglas, in dem auf Zuckeragar die beim I. Versuche zur Anwendung gekommene Hefeart 8 Tage lang in Strichcultur gezüchtet und zur Sporulation gebracht wurde, goss ich einige Cubikcentimeter physiologischer Kochsalzlösung. Darauf strich ich mittels Platindraht die Cultur von der Oberfläche ab und vermischte durch Schütteln des Gefässes die Hefe mit der obigen Lösung. Eine Spritze voll der so entstandenen milchweissen Aufschwemmung wird am 31./III. 1890 unter allen üblichen Vorsichtsmassregeln dem Versuchsthiere in die Ohrvene injicirt. Die ersten zwei Tage zeigte die Temperatur ein Ansteigen bis auf

40.9° C., wiewohl das Thier seine frühere Fresslust und Munterkeit bewahrt hat. Erst vom 3./IV. 1890 ab ist dasselbe sichtlich schwer krank; es bewegt sich ungern und frisst nicht, was etwa 7 Tage lang andauert. Während dieser Zeit sank die Temperatur unter die Norm (Minimum 38.5° C.). Es lässt sich auch leichte Dyspnoë bemerken; Darmstörungen fehlen. Vom 10./IV. 1890 beginnend erholt sich das Kaninchen allmählich: es bekommt nach und nach Appetit, Temperatur kehrt zur Norm zurück und nach etwa vier Tagen kann dasselbe als gesund betrachtet werden.

Am 18./IV. 1890 wird der Versuch wiederholt, indem dasselbe Kaninchen eine Pravaz'sche Spritze der auf obige Weise angefertigten, drei Tage alten Agarcultur der Presshefe (§ V) in die Ohrvene eingespritzt bekommt. Am selbigen Tage steigt die Temperatur auf 40.5° C. an. Ein Tag darauf ist die Temperatur normal und das Thier sichtlich gesund.

Am 2./V. und 5./V. 1890 findet die Wiederholung der Injectionsversuche statt und zwar jedes Mal mit demselben Resultate. Am fünften Tage nach der letzten Einspritzung wird das offenbar gesunde Thier getödtet. Weder makro- noch mikroskopisch ist etwas Krankhaftes an den Organen bemerkbar.

III. Versuch.

Wohlgenährtes, augenscheinlich gesundes weibliches Kaninchen. Am 31./III. 1890 werden demselben zwei Pravaz'sche Spritzen einer Aufschwemmung desselben Hefepilzes wie in dem I. und II. Versuche eingespritzt. Die verwendete Cultur wurde zehn Tage lang auf Zuckeragar gezüchtet. Neben granulahaltigen Zellen sind in ihr auch solche sichtbar, welche Sporen enthalten. Fast unmittelbar nach der Injection tritt Dyspnoë ein: das Thier arbeitet heftig mit seinen Respirationsmuskeln. Die Temperatur sinkt unter die Norm: das Thermometer zeigt Abends im Mastdarm 38.3° C., den nächsten Tag in der Frühe 37.9° C. Das Thier ist collabirt und sein Tod jeden Augenblick zu erwarten. Um frisches Untersuchungsmaterial zu gewinnen, wird dasselbe durch Schlag auf's Genick getödtet. Bei Necropsie zeigt sich die Lunge hyperämisch, ziemlich consistent, aber lufthaltig. Leber, Milz und Darm normal. Blase stark angefüllt. Mikroskopisch constatiren wir in der Lunge dieselben Befunde wie im Versuche I. Auf Zuckeragar, welches mit dem von der Nasenhaut eine Stunde nach der Injection entnommenen Blute beschickt wurde, entwickelt sich keine Hefe. Desgleichen auf Agar, welches mit dem post mortem entleerten Harne infectirt wurde.

IV. Versuch.

Gesundes, männliches Kaninchen. Am 8./III. 1890 wird eine Spritze voll der wie oben vorbereiteten Aufschwemmung einer sechs Tage alten Cultur des *S. cerevisiae* I. H. in die Ohrvene eingespritzt. Die Temperatur erhebt sich nur am ersten Abende auf 40.3° C. um darauf dauernd zur Norm zurückzukehren.

Am 31./III. 1890 bekommt das Thier zwei Spritzen voll einer 12 tägigen Zuckeragar-Cultur. Bald darauf ausgesprochene Athemnoth. Nach drei Stunden Temperatur 41.3° C. Am 1./IV. Temperatur Morgens 38.0° C. Um die Mittagszeit erfolgt unter Collaps der Tod. Die Section ergiebt Folgendes: Lungen voluminös, stark hyperämisch, lufthaltig. An übrigen Organen

fällt nichts Abnormes auf. Die mikroskopische Untersuchung liefert Aehnliches dem, was wir beim I. Versuche verzeichnet haben. Auch hier finden wir dilatirte, mit Hefezellen vollgepfropfte, von einem körnigen, mit Safranin intensiv roth gefärbten Infiltrat umgebene Gefässe. Ausserdem fallen uns noch die strotzend mit Blut gefüllten Capillaren auf. Die Lumina der Lungenalveolen sind frei. Uebrigste Organe weisen mikroskopisch keine krankhaften Störungen auf. Die mit dem ebenfalls von der Nase entnommenen Bluttröpfen angestellten Culturproben fielen negativ aus.

V. Versuch.

Zart gebautes, gesundes, weibliches Kaninchen. Am 30./III. 1890 wird eine Spritze voll der drei Tage alten Agarcultur des in § VI beschriebenen Hefepilzes auf übliche Weise in die Ohrvene eingespritzt. Die Temperatur steigt bald darauf bis 40.0° C., um am nächsten Tage definitiv die Norm zu erreichen.

Am 18./IV. 1890 findet Wiederholung der Injection statt. Diesmal kommt die in § IX verzeichnete Hefeart zur Anwendung. Dieselbe ist durch fünf Tage auf Zuckeragar gezüchtet worden. Die Temperatur erhebt sich Abends auf 39.9° C. Athemnoth nicht vorhanden. Vom 19./IV. ab Temperatur bleibend normal.

VI. Versuch.

Gesundes männliches Kaninchen. Den 5./IV. 1890 spritzte ich demselben eine Aufschwemmung der vier Tage alten Cultur des *S. cerevisiae* I. H. Noch am selbigen Tage steigt die Temperatur auf 39.7° C. Am nächsten Morgen zeigt das Thermometer 39.5° C., — am Abend 39.3° C. Vom 7./IV. ab ist das Thier vollkommen gesund.

Am 18./IV. 1890 wird der Versuch wiederholt (eine Spritze voll Aufschwemmung des 10tägigen *S. cer.* I. H.). Abends Temperatur 39.9° C. und erreicht schon am nächsten Morgen dauernd die Norm.

Am 2./V. 1890 wird eine Spritze voll einer 2tägigen Agarcultur der im § V verzeichneten Bierhefe eingespritzt. Gleich darauf äusserst starke Athemnoth und die Eigenwärme sinkt unter die Norm. Sie beträgt Abends 38.3° C. Unter zunehmendem Collapsus stirbt das Kaninchen noch an demselben Abend. Necropsie: Lunge consistent, blutvoll. Die übrigen Organe zeigen nichts Abnormes. Das Mikroskop entdeckt nur spärliche Herde von Hefepilzen in der Lunge.

VII. Versuch.

Gesundes männliches Kaninchen. Am 5./IV. 1890 bekommt dasselbe eine Spritze voll Rosahefe, welche drei Tage lang auf Zuckeragar cultivirt wurde. Temperatur bleibt normal, Dyspnoë wird nicht bemerkt.

Am 18./IV. 1890 Wiederholung des Versuches. Dieses Mal kommt eine Spritze der Aufschwemmung von *S. ellips.* I. H. zur Anwendung. Cultur 24 Tage alt. Nach der Injection sieht das Thier etwas angegriffen aus. Dyspnoë unbedeutend. Denselben Abend steigt die Temperatur auf 40.1° C. an. Den nächsten Tag Alles normal.

VIII. Versuch.

Gesundes weibliches Kaninchen. Am 2./V. 1890 Einspritzung schwarzer Hefe. Die benutzte Cultur ist zehn Tage alt. Die Menge der injicirten Aufschwemmung gleicht derjenigen im Versuche VII. Abends finden wir die Temperatur auf 40.5°C . gestiegen. Am folgenden Tage Alles normal.

IX. Versuch.

Gesundes weibliches Kaninchen. Am 4./V. 1890 spritzte ich demselben eine Spritze von Sooraufschwemmung in die Ohrvene ein. Temperatur stieg Anfangs auf 41.0°C ., um gegen Abend auf 38.8°C . zu fallen. Um 11 Uhr Abends erfolgt der Tod. Die Section zeigte: Lungen unverändert; in der Leber einige weisse Punkte, desgleichen in der Gallenblasenwand. Die Nieren sowohl auf ihrer Oberfläche, als auch auf der Schnittfläche mit kleinen kaum stecknadelkopfgrossen Knötchen dicht besät. Das Blut flüssig. Das Mikroskop zeigt sowohl in den Nierengefässen, als auch ausserhalb derselben Herde des Soorpilzes. Dieselben sind mit körnigem Infiltrat umgeben. Die Granula des Soorpilzes (wie der vorausgegangenen Hefearten) sind nur mit Hämoxylin tingirbar. Das Ernst'sche Verfahren liefert hier negative Resultate, wie auch in früheren Fällen.

X. Versuch.

Gesundes weibliches Kaninchen. Am 5./V. 1890 wird eine 5 tägige Cultur des *S. ellipsoideus* II. H. demselben eingespritzt, worauf Abends die Temperatur auf 39.5°C . anstieg, um schon den nächsten Morgen zur Norm zurückzukehren.

Wie aus den angeführten Protocollen ersichtlich, habe ich an 10 Kaninchen im Ganzen 17 mal Injectionen von Aufschwemmungen verschiedener von mir reingezüchteter Hefespecies ausgeführt. Bevor ich zur Besprechung der bei dieser Art von Einverleibung der Hefe beobachteten Erscheinungen übergehen werde, kann ich nicht unterlassen, eine That-sache, die in den Protocollen übergangen wurde, in Erwähnung zu bringen; sie kam nur zufällig zur Beobachtung und hat keine weitere Berücksichtigung gefunden. Zu Beginn der Versuche mit der sub § V verzeichneten Hefe misslang mir wiederholt die Einführung der Einschwemmung in die Vene, sodass unser Pilz direct in's Gewebe des Ohres kann. Bei weiterer Beobachtung der dabei entstandenen blasenförmigen Auftreibungen liess sich keine entzündliche Reaction bemerken. Als diese Anschwellungen nach 2 bis 3 Wochen aufgeschnitten wurden, fand sich in ihrem Innern ein weisser ziemlich dicker Brei, welcher an käsige Massen erinnerte, die beim Kaninchen, wie bekannt, sich gern entwickeln. Das Mikroskop wies darin recht zahlreiche Hefezellen nach, welche ihre gewöhnliche Färbereaction behalten haben. Von viel grösserem Interesse ist aber der Umstand, dass es gelungen ist, mit dieser Masse Culturen

anzulegen. Daraus muss geschlossen werden, dass in den Geweben, wo die unmittelbare Einwirkung von Blut fehlt, die Hefezellen ihre Lebensfähigkeit durch viele Tage bewahren. Ob unter Einwirkung dieser hypodermatischen Hefeeinspritzungen irgend welche functionelle Störungen auftreten, bleibt dahingestellt.

Zur intravenösen Einspritzung habe ich *S. cerev.* I. H., *S. ellips.* I. H., *S. ellips.* II. H., *S. pastor.* I. H., *S. cerev.*, den wir aus hiesiger Presshefe isolirt haben, die kleine, weisse sub § VI beschriebene Hefe, *S. glutinis* und die schwarze Hefe, also 8 Hefearten herangezogen, mit deren Morphologie wir schon bekannt geworden sind. Ausserdem kam auch der hierher nicht gehörende Soorpilz zur Anwendung. Indem ich den Leser hinsichtlich der Einzelheiten auf die Versuchsprotocolle verweise, will ich im Nachstehenden ein allgemeines Bild der von mir erhaltenen Ergebnisse aufzeichnen. Zunächst werden wir die während des Lebens beobachteten Symptome nennen.

Es ist leicht einzusehen, dass mit Rücksicht auf die besagten Erscheinungen alle unsere Versuche in zwei Kategorien gruppirt werden können: in den einen Fällen treten besonders die Fiebererscheinungen hervor, in den anderen die Athemnoth. Bei näherem Betrachten unserer Resultate bemerken wir, dass unter dem Einflusse der ins Blut unmittelbar eingeführten Hefearten, die wir oben beschrieben haben, bei Kaninchen in der Regel ein Anheben der Körpertemperatur erzielt wird, welches viele Stunden lang andauert. In einer meiner früheren Arbeiten¹⁾ habe ich auf Grund von 219 an Kaninchen ausgeführten Messungen die normale Körpertemperatur auf 39.3° C. bestimmt. Aus den vorliegenden Protocollen erhellt es, dass nach Hefeeinspritzungen die Temperatur bei Kaninchen annähernd um $1\frac{1}{2}^{\circ}$ C. anwachsen kann. Der Werth dieser Zahlen ist kaum zu bezweifeln. Es muss zugegeben werden, dass Hefezellen unter Umständen, unter welchen sie von uns geprüft wurden, zweifellos pyrogen wirken. Das fieberhafte Ansteigen der Temperatur fand meistens schon recht bald nach der Injection statt. Ich muss hier nachdrücklich betonen, dass bei den fiebernden Thieren eine deutlich ausgesprochene Athemnoth sich nicht wahrnehmen liess. Ein ganz anderes Bild boten die von starker Dyspnoë ergriffenen Thiere: ihre Eigenwärme war in der Regel mehr oder weniger gesunken. Sowohl das Anheben, als auch das Sinken der Temperatur trat bei unseren Kaninchen sehr schnell nach der Einspritzung ein. Im Allgemeinen sei es gleich hier bemerkt, dass allen von mir geprüften Hefearten die Fähigkeit innewohnt,

¹⁾ Hämometrische Studien. *Archiv für experimentelle Pathologie*. 1890. Bd. XXVIII. I. und II. Heft. 27. November 1890. S. 61.

unter gewissen Umständen ein ähnliches Resultat, wenn auch nicht immer mit gleicher Leichtigkeit, zu liefern. Das Fieber, von dem soeben die Rede war, endete gewöhnlich mit Genesung, wogegen die dyspnoëtischen Erscheinungen, welche von subnormaler Temperatur begleitet waren, in tödtlichen Collapsus überzugehen pflegten.

Auf den ersten Blick will es befremden, dass eine und dieselbe Pilzgattung zwei so verschiedene klinische Bilder hervorzurufen im Stande ist. Eine flüchtige Uebersicht des von mir gesammelten Materials reicht indessen schon aus, um fast alle Bedenken zu beseitigen. Das Versuchsjournal zeigt deutlich, wo die Lösung dieses Räthsels zu suchen ist. Wir sehen in der That, dass das Fieber sich gewöhnlich dann entwickelt, wenn eine mässige Quantität von Hefeaufschwemmung — etwa eine Pravaz'sche Spritze auf ein mittelgrosses Kaninchen — zur Einspritzung gelangt. Als Beweis mögen hier die Versuche mit den an einem und demselben Thiere wiederholten Injectionen dienen, bei denen ich mir alle Mühe gab, in Bezug auf Zusammensetzung identische Aufschwemmung jedesmal herzustellen; die Versuche unterscheiden sich also nur durch die Quantität der eingespritzten Aufschwemmung. Ebenso deutlich zeigen die Versuchsprotocolle, dass Dyspnoë mit subnormaler Temperatur und nachfolgendem Collaps bei denjenigen Thieren eintritt, welche verhältnissmässig grössere Mengen (2 bis 3 Spritzen) der Aufschwemmung in die Gefässe eingespritzt bekamen.

Welche Bedeutung haben wir aber der Menge der einverleibten Aufschwemmung beizumessen?

Ich glaube, dass es am einfachsten wäre, die Lösung dieser Frage in der Beziehung der injicirten Hefe zum Lungenkreislauf zu suchen, ohne sich auf mehr verwickelte Hypothesen einzulassen. Indem wir grosse Quantitäten Hefezellen dem Thiere auf einmal einspritzen, haben wir offenbar viel Chancen, zahlreiche und ausgedehnte Embolien hervorzurufen, welche von Störungen des Lungenkreislaufes mit allen ihren Consequenzen begleitet werden. Beim Einbringen nur mässiger Quantitäten sind die Embolien keineswegs gänzlich ausgeschlossen; sie können aber weder umfang- noch zahlreich sein. Das Versuchsthier wird, so zu sagen, nicht mit einem Male betäubt, sondern accommodirt sich mehr oder weniger den geringeren Störungen des Lungenkreislaufes und die Hefezellen haben dann Gelegenheit ihre pyrogene Fähigkeit zu entfalten.

Die Annahme einer Embolie ist zweifelsohne so plausibel, dass sie keiner besonderen Rechtfertigung bedarf. Wir werden übrigens sehen, dass diese Vermuthung auch seitens der mikroskopischen Untersuchung bestätigt wird. Doch auch bei Lebzeiten der Versuchsthiere liessen sich

recht lehrreiche Thatsachen constatiren. Während zwei Spritzen voll des sub § V verzeichneten *Saccharomyces cerev.* schon beim ersten Injectionsversuche Dyspnoë, welche mit tödtlichem Collaps endet, obligatorisch hervorrufen, ebensolche zwei Spritzen voll von Rosahefe werden sogar von denjenigen Thieren relativ leicht vertragen, denen einige Tage früher 2mal je eine Spritze der soeben genannten Hefeart einverleibt wurde. Aus dem früher Gesagten wissen wir, dass die Zellen von Rosahefe kleiner sind, als diejenigen des obigen *Saccharomyceten*. Demnach werden embolische Erscheinungen nach Rosahefe leichter ausgeglichen, als nach der Bierhefe. In demselben Sinne sprechen auch diejenigen Versuche, in welchen wir den stark dyspnoëtischen Thieren von der Nase einen Tropfen Blut, das sich als steril erwies, entnommen haben. Die eingespritzte Hefe gelangte offenbar in den grossen Kreislauf nicht. Es ist kaum wahrscheinlich, dass binnen so kurzer Frist, die vom Momente der Einspritzung bis zur Anlegung von Cultur verflossen war, die Hefezellen, die deletäre Einwirkung des Blutes, gesetzt, dass eine solche existirt, erfahren haben. Uebrigens sind diese Versuche nicht als massgebend zu betrachten, da das negative Resultat auch von der zufälligen Abwesenheit von Hefezellen im benutzten Blutropfen abhängen könnte.

Es wäre wünschenswerth, den Einfluss noch anderer Momente klarzulegen. Meiner Ansicht nach ist die Bedeutung dieser anderen Factoren jedoch keine allzu grosse. Wenn es auch den Anschein hatte, als ob ein bestimmtes Volumen der Aufschwemmung von einer Hefeart einen stärkeren Effect hervorruft, als ein gleiches Volumen einer anderen, so konnten diese Unterschiede stets von gewissen Zufälligkeiten abgeleitet werden.

Was das Alter der Culturen einer und derselben Hefeart anbetrifft, so sind wir auch hier nicht in der Lage etwas Bestimmtes zu sagen. Höchst wahrscheinlich geben sowohl die jungen, als auch die alten Culturen bei gleichen übrigen Bedingungen identische Krankheitsbilder.

Wenn es auch relativ nicht schwer ist die dyspnoëtischen Erscheinungen auf rein mechanischem Wege zu erklären, so ist es schon bedeutend schwerer die Entstehungsweise des Hefefiebers zu enträthseln. Ob dabei besondere fermentative Eigenschaften der Hefe, oder aber irgend welche giftige Substanzen, die mit derselben in den Thierkörper gelangen resp. die sich im letzteren unter dem Einflusse der Hefe entwickeln, eine Rolle spielen, unternehme ich nicht zu entscheiden. Vielleicht, dass es uns gelingen wird bei Versuchen an anderen Thieren, oder bei anders angeordneten Versuchen an Kaninchen, sich der Lösung der besagten Fragen zu nähern. Die angeführten Versuche von Roussy können sich dabei als recht nützlich erweisen.

Nachdem wir nun mit dem Krankheitsbilde bekannt geworden sind, wenden wir uns zu den Resultaten der makro- und mikroskopischen Untersuchung von Organen derjenigen Thiere, welche entweder unter dem Einflusse der Hefeinjectionen zu Grunde gingen, oder aber bald nach der Einspritzung getödtet wurden.

In Anbetracht des Umstandes, dass die Thiere unter den Symptomen von Dyspnoë und Collaps recht bald zu sterben pflegen, dürfen schon a priori keine erheblichen anatomisch-pathologischen Veränderungen erwartet werden. In der That finden wir in den Sectionsprotocollen nur wenige diesbezügliche Hinweise und auch diese betreffen fast ausschliesslich die Lunge. Die Spärlichkeit makroskopischer Befunde wird durch das Mikroskop erklärt: wir bemerken, dass in den rapide verlaufenden Fällen sich der ganze Vorgang morphologischerseits auf Obstruction der Lungengefässe durch Hefezellen und consecutiver Dilatation der Gefässe und Ueberfüllung derselben mit geformten Blutelementen beschränkt. Bei künftigen Untersuchungen dürfen auch die intensiv gefärbten Körner nicht ausser Acht gelassen werden, die ich in manchen Präparaten in unmittelbarer Nachbarschaft von embolischen Herden zu sehen bekam. Zur Erklärung ihrer Abkunft mag der Umstand von Belang sein, dass ähnlichen Gebilden, welche aller Wahrscheinlichkeit nach Zerfallsproducte der Leukocyten darstellen, die Forscher gelegentlich der Versuche mit Schimmelpilzen¹ zur gewissen Zeit nach Einführung derselben ins Blut begegneten.

Trotz der jedesmaligen Untersuchung der Leber und der Nieren ist es mir nicht gelungen, augenfällige Veränderungen dort zu finden. Nur nach Einspritzung von Soor, welcher ein bedeutendes Ansteigen der Temperatur gegeben hat und den Tod bedingte, habe ich in der Leber und in den Nieren kleine graue Punkte angetroffen, welche mit den in den Gefässen sitzenden Pilzen, die wenigstens zum Theile die Lunge passirt haben, in Zusammenhang gebracht werden müssen. In den Nieren, welche Soorzellen enthielten, habe ich die letzteren auch in Harnkanälchen gesehen, wiewohl der aus der Harnblase genommene Harn sich als vollkommen steril erwies. Auch hier sind die mit Safranin stark tingirten Körner beobachtet worden, von denen wir oben berichtet haben.

Der Zustand der Organe während des fieberhaften Ansteigens der Temperatur in Fällen, welche mit Genesung endigten, muss bis aufs Weitere fraglich bleiben. Sofern es sich aus den Nekropsien der Thiere, die zu verschiedenen Zeiten nach stattgefundener Genesung abgetödtet

¹ Vgl. Ciągłinski, Beiträge zur Lehre von den Schimmelmycosen. *Dissertation*. Warschau 1889 (russisch).

wurden, schliessen lässt, wird das Fieber von keinen stationären pathologisch-anatomischen Abweichungen begleitet. Bei Fortsetzung ähnlicher Versuche würde es sich indessen empfehlen, während des Fiebers den Organen grössere Aufmerksamkeit zu schenken. Es sei hier an die erste Einspritzungsprobe im zweiten Versuche erinnert. Das Thier war, wie wir es gesehen haben, im Laufe der zwei ersten Tage gesund, darauf kam das Fieber und das Thier erschien nun einige Tage krank. Hierbei beobachtete man auch leichte Dyspnoë. Offenbar weicht dieser Fall von gewöhnlichem Typus ab: das Fieber, welches sich unmittelbar nach der Einspritzung entwickelt, kann nicht mit demjenigen Fieber verglichen werden, das erst nach 2 Tagen auftritt. Angesichts der leicht ausgesprochenen Kurzathmigkeit, könnte man glauben, dass der embolische Process irgend welche entzündlichen Erscheinungen wachgerufen habe, obgleich er zu wenig umfangreich war, um das Thier zu Grunde zu richten.

Am Schlusse dieser kurzen Schilderung bleibt es mir noch übrig einige Worte über das tinctorielle Verhalten der Hefezellen in den Geweben zu sagen. Kleine Stücke von Organen wurden, wie das im Protocoll des ersten Versuches verzeichnet steht, in gesättigter Sublimatlösung fixirt. Dieses Verfahren habe ich, wie bekannt, auch beim Untersuchen der Hefezellen aus Reinculturen benutzt. Der Gedanke lag nahe, dass die Ernst'sche Tinction (wobei die Gewebspräparate, bevor ich sie in Canadabalsam eingeschlossen habe, gleichfalls getrocknet wurden, um Berührung der Objecte mit Alkohol und Nelkenöl zu vermeiden) auch an den Hefezellen, welche in Geweben liegen, ebenso glänzende Resultate geben werde, wie bei den Reinculturen. Es zeigte sich jedoch, dass dem nicht so ist. Daher war ich gezwungen, mich nach anderen Tinctionsverfahren umzuschauen. Ich nahm zu Hülfe die Doppelfärbung mit Hämatoxylin und Safranin. Demjenigen entgegengesetzt, worauf im ersten Abschnitt hingewiesen wurde, erschien das Zellenprotoplasma der Hefe inmitten der Gewebe rothgelb gefärbt, die uns bekannten Granula tingirten sich gewöhnlich dunkel blauviolett. Auch manche andere Färbungsmittel wurden von mir mit grösserem oder geringerem Erfolge geprüft. Es zeigte sich unter Anderem, dass die eben genannte Tinction, dank ihrer eigenartigen Metachromasie (ich habe hier die gelbliche Nuance im Sinne, welche nach Behandlung mit Safranin hervortritt), für das rasche Erkennen der eingespritzten Hefezellen im Gewebe einstweilen als die entsprechendste betrachtet werden muss. Leider ist die besagte Metachromasie nicht immer gleich deutlich. Es sollen offenbar, abgesehen von dem Verhalten den Farbstoffen gegenüber, auch die morphologischen Eigenschaften der eingeführten Hefezellen, mit denen wir bereits oben bekannt wurden, im Auge behalten werden.

Was das fernere Schicksal der Hefezellen anbetrifft, welche wir den Kaninchen in die Blutbahn einspritzten, so will ich mich von jeglichen bestimmteren Schlüssen enthalten. Eins darf nur gesagt werden, nämlich, dass es mir in den vorliegenden Versuchen nicht gelungen ist, mycelartige Sprossverbände in den Organen zu beobachten; auch habe ich zweifelhafte Fälle von Sprossung der Hefezellen innerhalb des thierischen Organismus nicht wahrnehmen können u. s. f. Mit Rücksicht auf Granula lässt sich behaupten, dass dieselben eine ziemlich lange Zeit in der eingespritzten Hefe erhalten bleiben.

Erklärung der Abbildungen.

Sämmtliche Bilder sind mit Hülfe der Abbe'schen Camera ausgeführt, unter Anwendung der Leitz'schen homogenen Immersion $\frac{1}{20}$ nebst Ocular III, was einer Vergrößerung 1700 entspricht. Nur Fig. 62 ist mittels Ocular I (Vergrößerung 1200) aufgenommen worden.

(Taf. I.)

- Figg. 1—14.** *Saccharomyces cerevisiae* I. H. (§ I).
Figg. 15—23. *Saccharomyces ellipsoideus* I. H. (§ II).
Figg. 24—29. *Saccharomyces ellipsoideus* II. H. (§ III).
Figg. 30—48. *Saccharomyces pastorianus* I. H. (§ IV).
Figg. 49—61. *Saccharomyces cerevisiae* aus hiesiger Presshefe (§ V).

(Taf. II.)

- Fig. 62.** *Saccharomyces cerevisiae* aus hiesiger Presshefe (§ V).
Figg. 63—67. Kleine weisse Hefe in § VI beschrieben.
Figg. 68—75. *Saccharomyces glutinis* [Rosahefe] (§ VII).
Figg. 76—81. Aus Kefir isolirte Hefe (§ VIII).
Figg. 82—90. Aus Sauerkraut erhaltene Hefe (§ IX).
Figg. 91—99. Schwarze Hefe (§ X).
Figg. 100—106. *Monilia candida* B. (Soorpilz).
-