DTU Bibliotek

Denne fil er downloadet fra

Danmarks Tekniske Kulturarv

www.tekniskkulturarv.dk

Danmarks Tekniske Kulturarv drives af DTU Bibliotek og indeholder scannede bøger og fotografier fra bibliotekets historiske samling.

Rettigheder

Du kan læse mere om, hvordan du må bruge filen, på *www.tekniskkulturarv.dk/about*

Er du i tvivl om brug af værker, bøger, fotografier og tekster fra siden, er du velkommen til at sende en mail til *tekniskkulturarv@dtu.dk*

Emil Chr. Hansen

5 Sætryk 1901-09

TB Gl.
663,1
Sm.

DANMARKS
TEKNISKE BIBLIOTEK

TEKNISK BIBLIOTEK

Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi.

Af

Emil Chr. Hansen.

X.

Om Variationen hos Saccharomyceterne.

1. Indledning.

Mikroorganismerne ere i de senere Aar næsten blevne berygtede for deres Variabilitet; ret beset er denne dog næppe større end de højere Planters; men Generationerne dannes med langt større Hurtighed, og Variationsfænomenerne træde derfor ogsaa hurtigere frem. Experimentatoren kan her i kort Tid blive Vidne til mærkelige Omdannelser. En anden Sag er det, at Variationen praktisk taget bereder os større Besvær hos Mikroorganismerne end hos de højere Planter. Naar vi ønske at bestemme en eller anden Mikroorganisme, maa vi for hver Karakter anstille et særligt Dyrkningsforsøg, og det er først Summen af de paa denne Maade erholdte Karakterer, der giver os Oplysning om, hvilken Art vi have for os. Vi have her ikke Habitus at holde os til, og det er altsaa en lang og møjsommelig Vej, vi maa gaa.

Hos Fanerogamerne træde derimod, naar de ere i Blomst, de vigtigste Karakterer frem for os paa een Gang. Ogsaa disse variere vel; paa den samme Plante kan man saaledes finde Grene, saavel med spredte, som med modsatte Blade, og i Blomstens Organer store Svingninger i Henseende til Tal-, Størrelse-, Farve- og Formforhold; men mangler en eller anden af de afgjørende Karakterer, saa have vi strax de øvrige at holde os til, og vi skulle ikke, som hos Mikroorganismerne, ved ofte langvarige Experimenter kalde paa hver enkelt for sig. Hvad Variations-Retningerne angaa, da ere de i deres Væsen de samme hos Fanerogamer som hos Kryptogamer.

Naar man i nogen Tid anstiller Dyrkningsforsøg med Gjærarterne, vil man ikke kunne undgaa at iagttage en hel Række forskjellige Variationer, de trænge sig selv frem. Næsten alle mine Afhandlinger i nærværende Række, lige fra den første, som udkom i 1881, og til den nærværende, indeholde Bidrag i den Retning.

Indtil 1889 gik en væsentlig Del af mine Undersøgelser ud paa at studere Saccharomyceterne fra det Synspunkt, at der ogsaa hos dem, ligesom hos andre Organismer, optræde systematiske Enheder med konstante Karakterer. Derefter traadte experimentelle Studier over Variationen mere og mere i Forgrunden. I nedenstaaende foreløbige Meddelelser offentliggjorde jeg efterhaanden de Resultater, som disse bragte:

Ueber die in dem Schleimflusse lebender Bäume beobachteten Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. V, 664 (1889)).

Production de variétés chez les Saccharomyces. (Ann. de Micrographie. II, 214 (1890)).

Experimental studies on the variation of yeast-cells. (Ann. of Botany. IX, 549 (1895)).

Endelig to Foredrag ved Bryggerimøderne i Kjøbenhavn 1896 (Forhandlingerne paa det tredie danske Bryggerimøde) og i Stockholm 1897 (Svenska Bryggaréfören. Månadsblad).

Mine Undersøgelser paa dette Omraade ere saaledes spredte i forskjellige Tidsskrifter, og da de tillige bevæge sig over et langt Tidsrum, ere Iagttagelser og Resultater, som høre sammen, blevne skilte ad. I det følgende Afsnit er det min Hensigt at give en kortfattet Oversigt over disse Arbejder og at stille sammen, hvad der hører sammen; hertil knytter jeg endvidere nye Undersøgelser, som jeg siden de sidste Publikationer har haft Lejlighed til at anstille. Det bliver paa de fleste Punkter ikke blot en Opgjørelse af, hvad min Forskning paa disse Omraader har bragt, men tillige en Afslutning. Undersøgelserne i det nævnte Afsnit dreje sig om følgende Spørgsmaal: Celleformen, Sporedannelsen og Knopskydningen samt de kemiske Omsætninger, hvorunder ogsaa Bryggerigjærens Variation. Naar de anførte Undersøgelser findes i »Medd. fra Carlsberg Laboratoriet«, er dette Tidsskrift nævnet; til de foran omtalte foreløbige Meddelelser henvises derimod kun ved at sætte vedkommende Meddelelsers Aarstal i Parenthes.

I Afhandlingens tredie Afsnit meddeles mine nye Undersøgelser over de sporeløse Varieteter. Slutningen af mine Undersøgelser over Variationen vil senere blive meddelt i en eller to nye Afhand-

linger. D'Herrer Assistenter Nielsen, Kløcker og Schiønning have været mig behjælpelige med Analyserne.

2. Oversigt over mine første Undersøgelser og nye Bidrag hertil.

Celleformen.

Udgangspunktet for Forsøg over Variationen maa selvfølgelig være en absolut Renkultur, grundlagt af een Celle. Ogsaa i en saadan Kultur vil man dog ved den mikroskopiske Undersøgelse strax blive opmærksom paa, at Individerne ere forskjellige. Den ene Celle er ikke lig den anden. Dette gjælder endog Arter, der

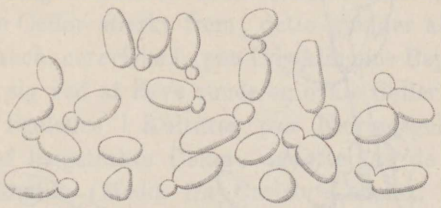


Fig. 1. Sacch. Marxianus.
Bundgjær fra 1 Døgns Kultur i Ølurt ved c. 25° C.
Forstørrelsen 1000 Gange lineær.

som Saccharomyces cerevisiæ I optræde med de mest ensartede Individer. Saccharomyces-Cellens Form kan bevæge sig fra den regelmæssig kuglerunde Skikkelse til den ovale, den mere og mindre tilspidset ægformede, den langstrakt pølsedannede og stavbakterielignende. Cellen kan blive grenet og optræde i de mest barokke Former. Disse Skikkelser kunne have forskjellig Størrelse og iagttages hos alle Arter; ethvert Individ kan grundlægge en Vegetation, bestaaende af alle de nævnte Former. (Om disse Iagttagelsers Betydning for Artbeskrivelsen se »Medd. fra Carlsb. Laborat.« II, 73 og 81 (1883)).

I den citerede Afhandling har jeg ogsaa fremhævet Variationen i Henseende til Sporernes Form, Størrelse og Antal i Modercellen. Naar undtages Arter som Sacch. anomalus, hvis Sporer ere hat- eller halvkugleformede, optræde Arterne i Reglen med kugleformede Sporer; dette er den typiske Form; ikke sjælden gaar den dog over til Nyre- og Ægformen. Sacch. membranæfaciens er vistnok den Art, der fremviser den største Variation i de nævnte Retninger.

Visse Arters Celler ere mere tilbøjelige end andres til at an-

tage de langstrakte Former; dette gjælder saaledes om Gruppen Sacch. Pastorianus. I Udviklingens Begyndelse ere i Almindelighed de runde, ovale og store Celler de fremherskende, paa de senere

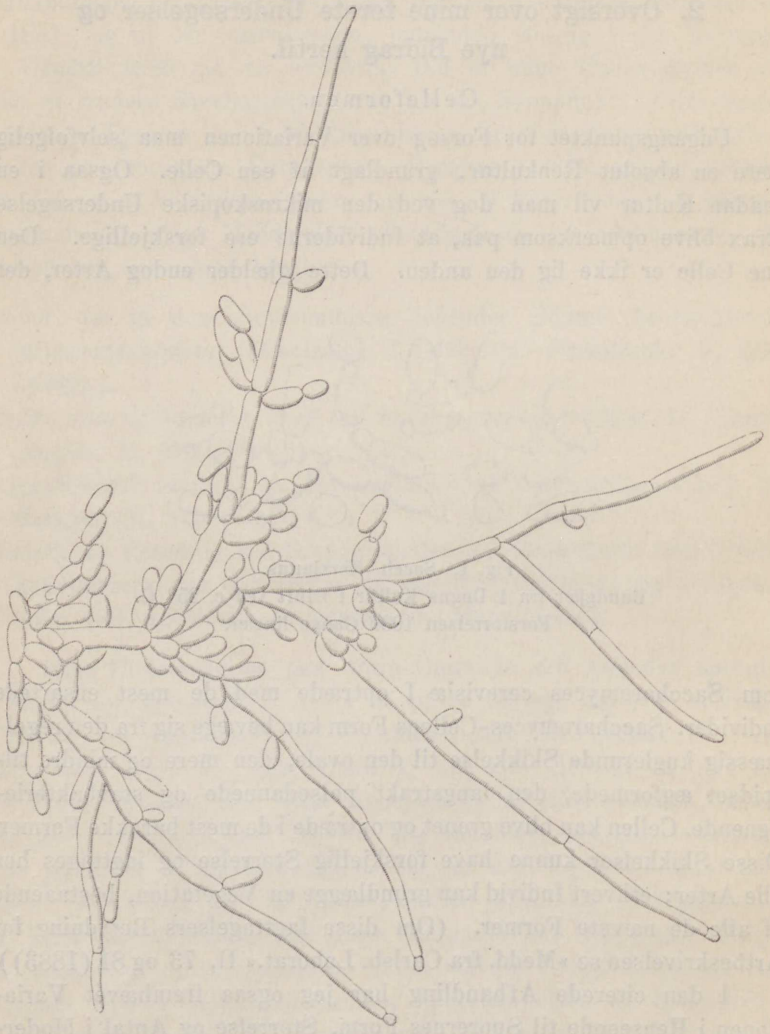


Fig. 2. Sacch. Marxianus.
Vegetation i Gjærvandsgelatine. Kultur i Bøttcher's Kammer med rigelig Lufttilførsel ved. alm Stuevarme. Forstørrelsen 1000 Gange lineær.

Stadier derimod de langstrakte og de smaa Celler. Hos Sacch. apiculatus iagttog jeg (Medd. fra Carlsb. Laborat. I, 311 (1881)), at de citronformede Celler navnlig dannes i Knopskydningens Begyndelse og da faa Overvægten. I Vand- og i Gelatinekulturer, som

ere blevne gamle, ere smaa, bakterielignende Celler, ligesom ogsaa Celler med anden abnorm Form, ikke sjældne. Det gjælder ikke blot om denne, men ogsaa om andre Arter.

Som det maatte ventes, udvikle svækkede Sporer eller Sporer, som spire under vanskelige Ernæringsforhold, ligeledes fortrinsvis smaa Celler. Man kan i saadanne Tilfælde faa Vegetationer, som ere aldeles forskjellige fra de normale. Om den Variation, der kommer frem ved Sammensmeltning af Sporerne, se mine Afbildninger i »Medd. fra Carlsb. Laborat.« III, 57 o. flg. (1891).

Den store Forskjel, der er mellem en Arts almindelige Bundgjær-Celler og dens Hinde-Celler, ses af mine Afbildninger i Laboratoriets Tidsskrift 1886. I de gamle Hinder, som fremkomme ved langvarig Dyrkning i Kolber med Urt, træder Kolonidannelsen med langstrakte Celler stærkt frem; dette gjælder alle Arter, ogsaa de, der, som Sacch. cerevisiæ I, paa Udviklingens Begyndelsesstadier netop udmærke sig ved at have runde og ovale Celler. Saccharomyceterne kunne ligeledes i Kulturer paa Næringsgelatiner optræde med Kolonier af langstrakte Celler, og ofte faa de herved Lighed med Monilia candida (Medd. fra Carlsb. Laborat. II, 236, Fig. 6 (1888)), som ogsaa med visse Udviklingstrin af Dematium, Chalara og Oidium. Sacch. Marxianus, Sacch. membranæfaciens og Sacch. Ludwigii høre til de Arter, som ere tilbøjelige til at udvikle en saadan Dannelse. En Beskrivelse deraf gav jeg i »Medd. fra Carlsb. Laborat.« II, 222 o. flg. (1888) og i den foran nævnte Afhandling fra 1889; hosføjede Afbildninger derimod ere nye. I Fig. 1 ses en ung Vegetation af Sacch. Marxianus fra en Urtkultur. Udsæd deraf i Gjærvandsgelatine gav en Vegetation som Fig. 2. En lignende Udvikling fandt ogsaa Sted paa Lagerølgelatine. De to Figurer ere udførte efter Fotografibilleder, som blevne tagne af Hr. Assistent Schiønning. Mycel-Udviklingen hos Sacch. Ludwigii i gamle Kulturer ses i Fig. 3. Ogsaa ved gamle Sporers Spiring kan der dannes Mycel med tydelige Tværvægge. (Se min Afbildn. i »Medd. fra Carlsb. Laborat.« III, 67 (1891)). Føres disse skimmelsvampelignende Vegetationer over i Urt, saa udvikle de her Celler, som efterhaanden gaa tilbage til Udgangspunktet.

I Almindelighed bevares der et vist Forhold mellem Antallet af en Arts ovale og dens pølsedannede Celler; hos Arter henhørende til Grupperne Sacch. cerevisiæ og Sacch. ellipsoideus ere som bekjendt hine, hos Arter henhørende til Gruppen Sacch. Pastorianus derimod disse i Overvægt. Dette er Reglen, men der iagttages dog ogsaa Tilfælde, som vise, at en enkelt, bestemt Celleform kan blive ved at gjentage sig gjennem flere Generationer paa

en stærkere Maade end sædvanlig, saa at de nydannede Vegetationer derved faar et helt fremmed Præg. Et saadant Tilfælde har jeg beskrevet i mine »Undersøgelser fra Gjæringsindustriens Praxis« (Medd. fra Carlsb. Laborat. II, 308 (1888)).

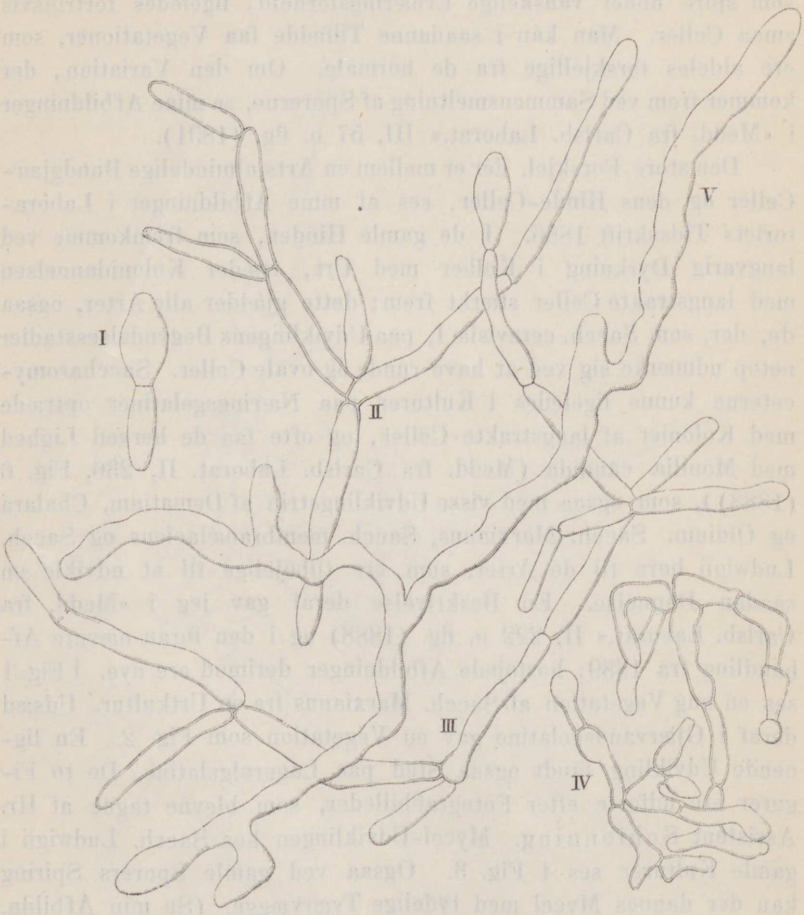


Fig. 3. Sacch. Ludwigii.
Myceldannelse fra gamle Kulturer i Kirsebærsaft og i Gjærvand. I. En Gjærcelle, som har udskudt en pølsedannet Knop; denne afgrændses fra Modercellen med en Tværvæg. II—IV. Grenet Mycel med stærkt udviklede Tværvægge. V. Grenet Mycel-Celle uden Tværvægge. Forstørrelsen 1000 Gange lineær.

De Forsøg, jeg sigter til, bleve først anstillede med Carlsberg Undergjær Nr. 1, senere med nogle andre Bryggeri-Undergjærarter. Ved at isolere Cellerne i en og samme Renkultur, viste det sig, at jeg erholdt to Kategorier af Vegetationer, hver med sin fremtrædende Celleform; i den ene vare de ovale, i den anden de

pølsedannede og langstrakte Celler i Overvægt. Den sidstnævnte Vegetation havde saaledes et Udseende, som var aldeles forskjelligt fra det, en normal Vegetation af de nævnte Arter plejer at have. Udviklingen var her kommen ind i et bestemt abnormt Spor, som holdt sig gjennem flere Dyrkninger i Urt; i et Tilfælde varede det endog omtrent to Maaneder, førend de normale Celler atter havde faaet Overvægten over de pølsedannede. Den sporeløse Form, som jeg fornylig erholdt ved den i det Følgende omtalte Dyrkning af Sacch. Pastorianus II paa Urtgelatine ved 25° C., forholdt sig paa lignende Maade, idet dens Celler i Urtkulturer dels grundlagde Vegetationer med Udseende som Sacch. ellipsoideus-Gruppen, dels med Udseende som Sacch. Pastorianus-Gruppen, og denne Forskjel holdt sig gjennem et stort Antal Dyrkninger, saavel ved almindelig Stuevarme som ved 25° C.

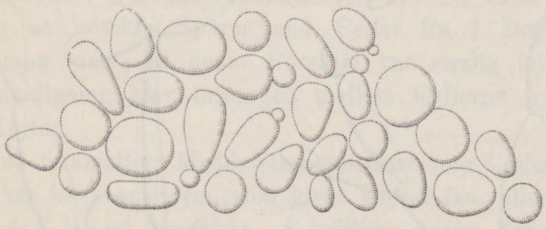


Fig 4. Carlsberg Undergjær Nr. 1.
Bundgjær fra 1 Døgns Kultur i Ølurt ved c. 25° C. Forstørrelsen 1000 Gange lineær.

Et Exempel paa Temperaturens Indvirkning paa Formen af Øl-Undergjærcellerne meddelte jeg i Laboratoriets Tidsskrift 1883, p. 79. Det viste sig, at Vegetationer, som havde staaet 1 Aar i Saccharoseopløsning og i Urt, ved at dyrkes i den sidstnævnte Vædske ved 27° og ved 7½° C., dannede nye Vegetationer med helt forskjelligt Udseende. Medens de ved den førstnævnte Temperatur vare i det Hele normale, optraadte de derimod ved den lave Temperatur i Almindelighed med langstrakte Celler i sammenfiltrede, mycelieagtige Kolonier. Senere Forsøg med lignende, men noget ældre Vegetationer af Carlsberg Undergjær Nr. 1 gave i det Væsentlige det samme Resultat. Det Karakteristiske for de nydannede Vegetationer ved begge de nævnte Temperaturer bestod deri, at der ved den lave Temperatur i Reglen udvikledes stærkt grenede Kolonier med ofte meget langstrakte Celler, og ved den høje Temperatur Kolonier med hovedsagelig ovale Celler.

Den indtraadte Variation ses ved at sammenligne Fig. 4, som forestiller en ung normal Vegetation fra en Urtkultur, med Fig. 5, der viser den omtalte Kolonidannelse ved 7½° C.

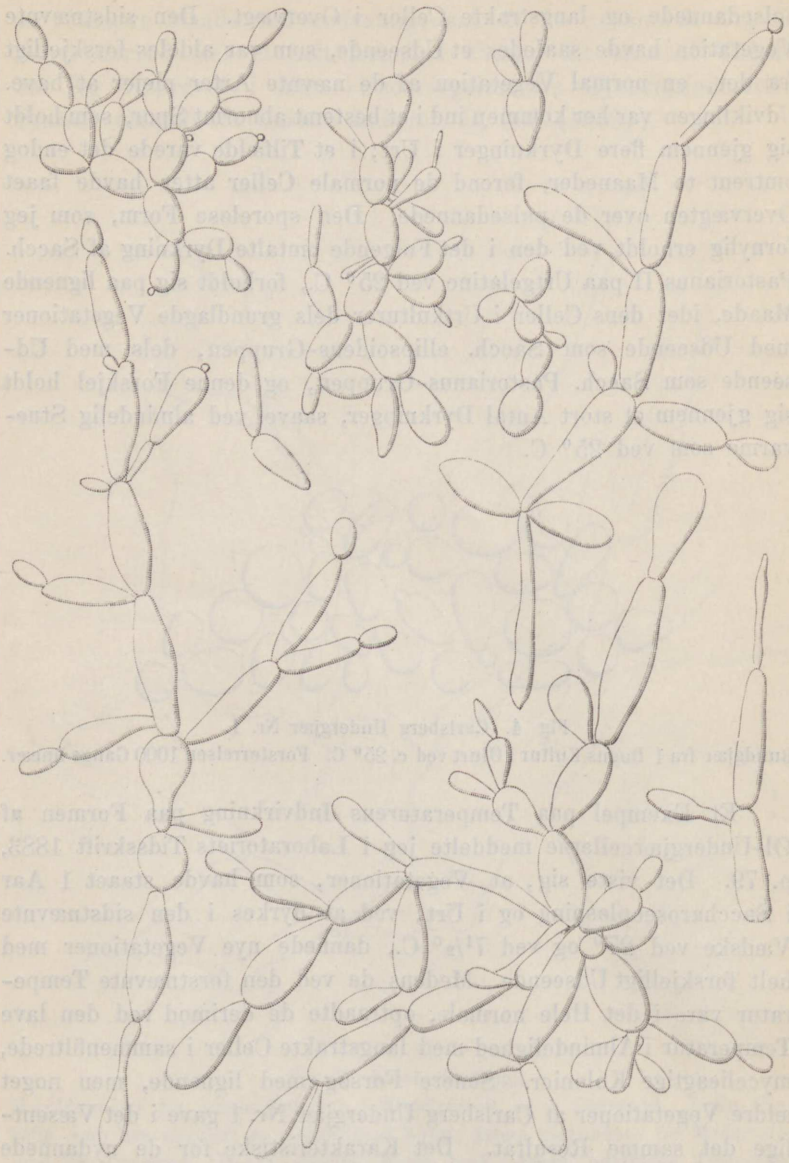


Fig. 5. Carlsberg Undergjær Nr. 1.
Vegetation i Urtkultur ved $7^1/_2{}^0$ C. efter en Udsæd af Celler fra en Saccharose-kultur, som stod 1 Aar ved alm. Stuevarme. Forstørrelsen 1000 Gange lineær.

I alle disse Forsøg viser det sig, at Celler, som stamme fra den samme Vegetation, og som ere udviklede under de samme Betingelser, dog kunne danne Kolonier af forskjellig Værdi og herved

grundlægge forskjellige Udviklingsrækker, der en Tid lang kunne bevare hver sit særegne Præg. Det er saaledes ikke enhver Celle, som ved den lave Temperatur udvikler de ovenfor berørte mycelielignende Kolonier. Om alle de ovenfor beskrevne abnorme Former gjælder det, at de efter en kortere eller længere Række af Dyrkninger i Urt vende tilbage til det Normale. Hertil høre ogsaa Will's Undersøgelser over Hindedannelsen hos nogle Bryggeri-Undergjærarter i »Zeitschr. f. das ges. Brauwesen«, 1895.

Sporedannelsen og Knopskydningen.

I min foran nævnte Afhandling i Laboratoriets Tidsskrift 1883 findes ikke blot Oplysninger om Variationen i Henseende lil Sporernes Form og Størrelse, men ogsaa i Henseende til deres Udvikling. Jeg gjorde da den Iagttagelse, at Celler af Sacch. Pastorianus I, som vare avlede i 2 Døgns Urtkultur ved 27° C., vare mindre tilbøjelige til at udvikle Sporer end Celler fra 1 Døgns Kultur. Senere Forsøg viste, at denne Forskjel var særlig iøjnefaldende, naar Sammenligning blev foretagen mellem Cellerne fra 7 og fra 1 Døgns Kultur.

Af mine forskjellige Meddelelser om Carlsberg Undergjær Nr. 1 ses, at vi her have en Form, som giver yderst faa, eller slet ingen Sporer; i den lange Aarrække, i hvilken denne Art har været underkastet Undersøgelser, har den holdt sig paa dette Standpunkt og kun vist smaa Svingninger. Man kan af den erholde Renkulturer, hvis Celler gjennem meget talrige Generationer og i lange Tider ikke udvikle Sporer; det er hos den, at jeg først blev opmærksom derpaa, at Saccharomyceterne kunne opgive Sporedannelsen. Den gav saaledes et nyt Exempel paa det Forhold, at Individer, der høre til en og samme Vegetation, og som oprindelig stamme fra den samme Encellekultur, dog kunne grundlægge forskjellige Varieteter med en høj Grad af Konstans. Paa en mere iøjnefaldende Maade traadte dette frem i mine Undersøgelser over Sacch. Ludwigii (1889). Disse viste, at denne Art, naar den har tilbragt en Tid i sit Næringssubstrat, da kan udvikle Celler, som have mistet Evnen til at danne de nævnte Formeringslegemer. Ved at isolere et større Antal af Cellerne fik jeg tre Vegetationsformer, hvoraf den ene udmærkede sig ved sin kraftige Evne til Sporedannelse, medens denne hos den anden derimod var i Færd med at forsvinde og hos den tredie slet ikke traadte frem. Under Dyrkningen i Ølurt vedblev den sidstnævnte Vegetation at være sporeløs gjennem meget talrige Generationer; først efter lang Henstand i denne Vædske; forandredes Forholdet noget, saaledes at Evnen til Spore-

dannelsen vendte tilbage, omend i ringe Grad. Hurtigt skete dette derimod, naar Dyrkningen fandt Sted i Urt, hvortil der var sat lidt Dextrose. Kløcker har senere fundet, at noget lignende gjælder for Sacch. Marxianus. I nye Forsøg fandt jeg dog, at ikke alle de sporeløse Varieteter af Sacch. Ludwigii reagere paa den beskrevne Maade overfor Dextrosen. Vi have her et Exempel paa en Variation, hvorved der fremkom Former, der vare i endnu højere Grad konstante, end de foran omtalte. Mine senere Forsøg viste, at der under de berørte Omstændigheder ogsaa hos andre Arter kunne fremkomme sporeløse Varieteter, der gjennem talrige Generationer holde sig konstante. Jeg iagttog dette saavel i gamle som i unge Urtkulturer ved alm. Stuevarme af Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus II, Sacch. Pastorianus III, Sacch. ellipsoideus I og hos nogle endnu ubeskrevne Øl-Undergjærarter. I nogle Tilfælde stode disse Kulturer i Lys, i andre Tilfælde i Mørke; Lysforholdene synes altsaa ingen Indflydelse at have; vi vide overhovedet intet nærmere om de Betingelser, hvorunder Variationen her er opstaaet. Det Samme maa ogsaa siges om den tilsvarende Variation, som flere Arter vise, naar de dyrkes paa Urtgelatine. I de senere Aar have Boullanger, P. Lindner og Beijerinck gjort lignende Iagttagelser.

I den forannævnte Afhandling fra 1889 har jeg ogsaa omtalt de Experimenter, ved hvilke det lykkedes for første Gang at fremstille konstante Varieteter. Jeg gjorde nemlig da den Opdagelse, at Saccharomyces-Vegetationen fuldstændig mister Evnen til at danne Sporer, naar den gjennem talrige Generationer dyrkes i Ølurt ved en Temperatur i Nærheden af Maximum for Knopskydning. Mine fortsatte Forsøg have vist, at dette gjælder som en Lov for alle typiske Saccharomyceter saavel Kulturgjærarter, som vilde Gjærarter. Kun de ejendommelige Arter Sacch. membranæfaciens, Sacch. anomalus og Sacch. Ludwigii, synes at afvige derfra; men de ere jo ogsaa, som jeg ved anden Lejlighed har fremhævet, saa forskjellige fra de egentlige Saccharomyces-Arter, at de godt kunde opstilles som Typer for nye Slægter. Som det omtales i det næste Afsnit, udviklede Sacch. anomalus ad anden Vej, nemlig under Dyrkning paa Urtgelatine, en konstant sporeløs Varietet.

Ogsaa Knopskydningens Funktion er, som man kunde vente, bleven paavirket under den stærkt indgribende Behandling, for hvilken Cellerne bleve udsatte i de berørte Variationsforsøg ved de høje Temperaturer.

Hos nogle iagttog jeg, at de sporeløse Varieteter i Urtkulturer

viste en kraftigere Formering end deres Stamform, og at deres Vegetationer paa Næringsgelatine i flere Tilfælde havde et andet Udseende end dennes. De første sporeløse Varieteter, som jeg efter den omtalte Dyrkning i Vædsker ved høj Temperatur havde fremstillet, vare tillige alle hindeløse og have vist sig at være lige saa konstante i denne som i den førstnævnte Karakter. I de senere Aar har jeg imidlertid af og til iagttaget sporeløse Varieteter med en i hvert Fald høj Grad af Konstans, hvilke dog udviklede Hinde. De optraadte under alle de Dyrkningsforhold, hvor den beskrevne Variation overhovedet er iagttaget, men kun i ringe Antal, som en ren Undtagelse. I nogle af disse Kulturer har det imidlertid vist sig, at der hos enkelte af Cellerne var en skjult, meget svag Evne til Sporedannelse tilstede, idet de nemlig efter 1—2 Aars Dyrkning havde gjenerhvervet Evnen til at danne de nævnte Formeringslegemer, omend oftest kun i ringe Grad. Jeg anser det derfor ikke for usandsynligt, at disse hindedannende, og dog sporeløse Varieteter, alle ville vende tilbage til det Normale, og at de altsaa ikke have den samme Værdi som de andre. De bleve iagttagne hos Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus II, Johannisberg II og hos Lindner's Brænderigjær Rasse II. Hvorledes dette nu end maatte forholde sig, saa bliver Reglen dog den, at Tab af Spore- og af Hindedannelsen under den beskrevne Behandling følges ad.

De ældste af mine sporeløse Varieteter ere nu, da denne Afhandling udgives, snart 12 Aar gamle, mange 3 Aar og derover. Uagtet de i den lange Tid ere blevne dyrkede under de mest forskjellige Forhold, have de holdt sig konstante; hverken Spore- eller Hindedannelsen er vendt tilbage i disse gamle Kulturer.

I »Medd. fra Carlsb. Laborat.« II, 186 (1886) har jeg omtalt den paafaldende Variation, der kan finde Sted i den Maade, hvorpaa Bundgjæren optræder i Urtkulturer. Hos de fleste Arter har den i Almindelighed et dejgagtigt Udseende, men undertiden kan den blive aflejret som hindeagtige, foldede Lag eller som osteagtige, ofte hule Brokker. Under Knopskydningen dannes i disse Tilfælde stærkt grenede Kolonier, hvis Celler ikke skilles fra hverandre, og Vædsken holder sig skinnende blank, ogsaa efter at Gjæringen er i kraftig Gang. Jeg iagttog dette Fænomen hos mine tre Arter af Gruppen Sacch. Pastorianus, naar jeg tog Udsæden fra gamle Kulturer i Saccharoseopløsning eller i Urt. Efter Offentliggjørelsen af Ovenstaaende har jeg bemærket, at de nævnte Arter saavelsom Carlsberg Undergjær Nr. 2 og Johannisberg II efter en Tid lang

at have været indtørrede, ligeledes kunne udvikle Ostegjær i Urt. Fælleds for alle disse Tilfælde er det, at Udsædens Celler ere mere eller mindre svækkede. Den beskrevne abnorme Udvikling optræder dog ikke altid under de nævnte Omstændigheder, de betingende Faktorer kjende vi ikke. Undertiden holder den sig gjennem talrige Dyrkninger, ofte afløses den hurtig af den almindelige Dejggjærform.

De kemiske Omsætninger. Bryggerigjærens Variation.

I den foran nævnte Meddelelse fra 1895 har jeg omtalt nogle Undersøgelser, der gaa ud paa at opnaa Varieteter, som dels danne mere, dels mindre Alkohol end deres Stamformer. Ved at dyrke to Varieteter af Carlsberg Undergjær Nr. 1 i to Rækker, den ene i almindelig Ølurt, den anden paa Overfladen af Urtgelatine, og hyppig at forny disse Kulturer, viste det sig, at der paa Urtgelatinen i Løbet af nogle Maaneder udvikledes Varieteter, som havde en stærkere Alkoholgjæringsevne end deres Stamformer, der hele Tiden vare blevne dyrkede i Urten. I Ølurt, hvortil der var sat 25 % Rørsukker, dannede de sidstnævnte ved almindelig Stuevarme c. 13 Vol % Alkohol og de nye Varieteter derimod 13,6. En endnu større Differens i den samme Retning traadte frem i nogle Experimenter, som jeg anstillede med Overgjærarten Sacch. cerevisiæ I. De bleve udførte paa samme Maade som de foregaaende, men i Stedet for Urtgelatine blev der benyttet Gjærvandsgelatine, og paa denne blev der udsaaet Sporer. Paa Gelatinen udvikledes nu en Vegetation, som gav 1—3 Vol. % Alkohol mere end den tilsvarende Vegetation, der hele Tiden var bleven dyrket i Ølurt. Ved senere flere Gange at gjentage disse Forsøg iagttog jeg vel undertiden kjendelige Svingninger; men i de fleste Tilfælde dannede dog de paa de nævnte Næringsgelatiner avlede Vegetationer mere Alkohol end Vegetationerne fra Urten. Saavidt jeg for Øjeblikket kan gjennemskue disse Forhold, maa jeg antage, at der har været Raceejendommeligheder tilstede hos de Individer, hvormed Forsøgene begyndte, og at der i Dyrkningen paa Gelatinerne nærmest foregaar en Udvælgelse og ikke en Omdannelse. Der er, som jeg ved tidligere Lejlighed har fremhævet, stor Forskjel paa Gjæringsevnen hos Individerne i en og samme Renkultur. Som Regel ere disse Varieteter dog kun af meget flygtig Natur.

Til denne Kreds af Undersøgelser høre ogsaa nærmest de af Biernacki i 1887 meddelte over Virkningen af Antiseptika, ved hvilke det blev vist, at smaa Doser under visse Betingelser bevirke, at man erholder en Vegetation med større Alkoholgjæringsevne

end den, hvorfra man gik ud. Senere kom Märcker og Hayduck og i den nyere Tid som bekjendt Effront til det samme Resultat. En nærmere Undersøgelse og Forklaring af disse Forhold blev ikke given.

En anden Række af mine Forsøg gik ud paa at afsvække Gjæringsevnen. Det viste sig, at man, naar Carlsberg Undergjær Nr. 1 blev dyrket i Ølurt ved 32° C i Løbet af otte Kulturer saaledes, at enhver efterfølgende blev indpodet fra den foregaaende og derefter ladet i Ro, indtil Gjæringen var standset, altsaa uden særlig Luftning, da opnaaede en Vegetation, som gav indtil 2 Vol. % Alkohol mindre, end den Vegetation, hvormed Forsøget begyndte. Gjæringen fandt Sted i Urt (14 % Ball.), til hvilken der var sat 10 % Saccharose. Carlsberg Undergjær Nr. 2, som blev behandlet paa den samme Maade, gav et lignende Resultat.

Jeg har i flere Aar dyrket nogle af de af mig beskrevne Saccharomyces-Arter saaledes, at de vare forhindrede i at fremkalde Alkoholgjæring. Udgangspunktet var dels Sporer, dels almindelige vegetative Celler og dels Hindeceller. De sidstnævntes Forfædre havde for syv Aar siden begyndt Livet paa Vædskens Overflade under den direkte Paavirkning af Luften. I alle Tilfælde havde de prøvede Vegetationer gjennem et uhyre Antal af Generationer ikke udøvet Alkoholgjæringsvirksomheden; desuagtet holdt de fast derved og tilsyneladende med usvækket Kraft. Det Samme gjaldt ogsaa om Sporedannelsen og om Dannelsen af Invertase og Maltase. Det har overhovedet ikke været muligt at bringe Cellerne til at opgive Udviklingen af de nævnte Enzymer. Vi kunne kun fremkalde en foreløbig Svækkelse, men intet videre. Hos Bakterierne er det derimod, som bekjendt, ret almindeligt at iagttage, at de under Dyrkningen i Laboratoriet fuldstændig miste deres Gjæringsevne. Omvendt har det ejheller været muligt at omstemme Saccharomyces-Cellens Plasma saaledes, at en ny Evne kom frem til at frembringe Enzymer, hvoraf den i Forvejen ikke var i Besiddelse. Trods alle Forsøg, som ere anstillede her paa Laboratoriet og andensteds, nægte Arter som Sacch. apiculatus bestandig at invertere og forgjære Saccharoseopløsninger, og Arter som Sacch. Marxianus og Sacch. Ludwigii stille sig paa samme Maade overfor Maltosen. Se ogsaa Kløcker's Afhandling i nærværende Hefte p. 55.

Til den her omtalte Række af Variationer hører ligeledes den efterfølgende. Sacch. Pastorianus I er, som det erindres, en Sygdomsgjærart, der meddeler Øllet en ubehagelig Lugt og bitter Smag. Ifølge Mach's og Portele's Undersøgelser giver den dog en god

Vin, og mine Undersøgelser have vist, at den, naar den dyrkes ved 32° C. gjennem talrige Generationer i en Opløsning af Rørsukker (10 %) i Gjærvand, da danner Celler, som for en Tid have mistet de for Ølgjæringen berørte uheldige Egenskaber. Ved fortsat Dyrkning i Ølurt vender Vegetationen dog hurtigt tilbage til Udgangspunktet.

Om Cellernes Tillæmpningsevne hos denne Art er der talt paa flere Steder i mine forskjellige Afhandlinger. I Forsøgene over Sygdomsgjærarterne (Medd. fra Carlsb. Laborat. II, 97 (1883) og III, 193 og 212 (1892)) blev saaledes ogsaa det interessante Forhold fremhævet, at de kun fremkalde Sygdommene, naar de komme i Urten ved Hovedgjæringens Begyndelse; sker dette derimod først under dens Slutning eller under Lagringen, formaa de under sædvanlige Bryggeriforhold ikke at gjøre sig gjældende.

I en af mine Undersøgelser fra Gjæringsindustriens Praxis (Medd. fra Carlsb. Laborat. III, 199 (1892)) har jeg omtalt den Betydning, det har, om Urten er luftet eller ikke, naar Gjæren sættes til. Ved at dyrke Carlsberg Undergjær Nr. 1 og Nr. 2 hver for sig i luftet Urt erholdt jeg en Avl, som under Bryggeriforhold gav god, normal Klaring. Bleve derimod de samme to Gjærarter dyrkede i en aldeles lignende, men ikke luftet Urt, saa fremkom der Gjærvegetationer, som først efter at de havde gjennemgaaet flere Gjæringer i luftet Urt, igjen formaaede at arbejde paa den normale Maade. Det Øl, som de frembragte, led navnlig af den Fejl, at det var opaliserende og uklart. Gjæren Nr. 2 vendte dog hurtigere tilbage til sin oprindelige Tilstand end Gjæren Nr. 1. Dette er Reglen; rent undtagelsesvis har jeg iagttaget, at Urten kan have en saadan Sammensætning, at Luftningen deraf er overflødig.

Paa dette Sted kan Ølgjærarternes Variation i Driften mest passende omtales. De efterfølgende Meddelelser ere væsentlig et Udtog af en Forelæsning, som jeg for et Par Aar siden holdt for de Studerende her paa Laboratoriet. (Oversat af Bělohoubek i »Casopis pro prumysl chemicky«, 1898). Ølgjærarterne kunne selvfølgelig variere saavel til den gode, som til den daarlige Side; vi skulle med et Par Ord omtale de to Retninger. Til Rendyrkningssystemet hører som bekjendt ikke blot et planmæssigt Udvalg mellem Arterne, men tillige mellem Racerne. Opgaven er at udvælge de gunstigste Individer, d. v. s. dem, som grundlægge en Vegetation med de ønskede Egenskaber. Dette førte saaledes naturligt med sig, at Teknikerne strax kom ind paa ved et Udvalg at forbedre Racerne. At Individer, henhørende til en og samme Art,

og som oprindelig stamme fra en og samme Encellekultur, kunne grundlægge tydeligt forskjellige Varieteter, som holde sig mer og mindre konstante, er vist i det Foregaaende og vil i de følgende Experimenter blive nærmere belyst. I de første Aar, efter at jeg havde indført den nye Reform i Gjæringen, arbejdede jeg selv i den nævnte Retning i Bryggerierne Gamle og Ny Carlsberg, navnlig med de to ofte omtalte Undergjærarter Nr. 1 og Nr. 2. Herved fremkom der i visse Henseender bedre Racer, end dem, hvormed jeg i 1883 havde begyndt. Botanisk set stemmede de vel overens med mit Udgangspunkt, men fra et Bryggeristandpunkt vare de dog lidt forskjellige. Paa flere Steder i mine Skrifter har jeg lejlighedsvis givet smaa Meddelelser i den Retning. Saadanne Prøver ere ogsaa blevne anstillede i de fleste Bryggerilaboratorier. Almengyldige Regler have vi her ikke; det Hele gaar ud paa at prøve sig frem, og i Reglen holde de paa den Maade fremstillede Racer sig ikke, men gaa atter tabt,

Anderledes forholder det sig med de Varieteter, som jeg har fremstillet ved at foretage Dyrkningen ved høj Temperatur. De holdt sig konstante i Driften, og de kunne erholdes, naar vi ønske det, idet vi nemlig her have en bestemt Methode at gaa ud fra. Den p. 13 omtalte nye Varietet af Carlsberg Undergjær Nr. 1 gav under Bryggeriforhold en lidt bedre Klaring og en svagere Attenuation ved Hovedgjæringens Slutning end dens Stamform, og den holdt sig konstant paa dette Standpunkt gjennem flere Dyrkninger i Bryggeriet, hvilke strakte sig over nogle Maaneder. Skøndt den i de nævnte Retninger maatte siges at repræsentere en Forbedring, kunde den dog ikke indføres i Driften, da den nemlig vedblev at arbejde for langsomt. Et bedre Resultat gav den sporeløse Varietet af Carlsberg Undergjær Nr. 2, som blev fremstillet ved den i det Foregaaende omtalte Dyrkning i luftet Urt ved høj Temperatur og med hurtig paa hinanden følgende Fornyelser af Vædsken. Den første Meddelelse om de med denne Varietet foretagne Bryggeriforsøg findes i den forannævnte foreløbige Meddelelse fra 1890. Ændringerne hos den gik væsentlig i samme Retning som hos den Foregaaende, men uden at jeg iagttog praktiske Vanskeligheder ved at arbejde med den under Bryggeriforhold. Der blev til forskjellig Tid foretaget nogle Forsøgsrækker i Bryggeriet Gamle Carlsbergs Gjæringskjælder i smaa Gjærkar, hvert med $1^1/_3$ Hektoliter Urt. Det af Varieteten fremstillede Øl var fortrinligt; det havde gjennemgaaende en mere fyldig Smag og i Reglen en bedre Klaring end Stamformens, men var mindre holdbart paa Flasker, forsaavidt som der hurtigere dannedes et Gjærbundfald. Der er

ved disse Forsøg i hvert Tilfælde angivet en Vej, ad hvilken sandsynligvis de fleste, og maaske alle Øl-Undergjærarter kunne blive bragte til at udvikle nye Varieteter med de nævnte Hovedegenskaber. Naar man i Bryggerierne anvender en sporeløs Varietet, kan selvfølgelig Sporeanalysen for vild Gjær udføres med større Lethed og Sikkerhed end ellers.

Det erindres, at den rendyrkede Gjær i Begyndelsen af dens Ophold i Driften kan gjøre Vanskeligheder, navnlig hvad Klaringen og Forgjæringen angaar, sjældnere med Hensyn til Smagen. I de nærmeste Aar efter Rendyrkningssystemets Indførelse blev denne uheldige Variation hyppigt drøftet i de tekniske Tidsskrifter og anvendt som Angrebsvaaben mod mine Bestræbelser. Det er dog langtfra alle Arter og Racer, som give en saadan Vanskelighed, og naar den indtræder, varer det i de allerfleste Tilfælde kun en kort Tid; den under Laboratorieforholdene avlede Gjær har da atter tillæmpet sig efter Bryggeriforholdene og arbejder paa den Maade, det ønskes. At der ogsaa ude i Driften selv kan fremkomme Forhold, som kunne bevirke, at en Gjærart, der hidtil har arbejdet paa en tilfredsstillende Maade, begynder at variere i uheldig Retning, følger af sig selv. Uheldige Svingninger i Urtens Sammensætning og Mangel paa Renlighed spille her en vigtig Rolle. Gjæringskar af Træ frembyde navnlig Vanskeligheder, hvis man ikke sørger for, at deres Flade er glat og ferniseret. Naar Træet bliver flosset, kunne Gjærcellerne gjennem talrige Generationer formere sig under Forhold, der ere helt afvigende fra det Normale. Det Samme kan indtræde i Ledningerne, navnlig i deres Sammenføjninger. Jeg har i Aarenes Løb anstillet talrige Undersøgelser over Variationen i Driften. Om det Resultat, som de bragte, udtalte jeg mig i »Medd. fra Carlsb. Laborat.« III, 190 (1892) saaledes: »Saalænge Ølgjærarterne befinde sig under Bryggeriforhold, vise de kun smaa Afændringer, og disse ere af flygtig Natur. Se vi dem fra Biologens Standpunkt, ere vi nærmest tilbøjelige til at betegne dem som helt ubetydelige; for den praktiske Brygger stiller Sagen sig derimod anderledes. Disse Omdannelser kunne nemlig vise sig paa en ubehagelig Maade og undertiden foraarsage en følelig Forstyrrelse. Som en Bølgegang bevæge de sig gjennem Driften i Aarets Løb; om Aarsagen have vi i de fleste Tilfælde ikke en Gang nogen Anelse.« Dette er fremdeles Standpunktet.

I de tekniske Tidsskrifter fra de senere Aar findes lignende Iagttagelser af Delbrück, Jørgensen, Kukla, Lindner, Will o. A. Der er Forskjel paa Racernes Tilbøjelighed i den nævnte

Henseends, men i alle Tilfælde er Midlet det samme, nemlig Indførelsen af en ny Renkultur.

Om den Variation, der kan opstaa, naar Gjærcellerne i længere Tid opbevares i Saccharoseopløsning eller paa anden Maade, har jeg i Begyndelsen af dette Kapitel givet nogle Oplysninger og ligeledes i min Afhandling i Laboratoriets Tidsskrift 1898; jeg vil forøvrigt i en Fortsættelse deraf komme til at meddele nye Undersøgelser i denne Retning og skal derfor her ikke opholde mig derved.

3. Nye Undersøgelser over de sporeløse Varieteter.

Vi have altsaa set, at Gjærcellen til alle Sider er underkastet Variationens Bølgegang; i alle Retninger springe Varieteterne frem og med alle Grader af Konstans. Kun de sporeløse Varieteter lade sig experimentelt helt beherske; de vise de klareste, mest gjennemsigtige Forhold, og her møder os en Regelmæssighed som i intet andet Tilfælde. Disse Varieteter med deres forskjellige Egenskaber ere tillige de eneste, som vi for Øjeblikket kunne opfatte som konstante. Herved faa de saaledes ogsaa en særlig Interesse i praktisk Henseende som Udgangspunkter for Fremstillingen af nye Racer til Brug i Industrien. Af disse Grunde har jeg fra Begyndelsen lagt Hovedvægten paa Studiet af denne Variation, og mine i det Følgende meddelte nye Undersøgelser dreje sig udelukkende derom. Først gives den i en tidligere Meddelelse lovede Fremstilling af Methoderne, dernæst de nødvendige analytiske Enkeltheder og Forsøg, derpaa en Undersøgelse af det fundamentale Spørgsmaal om, hvorvidt der finder en Omdannelse eller en Udvælgelse Sted og endelig en Undersøgelse af de Fænomenet betingende Faktorer.

Methoderne.

Naar intet andet bemærkes, bleve Forsøgene anstillede paa følgende Maade: Udgangspunktet var en ung, kraftig Vegetation, hvis Celler gave en rig Sporeudvikling; de stammede fra en Kultur i Urt, 1 Døgn ved 25° C. Der blev stadig arbejdet med absolut rene Vegetationer, stammende fra Encellekulturer. Til Dyrkningen anvendtes Pasteur's tohalsede Kolber ($^1/_8$ Liter). Andre Kolber kunne ogsaa benyttes, men Udviklingen foregaar da ikke nøjagtig paa den nedenfor beskrevne Maade. To Gange om Dagen fandt en Luftning Sted, idet Vædsken blev omrystet. Cellerne føres herved ind i nye Ernæringszoner, samtidig med at Kulsyren fjærnes og Iltning foregaar. Hvert Led stod 1 Døgn ved de under Forsøgene angivne Temperaturer, og det efterfølgende blev inficeret med en Gjennemsnits-

prøve af det foregaaende. Paa Forsøgets forskjellige Stadier blev der udtaget Gjennemsnitsprøver og Individerne heraf isolerede for at prøve de af dem dannede Vegetationer i Sporekultur. I mine første Forsøg bleve disse Gjennemsnitsprøver benyttede til Spredekulturer i Urtgelatine paa den sædvanlige Maade ved Blanding med Gelatinen. Da man ikke af Pletternes Udseende kan slutte sig til deres Forhold til Sporedannelsen, bleve de overførte i smaa Kolber med Urt, og de paa denne Maade avlede Vegetationer bleve derefter prøvede i almindelige Gibsblokkulturer ved 25° C. Denne Fremgangsmaade er meget omstændelig, og da det senere viste sig at være nødvendigt at undersøge flere Hundrede af hvert Stadiums Individer, maatte der altsaa gjøres Forsøg paa at simplificere den. Dette skete ved at sprede Cellerne paa Overfladen af fast Urtgelatine i Petri-Skaale ved Hjælp af en Platinpensel og derefter at overføre de af dem dannede Vegetationspletter direkte paa en Gibsblok. Dennes cirkelformede Overflade, hvis Diameter var 3,8 Cm., blev i dette Øjemed inddelt med Blyantsstreger i Kvadrater saaledes, at 12 Vegetationspletter kunde anbringes paa hver Blok. Som sædvanlig bleve disse Kulturer foretagne ved 25° C., Undersøgelsen fandt Sted efter 4—5 Døgns Forløb. Den beskrevne Form for Spredningen giver ligesaa gode Resultater med Hensyn til Opnaaelsen af Encellekulturer, som Spredning af Cellerne i den flydende Gelatine. Prøven blev ligesom i mine tidligere Forsøg gjort ved at foretage en Spredning af en Blanding, bestaaende af Sacch. apiculatus og en anden i Formen derfra tydelig forskjellig Gjærart. Det viste sig, at c. 99 % af Pletterne indeholdt Renkulturer. Her som alle Vegne maa der lægges Vægt paa, at der til Analysen tages Gjennemsnitsprøver. Pletterne kunne som Regel henføres til to Kategorier: store Pletter og smaa Pletter. Iblandt de sidstnævnte finder man det største Procentantal af de sporeløse Vegetationer. Hvad enten man bruger den ene eller den anden Form for Spredningen, saa bliver Resultatet, at Cellernes Evne til at danne Sporer formindskes noget ved denne Dyrkning paa eller i Gelatinen; det er saaledes almindeligt, at nogle af Urtgelatinens Vegetationer ikke danne Sporer paa Gibsblokken, naar de direkte overføres paa denne, hvorimod de blot efter en eneste Dyrkning i Urt give en Vegetation, som kan frembringe en rig Sporedannelse. Dette gjælder særligt de smaa Pletter, og det vil derfor i Reglen være mest praktisk strax at overføre disse i Urtkultur for først derefter at foretage Sporedyrkningen.

Analysen er imidlertid hermed ikke bragt til Ende. Ogsaa iblandt de Vegetationer, der ere avlede i Urt, findes der nemlig

nogle, som kun foreløbig have opgivet Sporedannelsen. I de foregaaende Meddelelser om Sacch. Ludwigii blev det allerede omtalt, at denne Evne kan vende tilbage hos Cellerne under langvarig Dyrkning i Urt. Et stort Antal af de Celler, som paa de første Stadier af Behandlingen ved de høje Temperaturer vise sig at være sporeløse, vende under disse Omstændigheder hurtig tilbage til Sporedannelsen, i andre Tilfælde sker dette først i Løbet af 1—2 Aar; der findes her alle Grader, men det er kun et yderst ringe Antal, som efter et Aars Forløb endnu udføre denne Bevægelse. Naar jeg i det Følgende taler om konstante Varieteter, saa menes dermed saadanne, som have udstaaet denne Prøve. Den bedste Fremgangsmaade i den nævnte Retning har vist sig at være den, at lade vedkommende Vegetation i Urtkultur henstaa ved almindelig Stuevarme og forny Vædsken hver tredie eller hver fjerde Maaned; dette Sidste er ogsaa nødvendigt, naar man vil sikre sig, at Cellerne ikke dø ud. Om Analysens Gang se endvidere Tabellerne p. 33 og 34.

For en Del Aar siden anstillede jeg et Overvintringsforsøg med en af mine sporeløse Varieteter, idet jeg anbragte Cellerne i steril Jord i tætte Lerrør og derefter nedgravede disse i en Have ved Laboratoriet. Da jeg efter nogle Maaneder tog en Prøve deraf, vare de levende og dannede Sporer. Ved nøjere Eftersyn viste det sig imidlertid, at den udsaaede Vegetation ikke, som jeg den Gang antog, tilhørte en konstant Varietet. Den ovenfor beskrevne Regenerationsmethode ved Dyrkning i Urt er den eneste, vi kjende.

Det er urigtigt, som det undertiden finder Sted, at benytte Betegnelsen Regeneration om det, der sker, naar man gaar ud fra en Vegetation, hvis fleste Celler ikke danne Sporer, og heraf fremstiller en kraftig, sporedannende Vegetation ved at udskille de enkelte Celler, som have bevaret denne Evne. At disse kunne grundlægge en sporedannende Vegetation, følger af sig selv. De have jo slet ikke mistet denne Evne, men blive, hvad de vare. Den samme Betragtning gjælder ogsaa, naar vi tage Udgangspunktet fra Sporen selv. Helt anderledes er Forholdet i de foran beskrevne Tilfælde, hvor vi havde Vegetationer, der i Øjeblikket ikke indeholdt en eneste Celle, som formaaede at danne Sporer; her var Evnen foreløbig tabt og vendte først tilbage ved den langvarige Dyrkning i Urt. For ikke at fremkalde Misforstaaelser, maa Betegnelser som Regeneration og Degeneration bestandig sættes i Forhold til Individerne selv og ikke til en hel Kulturs brogede Samling af forskjellige Celler.

De fleste af Forsøgene bleve anstillede paa den ovenfor be-

skrevne Maade i Ølurt til almindeligt Lagerøl (14 % Ball.), som havde staaet i længere Tid og herved var bleven iltet. Naar Forsøgene bleve anstillede i andre Vædsker, betegnes disse nærmere.

En ikke ubetydelig Række blev udført paa Urtgelatine, der bestod af den nævnte Ølurt med 8 % Gelatine. Et tykt Lag var anbragt i en Freudenreich-Kolbe saaledes, at det frembød en skraa Flade. For at indskrænke Fordampningen og dog tilstede, at Luften kunde komme ind, og Kulsyren slippe ud, blev der paa Hættens Rør ved Hjælp af en Slange anbragt et lille S-formet Glasrør, altsaa en lignende Konstruktion som den tohalsede Pasteur'ske Kolbe. Ogsaa i dette Tilfælde var Udgangspunktet unge, kraftige Celler; de anbragtes i Overfladepodestriber paa Gelatinen ved 25° C. og ved almindelig Stuevarme, uden Fornyelser; hver Række bestod altsaa kun af 1 Led. I de faa Tilfælde, i hvilke Forsøgene bleve anstillede paa anden Maade, omtales det i det Følgende. Analyserne udførtes efter de foran beskrevne Methoder.

Forsøgene i Næringsvædsker.

I det Efterfølgende omtales Forsøgene med Sacch. Pastorianus I og den fra Aderhold's og Wortmann's Forsøg bekjendte Vingjærsvamp, Johannisberg II.

Sacch. Pastorianus I.

Hos denne Art er Temperaturmaximum for Knopskydningen i Ølurt omkring 34 og for Sporedannelsen i almindelig Gibsblokkultur omkring 29° C. Af den nedenfor beskrevne Forsøgsrækkes Udgangspunkt blev der isoleret 1000 Celler. De dannede alle Vegetationer med Sporer, og det var ikke muligt at paavise sporeløse Celler i den Vegetation, hvormed Forsøget tog sin Begyndelse. Temperaturen var 32° C.

I 2.	Led	fandtes	1 %	konstant	sporeløse Celler
I 4.	-	-	60 %	-	- -
I 7.	-	-	100 %	-	- -

Disse Tal anføres kun som Exempler fra en enkelt Forsøgsrække for at give en Forestilling om den Bevægelse, der foregaar. De til forskjellig Tid anstillede Rækker vise vel kjendelige Svingninger i Henseende til Tallene; men fælleds for alle er det, at der i Begyndelsen kun optræder faa sporeløse Celler, og at disses Antal forøges, efterhaanden som vi naa op i de højere Led; efter 7 Døgns Behandling under de angivne Omstændigheder vare som Regel alle Cellerne sporeløse.

I den Vegetation, med hvilken den foranstaaende Række begyndte, fandtes altsaa ingen sporeløse Celler; saadanne bleve derimod paaviste i Udgangspunkterne til nogle af de andre Rækker, som jeg anstillede. Ved i hver af dem ogsaa at foretage en Analyse af 1000 Celler fandtes nemlig $^1/_{20}$—$^1/_{10}$ % af disse at være sporeløse.

Det er kun faa Individer, hvis Knopskydning og Sporedannelse finder Sted ved Artens højeste Temperaturer for disse Funktioner; et større Antal standser allerede ved en Grad derunder og atter andre naa næppe saa højt. Der er her som ved alle Funktioner en hel Skala, vi ere jo ogsaa i Fysiologien vante til saadanne Uregelmæssigheder. Reglen bliver dog den, at den Temperatur, som der kræves til Fremstillingen af den sporeløse Varietet, ligger imellem den vedkommende Celles Temperaturmaximum for Sporedannelsen og dens Temperaturmaximum for Knopskydningen. I Overensstemmelse med Ovenstaaende viser det sig, at den sporeløse Varietet ogsaa kan fremkomme, naar vi i Stedet for 32 anvende 28° C. Foretages Dyrkningen paa den ovenfor beskrevne Maade ved den sidstnævnte Temperatur, vil 17. Led saaledes indeholde et stort Antal sporeløse Celler, men skøndt Behandlingen har fundet Sted gjennem saa mange Led, ere dog de sporedannende Celler fremdeles i Overvægt, ja, endnu i 21. Led findes meget talrige Celler af denne Kategori. Der er altsaa, som vi maatte vente, stor Forskjel paa den Virkning, de to Temperaturer, 28 og 32° C., have.

Johannisberg II.

Denne Art blev valgt til Forsøgene, fordi det er en vild Gjærart, som kun i forholdsvis kort Tid har været under Laboratoriebehandling, og endelig fordi den fremfor den foregaaende og flere andre Arter giver en meget rig Sporedannelse, idet henved 100 % af dens Celler i en almindelig Gibsblokkultur ved 25° C. udvikle disse Formeringslegemer. Dens Temperaturmaximum for Knopskydningen i Ølurt er 37—38 og for Sporedannelsen i almindelig Gibsblokkultur 33—34° C. I nogle af Forsøgsrækkerne stammede Udgangspunktet fra en vegetativ Celle, i andre fra en Spore. Ogsaa her bleve 1000 Celler af hver Rækkes Udgangspunkt prøvede, men i intet Tilfælde var det muligt at opdage nogen sporeløs Varietet, alle Cellerne grundlagde Vegetationer med kraftig Sporedannelse. Som et Exempel paa Udviklingsgangen meddeles efterfølgende Række, som blev anstillet ved 36° C.

I 3. Led fandtes . . . . . 4 % konstant sporeløse Celler
I 4. - - . . . . . 10 % - - -
I 5. - - . . . . . 20 % - - -

Endnu i 9. Led var der nogle sporedannende Celler tilstede. Denne Art skilte sig overhovedet fra den foregaaende derved, at der endog i de høje Leds Vegetationer i Reglen bestandig optraadte nogle Celler af den sidstnævnte Kategori.

Ogsaa naar Dyrkningen oretages ved 37° C. og ved Temperaturer mellem 32 og 36° C. træder den sporeløse Varietet frem. Ved 32—33° C. fandtes der dog i 20. Led endnu kun 4 % konstant sporeløse Celler, altsaa et betydeligt ringere Antal, end efter Behandlingen ved 36° C. Hvad der ovenfor er sagt om Sacch. Pastorianus I angaaende Behandlingen ved højere og ved lavere Temperaturer, gjælder ogsaa om denne Art.

De foregaaende Forsøgsrækker høre til dem, hvor der, som det omtales i Beskrivelsen af Methoderne, blev overført en Gjennemsnitsprøve fra det ene Led til det andet. Med nærværende Art ere Forsøgene imidlertid ogsaa blevne udførte paa den Maade, at der gjennem alle Leddene blev arbejdet med den hele Gjærmasse saaledes, at kun den Gjæren dækkende Vædske ved hvert nyt Leds Dannelse blev fjærnet og erstattet med ny Urt. I disse Forsøg stod endvidere 1. Led 3 Døgn ved 36° og de følgende Led hvert 2 Døgn.

I	2. Led fandtes	½ %	konstant	sporeløse	Celler
I	4. - -	30 %	-	-	-
I	6. - -	50 %	-	-	-
I	13. - -	90 %	-	-	-

Som foran bemærket har jeg med hver af Arterne anstillet flere Forsøgsrækker, men det vilde kun give Afhandlingen en uheldig Bredde at anføre dem alle.

Forsøgene paa fast Næringsbund.

Fremgangsmaaden er beskreven p. 20. Forsøgene paa Urtgelatine ved 25° C., gave følgende Resultater:

Sacch. cerevisiæ I.

Efter 3 Maaneder et temmelig stort Antal konstant sporeløse Celler.

Sacch. Pastorianus I.

Efter 1¾ Aar ingen konstant sporeløse Celler.

Sacch. Pastorianus II.

Efter 1¾ Aar et temmelig stort Antal konstant sporeløse Celler.

Sacch. Pastorianus III.

Efter 1¾ Aar meget faa konstant sporeløse Celler.

Sacch. ellipsoideus I.

Efter $1^3/_4$ Aar ingen konstant sporeløse Celler.

Sacch. ellipsoideus II.

Efter $1^3/_4$ Aar faa konstant sporeløse Celler.

Johannisberg II.

Efter 1 Aar meget faa konstant sporeløse Celler.

Sacch. Ludwigii.

Efter $1^3/_4$ Aar ingen konstant sporeløse Celler.

Sacch. membranæfaciens.

Efter $1^3/_4$ Aar ingen konstant sporeløse Celler.

Den konstant sporeløse Varietet iagttoges altsaa ikke hos alle Arterne og der, hvor den optraadte, var den bestandig tilstede i et forholdsvis ringe Antal Celler; ogsaa i de meget gamle Kulturer vare de sporedannende Celler, som det ses, i Overvægt. En flygtig Variation i den nævnte Retning optraadte hos alle Arterne. Ligesom i mine gamle Forsøg med Sacch. Ludwigii fra 1889 viste det sig ogsaa i disse, at jeg ved at udskille en saadan Vegetations Individer i særskilte Kulturer, kunde faa Vegetationer, som dels dannede talrige, dels yderst faa og dels slet ingen Sporer, og at den sidstnævnte Kategori ofte holdt sig gjennem flere Dyrkninger, førend den vendte tilbage til Sporedannelsen.

I de Forsøg paa Urtgelatine, der bleve anstillede ved almindelig Stuevarme, optraadte den konstant sporeløse Varietet hos Sacch. cerevisiæ I efter 4 Maaneders Forløb, hos Johannisberg II efter $1^1/_4$ Aar og hos Sacch. anomalus efter 6 Maaneder, og ligeledes bestandig kun hos faa Individer.

En konstant sporeløs Varietet af Sacch. anomalus viste sig ogsaa i et Forsøg, som blev anstillet paa Agar-Urtgelatine (Urt med $1^1/_2$ % Agar-Agar og 5 % Gelatine) ved 34° C. Denne Art synes ikke at kunne opgive Hindedannelsen; alle dens af mig iagttagne sporeløse Vegetationer holdt i hvert Fald fast derved.

Sacch. Pastorianus I udviklede ikke den konstant sporeløse Varietet i de foran omtalte Forsøg paa Urtgelatine ved 25° C. og ved almindelig Stuevarme, dette skete derimod paa Agar-Urtgelatine ved c. 32° C. Udgangspunktet var som sædvanlig en Overfladeindpodning af en Vegetation med kraftig Evne til Sporedannelse. Her fandt i Modsætning til de foregaaende Forsøg paa fast Næringsbund talrige Fornyelser Sted; hvert Led stod 1—2 Døgn. Endnu i 22. Led iagttoges talrige sporegivende Celler,

det 31. Led bestod derimod af en Vegetation, hvori alle Cellerne vare sporeløse, og som konstant holdt sig paa dette Standpunkt.

Ved fra denne Forsøgsrække at danne et nyt Led med 20. Led som Udgangspunkt og at stille det ved 34 i Stedet for ved 32° C., viste det sig, at de her i Løbet af 3—4 Døgn avlede Celler ogsaa vare konstant sporeløse.

Udvælgelse eller Omdannelse?

Naar man gjennemgaar Literaturen om Planternes Variation, ser man, at der i Reglen slet ikke stilles Spørgsmaal, om de beskrevne Fænomener skyldes en Udvælgelse eller en Omdannelse, og i de faa Tilfælde, i hvilke en Drøftelse foretages, ere Meningerne derom delte og Resultaterne usikkre.

I Indledningskapitlet til sit Værk »De danske Blomsterplanters Naturhistorie« (1895—99) underkaster Raunkiær dette Spørgsmaal en udførlig Undersøgelse. Han slutter sig til de Forfattere, der mene, at de Beviser, som i Almindelighed fremføres til Støtte for den Opfattelse, at Variationsfænomener skyldes en Omdannelse, fremkaldt ved ydre Faktorers Indvirkning, ikke ere fyldestgjørende. Om mine Undersøgelser udtaler han sig saaledes S. LII: »Vi synes her at have det første virkelige Bevis for en gjennem ydre Faktorer frembragt Karakterforandring, dog kun for saa vidt, som det er berettiget at gaa ud fra, at der hos Gjærsvampene ikke findes nogen kønnet Formering, saa at det opnaaede Resultat ikke kan tænkes forklaret ved Henvisning til de Forskjelligheder, der kunne findes mellem Individerne i Generationer, der nedstamme fra en Krydsning.« I de foreløbige Meddelelser, hvortil Raunkiær sigter, udtalte jeg mig ikke om dette Forhold; jeg har dog i Aarenes Løb foretaget omfattende Undersøgelser ogsaa i den Retning, men der viste sig intetsomhelst Tegn til en saadan Formering.

Hos de højere Planter have særlig Undersøgelserne over de frøløse Former og hos Mikroorganismerne over den sporeløse Form af Miltbrandbacillen Interesse for os. Det er et stort Antal Fanerogamer, hvoraf man kjender frøløse Varieteter. De omtales allerede i de ældste botaniske Skrifter og have altsaa været iagttagne i umindelige Tider. De mest bekjendte ere Varieteterne med de store spiselige Frugter af Bananen (Musa sapientum) og den Varietet af Vindruen, som kaldes Korender (Vitis vinifera var. apyrena). Den Førstnævnte optræder i et stort Antal dyrkede Former; disse ere alle ifølge Rob. Brown's og andre Forfatteres Iagttagelser i Amerika uden Frø, og Formeringen foregaar altsaa her bestandig ad vegetativ Vej. De have gjennem

Aarhundreders Dyrkning holdt sig konstante. I Bananens Hjemsted i Sydasien sker Formeringen hos de vilde Planter derimod ved Frø, og de dyrkede frøløse Varieteter siges ogsaa her af og til at gaa tilbage til Stamformen. Om den ovenfor nævnte frøløse Varietet af Vindruen gaa alle Beretninger ud paa, at den er fuldstændig konstant. Der gives kun usikre Antydninger om Fremkomsten af disse Varieteter, og der meddeles slet intet om, hvad man kan tilskrive de ydre og hvad de indre Faktorer. Ogsaa hos flere af de højere Kryptogamer har man i lang Tid kjendt sporeløse Former; men ej heller her finde vi Oplysning om de Spørgsmaal, der særlig interessere os.

Vi gaa derefter over til Betragtningen af de Undersøgelser, der i den nævnte Retning ere anstillede med Miltbrandbacillen (Bacillus Anthracis). Pasteur meddelte som bekjendt en Methode til Afsvækkelse af Virus; hertil blive Cellerne i længere Tid dyrkede i neutral Hønsebouillon ved 42—43° C. uden Fornyelse af Næringsvædsken. I nogle Undersøgelser over den Indvirkning, som Giftstoffer have med Hensyn til denne Afsvækkelse, gjorde Chamberland og Roux (Comp. rend. LXXXXVI (1883) og Ann. de l'Inst. Past. IV (1890)) den Iagttagelse, at Cellerne i det Mindste foreløbig miste Evnen til at danne Sporer, naar de dyrkes i Bouillon, hvortil der er sat lidt Karbolsyre eller tvekromsurt Kali. Dette var derimod ikke Tilfældet i Pasteur's Forsøg; medens Behandlingen her stod paa, dannede Cellerne vel kun meget faa eller slet ingen Sporer, men de gave strax en kraftig Sporedannelse, naar de i den nævnte Næringsvædske bleve dyrkede ved en gunstig Temperatur. Da Heim gjentog Chamberland's og Roux's Forsøg, viste det sig, at en stor Del af Cellerne efter Behandlingen med de nævnte kemiske Stoffer vedblev at bevare Evnen til Sporedannelse, og de Celler, som for Øjeblikket havde opgivet denne Funktion, vendte temmelig hurtig tilbage dertil, naar de bleve bragte under gunstige Ernæringsforhold.

Efterat jeg havde offentliggjort min anden Meddelelse om de sporeløse Varieteter hos Saccharomyceterne, anvendte Phisalix den deri beskrevne Fremgangsmaade i sine Forsøg med Bacillus Anthracis, idet han foretog Dyrkningen med hyppige Fornyelser af Næringsvædsken nær Temperaturmaximum for den vegetative Formering (Compt. rend. CXIV (1892)). Han opnaaede herved at faa en sporeløs Varietet, som holdt sig, ogsaa naar Dyrkningen blev foretaget ved en for Sporedannelsen gunstig Temperatur i Bouillon. Der var vistnok her en større Konstans og større Regelmæssighed tilstede end i Chamberland's og Roux's Forsøg. Først

naar der blev sat nogle Draaber af et Marsvins Blod til den nævnte Bouillon, vendte Cellerne atter tilbage til Sporedannelsen. Variationen var altsaa ogsaa i Phisalix's Forsøg kun foreløbig. I Overensstemmelse hermed staar det, at Cellerne af hans Varietet indeholdt glinsende Legemer, som af ham og Chauveau opfattes som rudimentære Sporer. Det fundamentale Spørgsmaal, om den beskrevne foreløbige Variation skyldes en Udvælgelse eller en Omdannelse, blev slet ikke undersøgt.

Alfr. Fischer (Vorlesungen über Bakterien, 1897, p. 27, 70—72, 123—24) betragter Afsvækkelsen af Virus og Tabet af Sporedannelsen hos Miltbrandbacillen som Udtryk for en Svækkelse og almindelig Degeneration. Efter hans Opfattelse er der ikke fremkommen nogen ny livskraftig Race og ikke foregaaet nogen Omdannelse, men der er blot Tale om en flygtig og sygelig Ændring. Væsentlig paa samme Maade betragter Fischer mine sporeløse Varieteter af Saccharomyceterne, og han mener, at de hidtil udførte Forsøg paa ad kunstig Vej at fremstille Racer med nye morfologiske Egenskaber ikke ere overbevisende. En Undersøgelse af det af ham rejste Spørgsmaal om Afsvækkelse vil bedst kunne finde sin Plads i den næste Afhandling, hvori jeg særlig agter at give Meddelelse om de sporeløse Saccharomyceters Egenskaber; de øvrige af Fischer rejste Indvendinger blive belyste i nærværende Afhandling.

Vi skulle nu se, hvorledes mine ovenfor beskrevne Forsøg stille sig til Spørgsmaalet Udvælgelse eller Omdannelse. Forsøgene med Sacch. Pastorianus I ere paa eet Punkt noget uklare; som det erindres, fandtes der nemlig sporeløse Celler i nogle af Udgangspunkterne. Naar de i andre Tilfælde ikke bleve paaviste, kan Grunden vel være den, at jeg er gaaet ud fra en Celle, som slet ikke har havt Evnen til at grundlægge en blandet Vegetation. Hvis vi uden videre kunde antage dette, vilde Alt være i Orden i den Henseende, men Sikkerhed herfor haves ikke, da som sagt sporeløse Celler ikke sjældent bleve paaviste i de Vegetationer, med hvilke Forsøgene bleve begyndte. Ifald vi særlig skulde benytte Experimenterne med den nævnte Art til Belysning af det stillede vigtige Spørgsmaal, saa maatte vi undersøge Formeringsforholdene hos de forskjellige Kategorier af Celler, der fremtræde under Behandlingen, og overhovedet den Konkurrence, som finder Sted. Det er imidlertid Undersøgelser af en saa vanskelig Art, at jeg først i en senere Afhandling vil kunne meddele Oplysninger derom.

Til at belyse Spørgsmaalet Udvælgelse eller Omdannelse, valgte

Jeg særlig Johannisberg II. Uagtet der, som det erindres, efterhaanden blev anstillet flere Tusinde Analyser af denne Art, var det dog ikke muligt at paavise en eneste Celle, som i den sædvanlige Sporedyrkning grundlagde en sporeløs Vegetation; Udgangspunktet for Experimenterne var i alle Tilfælde fuldstændig rent. En vidtgaaende Skeptiker kunde maaske dog rejse den Indvending, at man, hvis man var gaaet endnu videre i Analysernes Antal, muligvis vilde have kunnet finde et Individ af den omtalte Kategori. Naar Summen af de udførte Analyser er saa stor, som i det foreliggende Tilfælde, vilde en saadan Indvending, om den blev rejst, ikke have nogen Vægt; men Bevisførelsen behøver heldigvis ikke alene at støtte sig til Undersøgelsen af Udgangspunktet; der gives ogsaa andre Veje, ad hvilke vi kunne belyse Forholdet.

Tænke vi os, at der har været nogle sporeløse Celler tilstede i de Vegetationer, med hvilke Forsøgene begyndte, og at det kun er en Udvælgelse og ikke en Omdannelse, der finder Sted, saa kunne vi ikke vente, at Forsøget vil lykkes med enhversomhelst Celle; men vi maa i dette Tilfælde ogsaa faa Forsøgsrækker, der vedblive at bestaa af lutter sporegivende Celler. Analysen har jo med Sikkerhed lært os, at den sidstnævnte Kategori er i fuldstændig Overvægt i Udsæden. Nu viser det sig imidlertid, at dette ikke sker, og det gjælder ikke blot for de to her særlig omtalte Arter, men for alle de øvrige, som bleve prøvede, uden nogen Undtagelse. Den beskrevne Variation er kort sagt et almindeligt Fænomen, som altid træder frem, naar Cellerne underkastes den beskrevne Behandling.

Ogsaa fra en anden Side komme vi til det samme Hovedresultat.

Udgangspunktet for vore Forsøg med Johannisberg II bestod bestandig af Celler, som grundlagde Vegetationer med meget rig Sporedannelse. Celler, som grundlagde Vegetationer med yderst faa sporegivende Celler, eller som foreløbig helt havde opgivet Sporedannelsen, fandtes ligesaa lidt som konstant sporeløse Celler. Idet vi nu bestandig finde disse Mellemformer, efterat Behandlingen ved den høje Temperatur er begyndt, og navnlig i de første Led, saa viser dette os ligeledes, at der foregaar en Omdannelse. Hvis Fremkomsten af den sporeløse Varietet kun beroede paa en Udvælgelse, vilde der slet ikke være Brug for dem. At der ved Siden af Omdannelsen bestandig ogsaa gjør sig Konkurrenceforhold og Udvælgelse gjældende, er selvfølgelig.

Vi ville lidt nærmere betragte disse Mellemformer. Tage vi en eller anden af de i det Foregaaende omtalte Forsøgsrækker, saa

se vi, at medens Analysen af 1000 Celler af Udgangspunktet bestandig giver os det Resultat, at de alle danne sporegivende Vegetationer, behøve vi kun, efter at Behandlingen er begyndt, at isolere det halve Antal Celler for deri strax at finde sporeløse Celler; Allerede i 2. Led optræder et stort Antal, som ved direkte Kultur paa Gibsblok af de af dem paa Urtgelatine dannede Kolonier vise sig at tilhøre denne Kategori; efter nogle Dyrkninger i Ølurt vende et stort Antal tilbage til det Normale, men endnu efter over et Aars Forløb holde enkelte sig konstante. I de følgende Led optræde flere konstant asporogene. Efterhaanden som Behandlingen fortsættes, faa vi, som foran berørt, et større Procentantal af sporeløse Celler, og Antallet af dem, der ved fortsat Dyrkning i Urt kunne vende tilbage til Sporeformen, bliver mindre og mindre. Paa de forskjellige Stadier under Behandlingen kunne vi finde Celler, som give os Vegetationer med alle Grader af Sporedannelse, lige fra 100 til 0 %. Det er ogsaa her værd at lægge Mærke til det interessante Forhold, at vi, navnlig i de senere Led, kunne isolere Celler, der udvikle et Afkom, i hvilket nogle Individer ere sporeløse, andre derimod kraftige Sporedannere, og atter andre staa imellem begge Yderpunkterne. Ved at fortsætte Dyrkningen ved gunstig Temperatur og ved i de nydannede Vegetationer at gjentage Isoleringen af enkelte Celler, kan dette Forhold gjentage sig saaledes, at en sporegivende Celle fremdeles giver Stødet til Dannelsen af de tre nævnte Kategorier, og de i disse Vegetationer optrædende sporeløse Celler kunne gjennem talrige Generationer holde sig paa den bestemte Bane, hvorpaa de ere komne. Et lignende Resultat kan ogsaa erholdes ved Udkløvning af den Kategori, som udmærker sig ved at danne yderst faa Sporer. Man kan ligeledes her erholde de tre Kategorier: Vegetationer med kraftig, med yderst svag og med ingen Sporedannelse, og Kategorien med yderst svag Sporedannelse holder sig hyppig gjennem meget talrige Dyrkninger. Jeg har i den Henseende Iagttagelser, som strække sig over to Aar; en konstant Varietet er traadt frem. Disse brogede Forhold vise os, at Ligevægten i Cellernes Sporedannelsesevne i forskjellig Grad er bleven rystet, og vi staa atter her overfor noget Nyt, som ikke fandtes i Udgangspunktet.

Det er altsaa ikke blot Analysen af Udgangspunktet, men tillige alle Undersøgelser af Fænomenets forskjellige Sider, som vise os, at der foregaar en Omdannelse, og vi have al Grund til at antage, at dette ikke blot gjælder for den ovennævnte Art, men tillige for de andre Saccharomyces-Arter. En vigtig Støtte for denne Opfattelse ligger, som vi have hørt,

deri, at saavel enhver vegetativ Celle, som enhver Spore grundlægger en Vegetation, der ved den beskrevne Behandling bliver sporeløs.

Ogsaa naar vi underkaste Forsøgene paa Urtgelatine en lignende Undersøgelse som den ovenstaaende, se vi, at der i Cellernes Plasma er traadt en ny Kombination frem, og at Variationen ligeledes i dette Tilfælde beror paa en Omdannelse.

Om Betingelserne for Omdannelsen.

I de følgende Undersøgelser behandles først Forsøgene i Vædsker og derefter Forsøgene paa fast Næringsbund. Ved de førstnævnte have vi følgende Faktorer at lægge Mærke til: Den kemiske Sammensætning, de ved Rystningen fremkaldte Svingninger, Luftningen og Temperaturen. Vi skulle nu undersøge hver enkelt for sig.

Naar vi betragte de beskrevne Forsøg i Ølurt, faa vi strax det Indtryk, at det næppe kan være særlige Forhold i dens kemiske Sammensætning, der betinge Omdannelsen. Ølurt er nemlig en meget variabel Størrelse, ogsaa naar den tages fra det samme Bryggeri; men desuagtet indtraadte, som det erindres, Omdannelsen altid, og dette var ikke blot Tilfældet med de to Arter, hvormed Forsøgene i denne Afhandling fornemlig bleve anstillede, men med alle, som bleve prøvede.

Til Belysning af dette Spørgsmaal har jeg anstillet Forsøg med andre Vædsker end den foran nævnte; Fremgangsmaaden var forøvrigt den samme. Med Sacch. Pastorianus I bleve de dels udførte i destilleret Vand, dels i Opløsninger, bestaaende af Gjærvand, hvortil der i en Række var sat 10 % Saccharose, i en anden 10 % Dextrose og i en tredie 5—10 % Maltose. I de tre Sukkeropløsninger indtraadte Omdannelsen paa den samme Maade som i Urten, idet alle Cellerne i 7. Led vare blevne omdannede. I en Forsøgsrække med Vandet fandtes i 7. Led ingen omdannede Celler, i et andet lignende Forsøg derimod en enkelt sporeløs Celle. Jeg opfattede dette tidligere som Tegn paa, at der næppe fandt nogen Omdannelse Sted i Vandet; de nedenstaaende Forsøg med Johannisberg II vise, at dette i hvert Fald ikke gjælder for denne Art. Forsøgene med Johannisberg II bleve udførte dels i destilleret Vand, dels i en Opløsning af nedenstaaende Sammensætning:

Pepton	1 %
Maltose	5 %
Primært Kaliumfosfat	0,3 %
Magniumsulfat	0,5 %
Vand	93,2 %

Den Gjær, som blev anvendt til det sidstnævnte Forsøg, var avlet i den beskrevne Næringsvædske og derefter udvadsket med steriliseret Vand i Løbet af 4 Timer ved c. 5° C. Behandlingen fandt Sted ved 36° C. og var den samme i dette som i alle de tilsvarende Forsøg i Ølurt, der ere beskrevne ovenfor. Ved 8. Leds Slutning blev der foretaget en Spredning af Cellerne. Resultatet heraf var, at der paa dette Stadium fandtes nogle faa konstant sporeløse, men endnu i 15. Led var kun et ringe Antal af denne Kategori tilstede.

Med den samme Art blev der udført to Forsøg i destilleret Vand; forøvrig paa samme Maade som det foregaaende. I det ene blev Udvadskningen dog foretagen paa en endnu grundigere Maade, nemlig i Løbet af 3 Døgn med gjentagne Fornyelser af Vandet, og ved 2° C. Gjæren var i disse Forsøg avlet i Urtkultur. Efterat Behandlingen ved 36° var naaet til 4. Leds Slutning, fandtes nogle faa, som vare konstant omdannede, og i de højere Led forøgedes dette Antal, men i 15. Led var der dog fremdeles talrige sporegivende Celler tilstede.

Disse Undersøgelser vise altsaa, at Omdannelsen indtræder i Vædsker af meget forskjellig kemisk Sammensætning, ja, endog i destilleret Vand. En Vædske af bestemt Sammensætning fordres altsaa ikke. Den kemiske Sammensætning spiller kun en Rolle, forsaavidt som man i Vand og i andre Vædsker, der ere ugunstige for Ernæringen og Formeringen, kun faar et ringe Antal omdannede Celler, i Ølurt og i de foran nævnte Sukkeropløsninger i Gjærvand derimod et stort Antal.

Vi skulle derefter gaa over til at undersøge, om de Svingninger, hvori Vædsken bringes ved den Omrystning, der to Gange i Døgnet foretages for Luftningens Skyld, have nogen Indvirkning ved Omdannelsen eller ej. For at belyse dette Spørgsmaal anstillede jeg nogle Forsøgsrækker paa følgende Maade med Sacch. Pastorianus I ved 32° og med Johannisberg II ved 36° C. Efterat Gjæren var bleven sat til Kolberne med den sædvanlige Urt, bleve de henstillede ved de nævnte Temperaturer og stode her i Ro 1 Døgn, hvorpaa Vædsken blev hældt bort og en Gjennemsnitsprøve af Gjærbundfaldet overført i andre Kolber med Urt. Leddene bleve kort sagt dannede paa den samme Maade som i de sædvanlige Omdannelsesforsøg, kun bleve Gjærcellerne ikke udsatte for nogen Rystning. Omdannelsen indtraadte alligevel, og Resultatet blev altsaa, at Svingningerne ikke ere nødvendige. En indirekte Betydning have de imidlertid, idet de bevirke, at

Kulsyren fjærnes, at Cellerne bringes i Berøring med nye Næringsdele, og at Luft tilføres.

Vi skulle derefter undersøge de to Faktorer, Luftningen og Temperaturen.

Det første Spørgsmaal, som maa stilles angaaende Luftningen, er det, om den uden Medvirkning af den høje Temperatur kan fremkalde Omdannelsen. I den Anledning bleve de efterfølgende Forsøg udførte med de to Arter. I den første Række var Forsøgsanordningen ganske den samme som i de ovenfor beskrevne sædvanlige Omdannelsesforsøg i Ølurt, kun med den Forskjel, at Kolberne blive stillede ind ved 25° C. i Stedet for ved de høje Temperaturer. Uagtet Forsøgene bleve fortsatte gjennem talrige Led, og der fra flere af Leddene blev foretaget et meget stort Antal Analyser, viste der sig dog ikke Tegn til nogen Omdannelse; denne indtræder ikke under de angivne Forsøgsbetingelser. Det kunde jo imidlertid tænkes, at det vilde ske, naar Luftningen og Iltningen var kraftigere end i disse Forsøg. I den Anledning blev der med begge Arterne anstillet nye Forsøg, dels med Indblæsning af en jævn, men uafbrudt Luftstrøm ovenover Vædsken, dels ved Indblæsning af Luft i selve Vædsken. Den under Gjæringen dannede Kulsyre fik saaledes ikke Lejlighed til at ophobe sig. Luftningen var navnlig i det sidste Tilfælde meget stærk. Der blev endvidere anstillet lignende Forsøgsrækker med ren Ilt. I alle Tilfælde var der ved Filtre med Bomuld sørget for, at ingen Infektion kunde finde Sted. Analyserne bleve i nogle Tilfælde udførte med 10., i andre med 14. Led. Resultatet var, at der ej heller under disse Forsøgsbetingelser indtraadte nogen Omdannelse.

Med Sacch. Pastorianus I blev der endvidere anstillet en Forsøgsrække med Indblæsning af en Iltstrøm paa samme Maade som de foran beskrevne, men ved 32° C. Idet denne Temperatur anvendtes, maatte Spørgsmaalet stilles anderledes end i de foregaaende Tilfælde, nemlig om der under disse Omstændigheder vilde indtræde en hurtigere og kraftigere Omdannelse end ellers. Det viste sig, at dette ikke skete.

Disse Forsøg have altsaa alle godtgjort, at Luftning uden den høje Temperatur ligesaa lidt som de foran undersøgte Faktorer formaar at fremkalde Omdannelsen.

Naar vi nærmere betragte Forsøgene, se vi, at der forud for Omdannelsen gaar en Formering; vi erholdt det største Antal omdannede Celler under de Forsøgsbetingelser, ved hvilke den livligste Formering fandt Sted. En Sammenligning mellem Forsøgene i Vand og Forsøgene i Urt viser navnlig dette tydeligt. Det er

en længst fastslaaet Kjendsgjærning, at Luftningen spiller en vigtig Rolle med Hensyn til Formeringen, muligvis kan den tillige gribe direkte ind i Omdannelsens Virksomhed ved at ilte Cellernes Protoplasma. Af de p. 30 omtalte Forsøg ses, at Omdannelsen ligeledes indtraadte, naar Vædsken stod i Ro, altsaa naar Luftningen var mindre end i de sædvanlige Forsøg. Ogsaa i Urtkulturer med Johannisberg II, der ikke blot stode i Ro ved 36° C., men hvis Vædske ej heller blev fornyet, dannedes der efter faa Døgns Henstand nogle faa konstant sporeløse Celler. En særlig Luftning kræves altsaa ikke, men det er ikke sandsynligt, at Omdannelsen kunde foregaa, hvis Cellerne bleve fuldstændig afspærrede fra al Luft.

Til Belysning af Luftningens Virkning meddeles nedenstaaende Forsøg med den sidstnævnte Art. Udsæden var som sædvanlig en ung, kraftig Vegetation og Temperaturen 36° C. Der blev anvendt Urt, som kort i Forvejen var kogt for at uddrive Luften. En Kultur blev henstillet i Ro uden Rystning, en anden blev rystet to Gange om Dagen. Den førstnævnte benævnes Ro-Kulturen, den sidstnævnte Rystnings-Kulturen. Med et Døgns Mellemrum bleve de nye Led fremstillede; forøvrigt den samme Forsøgsanordning og de samme Methoder, som ovenfor ere beskrevne.

Saavel i 2. som i 3. Led, altsaa efter henholdsvis 2 og 3 Døgns Behandling ved den høje Temperatur, fandtes der, som det ses p. 33 og 34, et lidt større Antal omdannede Celler i Rystnings-Kulturen end i Ro-Kulturen; men denne Forskjel traadte tydeligere frem, efterat Kulturerne havde staaet tre Maaneder. En Regeneration havde da fundet Sted af nogle af de sporeløse Celler, og den var meget større i Ro-Kulturen end i Rystnings-Kulturen. I 2. Led var paa dette Tidspunkt Forholdet mellem de sporeløse Celler i de to Kulturer som $\frac{44}{30}$ og i 3. Led som $\frac{109}{64}$, idet Tællerne betegne Rystnings-Kulturernes og Nævnerne Ro-Kulturernes Indhold. I de Kulturer, i hvilke Luftningen var rigeligst, fandt altsaa ikke blot strax den største Omdannelse Sted, men den var tillige mere vedvarende end i Kulturerne med den ringe Luftning. Et andet Forsøg, som endnu tydeligere viser Luftningens Virkning, vil blive meddelt i min næste Afhandling om Variationen.

I det Foregaaende have vi hørt, at Omdannelsen af de to Arter ikke indtræder, naar Forsøgene anstilles ved almindelig Stuevarme eller ved 25° C., selv om ellers alle de andre Betingelser ere tilstede. Heraf følger altsaa, at den høje Temperatur under den angivne Forsøgsanordning er nødvendig. Naar vi overveje Resultaterne af Undersøgelserne, finde vi, at det er den væsentligste Faktor. Om dens Indvirkning paa Cellernes

Analyse af 2. Leds Rystnings-Kultur.

330 Kolonier fra Spredning paa Urtgelatine.

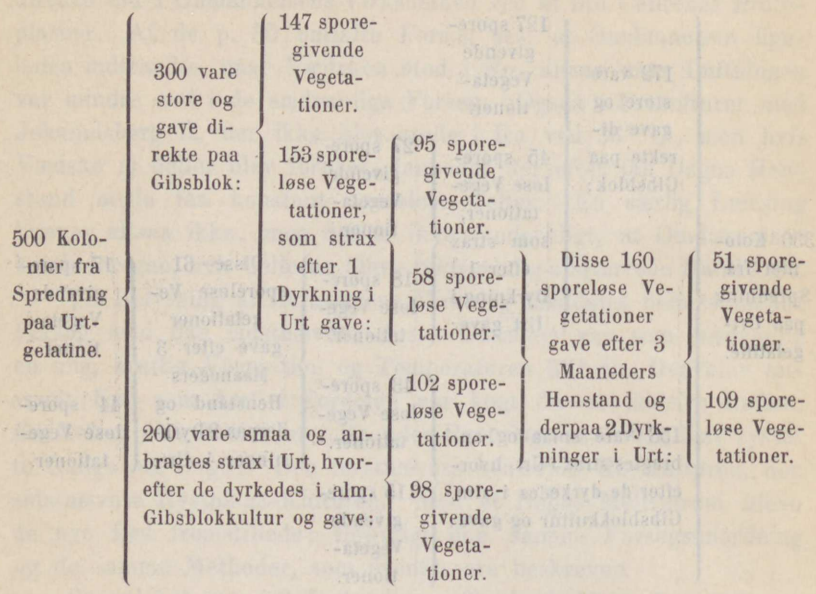
- 172 vare store og gave direkte paa Gibsblok:
  - 127 sporegivende Vegetationer.
  - 45 sporeløse Vegetationer, som strax efter 1 Dyrkning i Urt gave:
    - 27 sporegivende Vegetationer.
    - 18 sporeløse Vegetationer. Disse 61 sporeløse Vegetationer gave efter 3 Maaneders Henstand og derpaa 2 Dyrkninger i Urt:
      - 17 sporegivende Vegetationer.
      - 44 sporeløse Vegetationer.
- 158 vare smaa og anbragtes strax i Urt, hvorefter de dyrkedes i alm. Gibsblokkultur og gave:
  - 43 sporeløse Vegetationer.
  - 115 sporegivende Vegetationer.

Analyse af 2. Leds Ro-Kultur.

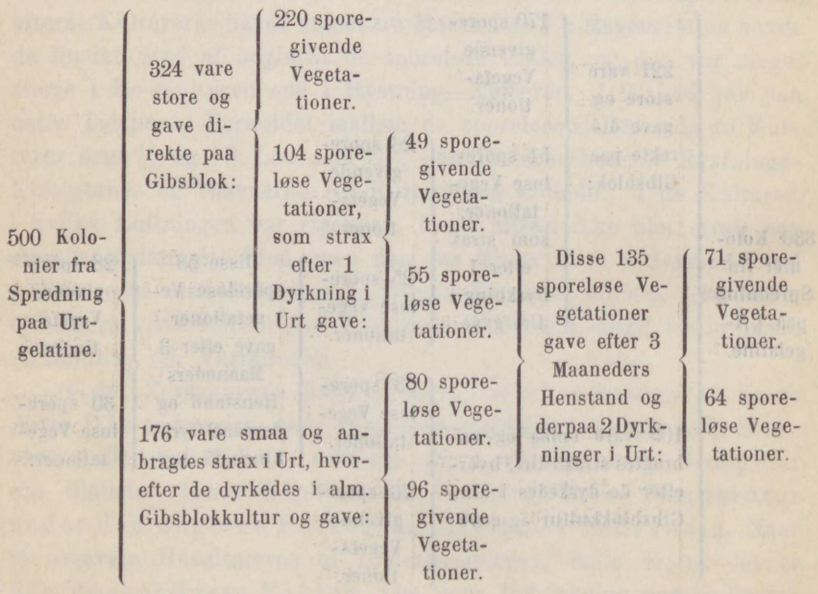
330 Kolonier fra Spredning paa Urtgelatine.

- 221 vare store og gave direkte paa Gibsblok:
  - 170 sporegivende Vegetationer.
  - 51 sporeløse Vegetationer, som strax efter 1 Dyrkning i Urt gave:
    - 26 sporegivende Vegetationer.
    - 25 sporeløse Vegetationer. Disse 58 sporeløse Vegetationer gave efter 3 Maaneders Henstand og derpaa 2 Dyrkninger i Urt:
      - 28 sporegivende Vegetationer.
      - 30 sporeløse Vegetationer.
- 109 vare smaa og anbragtes strax i Urt, hvorefter de dyrkedes i alm. Gibsblokkultur og gave:
  - 33 sporeløse Vegetationer.
  - 76 sporegivende Vegetationer.

Analyse af 3. Leds Rystnings-Kultur.



Analyse af 3. Leds Ro-Kultur.



Plasma vide vi dog ligesaa lidt som om de andre Faktorers. Her ligge nye Baner for Fremtidens Forskning.

Vi skulle derefter undersøge de Betingelser, som ere virksomme ved Omdannelsen paa fast Næringsbund. Af de p. 22 beskrevne Forsøg paa Urtgelatine se vi, at foreløbige Omdannelser optraadte hos alle de paa denne Maade prøvede Arter, men konstant sporeløse Varieteter kun hos nogle af dem. Omdannelsen viste sig i disse Forsøg under helt andre Omstændigheder end i Forsøgene i Vædsker; den fandt saavel Sted ved almindelig Stuevarme som ved 25° C.; den høje Temperatur var overflødig, og Næringssubstratet blev ikke fornyet. Det Sidste er et vigtigt Punkt for vor Undersøgelse. Til nærmere Belysning deraf anstillede jeg nedenstaaende Forsøg med Johannisberg II, hvis Udgangspunkt jo, som Analyserne have vist os, er klart. I den ene Række blev Næringssubstratet hyppigt fornyet, idet der med korte Mellemrum blev overført Celler fra den ene Gelatinekultur til den anden; i den anden Række fandt der ingen Fornyelse Sted. Under de førstnævnte Forhold iagttoges ingen Omdannelse; Formeringen var dog meget livlig, og Luftningen den samme som i Rækken uden Fornyelser. Efterat den sidstnævnte Rækkes Celler havde opholdt sig $1^1/_4$ Aar paa den samme Urtgelatine, var Omdannelsen indtraadt. Gelatinen var da ogsaa bleven opløst, et Tegn paa, at kemiske Forandringer ere indtraadte, som ikke vare tilstede i Forsøgets Begyndelse, og som ej heller findes i de Vegetationer, der med korte Mellemrum overføres paa ny Næringsgelatine, og heri maa vi da søge den væsentlige Betingelse for den Omdannelse, der viser sig i disse Forsøg. Temperaturen spiller kun forsaavidt en Rolle derved, som Omdannelsen indtræder langsommere ved almindelig Stuevarme end ved 25° C. Det er jo forøvrigt ikke noget usædvanligt i Biologien, at det samme Hovedresultat kan naas ad forskjellige Veje.

Nogle af de Arter, der bleve underkastede den beskrevne Behandling paa Næringsgelatinen, viste kun en flygtig Omdannelse; hertil hører Sacch. Pastorianus I. Den blev derimod i de p. 23 beskrevne Forsøg omdannet til en konstant spore- og hindeløs Varietet, naar Dyrkningen paa det faste Næringssubstrat blev foretagen med hyppige Fornyelser af dette og ved 32 og 34° C., i Stedet for ved de nævnte lave Temperaturer. Dette viser os, at den høje Temperatur ogsaa i Forsøgene paa fast Næringsbund kan træde frem som en væsentlig Faktor. Sandsynligvis vil man finde, at det Samme gjælder om andre Arter end den her nævnte.

September, 1900.

Hr. Prof. Dr. Steenberg
TEKNISK BIBLIOTEK
Overrakt fra Forf.

Emil Chr. Hansen: Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi. X. Om Variationen hos Saccharomyceterne.

Særtryk af »Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet«.
5te Bd. 1ste Hefte. Kjøbenhavn. 1900.

663.1 Sm. (Kons.)

Hr. Prof. Dr. S. M. Jørgensen.
Fra Emil Chr. Hansen.

Sonderabdruck aus „Wochenschrift für Brauerei". 1901. Nr. 26.

DEN POLYTEKNISKE LÆREANSTALT

Aus der Hefenforschung der neuesten Zeit.

Vortrag, gehalten am 23. Juni 1901 in Braunschweig auf der VI. Generalversammlung des Deutschen Braumeister- und Malzmeister-Bundes

von **Emil Chr. Hansen.**

Meine Herren! Wenn wir die Hefenforschung der letzten Jahre durchmustern, zieht die chemische im besonderen Maße unsere Aufmerksamkeit auf sich. Es sind hier deutsche Chemiker, welche die neue Aera eingeführt haben und noch immer an der Spitze gehen. Ich brauche Sie nur an die überaus wichtigen Untersuchungen über die Enzyme und die Zuckerarten von Emil Fischer und an seine stereochemische Beleuchtung der Alkoholgährungsvorgänge zu erinnern. In enger Verbindung hiermit steht Buchner's Entdeckung der Zymase, sowie eine ganze Reihe hervorragender Untersuchungen anderer Chemiker.

An dieser Stelle sind auch Lintner's Studien über die Selbstgährung der Hefe, sowie die Untersuchungen Prior's und seiner Schüler über das Diffusionsverhalten der Zuckerarten gegenüber der Hefezelle-Membrane zu erwähnen.

Während die erstgenannten Arbeiten rein chemischer Natur sind, gehören die letzteren zu der Physik der Gährung. Beide Richtungen entfernen sich von dem Gebiete, in welchem meine Forschung sich in der Regel bewegt, ein Gebiet, welches wir am besten als das biologische bezeichnen können.

Die biologische Untersuchung der Gährungsorganismen geht namentlich darauf aus, den Bau dieser mikroskopischen Lebewesen, ihre Entwickelungsformen, ihre gegenseitigen Kämpfe, wenn sie sich in demselben Nährboden befinden, ihren Kreislauf in der Natur, kurz, ihre Lebensverhältnisse und im Anschlusse hieran die Rolle, welche sie in den Gährungsgewerben spielen, zu studiren; einige von ihnen sind unsere Freunde, andere unsere Feinde.

Ich habe mir gedacht, daß Sie, meine Herren, indem Sie Ihre ge-

663.1
Sm (Konv)

fällige Einladung an mich ergehen ließen, wünschten, daß ich namentlich von einigen derjenigen Gegenstände sprechen sollte, welche meine eigene Forschung der Hauptsache nach betrifft. Ich komme dann jedenfalls auf etwas Selbsterlebtes zu sprechen, auf Studien, welche lange Jahre hindurch in der Einsamkeit des Laboratoriums meine Gedanken erfüllten.

Auch für diejenigen meiner Zuhörer, welche meine neuerlich publizirten Schriften gelesen haben, werde ich in der mündlichen Darstellung die Erscheinungen hoffentlich in lebhafterer Weise erörtern können, als dies in einer wissenschaftlichen Abhandlung möglich ist. Hier und da werde ich Ihnen zugleich die Resultate neuer, noch nicht publizirter Untersuchungen mittheilen können. —

Als erstes Thema nehme ich die Variation.

Untersuchungen hierüber sind nicht allein für die wissenschaftlichen, sondern auch für die praktischen Biologen, und dazu rechne ich die Brauer, von großem Interesse.

Es ist allgemein bekannt, welche wichtige Rolle die Variation in der Hausthierzucht, im Gartenbau und in der Landwirthschaft spielt. Für die Brauer sind es in der letztgenannten Beziehung die verschiedenen Gersten- und Hopfenvarietäten, welche in Betracht kommen. Aber die wichtigste Kulturpflanze der Brauerei ist doch der Bierhefepilz. Nachdem die Reinzucht eingeführt wurde, haben wir gelernt, daß es von Kulturhefe eine sehr große Menge Rassen und Varietäten giebt. Die Hefezelle ist gleichwie alle belebten Wesen der Variation unterworfen. Wenn wir mit lebendigen Wesen arbeiten, müssen wir stets die Variation mit berechnen. Zwei Samenkörner derselben Pflanze, welche ganz gleich aussehen, geben dennoch etwas verschiedene Resultate. Nehmen wir z. B. zwei Körner von einer und derselben Gerstenpflanze und säen sie auf demselben Acker aus, so bekommen wir doch nicht zwei ganz gleichartige Pflanzen, sondern es kommen in verschiedener Hinsicht Unterschiede zum Vorschein.

Alle Theile der Pflanze, alle ihre Funktionen sind der Variation unterworfen. Und, wie gesagt wurde, gilt dies von der Hefezelle ebensowohl wie von den höheren Pflanzen, aber in Wirklichkeit nicht in höherem, wohl vielmehr in geringerem Grade. Es fehlt nämlich hier eine Quelle der Variation, indem keine Befruchtung, mithin auch keine Kreuzung zweier Individuen stattfindet. Für uns, die wir diese Pflanzen in regelmäßigen Dienst zu nehmen und sie nach unseren bestimmten Zwecken auszunutzen wünschen, ist die Frage, ob die Variation uns daran verhindern wird, ob wir mit der Hefezelle einen sicheren Betrieb erzielen können oder nicht. Die durch mehrere Jahre in der Praxis gemachten Versuche haben uns zur Evidenz gezeigt, daß dies sich mit Sicherheit thun läßt.

Mit der gleichen Sicherheit, mit welcher der Ackerbauer mit bestimmten Arten und Varietäten der höheren Pflanzen, mit Gerste und Hopfen, arbeiten kann, können wir auch dies in den Gährungsgewerben mit Reinkulturen ausgewählter Hefepilze thun.

Die Variation ist die eine von den beiden großen Hauptmächten, deren Herrschaft alle belebten Wesen unterworfen sind; sie ist es, die die Umbildungen bewirkt und das Ganze mehr oder weniger in Fluß bringt. Die zweite jener Mächte ist konservativer Art, wir nennen sie Erblichkeit; sie geht darauf aus, das Bestehende zu wiederholen, zu festigen und zu bewahren, und sie sträubt sich, das durch die Variation hervorgebrachte Neue aufzunehmen; dann und wann wird sie jedoch dazu genöthigt. Ohne diese konservative Macht würden die wesentlichen Merkmale der Arten schnell verwischt werden.

Wenn eine Varietät hervortritt, kann sie theils auf inneren, der Zelle selbst von der Vorzeit her innewohnenden Faktoren, theils auf der Einwirkung neuer, äußerer Faktoren beruhen. Die einzelne Zelle ist, wie der ganze Organismus, ein Produkt der beiden Kategorien; sie ist durch die gegenwärtige Umgebung und durch die Vorfahren, d. h. durch eine verwickelte Geschichte, welche sich sehr weit zurück erstreckt, bestimmt. Dies gilt ebensowohl von den niedrigsten als von den höchsten Geschöpfen, den Menschen mitgerechnet, als auch von der geistigen Welt. Einem jeden Organismus wurde von seinen Vorfahren sein eigenthümliches Gepräge aufgedrückt; er hat die vorhergehende Reihe von Vorgängern beerbt. Dies ist, was ich das Geschichtliche, das Resultat der inneren Faktoren nannte; es braucht aber nicht in jedem Falle zum Vorschein zu kommen, sondern kann durch mehrere Glieder verborgen liegen, um dann plötzlich an den Tag zu treten. Die äußeren Faktoren bringen neue Richtungen der Variation hervor, durch welche die Entwickelung in neue Bahnen gelenkt wird; die andere große Hauptmacht, welche wir Erblichkeit nannten, hält an dem Geschichtlichen fest und sorgt dafür, daß die Entwickelung nicht zu rasch geht. Hier wie überall in der Natur ist eine Regulation thätig.

Sie werden leichter verstehen, was ich bezüglich meiner Versuche mitzutheilen habe, wenn ich im voraus Sie mit ein paar Worten an die Hauptzüge des Baues und der Lebensgeschichte des Hefepilzes erinnere. Die Hefepilze können, wie Sie wissen, als einzellige Pflanze auftreten. Wir unterscheiden hier zwischen der Wand und dem Inhalt; die Hauptmasse des letzteren nennen wir Protoplasma oder einfach Plasma. Wenn der Bierhefepilz sich in Bierwürze oder in einer anderen zuckerhaltigen Nährflüssigkeit befindet, vermehrt er sich durch Sporenbildung. Unter solchen günstigen Verhältnissen werden dann Generationen von mehr oder minder ovalen Zellen gebildet, und er tritt als Gährungsform auf, indem er den Zucker in Alkohol, Kohlensäure und einige Nebenprodukte spaltet. Wir richten es in der Brauerei so ein, daß es ihm nicht gestattet wird, irgend eine andere Arbeit zu thun. Wenn wir aber das Bier bei einer nicht zu niedrigen Temperatur stehen ließen, und zwar so, daß den Zellen reichlicher Zutritt zur Luft gelassen wurde, so würden sie ihre Vermehrung fortsetzen. Von der Gährungsform und Flüssigkeitsform würden sie sich allmählich zur Luftform entwickeln und als solche sich zuletzt über die Oberfläche des Bieres

als eine schleimige Haut verbreiten. In diesem Zustande, d. h. als Luft- und Hautform, nehmen sie eine Oxydation des vorher von ihnen gebildeten Alkohols vor, welcher so nach und nach verschwindet. Gleichzeitig verändert sich indessen die Gestalt der Zellen: es entstehen allmählich Kolonien langgestreckter Zellen, oft zu fadenförmigen Ketten verbunden, und bisweilen verzweigte Zellen. Die eingetretene Veränderung der physiologischen Thätigkeit wird kurz gesagt von großen Veränderungen in der Form der Zelle begleitet.

Im Vorhergehenden war nur die Rede von den alten Hautbildungen bei Zimmertemperatur; stellen wir aber unsere Kulturen bei anderen Temperaturen hin, wird die Form der Zellen auch eine andere; die Temperatur ist überhaupt ein wichtiger formbildender Faktor.

In vorstehenden Fällen geht die Vermehrung jedoch auf eine und dieselbe Weise vor sich, nämlich durch Sproßbildung.

Eine andere Vermehrungsweise der Hefezelle ist, wie Sie schon wissen, die Sporenbildung. Das Plasma der Zelle formt sich dann in 1—4 Sporen aus. Wenn die Sporen keimen, werden sie zu Hefezellen und vermehren sich durch Sproßbildung. Die Spore besitzt ebenso wie die gewöhnliche Hefezelle ein ganz sonderbares Vermögen, ihre Form und Natur zu verändern; sie geht mit der größten Leichtigkeit von einer morphologischen Kategorie zur andern über. Bringen wir eine Spore in eine gute Nährflüssigkeit, z. B. Bierwürze, so schwillt sie an, und wenn wir sie hier bleiben lassen, fängt sie an, Sprossen zu treiben; sie wird also zur Hefezelle. Es bilden sich Generationen von Hefezellen und endlich, falls genügende Luft und passende Temperatur vorhanden sind, nach und nach auch Sporen in einigen dieser Zellen. Nehmen wir aber sofort die geschwollene Spore aus der zuckerhaltigen Nährflüssigkeit und bringen sie in eine wässerige Lösung von schwefelsaurem Calcium, so unterbleibt die Sproßbildung, und sie bildet Sporen in ihrem Innern; die Spore selbst ist zu einer Sporenmutterzelle geworden.

Als ich vor ein paar Jahren die Ansicht äußerte, daß es sich so ergeben würde, wie ich es hier beschrieben habe, wurde diese Idee von mehreren als ein Paradoxon aufgefaßt; nunmehr ist es mir gelungen, durch exakte Experimente den sicheren Beweis zu erbringen. Sehr eigenthümlich ist ja auch in der That das Ueberspringen von allen Zwischengliedern. Bei den Pilzen kennen wir bisher kein zweites Beispiel davon. Sonst sind wir gewöhnt, daß die Spore ebenso wie der Same zuerst eine Reihe von vegetativen Gliedern entwickelt und erst danach die Früchte bildet.

Einige der Variationen sind vorübergehender, andere konstanter Natur. Die beschriebene Variation in der Form der Zelle gehört zu den vorübergehenden. Sie läßt sich nicht derart festigen, daß sie sich bei verschiedenartigen Züchtungen von Generation zu Generation hielte. Eine langgestreckte Zelle aus der Haut kann wohl, wenn wir sie isoliren, eine Vege-

tation entwickeln, in welcher die langgestreckten Zellen hervortreten; aber nach einigen Züchtungen kehren sie nach und nach zum Normalen zurück. Wir können die Aenderungen der Form nach Belieben hervorrufen; aber, wie gesagt, festhalten können wir sie nicht.

Bei Versuchen über die Sporenbildung ist es gelungen, tiefer hineinzudringen. Schon zu Anfang der achtziger Jahre, als ich meine ersten reinen Kulturen von Carlsberger Unterhefe dargestellt hatte, wurde ich auf die Thatsache aufmerksam, daß dieser Hefepilz eine sehr lange Zeit durch zahllose Generationen als sporenlose Form auftreten konnte, und daß dann zuweilen plötzlich eine Vegetation entstehen konnte, in welcher einige wenige sporenbildende Zellen sich befanden. Ueber die Ursache dieser Bewegungen hin und her hatte ich damals nur dunkle Vermuthungen. Später gelang es mir, das Verhältniß der Asporogenität unter das Experiment zu bringen und die wirksamen Faktoren zu ermitteln.

Bei meinen Untersuchungen über die Funktionen der Sproßbildung und Sporenbildung fand ich, daß das Temperaturmaximum der Sprossung einige Grade höher liegt als das der Sporenbildung, und daß dies ein Gesetz ist, welchem allgemeine Gültigkeit für alle Saccharomyceten zukommt.

Wenn wir eine Sporenzüchtung vornehmen wollen, gehen wir von einer Vegetation aus, welche bei einer mehrere Grad unter dem Temperaturmaximum der Sporenbildung liegenden Temperatur gezüchtet wurde. Bei den jetzt zu besprechenden Versuchen wurde ich von der Idee geleitet, daß diejenigen Zellen, welche bei einer über dieser Grenze liegenden Temperatur gezüchtet waren, also zwischen dem Temperaturmaximum der Sprossung und dem Temperaturmaximum der Sporenbildung, sich in einer besonderen Weise verhalten müßten. Es stellte sich denn auch heraus, daß bei einer solchen Züchtung eine Vegetation hervorkam, welche nur eine geringe Sporenentwicklung gab, aber unter günstigen Verhältnissen leicht zum Normalen zurückkehrte. Indem ich nun diese Züchtung durch eine Reihe von Kulturen weiter fortsetzte, wobei eine aus der anderer infizirt wurde, erhielt ich zuletzt eine konstante sporenlose Varietät, welche nicht zurückkehrte

Das vollständige Aufgeben der Sporenbildung war von dem Verlust der Hautbildung und somit auch von der Einbuße der Fähigkeit zur Oxydationsgährung begleitet; zum Ersatz war aber das vegetative Vermehrungsvermögen der Zellen, jedenfalls in den bisher untersuchten Fällen, verstärkt worden.

Bei der erwähnten Behandlung wird die Gährungsfähigkeit der Zellen abgeschwächt. Umgekehrt haben wir es auch in unserer Gewalt, sie zu vermehren; dieses geschieht z. B. durch Züchten einer langen Reihe von Generationen auf Würzegelatine. Diese Versuche erhalten dadurch ihre praktische Bedeutung, daß sie uns den Weg eröffnen, vermittelst eines bestimmten Verfahrens uns neue, den Gährungsgewerben nützliche Rassen zu bilden.

In der Litteratur wurde zumeist der Auffassung Ausdruck gegeben, daß die Entstehung der sporenlosen Form nur auf einem Auswählen beruhe. Man hat gemeint, daß in der Vegetation, mit welcher ich meine Experimente anstellte, irgend eine oder mehrere Zellen vorhanden wären, welche bereits zu Anfang des Versuches sporenlos wären, und daß ihre Abkömmlinge es seien, die während der Behandlung bei der hohen Temperatur sich nach und nach verbreitet und die normalen sporengebenden Genossen zurückgedrängt hätten.

Kurz, wir stehen hier der fundamentalen Frage gegenüber, ob bei den beschriebenen Experimenten unter der Einwirkung der äußeren Faktoren eine Umbildung oder nur eine Begünstigung, ein Auswählen des vorher Vorhandenen stattgefunden hat. Als Ergebniß meiner hierauf bezüglichen Untersuchungen hat sich herausgestellt, daß hier wirklich eine Umbildung vor sich geht. Es ist eine neue Kombination im Plasma hervorgerufen worden. Die äußeren Faktoren, welche die Umbildung in Gang bringen, sind die hohe Temperatur und die Lüftung.

Ich werde Sie hier nicht durch Beschreibung von Einzelheiten aufhalten. Diejenigen meiner Zuhörer, welche sich dafür interessiren, werden sich damit in der Abhandlung, welche ich vor Kurzem veröffentlicht habe, bekannt machen können.

Das gefundene Gesetz gilt für alle echten Saccharomyceten. Die Umbildung tritt immer ein, wenn die beschriebene Methode angewendet wird. Es hat sich ferner ergeben, daß wir hier einer konstanten Umbildung gegenüberstehen. Nicht allein die Variation, sondern auch die andere große Hauptmacht, die Erblichkeit, ist dabei thätig gewesen. Die ältesten meiner sporenlosen Varietäten sind jetzt über 12 Jahre alt. Es ist seit dieser Zeit eine unendliche Anzahl Generationen gezüchtet worden, und die Zellen sind den verschiedensten Züchtungsverhältnissen unterworfen worden, haben sich aber trotzdem vollkommen konstant gehalten; es ist nicht möglich gewesen, sie auch nur einen einzigen Schritt nach dem Ausgangspunkt hin zurückzuführen; sie sind vollständig fest geworden.

Ueber die Variation der Hefe in der Brauerei selbst habe ich in meiner Abhandlung einige Mittheilungen gegeben. Auf diesem Gebiete ist Alles noch sehr dunkel.

Ich habe die sporenlose Varietät besonders hervorgehoben, weil wir hier der am tiefsten gehenden Umbildung gegenüberstehen, und zwar der einzigen, bei welcher es gelungen ist, die wirksamen Faktoren zu ermitteln. Eine solche Umwandlung eines lebendigen Wesens ist in der That eine der merkwürdigsten Erscheinungen, welchen wir begegnen können, und es liegt ein besonderer Reiz darin, diese Bewegung in Gang zu setzen und sie an das bestimmte Endziel leiten zu können. —

Ich gehe danach zu dem zweiten Thema meines Vortrages über, nämlich die Untersuchungen über die Lebensgrenze der Hefepilze. Seit einigen Jahren beschäftigt sich die Forschung vielfach mit bezüglichen Versuchen

sowie mit der Ausarbeitung von Methoden zur Aufbewahrung der Zellen in lebendem Zustande. Was diese Methoden anlangt, sind hier zwei Hauptpunkte zu bemerken. Einerseits wünschen wir, daß die Zellen ihr Leben lange Zeit bewahren sollen, und andererseits, daß sie bei der Aufbewahrung sich möglichst wenig verändern. Wir wünschen bei unseren praktischen Versuchen, daß die Zellen die guten Eigenschaften, von welchen sie zu Anfang im Besitze waren, festhalten sollen, so daß sie, wenn sie aufs Neue in den Betrieb eingeführt werden, schnell Vegetationen bilden, welche auf die gewünschte Weise arbeiten. Lassen wir dieselben in Würze oder in einer anderen Nährflüssigkeit stehen, werden die Zellen ein und derselben Art in einigen Fällen sich mehrere Jahre hindurch lebend erhalten,[1]) in anderen schnell absterben, oft im Laufe eines halben Jahres. Kurz, es zeigt sich hier eine große Unregelmäßigkeit, und man hat keinen Anhaltepunkt. Flüssigkeiten wie Bier und Wein eignen sich daher nicht für unsere Zwecke.

Ganz anders verhält es sich, wenn wir zur Aufbewahrung eine 10prozentige Rohrzucker-Lösung anwenden; in dieser sterben nur sehr wenige Arten im Laufe von ein paar Jahren ab. Die Lebensgrenze liegt unter diesen Umständen für die allermeisten Arten weit entfernt; man fühlt sich sogar zu der Annahme versucht, daß sie in dieser Flüssigkeit die Unsterblichkeit erreichen können; die Arten, welche ich vor 20 Jahren darin anbrachte, sind noch heute am Leben. Das Material, mit welchem ich meine Untersuchungen begann, wird sich, wie ich annehmen möchte, in dieser Weise auf einen späten Nachfolger forterben und so vielleicht nach 100 Jahren oder noch später den Gegenstand nochmaliger Untersuchung bilden können.

Aber auch in anderer Beziehung ist dieses Aufbewahrungsverfahren ein vorzügliches; es findet nämlich hier nur eine geringe Vermehrung statt, und in der Regel erfahren die so aufbewahrten Arten nur eine schnell vorübergehende Variation, so daß sie nach Züchtung in Würze in den Brauereien die Arbeit in der gewünschten Weise fortsetzen. Nach dieser Methode werden daher gewöhnlich die zahlreichen Hefenarten, von welchen heutigen Tags ein jedes gährungstechnisches Laboratorium im Besitze ist, aufbewahrt. Wenn Sie ein solches Laboratorium besuchen, werden Sie oft Hunderte von kleinen Kölbchen mit Rohrzuckerlösung und einer Spur von Hefe sehen, jedes mit seinem Inhaltzettel versehen. Wir haben auch nunmehr in dieser Weise diese kleinen Lebewesen in unsere Gewalt bekommen, sie in Reih' und Glied aufgestellt wie Soldaten, welche jeden Augenblick bereit stehen, unserem Befehl zu gehorchen.

Die Saccharose-Methode ist, wie gesagt, die allgemein angewandte und die beste, die wir zur Zeit kennen. Weil aber auch unter diesen Verhält-

---

1) Wie bekannt, fand Wortmann in Weinen, welche bis 30 Jahre lang in den in dieser Zeit niemals geöffneten Flaschen gelegen hatten, noch immer lebende Hefen. Reinke's Untersuchung der 33 Jahre alten Flasche Dortmunder Adam-Bier ergab dasselbe Resultat.

nissen eine Vermehrung, obzwar eine sehr geringe, eintritt, können einige der Arten und Rassen eine vorläufige Variation in nicht gewünschter Richtung dadurch erleiden. In solchen Ausnahmefällen liegt also ein Grund vor, uns nach einem anderen Verfahren umzusehen, und zwar einem solchen, bei welchem der augenblickliche Zustand der Zellen sofort festgehalten wird. Dieses geschieht durch ein schnelles Eintrocknen. Ein leichtes Verfahren hierzu ist, ein Platindrahtstück in die betreffende Hefe einzutauchen und es dann mit den anhängenden wenigen Zellen in ein sterilisirtes Kölbchen mit Baumwollenverschluß zu bringen. Die Hefezellen trocknen unter diesen Umständen so rasch ein, daß ihnen zu gar keiner Vermehrung Zeit gelassen wird. Insoweit ist alles in Ordnung und das Verfahren ein vorzügliches; es haftet demselben jedoch der Mißstand an, daß die auf diese Weise eingetrockneten Zellen in kurzer Zeit absterben. Bei den Prüfungen, welche ich mit Bierhefezellen machte, hielten sie sich nicht einmal einen Monat am Leben, und hiermit verliert also dieses Verfahren allen praktischen Werth. Bringen wir dagegen dicke Schichten der Hefe in unsere Eintrocknungskolben, so bewahren die Zellen das Leben längere Zeit hindurch. Ich habe durch mehrere Jahre nach dieser Richtung hin Versuche gemacht und dabei gefunden, daß Kolben mit ein wenig Baumwolle auf dem Boden sich hierzu vorzüglich eignen. Dieselben müssen derart verschlossen sein, daß die Reinkultur bewahrt werden und die Verdunstung mit Schnelligkeit vor sich gehen kann. Wenn man in diese Kolben mit Baumwolle 1—2 ccm dickflüssiger Hefe bringt und sie bei der Temperatur des Zimmers stehen läßt, werden die Zellen sich über ein Jahr lebend erhalten; einige Arten starben nach $1^1/_2$ Jahren ab, andere hielten sich noch nach 3 Jahren lebend; aber keine erreichte eine 4jährige Lebensdauer. Dieses Verfahren hat also gute Resultate gegeben, namentlich zur weiteren Versendung von kleinen Proben absoluter Reinkulturen. In dieser Weise haben auch viele Brauereien in den Tropen ausgewählte Rassen von Europa bekommen. Es haftet diesem Verfahren jedoch der Mangel an, daß wegen der Flüssigkeit, welche die ziemlich reichliche Hefemenge mit sich bringt, anfangs eine schwache Sproßbildung, ja oft sogar eine Sporenbildung stattfinden kann. Um die Vermehrung ganz und gar auszuschließen, muß daher in den ersten Stadien das Eintrocknen mit größerer Schnelligkeit vor sich gehen. Bei einigen, noch nicht ganz zum Abschluß gebrachten Versuchen mit der Carlsberger Unterhefe Nr. 1 habe ich in dieser Hinsicht gute Resultate erzielt; bei einer Reihe wurden die beschriebenen Kölbchen in einen Vakuum-Exsikkator mit ziemlich stark verdünnter Luft gestellt; bei einer anderen Reihe wurde der Hefetropfen unter Einwirkung eines trockenen Luftstromes getrocknet, theils bei gewöhnlicher Zimmertemperatur, theils bei niedriger Temperatur.

Es ist eine alte Erfahrung in den Brauereien, daß die Hefe sich gut hält, wenn sie in gepreßtem und theilweise getrocknetem Zustande in zugelötheten blechernen Dosen bei niedriger Temperatur aufbewahrt wird. Auch

wird dieses Verfahren wohl seit mehr als 100 Jahren zum Versand von einer Brauerei an die andere verwendet, namentlich bei großen Entfernungen. Laut des alten Brauereischriftstellers Paupie kannte man schon im Jahre 1771 ein gutes Verfahren zur Aufbewahrung der Hefe in getrocknetem Zustande; man mischte nämlich Asche in dieselbe und entfernte mittelst einer Serviette möglichst viel von der Flüssigkeit. In der ersten Ausgabe von Balling's „Gährungschemie", 1845, wird namentlich empfohlen, die Hefe mit pulverisirten Holz- oder Steinkohlen zu mischen. Nachdem diese Masse an der Luft gut getrocknet und danach an einer trockenen Stelle aufbewahrt worden war, fand Balling, daß die Hefe unter diesen Umständen sich mehr als ein Jahr in gutem Zustande hielt.

In neuerer Zeit haben namentlich Reinke und Will solche Brauerei-Versuche angestellt. Beide waschen die Hefe gründlich aus und pressen sie gut, und beide lassen sie in zugelötheten Blechgefäßen an einer kalten Stelle stehen. — Nach Reinke's Verfahren wird die Hefe in einem hermetisch verschließbaren Metallkasten in einem starken erkalteten, durch konzentrirte Schwefelsäure entwässerten und sterilisirten Luftstrome getrocknet, worauf sie mit gebranntem Gips umgeben und in ein Blechgefäß gebracht wird. — Will empfiehlt, die Hefe mit Holzkohlen[9] zu mischen und das Trocknen möglichst schnell auf den Darren unter Luftzug bei Temperaturen zwischen 25 und 48° C. zu bewerkstelligen, indem bei den niedrigen Temperaturen begonnen und bei den hohen fortgesetzt wird.

[9] v. d. Holzschliff

Bei beiden Verfahren hielt sich die Hefe gut, selbst bei sehr weitem Transport. Nach 11 Jahren war bei den Will'schen Versuchen die Kulturhefe meistens noch am Leben, und durch Herstellung einer Reinkultur davon zeigte er, daß sie in einer Untergährungsbrauerei ein tadelloses Produkt gab. Drei Jahre später waren nur wenige lebende Zellen noch übrig, und dieselben gehörten sämmtlich wilden Hefenarten zu. Bei diesen Versuchen, welche rein praktische Zwecke verfolgten, wurde nicht mit Reinkulturen, sondern mit gewöhnlicher Bierhefe gearbeitet.

Bei der Behandlung, welche diese Aufbewahrungsverfahren erfordern, wird die Hefe, selbst wenn man mit einer Reinkultur beginnt, immer etwas verunreinigt werden; dies ist geradezu unvermeidlich. Um die große Hefemasse, von welcher hier die Rede ist, genügend trocken zu bekommen, muß man sie nämlich in Portionen pressen und trocknen und zuletzt das Ganze wieder auch portionenweise im Behälter zusammenkneten. Wenn es sich also darum handelt, die Reinkultur frei von jeder Infektion aufzubewahren, muß man sich nach einem anderen Verfahren umsehen; dies ist es, was ich bei meinen oben besprochenen Versuchen gethan habe.

Ueber die Ursache, warum die Zellen in den dicken Schichten das Leben viel länger bewahren als diejenigen der dünnen Schichten, wissen wir nichts Sicheres. Die Möglichkeit läßt sich denken, daß die Zellen der dicken Hefeschichten dadurch, daß sie zusammengeklebt werden und in innige Verbindung mit einander treten, gleichsam ein zu-

sammenhängendes Zellengewebe bilden, und daß hierdurch eine besondere Art von Stoffwechsel stattfindet, und daß letzterer es ist, der das lange Leben bedingt.

Bei den beschriebenen Aufbewahrungsverfahren versetzen wir die Zelle gleichsam in einen halbtodten Zustand, in welchem der Stoffwechsel, welcher ja immer vor sich gehen muß, wenn das Leben bewahrt werden soll, so gering ist, daß wir ihn nicht bemerken können. Worin dieser Zustand auf der Grenzscheide zwischen Leben und Tod eigentlich besteht, wissen wir nicht. Eine gewisse Austrocknung kann denselben hervorrufen, ebenso gewisse chemische Faktoren, hohe und niedrige Temperatur. Aus Brauereiversuchen ist allgemein bekannt, daß die Hefezellen ihr Leben Monate lang bewahren können, wenn sie in Eis eingefroren liegen. Hier hat selbstverständlich jede Vermehrung aufgehört. Wenn dieses Verfahren nicht besondere Schwierigkeiten darböte, wenn es sich um lange dauernde Aufbewahrung handelt, würde es unzweifelhaft das beste von allen bekannten sein.

Wir haben bisher nur von den vegetativen Zellen, oder, wie wir sie gewöhnlich nennen, von den Hefezellen gesprochen. Die Sporen bewahren im eingetrockneten Zustande das Leben viel länger als jene. Während beispielsweise die Hefezellen einer Bierhefe in dünner Schicht auf Platindrahtstück in weniger als 30 Tagen abstarben, blieben dagegen die Sporen unter den gleichen Verhältnissen mehr als ein Jahr am Leben. Aufbewahrung durch Eintrocknen der Sporen giebt überhaupt keine Schwierigkeiten. Was die Anwendung in der Brauerei anlangt, darf ich behaupten, daß es jedenfalls Fälle giebt, in welchen man sogar ein besseres Resultat erzielt, wenn man gerade von der eingetrockneten Spore, als wenn man, wie dies gewöhnlich geschieht, von der vegetativen Hefezelle ausgeht. Es ist dies ein Gedanke, welcher im praktischen Brauwesen weiter verfolgt werden sollte; auch werden hoffentlich von Seiten des Carlsberger Laboratoriums weitere Beiträge dazu geliefert werden.

In der freien Natur bildet die Erde den großen Aufbewahrungsort für die Hefepilze, wenn sie sich nicht an ihren Zuchtherden, den süßen, saftigen Früchten, befinden. In der Erde bringen sie Monate, bisweilen ganze Jahre als Sporen zu. Hauptsächlich im Sporenzustande führen sie das Leben von einer Fruchtzeit zur andern. Als Sporen kommen die Weinhefepilze gewöhnlich zuerst in Berührung mit dem Saft der reifen Weinbeeren; und wenn in die offenen Kühlschiffe der Brauereien Staubwolken hineindringen und eine Ansteckung durch wilde Hefezellen bewirken, befinden sich die letzteren auch in den meisten Fällen im Sporenstadium. —

Das letzte Thema, welchen ich zu besprechen wünsche, schließt sich gewissermaßen dem vorhergehenden an. Es handelt von Versuchen, welche betreffs der Verwerthung der Abfallhefe in der neuesten Zeit angestellt wurden. Diese Bestrebungen haben mit Recht die Aufmerksamkeit auf sich gezogen und müssen deshalb auch hier erwähnt werden, obgleich sie sonst eigentlich außerhalb des Rahmens dieses Vortrages liegen. Mehr und mehr

kommt man dazu, Hefe als konzentrirtes Futtermittel in den Stallungen für Schweine und Rinder zu verwenden. In einigen Brennereien wird ein Hefeextrakt anstatt des Getreidezusatzes angewendet. Man hat auch begonnen, verschiedene Präparate daraus darzustellen, welche, wie es scheint, die Konkurrenz mit der beliebtesten Bouillon und auch anderen Fleischpräparaten werden aufnehmen können. Am bekanntesten sind wohl die Präparate von Aubry in München und von Wahl und Henius in Chicago. Letzteres hat bereits den Weg nach Kopenhagen gefunden. Mehrere andere Forscher haben sich auf hierauf bezügliche Versuche gelegt und Patente gelöst. Sie haben in der mit unserer Versammlung in Verbindung gesetzten Ausstellung die instruktiven Präparaten von Prof. Reinke gesehen, darunter auch Hefeextrakt-Präparate und Zwischenprodukte nach Dormeyer-Rückforth in Stettin und Ovos-Präparate von einer Berliner Fabrik. Laut der neuesten Mittheilungen aus dem österreichischen Patentamte hat man auch damit angefangen, die Abfallhefe zur Darstellung eines Kaffeesurrogates zu benutzen, indem man die gereinigte und getrocknete Bierhefe mit einer kleinen Zuthat von gemahlenem Kaffee versetzt und hierauf röstet oder ohne einen derartigen Zusatz in einem Strome von Kaffeeröstrauch röstet. Auch in der Seifenfabrikation wird die Abfallhefe verwendet. Von den in Anwendung gebrachten Methoden liegen bis jetzt nur ganz unvollständige Mittheilungen vor, und ich werde deshalb nicht länger dabei verweilen. Eine große ökonomische Bedeutung für das Brauwesen hat diese Bewegung jedenfalls. Auch in der Heilkunde wird man künftig voraussichtlich einen reichlicheren Gebrauch von der Hefe machen als bisher. Seit langer Zeit verwendet man mit größerem oder geringerem Glück die Hefe gegen Krankheiten im Magendarmkanal, besonders gegen Verstopfung. In arzeneiwissenschaftlichen Fachzeitungen wird sie auch als Mittel gegen Diphtherie, Pneumonie und andere Krankheiten erwähnt. Inwieweit diese medizinischen Versuche zu sicheren Resultaten führen werden, läßt sich noch nicht entscheiden.

Ich bin hiermit mit meinem Vortrage zu Ende gekommen. Werfen wir einen Blick zurück, so sehen wir, wie die Hefezelle in den letzten paar Jahren von verschiedenen Seiten her untersucht wurde, in chemischer, physikalischer und biologischer Beziehung, und zwar von wissenschaftlich-theoretischen als auch von rein praktischen Gesichtspunkten aus.

Wir haben hier nur auf einzelne Punkte unser Augenmerk gerichtet. Wenn ich Alles hätte mitnehmen sollen, was in irgend einer Beziehung für das Brauwesen von Interesse sein könnte — wenngleich nur aus den letzten drei Jahren, welche der Vortrag umfaßt —, so hätte ich Ihre Geduld auf mehrere Stunden in Anspruch nehmen müssen. Es wird auf diesem Gebiete von zahlreichen Forschern und mit großem Eifer gearbeitet; auch giebt es wohl kaum eine andere Abtheilung des Pflanzenreiches, welche eine so große Litteratur aufweisen kann wie die Hefepilze. Der Grund hierzu liegt nicht allein in den wichtigen wissenschaftlichen Problemen, welche sich an diese

mikroskopischen Lebewesen knüpfen, sondern in nicht geringerem Maße in der hervorragenden Bedeutung, welche sie für das Gährungsgewerbe haben. Die Fragen, an deren Lösung die Forschung seit mehreren Jahren arbeitet, sind zum großen Theile aus Studien in den Brauereien selbst entsprungen. Es hat auf unserem Gebiete stets eine lebhafte Wechselwirkung zwischen den Männern der Wissenschaft und den Praktikern bestanden, welche beiden Theilen nützlich gewesen ist. Diese Verbindung wird daher zweifelsohne künftighin fortgesetzt werden.

Es ist gesagt worden, das Gebiet sei ein begrenztes; dies mag zwar richtig sein; an Aufgaben fehlt es doch nicht und wird es nimmer fehlen. Die heranwachsende jüngere Generation wird die Forschung weiter führen. Was wir Aelteren nicht haben bewältigen können, werden unsere Nachfolger durchführen. Die Wissenschaft ist hier wie überall eine immer frisch strömende Quelle.

Druck von Gebr. Unger in Berlin, Bernburger Str. 30.

Hr. Fabrikejer Hagemann
Direktør for polyt. Læreanstalt
fra Ingeniør
Emil Chr. Hansen

Reprinted from the JOURNAL OF THE INSTITUTE OF BREWING,
VOL. XI, NO. 7 (VOL. II, NEW SERIES), DECEMBER, 1905.

DEN
POLYTEKNISKE
LÆREANSTALT

CONSIDERATIONS ON TECHNICAL MYCOLOGY.

BY

EMIL CHR. HANSEN.

663.1
Sm. (Haus.)

Reprinted from the Journal of the Institute of Brewing, Vol. XI, No. 7 (Vol. II, New Series), December, 1905.

Considerations on Technical Mycology.

(A Lecture delivered at the Opening of the Department for Technical Mycology at the Heriot Watt College, Edinburgh, October 18th, 1905.)

By EMIL CHR. HANSEN, Carlsberg Laboratory, Copenhagen.

I.

WHEN the Governors of this College honoured me with a request to deliver the inaugural lecture on the occasion of the opening of the new department, I thought I could not do better than take for my subject some of the experiences and results I have gained while working in the domains of technical mycology.

The principal contents and the methods employed in this branch of science are derived from fermentation - physiology and general mycology, the last term being understood as including not only the study of fungi, in the commonly accepted signification, but also that of bacteria. Technical mycology deals with the bearing of these

organisms on many of our manufacturing processes and with the manner in which they make their influence felt in practical life, both in beneficent and in injurious ways. The diseases caused by these organisms in animals and in plants are excepted—the study of these belongs to pathology. The most important organisms with which the technical mycology has to deal are those minute beings which can only be observed with the aid of the microscope, associated with so-called fermentative changes. The chief aim of technical mycology is, as we know, to attain practical results, and I purpose restricting myself to those domains of the exceedingly extensive field covered by this branch of science in which practical results have been achieved.

Microscopical organisms were used, even on a large scale, long before people had the faintest idea of their existence—for instance, in the making of beer and wine. Leeuwenhoek, the Dutch microscopist, was the first who saw yeast-cells and bacteria. In some of his famous letters, which in 1680 and the following years he sent to the Royal Society of London, he gave a description of these organisms, accompanied by figures. Very many years passed by, however, before it was conclusively demonstrated that these organisms were the originators of fermentation. The proof of this as regards alcoholic fermentation is contained in a series of papers published in the years 1836—1839 by Cagniard Latour, Schwann, and Kützing; the last-mentioned observer also showed that the formation of acetic acid was due to the presence of bacteria. The doctrine that fermentation is caused by micro-organisms was attacked by Liebig, and it was not till Pasteur's time that it became firmly established. It was, in fact, by Pasteur's researches that practical zymotechnologists were first brought to see that the manufacture of wine, beer, and vinegar is, to a large degree, a function of the life-history of certain micro-organisms. These researches further demonstrated to them the important fact that some bacteria are responsible for diseases in wine and beer.

This period in Pasteur's researches synchronises also with his studies on spontaneous generation, by which expression is understood the development of living organisms from dead matter, especially from amorphous organic matter, without eggs, seeds, or germs. There have been naturalists at all epochs who embraced this view, which was revived by the writings of Needham in the years 1745—1756. One of Needham's experiments consisted in strongly heating meat

extract in closed flasks, and, since organisms developed in these flasks, he considered that they must have been produced by spontaneous generation. Buffon, and a large number of other naturalists, adopted his doctrine. There were, however, some opponents to it, the most celebrated of whom was Spallanzani. In 1765 he commenced the publication of a series of researches controverting the view upheld by Needham. The flasks with which he made his experiments were closed hermetically and placed in a vessel of boiling water, the high temperature being maintained for about an hour. No micro-organisms appeared after this treatment, not even after they had been cooled; when, however, air was allowed to enter, growth at once occurred. Spallanzani concluded from his experiments that spontaneous generation did not take place, and that the germs, or, as he called them, the eggs, for the development of micro-organisms were present in the air. When these gained access to the decoctions with which he and Needham experimented, their further development ensued.

This contest, after languishing for some time, was then taken up with renewed vigour. Schwann embraced Spallanzani's view, whereas Kützing took Needham's, which Cagniard Latour also seems to have done. The dispute was kept going for a considerable time with ever varying chances as to who should carry off the final victory; and no small number of distinguished scientists became participants in it as time went on. Much has been written on this subject, and it is here only possible for me to deal with the main issue; I have also elsewhere treated more fully of it. Schwann had shown that different substrata, easily affected by fermentation or putrefaction, would keep when boiled, and that, after having been subjected to that process, they would remain unaltered, even if air was allowed to enter into contact with them, only provided it had been deprived beforehand of all the germs it carried by means of heating. He had then gone one step farther than Spallanzani. In his papers, dating from the year 1839, he furthermore showed that yeast cells perish when they are acted upon by chemical compounds, and he thus laid the foundation of the doctrine of antiseptics, which also subsequently became of such importance in technical mycology. In spite of the experiments carried out by Schwann and other scientists, some obscurity still prevailed, and the adherents of spontaneous generation availed themselves of this.

We owe it to the brilliant and penetrating researches of Pasteur

from 1860 and the years following, that the study of this question got out of the deadlock into which it had gradually settled down. He proved that in all cases, where spontaneous generation appeared to have taken place, some flaw or other was present in the experiments, though the method was, on the whole, correct, for instance, that impure air had not been totally excluded or that the heating had been insufficient.

It was from these investigations that modern sterilisation technique was developed, which not only has become the foundation of an important branch of our laboratory work, but which now also plays an important part in practical life, as is seen, for instance, in the process now known as Pasteurisation.

As long ago as 1782, the Swedish Chemist, Scheele, made practical use of Spallanzani's experiments; he published a method for the preservation of vinegar, according to which the vinegar was put into bottles, which were then well closed and placed in a vessel containing water. The latter was then heated, and after it had boiled for some time, the bottles were taken out. Vinegar which has been treated in this manner will, as Scheele states, keep indefinitely without becoming turbid or spoilt. It is the same method which is employed to this day. A practical application of Spallanzani's experiments, similar to that of Scheele, was made by the Frenchman, Appert, at the beginning of the nineteenth century. He employed this process to preserve wine, beer, various fruits, vegetables, soups, milk, and fruit juices. Neither Scheele nor Appert gave an explanation of what actually took place on heating. To do that was reserved for others, notably Pasteur. It is due to his experiments that this method of preservation, which had almost fallen into disuse, was again revived, and being much perfected it soon found its way into common use, in the first place for wine, and then also for beer and the other substances mentioned above. It is now used all over the world.

Pasteur's researches were of the highest value to the fermentation industries, but in 1876, after publishing his celebrated "Studies on Beer," he left this domain to win still greater fame in that of pathology.

It was at that time my fortune to take up the thread. As I had often observed that pitching yeast free from bacteria could nevertheless occasion diseases in the beer, and so cause great losses, this was a

hint to me, indicating as it did to my mind, that the most important secrets were hidden in the yeast itself. In my experiments I started from the idea that these cells, which looked so very much alike under the microscope, must, notwithstanding, belong to different species and races. In order to gain progress in this new field it was necessary for me first to work out an exact method of pure cultivation starting from one single cell. The next step was to resolve brewing-yeast into its components. The result showed that other yeasts, disease-yeasts, were found together with the beer-yeast proper, and that, what was commonly called the beer-yeast proper, the *Saccharomyces Cerevisiæ*, was not a biological entity, but could be resolved into different species and races, each of which had the power of imparting to beer a definite character. Thus I was step by step led to introduce into the bottom-fermentation breweries a yeast consisting of a pure culture of one single selected species or race. This was done in 1883.

These practical researches thus inaugurated an experimental study of yeasts, the word being used in its broadest sense. Each of the supposed species was found to consist of several species and races. With regard to the acetic acid bacteria, I had some years previously shown that what was till then known as the "vinegar plant," *Mycoderma aceti*, consisted of at least two species. This resolution of supposed species has since then been gradually carried further and further, and has led up to investigations which have given a new insight into the lives and activities of these organisms, and a new conception of the term "species," from which, later on, studies on variation and heredity were started. This movement was, as I emphasised, chiefly set on foot by the problems which cropped up in the industries where these organisms were used. Practical and theoretical problems go hand in hand in this field. I have given a description of these different researches in my "Practical Studies in Fermentation," of which a second edition is now in preparation.

When we survey the manner in which the advances have been made, it becomes clear that they are due more to the force of existing circumstances than to any single investigator. This holds good with regard to my own work. The time was specially favourable to their appearance: our science had reached a point where the next link must come. The Carlsberg Laboratory had just been founded, and by this I got the most excellent apparatus at my disposal. Stress must furthermore be

laid on the intimate connection between this laboratory and the New and Old Carlsberg Breweries, and on the circumstance that just then devastating diseases, produced by wild yeasts, had shown themselves in some of the great Copenhagen breweries. By this I had an opportunity of demonstrating the practical importance of my pure-culture system in a striking manner. Had this not been the case, the adoption of so radical a reform as the introduction into breweries of yeast originating from one single cell would scarcely have been effected so rapidly as it was. In short, a whole series of fortunate circumstances occurred.

The reform made its way from bottom-fermentation to top-fermentation breweries; only, however, on the Continent, for in the British Isles it has to this very day met with no real acceptance. Of the reason of this I am going to speak later. The reform has also, little by little, been adopted by the other branches of the colossal industry in which the cultivation of alcoholic ferments plays an important part, including distilleries, pressed yeast factories, and the wine industry.

Previously these industries had worked on in a haphazard fashion and quite in the dark, whereas after the reform they not only acquired a degree of certainty hitherto unknown, but also in many cases obtained a better product. This movement has, as might be expected, also necessitated the construction of pure culture apparatus and other apparatus required by a fermentation carried on according to exact scientific principles. In bottom-fermentation breweries, where it has been possible to carry out the pure-culture system to the greatest extent, on account of the nature of the processes, it is now in many cases worked with almost the same certainty as in the laboratory.

I stated that the pure-culture system had not been accepted in the top-fermentation breweries in the British Isles. When I made that statement I thought of the typical English and Scotch beers, as porter and the other sorts of stock beers. These beers are distinguished by a peculiar taste and flavour, which it has not been possible to obtain when only one species of saccharomyces is used. Hjelte Claussen has of late shown that this taste and this flavour are due to other forms of yeast, namely, to some Torulæ, and that in the said beers these also are active in the formation of the rich froth-head, upon which so much stress is laid. The pure-culture system is then also capable of being employed here, but in a more complicated form than in the other breweries. At the primary fermentation a

saccharomyces is used, and at its conclusion a torula is added, in both cases pure cultures. It holds good with regard to the different beer yeasts that they can give different products, and the same is also the case with the Torulæ. It is probable that each of the English and Scotch types of beer will demand not only its own saccharomyces, but also its own torula. If these types are still to be kept up, due attention must be paid to this. I have treated of this subject at some length because of its special interest to the brewers over here.

Many of the fermentations used by us are of a compound nature; this is the case in the manufacture of butter and cheese. By Storch's researches in 1890 it was proved that the souring of cream was caused by certain bacteria, some of which produce a specially fine flavour. By this the impulse was given, also in that domain, to try the employment of pure cultures. In most of the cases these cultures consisted of several species of bacteria; sometimes also of yeasts and Oidia. They have been placed on the market and are prepared in different institutes, each of which keeps its own method secret, so that the practical worker does not know what he buys. Public control is wanting, and it has proved a source of detriment to the safe development of this matter that it is enveloped in secrecy.

Several scientists have also during late years been actively engaged on experiments, the object of which is the employment of pure cultures for the ripening of some of the finer sorts of cheese. In some instances mould-fungi are especially used, in others bacteria. These labours will certainly, in the immediate future, lead to results of great practical importance.

Technical mycology has gradually extended its domain so as to embrace many other manufactures besides those I have spoken of above. I shall only mention here the manufacture of vinegar and conserves, breadmaking, the sugar, tobacco, and tanning industries.

In recent years a new branch of bacteriology has been established: it deals with the activity of bacteria in the soil, and especially with the relation between them and the higher plants. This branch is also considered as being within the pale of technical mycology. In 1886 Hellriegel and Wilfarth made the important discovery that some of the bacteria in the soil could enter into a symbiosis with certain cultivated Leguminosæ, enabling these to assimilate the free nitrogen contained in the air. By this it is possible to increase the production

of the soil to a large extent. Pure cultures have now been prepared of these bacteria with a view of adding them to soils poor in nitrogen. (Hiltner, in the Agricultural Botanical Institute in Munich, and Moore, in the agricultural experimental station in Wisconsin.)

The goal aimed at by our studies is everywhere the same: to obtain greater insight into the development and the activity of these organisms, to be able to control them, to keep injurious forms away, and to favour useful ones.

I am only able to dwell upon the points where technical mycology has proved its practical importance in a striking manner. I have, therefore, been obliged to omit a consideration of purely scientific researches, and the vast amount of preparatory works, which are found in all the directions indicated, though there are works of great scientific merit among them. That we have obtained the greatest command ver the micro-organisms in question in the industries concerned in the lcoholic fermentation is not only because this domain was the first to be investigated, but also because the conditions are less complicated than in most of the other fermentation industries. It will, therefore, be readily understood that, with regard to these we are in most cases still occupied with preliminary efforts. In all branches of the industries with which we have here to deal, rapid progress is going on, and each already possesses an exceedingly extensive literature of its own. A glance in Lafar's "Technical Mycology," or still more so in the Handbook which he is publishing together with a body of specialists, will bear this out.

II.

Long before the effects of biological investigations in these industries had been recognised, physics and chemistry had rendered important service to them. And when at last biological researches were set on foot, the published results were, at first, either disbelieved or opposed by many. It is true that better circumstances have been gradually brought about, still it is only in a few technical laboratories where both biological and chemical researches are carried on side by side that the biologist has got a position equal to that of the chemist. Such a contest has also its good points: it stimulates energy. The Carlsberg Laboratory was the first to give biology a place by the side of chemistry. This is one of its founder's many great merits. I have

above emphasised how important it was for my researches that this laboratory had been founded when I started my career. Passing now to a consideration of technical laboratories and schools, I shall begin by saying some words of the Carlsberg Laboratory. The ideas current abroad as to its origin and position are, generally speaking, but vague.

The Carlsberg Fund was founded in 1876 by the late Mr. J. C. Jacobsen, the famous brewer of Copenhagen. His first gift to the fund was 1,000,000 kroner. Five members of the Royal Danish Scientific and Literary Society were appointed as trustees. The fund consisted, at the beginning, of two sections, viz.: one for the Carlsberg Laboratory, and another for the furtherance of different scientific aims. Later on a section for the National Historical Museum in the Frederiksborg Castle was added, so that the fund then consisted of three sections. The aim of the laboratory is to develop a scientific groundwork for malting, brewing, and fermenting operations. It consists, as has already been said, of a chemical and a physiological department. Later on Mr. Jacobsen presented the fund with another million of kroner, and finally left his brewery, "Old Carlsberg," to it by will. In its constitution it was very much emphasised that the laboratory was intended as a *scientific institute*, and was to have nothing to do with the analyses required in the daily routine of the brewery. Mr. Jacobsen had another laboratory built for that purpose. A few years ago, Dr. Carl Jacobsen, his son, and the famous founder of the New Carlsberg Glyptotheca in Copenhagen, also presented his brewery, "New Carlsberg," to the said fund, with the aim of furthering fine arts in Denmark.

Carlsberg Laboratory is the only institute of its kind founded by the munificence of a single private individual; and is it not striking that a brewer should establish a laboratory which is of just the same value to his competitors as to himself? For, according to the constitution, no result of practical or scientific importance must be kept secret. Reports of the work are given in the journal of the laboratory, published in Danish and French.

Several years before the Carlsberg Laboratory was established, there were chemical laboratories connected with brewing in a few places. The "Wissenschaftliche Station für Brauerei" at Munich was inaugurated at about the same time. During the period following the year 1876 a large number of such institutions sprung up one after the other,

and this development has continued down to the present day. Some of them are supported by private associations, whilst others are, in addition to this, subsidised by the Governments of the countries in which they exist. A great many, more particularly of late years, were founded by private individuals, and are kept up by the varying circle of their customers. In contradistinction to the Carlsberg Laboratory, all these institutions have in a great measure for their object the carrying out of analyses for industrial purposes and the preparation of pure yeast for practical use in breweries, distilleries, etc. In addition to this, most of them also undertake scientific research work, and give instruction. Many of the large breweries on the Continent and in America have laboratories of their own. The "Institut für Gärungsgewerbe" at Berlin is, as far as I know, the only one that comprises almost all the various branches of the fermentation industries it has, however, no department for wine fermentation. A similar development, though less vigorous, has taken place in the other technical domains referred to above. I have alluded mainly to the state of things existing in the Scandinavian countries, Germany, Belgium, Austria, and North America. As to the British Isles I have not been able to get sufficient information.

Technical mycology, of late years, has been admitted as a branch of instruction by well nigh all the technical high schools of the European Continent. At the outset, they confined themselves, in the main, to the industries connected with alcoholic fermentation, that being the department which had been most thoroughly studied; subsequently, they have also adopted the other branches.

The old aristocratic universities and academies were, from time immemorial, rather inclined to look down upon practical research work. In not a few cases, it is true, they did so with good reason. But according as this study has produced results of great material value, its importance as an intellectual pursuit has at the same time increased.

There exists a close reciprocity of action between these two factors. Between the method and subject of theoretical science, on the one hand, and those of practical science on the other, there is, in fact, as we have seen, no essential difference. Even by means of such a branch of learning as technical mycology, it is possible for the teacher to impart to his students a sufficient amount of general biological training. Its scope is even more than wide enough to

train up the student, not only in physiology, but also in morphology and classification. It matters not that the theorems set forth are illustrated by means of species which play an important part in practical life; this may even exert a particularly inspiring influence on the minds of the majority of juvenile hearers. Researches productive of practical results will, from this very reason, prove to be possessed of a healthful rejuvenating power. Speaking of science at large, Pasteur says that it is emphatically a work of patience and perseverance. He characterises his own work of practically useful investigations in these words: "Nothing gives the scientific investigator greater pleasure than to make new discoveries; but his joy is redoubled when his observations prove to have a direct application in practical life." We, who are engaged in pursuits similar to those by which our great predecessor made his mark, will surely, all of us, be ready to endorse his view. Another point: Research which has for its object the collection of results of importance to practice, possesses an educational power, of which purely theoretical research is often destitute. I am here alluding to the fiery ordeal to which our results are subjected, when, after obtaining them in the laboratory, we have to apply them to practice. The practical man does not care about being told how matters *possibly* stand, but he demands to get an insight into their *real state*. Mere speculations may, in the field of theoretical science, often bring *éclat* to their author, but this is not possible where practical science is concerned. What I have said here is not intended to mean that the technical investigator has no occasion for imagination; on the contrary, no more in this than in any other field of science will any one be able to break new ground, unless he be, in one sense, a "dreamer of dreams." But what I mean to say is that, by the demands of the industrials, we are brought up to set forth only that part of our imagination which, having been put to the proof of rigid analysis, has not been found wanting. As to that part which cannot stand the test, it is no more available to theoretical than to practical science.

Experimental stations, technical laboratories, and technical schools have, I think, reached the highest development in Germany. The Emperor himself is at the head of this movement, and takes a keen interest in it; not infrequently he pays visits to technical institutions. He has, for instance, several times not only visited the Institut für

Gärungsgewerbe, in Berlin, but he has also been present at some lectures and experiments there. It is to his initiative that the technical high schools in Germany have been put on a level with the universities, in so far as they have been given the privilege of granting the "Doctor" degrees. He has raised the standard of these schools and of the principle connected with their establishment, and at the present time many talented youths, who formerly entered upon other walks of life, are likely to resort to these institutions. We who live in the surrounding countries shall feel a keener competition, but that will goad us on to new exertions, each in his own way and with his own means.

The experiment which the Heriot Watt College has already made with one branch of technical mycology has within a short time borne good fruits. I am sure that this also will be the case in the new enlarged department, where technical mycology will be admitted in its entirety. The young, desirous of taking up these walks of life, will then have no need of going abroad. You have started on the path of progress, and with all my heart I wish you every success, and desire to express my best wishes for the new department.

Hansen

Nicht im Buchhandel.

POLYTEKNISKE LÆREANSTALT

Abdruck

aus dem

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

XII. Band. 1904.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

663.1
Sm (Kaw.)

Abdruck aus dem
Centralblatt f. Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.
II. Abteilung.
Herausgeg. von Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin. — Verlag von Gustav Fischer in Jena.
XII. Band. 1904. No. 19/21.

Nachdruck verboten.

Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten.

Von **Emil Chr. Hansen.**

Wie bekannt, war Reess der Erste, welcher eine systematische Aufstellung der Saccharomyceten vornahm, nämlich in seinen im Jahre 1870 veröffentlichten „Botanische Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze". Die Merkmale, welche die Gattung Saccharomyces charakterisieren, bestehen nach ihm darin, daß die zu derselben gehörenden Arten eine Hefezellenbildung ohne Mycel und eine Vermehrung teils durch Sprossung, teils durch Endosporenbildung haben; die Sporen keimen durch Sproßbildung. Diese Pilze werden von Reess als niedere Ascomyceten aufgefaßt, deren systematischer Platz in der Nähe der Gattung Exoascus

sei, eine Auffassung, welcher die Forschung der Gegenwart sich im Wesentlichen angeschlossen hat. Gegen seine Aufstellung der Arten wurden dagegen gewichtige Einwände erhoben, und es wurde nach und nach den experimentierenden Gärungsphysiologen klar, daß die sicheren Ausgangspunkte hier vollständig fehlten. Reess war kein Experimentator, sondern ein beschreibender Botaniker; er machte keinen Versuch, reine Kulturen darzustellen, sondern beschränkte sich auf eine Beschreibung der Zellen, wie sie ihm in den unreinen Hefemassen, welche er zu seinen Untersuchungen benutzte, vorlagen. Die Gestalt und Größe der Hefezellen und die Größe der Sporen waren die Merkmale, die er in seiner Beschreibung heranzog. Wiewohl er also in dieser Beziehung von unrichtigen Gesichtspunkten ausging, ist seine Arbeit dennoch eine für seine Zeit höchst verdienstvolle, wie ich dies auch schon bei einer anderen Gelegenheit begründet und hervorgehoben habe. Selbst noch heutigen Tags gibt es übrigens Botaniker, welche nicht weiter gelangt sind als er; so begegnet man in systematischen Handbüchern noch immer hier und da einer Beschreibung von neuen und alten Arten, welche nicht über das von Reess gegebene Muster hinausreicht.

Da der von Reess eingeschlagene Weg nicht zum Ziele führen konnte, mußte die Aufgabe hervortreten, eine experimentelle Untersuchung mit absolut reinen Kulturen als Ausgangspunkt vorzunehmen. Es war mir das Los beschieden, in dieser Richtung den Anfang zu machen. In meinen im Jahre 1882 und namentlich 1883 erschienenen Abhandlungen teilte ich eine Reihe Aufschlüsse betreffend die Physiologie einiger der erwähnten Arten mit, wodurch die letzteren auch von neuen Gesichtspunkten aus charakterisiert wurden. Danach folgten ähnliche Untersuchungen mehrerer anderer Forscher. Unser Wissen über die Physiologie und Morphologie der Saccharomyceten wurde in weitem Umfange bereichert und eine große Anzahl Arten wurde bekannt. Das rein systematische Interesse war jedoch auf eine lange Zeit in den Hintergrund getreten. Zumeist gaben sich die Forscher nicht einmal die Mühe, den Arten besondere Namen zu geben.

Dies gilt z. B. auch von den sechs Saccharomyces-Formen, mit welchen ich im Jahre 1883 eine Reihe von experimentellen Untersuchungen anfing; diese sechs Formen tragen in meinen verschiedenen Schriften sowie auch anderswo in der Literatur immer noch die provisorischen Namen:

Saccharomyces	cerevisiae	I
"	Pastorianus	I
"	"	II
"	"	III
"	ellipsoideus	I
"	"	II.

Zur Zeit, als ich sie aufstellte, war ich noch nicht darüber klar, ob sie als Species oder als Varietäten aufgefaßt werden sollten. In den folgenden Jahren wurden die gefundenen Charaktere hier im Laboratorium und anderswo genau geprüft und mehrere

neue wurden aufgefunden. Die von mir vor mehr als 20 Jahren aufgestellten Formen haben sich als konstant erwiesen, und es ist nicht möglich gewesen, die eine in die andere überzuführen. Ich muß nach diesen Untersuchungen sie als besondere Arten auffassen.

Um nicht mehrere systematische Namen als höchst notwendig einzuführen, schlage ich vor, drei von den Reessschen Artnamen in folgender Weise zu benutzen: Die erste meiner oben genannten Arten nenne ich Sacch. cerevisiae, die zweite Sacch. Pastorianus und die fünfte Sacch. ellipsoideus. Für die Art Sacch. Pastorianus II schlage ich den Namen Sacch. intermedius und für die Art Sacch. Pastorianus III den Namen Sacch. validus vor. Diese beiden Arten sind Oberhefen. Reess bezeichnet mit Sacch. Pastorianus eine Unterhefe, und dieser Name kann deshalb nicht für sie, aber wohl für Sacch. Pastorianus I benutzt werden. Den Namen Sacch. validus habe ich an diejenige Art geknüpft, bei welcher die Obergärung stark entwickelt ist, den Namen Sacch. intermedius an diejenige Art, bei welcher zwar eine deutliche, aber nur schwache Obergärung sich findet; sie steht deshalb in der Mitte zwischen Sacch. Pastorianus und Sacch. validus; der Name nimmt eben auch darauf Rücksicht. An meine sechste Art (den früheren Sacch. ellipsoideus II) ist der Name Sacch. turbidans passend zu knüpfen; es ist nämlich diejenige Art, welche in ganz besonderem Grade die unter dem Namen Hefetrübung bekannte Krankheit im untergärigen Biere hervorruft.

Indem nach und nach eine Masse systematischen Stoffes aufgehäuft wurde, mußte nun auch einmal ein Zeitpunkt kommen, wo das Bedürfnis sich aufdrängte, denselben in Ordnung zu bringen und einen systematischen Ueberblick darüber zu erhalten. Die nachfolgenden Auseinandersetzungen verfolgen einen derartigen Zweck; wie der Titel meiner Abhandlung dies zum Ausdruck bringt, gedenke ich jedoch bei dieser Gelegenheit mich lediglich mit den Grundlinien zu beschäftigen; die Arten und Varietäten werden erst in einer späteren, ausführlicheren Abhandlung besprochen werden.

Es vergingen mehrere Jahre, ehe Arten mit neuen und scharf ausgeprägten morphologischen Eigentümlichkeiten beobachtet wurden. Bei diesen Entdeckungen werden wir im Nachfolgenden verweilen. Die erste dieser Arten beschrieb ich im Jahre 1888 in meiner Abhandlung „Ueber das Verhalten der Alkoholgärungspilze gegenüber den Zuckerarten", unter dem Namen Saccharomyces membranaefaciens[1]). Dieselbe unterscheidet sich hinsichtlich der Hautbildung sehr wesentlich von den bis damals bekannten Saccharomyceten, indem die Zellen in einer zuckerhaltigen Nährlösung sogleich eine Kahmhaut bilden, ebenso wie Mycoderma vini und Mycoderma cerevisiae. Die Häute aller dieser

1) Diese und meine übrigen hier angeführten Abhandlungen nebst zugehörigen Abbildungen wurden in den „Comptes-rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg" veröffentlicht. Die im Texte genannten Jahreszahlen beziehen sich auf die betreffenden Hefte dieser Comptes-rendus.

Arten sind dadurch gekennzeichnet, daß sie zwischen den Zellen eine reichliche Einmischung von Luft enthalten, wodurch sie sich von den Häuten der zweiten großen Gruppe der Saccharomyceten gänzlich unterscheiden. Auch durch die Form ihrer Sporen ist Sacch. membranaefaciens in hervortretender Weise gekennzeichnet. Die junge Spore ist gewöhnlich fast halbkugelförmig; die ältere Spore hat meist eine eckige und ungleichmäßige Gestalt. Genannte Art ist außerdem auch dadurch gekennzeichnet, daß sie in Bierwürze oder in Lösungen von Saccharose, Dextrose, Maltose oder Laktose keine Alkoholgärung erregt, sowie sie die Saccharose nicht zu invertieren vermag.

Bei einer anderen von mir aufgestellten Art, Saccharomyces Ludwigii, machte ich im Jahre 1891 die Wahrnehmung, daß die Keimung der Sporen auf eine andere Weise vor sich geht als bei den übrigen Saccharomyceten. Bei diesen können von einem jeden Punkt der Oberfläche der keimenden Spore Sproßzellen sich entwickeln, also gleich wie bei der vegetativen Zelle; bei der oben genannten Art dagegen kommt bei der Keimung der Spore eine Promycelbildung hervor, und von hier aus entwickeln sich die Hefezellen.

Bei den jungen Sporen gilt die Regel, daß bei der Keimung eine Verschmelzung der Promycelien zweier Sporen stattfindet; bisweilen verschmelzen auch mehrere Sporen vollständig [1]). Bei den alten Sporen tritt zumeist keine Verschmelzung ein.

Die Sproßbildung bei den vegetativen Zellen geschieht wohl am häufigsten von dem einen Endpunkt der Mutterzelle, kann jedoch auch an irgend einem anderen Punkt entstehen und zeigt somit überhaupt alle hauptsächlichen Charaktere der als typisch zu bezeichnenden Sprossung bei Saccharomyces sowie bei den Hefezellen überhaupt. In einer anderen Hinsicht ist indes die Sproßbildung bei Saccharomyces Ludwigii etwas abweichend von der bei den eigentlichen Saccharomyceten auftretenden. Die Einschnürung hört nämlich auf einem ziemlich frühen Stadium auf und es ist dann noch immer eine deutliche Querwand wahrnehmbar, durch deren Spaltung die neue Zelle frei gemacht wird; erst nachdem dieses geschehen ist, tritt eine Abrundung ein; wir haben hier also zwar eine Sproßbildung, aber mit unvollständiger Abschnürung. Gegenüber der die gewöhnlichen Saccharomyces-Arten kennzeichnenden Sproßbildung ist der Unterschied jedoch bloß ein gradueller, kein prinzipieller.

---

1) Guilliermond hat in den in den letzten Jahren von ihm publizierten Abhandlungen über die Hefezellen auch Saccharomyces Ludwigii mit behandelt. In seinen ersten Mitteilungen über diese Art betonte er, daß er die von mir beschriebene Verschmelzung nie habe wahrnehmen können; es war demnach möglich, daß meine diesbezüglichen Mitteilungen auf einem Irrtum beruhen konnten, eine Möglichkeit, auf welche auch in mehreren Referaten hingewiesen worden ist. Später hat Guilliermond jedoch nach Untersuchung eines neuen Materials die Richtigkeit meiner Untersuchungen bestätigt. In den Referaten hat man aber diese Berichtigung meistens mit Stillschweigen übergangen und nur seine erste Beobachtung angeführt. Ich fühle mich deshalb veranlaßt, bei dieser Gelegenheit darauf aufmerksam zu machen.

Bei einer Art, welche ich 1891 unter dem Namen Saccharomyces anomalus beschrieb, beobachtete ich, daß die Sporen eine sehr eigentümliche Form hatten. Dieselben sind nämlich mehr oder minder halbkugelförmig, mit einer von der Grundfläche hervorspringenden Leiste, so daß sie Aehnlichkeit mit einem Hut mit Krempe bekommen. Gleich zu Anfang der Gärung erregt dieser Hefepilz eine kräftige Aether- und Hautbildung. Derselbe ist ein echter Kahmhautbildner, ebenso wie Saccharomyces membranaefaciens, und alles, was betreffs der Hautbildung dieser Art gesagt wurde, gilt auch hier.

Diese drei Arten unterscheiden sich also durch scharf ausgeprägte Merkmale voneinander und von den übrigen, bisher der Gattung Saccharomyces beigezählten Arten. Die angegebenen Merkmale sind sogar schärfer als jene, durch welche gewöhnlich die Gattungen in der Mykologie voneinander unterschieden werden. Jetzt, wo es sich darum handelt, sämtliche bis heute bekannte Saccharomyceten in ein System zu bringen, halte ich es für das Richtigste, die drei Arten als Typen von drei neuen Gattungen aufzustellen. Es wurde schon bei früheren Gelegenheiten nicht allein von mir, sondern auch von P. Lindner und Anderen darauf hingewiesen, daß es bei einer systematischen Revision sich herausstellen würde, daß ihnen der angegebene systematische Wert zukomme. Die hauptsächliche Ursache, warum diese Revision erst jetzt vorgenommen wird, habe ich oben angedeutet.

Für die zweite der hier in Rede stehenden Gattungen schlage ich den Namen *Saccharomycodes* vor, durch welchen ihre nahe Verwandtschaft mit Saccharomyces angedeutet ist. An die beiden anderen möchte ich mir erlauben, die Namen zweier höchst verdienstvoller Kollegen zu knüpfen, indem ich Saccharomyces anomalus und die dieser sich anschließenden Arten mit dem Gattungsnamen *Willia*, Sacch. membranaefaciens nebst den um sie sich gruppierenden mit dem Gattungsnamen *Pichia* belegen werde. Prof. Dr. H. Will hat nicht nur zu einem frühen Zeitpunkt Arten beobachtet, welche zu der nach ihm benannten Gattung gehören, sondern von seinem Laboratorium sind auch die ausführlichsten Untersuchungen über diesen Gegenstand ausgegangen; und Prof. Dr. Pichi verdanken wir, wie bekannt, vorzügliche Untersuchungen, Beschreibungen und Abbildungen von Arten, welche mit der von mir entdeckten nahe verwandt sind.

Im Jahre 1893 stellte P. Lindner eine neue Gattung auf, welche er mit Recht als einen „durchaus eigenartigen Typus unter den Hefen“ bezeichnete. Er gab ihr den Namen „Schizosaccharomyces“ (Spalthefe), weil ihre vegetative Vermehrung lediglich dadurch vor sich geht, daß in jeder Zelle eine oder mehrere scharfe Querwände sich bilden, wonach die so entstandenen Glieder durch eine Spaltung frei gemacht werden. Diese Vermehrungsweise besitzt große Aehnlichkeit mit der bei Oïdium und vielen Bakterien beobachteten. Von einer Sproßbildung ist keine Spur nachweisbar. Die einzige morphologische Uebereinstimmung zwischen dieser Form und Saccharomyces ist die, daß beide eine Endosporenbildung

aufweisen. Die zuerst beschriebene Art war Schizosaccharomyces Pombe. Später ist eine recht beträchtliche Anzahl Arten hinzugekommen.

Wie man sich erinnern wird, gibt es zwei Hauptmerkmale, welche die zahllosen Arten von Saccharomyceten zusammenknüpfen, nämlich die Sprossung und die Endosporenbildung; das eine dieser beiden Merkmale ist ebenso wichtig wie das andere; wird eines derselben weggenommen, so geht das ganze auseinander; beide sind zur systematischen Abgrenzung notwendig. Die Gattung Schizosaccharomyces ist demnach außerhalb der Familie der Saccharomyceten zu stellen. Wo ihr Platz im System eigentlich ist, läßt sich im Augenblick noch nicht mit Sicherheit entscheiden; bis auf Weiteres dürfte sie am besten in die Nähe der Saccharomyceten gestellt werden. Sie ist jedoch von diesen noch mehr verschieden als die Exoasceen. In morphologischer Beziehung nähern sie sich der Gruppe von Bakterien, welche mit Endosporenbildung ausgestattet ist. Wenn man ihr bisher einen Platz unter den Saccharomyceten belassen hat, so liegt dies einerseits daran, daß den systematischen Fragen kein besonderes Interesse geschenkt wurde, andererseits wohl auch daran, daß man erwartete, endlich einmal eine, wenngleich schwache, Sproßbildung zu entdecken. Dieses ist indes nicht geschehen. Trotzdem wir nunmehr mehrere Arten von Schizosaccharomyces kennen und trotzdem seit einer Reihe von Jahren, sowohl im Carlsberger Laboratorium als auch anderwärts mit denselben eifrig experimentiert wurde, hat man doch auch nicht das geringste Zeichen einer Hefezellenbildung wahrnehmen können.

Im Jahre 1901 machte Barker die Mitteilung, daß er bei einem Saccharomyceten eine eigenartige Konjugation entdeckt habe. Er stellte die betreffende Art als Typus einer neuen Gattung, Zygosaccharomyces, auf[1]). Der Prozeß geht in der Weise vor sich, daß die beiden daran beteiligten Zellen je eine schnabelförmige Verlängerung treiben. Diese Verlängerungen treten dann in Verbindung miteinander und verschmelzen, indem die Wände an dem Berührungspunkt aufgelöst werden; beide Zellen werden hierdurch wie durch eine Brücke verbunden; eine weitergehende Verschmelzung der beiden Zellen findet nicht statt. Seine Beobachtungen zeigten darauf hin, daß die beschriebene Fusion von einem Verschmelzen der Zellenkerne der betreffenden beiden Zellen begleitet ist; bestimmt festgestellt wurde dieses aber nicht. Nach erfolgter Verschmelzung der schnabelförmigen Verlängerungen entwickeln sich Sporen in jeder der betreffenden Zellen. Im übrigen stimmt diese Art mit den allgemeinen Saccharomyces überein. Auch bei anderen Saccharomyceten hat man in jüngster Zeit einen geschlechtlichen Akt wahrzunehmen geglaubt, wenngleich der Vorgang ein etwas verschiedener ist. Diese Untersuchungen verdanken wir namentlich Barker, Guilliermond, Janssens, Leblanc und Wager. Es herrscht indes noch immer Streit, nicht nur

1) Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Ser. B. Vol. CLXLIV. p. 467—485.

über die richtige Auffassung, sondern auch über die Tatsachen selbst. Die meisten Forscher neigen wohl der Anschauung zu, daß wenigstens in einigen Fällen ein wirklicher Sexualakt vorliege; es wird jedoch wahrscheinlich noch lange dauern, bis eine endgültige Entscheidung dieser Frage erzielt werden kann.

In der arzneiwissenschaftlichen Literatur wurde, lange bevor von exakten Forschungen auf unserem Gebiete die Rede war, einer eigentümlichen Art unter dem Namen Saccharomyces guttulatus Erwähnung getan. Im Jahre 1896 entdeckte Buscalioni Sporen bei derselben, und 2 Jahre später beobachtete Wilhelmi die Keimung dieser Sporen. Er wies nach, daß die Spore 2 Membranen besitzt. Bei der Keimung birst die äußere dieser Membranen an irgend einem Punkte, also in unregelmäßiger Weise. Das weitere Wachstum erfolgt durch eine Sproßbildung. Schiönning beschrieb in seiner im Jahre 1903 veröffentlichten Abhandlung[1]) eine neue Art, deren Spore ebenfalls 2 Membranen besitzt, von denen jedoch die äußere bei der Keimung sich mit 2 Klappen öffnet und sowohl durch Schwefelsäure als auch durch mehrere andere Mineralsäuren rosenrot gefärbt wird. Die Keimung geschieht auf die nämliche Weise wie bei der vorigen Art, und die vegetative Vermehrung geht ebenfalls durch eine normale Sproßbildung vor sich. Diese Art tritt mit einem stark entwickelten Mycel auf, und das Aussehen ihrer Vegetation unterscheidet sich in auffälliger Weise von dem der bisher bekannten Saccharomyceten. Infolge des besonderen Baues der Sporen faßt Schiönning die beiden letztgenannten Arten in eine neue Gattung zusammen, und dieser erteilt er den Namen Saccharomycopsis, wodurch angegeben wird, daß sie einige Aehnlichkeit mit Saccharomyces hat. Seine neue Art benennt er Saccharomycopsis capsularis.

Endlich kann hier noch die von Klöcker entdeckte Art Saccharomyces Saturnus[2]) genannt werden, deren Sporen zitronenförmig sind und mit einer Leiste um die Mitte versehen sind; dieselben erinnern dadurch an die gewöhnlichen Abbildungen des Planeten Saturn, daher der Name. Durch ihre Leistenbildung, sowie auch dadurch, daß sie ein echter Kahmhautbildner ist, schließt diese Art sich jenen der vorerwähnten Gattung, Willia, an; aber, wie oben erwähnt wurde, die Form der Spore ist eine andere. Es ist wohl wahrscheinlich, daß man, wenn neue Arten, welche sich der soeben genannten anschließen, beobachtet worden sind, die Klöckersche Art als Typus einer besonderen Gattung aufstellen wird.

Die oben genannten Arten wachsen alle mit Ueppigkeit in zuckerhaltigen Nährflüssigkeiten, und ihre Beschreibung ist, wie angedeutet wurde, auf Züchtungsversuchen mit absoluten Reinkulturen gestützt. Keines von beiden ist mit dem nachfolgenden, im Jahre 1884 von Metschnikoff beschriebenen merkwürdigen

1) Comptes rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg. Vol. VI. Livr. 2. p. 97—125.

2) Comptes rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg. Vol. VI. 1903. Livr. 2. p. 84—91.

Sproßpilz, Monospora cuspidata, der Fall, welchen er in einigen Flohkrebsen, (Daphnia) entdeckte [1]). Die Spore dieses Pilzes hat die Gestalt einer langen, dünnen, an beiden Enden zugespitzten Nadel, und es tritt in jedem Schlauch nur eine Spore auf; der Name ist aus diesen Merkmalen hergeleitet. Die Keimung der Spore geschieht dadurch, daß von ihrer Mitte ein Keimfaden ausgeht, an dessen Ende dann durch Sprossung neue Zellen hervorkommen, welche sich wiederum durch Sproßbildung vermehren. Die Beobachtungen wurden gemacht, während der Pilz sich in den Körpern der Tiere befand. Die angestellten Züchtungsversuche mißlangen, und meines Wissens ist diese Art später von keinem Forscher untersucht worden. Sie verdient jedoch sicherlich, zum Gegenstand eines eingehenderen Studiums gemacht zu werden.

Ein Gleiches gilt auch von Nematospora Coryli. Diese ebenfalls sehr bemerkenswerte Art wurde im Jahre 1897 von Peglion entdeckt [2]). Sie hat ihren Artnamen davon, daß sie in den Kernen der Haselnuß ihren Aufenthalt hat. Peglion stellte Reinkulturen dieses Pilzes auf Fleischbrühegelatine dar. Der Pilz vermehrt sich teils durch Endosporenbildung, teils durch Sprossung; letztere geht jedoch, nach Peglions Beschreibung und Abbildungen zu beurteilen, nur an den Enden der Mutterzelle vor sich und kommt demnach der typischen Sproßbildung, welche die Saccharomyces-Gattung bezeichnet, nicht ganz gleich. Die Spore ist sehr langgestreckt, spindelförmig, fast fadenförmig, und von dem einen Ende derselben geht eine lange Geißel aus. Wenn die Spore keimt, wird von dem einen Ende oder von beiden eine oder zwei Sproßzellen abgeschnürt. Betreffs der vegetativen Zellen wird angegeben, daß sie eine doppelte Wandung, eine äußere und eine innere Membran, besitze; dies ist also wieder ein Charakter, in welchem diese Art mit den Saccharomyceten nicht übereinstimmt, unter welche Peglion sie trotzdem rechnet. Auch in Hinsicht auf die anderen Merkmale bestehen, wie aus einer näheren Betrachtung des oben Angeführten ersichtlich sein wird, nicht unerhebliche Verschiedenheiten. Die Vergleichungen, welche er zwischen seiner Nematospora Coryli und andererseits den Saccharomyceten anstellt, beruhen in wesentlichen Punkten auf Mißverständnissen. Nematospora Coryli gedeiht eigentlich nur auf festem Nährboden; in Flüssigkeiten gerät die Sproßbildung ins Stocken, und der Pilz bildet hier nur ein steriles Mycel. Derselbe ist bisher von keinem anderen Forscher als seinem Entdecker untersucht worden.

Es besteht in einigen Punkten Uebereinstimmung zwischen Monospora und Nematospora sowie auch einer dritten Art, welche, laut Metschnikoffs Angabe in seiner oben angeführten Abhandlung, Bütschli bei einem frei lebenden Nematoden, Tylenchus pellucidus, gefunden haben soll. Von allen drei

1) Virchows Archiv für patholog. Anatomie u. Physiologie und für klin. Medizin. Bd. XCVI. 1884. p. 177.

2) Eine ausführliche Beschreibung seiner Untersuchungen gab er im Centralbl. f. Bakteriologie, Parasitenkunde etc. Abt. II. Bd. VII. p. 754.

Pilzen darf wohl behauptet werden, daß sie, soweit aus den gegebenen Beschreibungen sich ersehen läßt, nicht in die Familie der Saccharomyceten gehören; nicht bloß ihr Aussehen, sondern auch ihre charakteristischen Merkmale im ganzen genommen deuten darauf hin, daß sie eine Sonderstellung einnehmen. Wenn wir dieselben den Saccharomyceten zuteilen, so müssen sie hier jedenfalls eine besondere Gruppe bilden. Ich und meine Mitarbeiter im hiesigen Laboratorium haben vergebens nach diesen Arten gesucht und werden Material davon dankbar entgegennehmen, falls jemand in der Lage wäre, uns solches zustellen zu können.

In dem von Reess aufgestellten System der Saccharomyceten tritt nur eine Gattung auf, und unter dieser beschreibt er 7 Arten; wir kennen nunmehr, wenn wir Monospora und Nematospora mitrechnen, acht Gattungen mit ungefähr 100 Arten, so daß die Familie einen beträchtlichen Zuwachs bekommen hat. Unten folgt eine systematische Uebersicht:

Familie der Saccharomycetes.

Sproßpilze mit Endosporen- und reichlicher Hefezellenbildung. Typisches Mycel nur bei wenigen Arten. Jede Zelle kann als Sporenmutterzelle auftreten. Spore 1-zellig; Anzahl der Sporen gewöhnlich in jeder Mutterzelle 1—4, selten bis 12.

A. Echte Saccharomyceten.

1. Gruppe.

Die Zellen bilden in zuckerhaltigen Nährflüssigkeiten sofort Bodensatzhefe und erst weit später eine Haut, deren Vegetation schleimig, ohne Einmischung von Luft ist. Sporen glatt, rund oder oval, mit 1 oder 2 Membranen; Keimung durch Sprossung oder durch Keimschlauchbildung (Promycel). Alle oder jedenfalls die meisten zu dieser Gruppe gehörigen Arten rufen Alkoholgärung hervor.

Gattung I. Saccharomyces Meyen.

Die mit 1 Membran versehenen Sporen keimen durch Sprossung. Außer Hefezellenbildung bei einigen zugleich Mycel mit scharfen Querwänden.

Hierher gehören die von mir im Jahre 1883 beschriebenen vorn erwähnten 6 Arten, ebenso die in den folgenden Jahren von mir, Aderhold, Artari, Beijerinck, Forti, Grönlund, Holm, Jörgensen, Kayser, Klöcker, Van Laer, Lendner, Lindner, Marshall-Ward, Marx, Osterwalder, Prinsen Geerligs, Seifert, Wehmer, Went, Will, Wortmann, Yabe, Zopf u. a. beschriebenen Arten. Auch die in den Berichten von den zahlreichen gärungstechnischen Laboratorien besprochenen, gewöhnlich unvollständig beschriebenen Hefearten, welche in der Bier-, Preßhefe- und Spiritusfabrikation samt Trauben- und Obstweingärung verwendet werden, gehören hierher.

Gattung II. Zygosaccharomyces Barker.

Zeichnet sich durch eine Kopulation der Zellen aus, stimmt übrigens mit der vorhergehenden Gattung überein.

Hierher gehört die obenerwähnte, von Barker beschriebene Art.

Gattung III. Saccharomycodes E. Chr. Hansen.

Durch die Keimung der mit 1 Membran versehenen Sporen entwickelt sich ein Promycelium. Von diesem sowie von den

vegetativen Zellen findet eine Sprossung mit unvollständiger Abschnürung statt. Mycelbildung mit deutlichen Querwänden.

Zwei Arten sind bekannt, nämlich der im vorhergehenden erwähnte Saccharomycodes Ludwigii (Syn. Saccharomyces Ludwigii E. Chr. Hansen) und eine andere Art, von welcher Behrens in der Wochenschr. f. Brauerei, 1896, p. 850 eine ausführliche und eingehende Beschreibung gibt, doch ohne einen systematischen Namen daran zu knüpfen.

Gattung IV. Saccharomycopsis Schiönning.

Die Spore besitzt 2 Membranen; übrigens stimmen die Charaktere in so weit sie bekannt sind am nächsten mit denjenigen des Saccharomyces überein [1]).

Saccharomycopsis guttulatus (Syn. Saccharomyces guttulatus Aut.).

Saccharomycopsis capsularis Schiönning.

2. Gruppe.

Die Zellen bilden in zuckerhaltigen Nährflüssigkeiten sofort eine Kahmhaut, welche der Lufteinmischung wegen trocken und matt ist und deutlich sich von der Hautbildung der 1. Gruppe unterscheidet. Sporen halbkugelförmig, eckig, hut- oder zitronenförmig, in den zwei letzteren Fällen mit einer hervorspringenden Leiste versehen, übrigens glatt; nur mit 1 Membran; Keimung durch Sprossung. Die meisten Arten zeichnen sich durch ihre Esterbildung aus, einige rufen keine Gärung hervor.

Gattung V. Pichia E. Chr. Hansen.

Spore halbkugelförmig oder unregelmäßig und eckig. Keine Gärung; starke Mycelbildung.

Pichia membranaefaciens (Syn. Sacch. membranaefaciens E. Chr. Hansen). Ebenfalls einige von Pichi beschriebenen Arten. Zu dieser Gattung gehören wahrscheinlich auch Lindners zwei Arten: Saccharomyces hyalosporus und Sacch. farinosus.

Gattung VI. Willia E. Chr. Hansen.

Spore hut- oder zitronenförmig mit stark hervorspringender Leiste. Die meisten Arten sind kräftige Esterbildner, einige wenige rufen keine Gärung hervor.

Willia anomala (Syn. Sacch. anomalus E. Chr. Hansen). Willia Saturnus (Syn. Sacch. Saturnus Klöcker). Ebenfalls die von Steuber in der Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen, 1900, beschriebenen Arten und Varietäten.

B. Zweifelhafte Saccharomyceten.

Monospora Metschnikoff und Nematospora Peglion. Ueber Gattung- und Artcharaktere siehe das Vorhergehende.

Carlsberg Laboratorium, Mai 1904.

---

1) Bei Saccharomycopsis guttulatus ist die Hautbildung noch nicht untersucht worden, bei S. capsularis hat sie auf einem späteren Stadium eine große äußere Aehnlichkeit mit derjenigen des Oidium lactis. Es wird sich wahrscheinlicherweise herausstellen, daß die gedachte Gattung die Aufstellung einer besonderen Gruppe fordern wird.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Hansen.

TEKNISK BIBLIOTEK

663.1
Sm. (Konv.)

5-76,814.

TEKNISK BIBLIOTEK

Hr. Fabrikejer Hagemann
Direkt. for polyteknisk Læreanstalt
fra Forfatteren
Emil Chr. Hansen.

„Frem" Aarbog 1909.

DEN POLYTEKNISKE LÆREANSTALT

4. DE MIKROSKOPISKE VÆSNER.

FRA GÆRINGSVIDENSKABEN.

Lidt om min Forskning paa Carlsberg Laboratorium.

AF EMIL CHR. HANSEN.

Redaktionen af „Frem"s Aarbog har vist mig den Opmærksomhed at opfordre mig til at give en Oversigt over mine Undersøgelser paa Carlsberg Laboratorium. Den 12. November 1908 var det 25 Aar siden, at jeg indførte Gærrendyrkningen paa Bryggeriet „Gamle Carlsberg". Hermed var Begyndelsen gjort til en vigtig Reform, ikke blot i Bryggerivæsenet, men ogsaa i den store Gæringsindustri i Almindelighed. Saavel inden- som udenlandske Fagskrifter viste mig den Venlighed at fejre Dagen som en Mærkedag, og den blev ogsaa omtalt i Dagspressen. Dette var den nærmeste Foranledning til, at Redaktionen stillede ovennævnte Opfordring til mig. I det følgende skal jeg forsøge at give en Fremstilling af de vigtigste af mine praktiske og teoretiske Undersøgelser, forsaavidt jeg kan tænke mig, at de kan forstaas og kan have Interesse for Aarbogens Læsere. Det er ikke saa sjældent, at en og anden kommer til mig og udtaler Forundring over, at der bestandig er noget at bestille paa vort Laboratorium, vi maa dog tilsidst naa til et Punkt, hvor det stopper op. Disse Spørgere vil af mine efterfølgende Meddelelser kunne faa et Indtryk af, at ogsaa Studiet af de mikroskopiske Væsener og deres Gæringer er af en saadan Natur, at man i Virkeligheden aldrig bliver færdig dermed.

Da jeg begyndte mine Studier i Bryggerierne, var Gærspørgsmaalet en fuldstændig Gaade, og det var det svageste Punkt i Driften. Kom der Vanskeligheder, tog man Gær fra et andet Bryggeri, og man blandede hyppigt Gær fra flere Bryggerier sammen. Undertiden kunde man vel herved erholde et godt Resultat, men ofte et ligesaa slet eller endnu slettere end det, der gav Anledning til, at man søgte en ny Gær. I alle Tilfælde var det en Arbejden paa Slump og i Blinde; man vidste slet ikke, hvad man satte til sin Urt. Endog i de bedste af Datidens store Bryggerier, var det intet usædvanligt, at man flere Gange i Aarets Løb maatte lade Ølportioner til en Værdi af et halvt Hundrede Tusinde Kroner og derover løbe i Kloakerne, fordi de var blevet fordærvet. Af og til mente man da, at man maatte rense Gæren og anvendte hertil navnlig forskellige kemiske Metoder, saaledes ogsaa en Tilsætning af Vinsyre; men Usikkerheden og Vanskelighederne var og blev der. Jeg lærte heraf, at jeg maatte gaa ud fra andre Synspunkter end mine Forgængere. Mit Angrebspunkt blev Studiet af de enkelte Gærceller selv og deres Virkninger. Efterat jeg i min Afhandling fra 1879 havde paavist, at hvad man under Navnet *Mycoderma aceti* opfattede som een Eddikesyrebakterieart i Virkeligheden var flere Arter, tog jeg fat paa Gærspørgsmaalet fra et lignende Synspunkt.

For at komme frem paa denne Bane

udarbejdede jeg en Metode, ved hvilken jeg blev i Stand til at dyrke hver enkelt Celle for sig. Jeg saa da, at Bryggerigæren bestod af et større eller mindre Antal Arter. Ved under de samme Omstændigheder at anstille sammenlignende Forsøg med dem i Urt fandt jeg, at de udførte et forskelligt kemisk Arbejde og gav Øl af forskellig Beskaffenhed, nogle gav godt Øl, andre daarligt Øl. Men ogsaa hos den Gruppe af Arter, som gav godt Øl, fandt jeg, at der var Forskel paa de udskilte Vegetationer og Forskel med Hensyn til deres Produkt, og dette uagtet alle disse Arter stemte med Beskrivelsen af, hvad man hidtil havde kaldt for Ølgærarten (*Saccharomyces cerevisiæ*) og antaget for at være en systematisk Enhed. Ved at studere den anden Gruppe af de udskilte Arter, nemlig den, der gav daarligt Øl, kunde jeg ogsaa her paavise, at der under ethvert af de andre, af mine Forgængere indførte Artsnavne (*Saccharomyces Pastorianus, S. ellipsoideus* osv.) skjultes en større og mindre Mangfoldighed, og at der heriblandt fandtes typiske Sygdomsgærarter, som ene for sig eller sammenblandede med en af de gode Ølgærarter, gav Gæringer, hvis Resultat var, at Øllet viste Mangler i Henseende til dets Smag, Lugt, Klarhed og Holdbarhed. Mine Forsøg viste kort sagt, at Aarsagen til nogle af Øllets hyppige Sygdomme ikke, som man troede, skyldes Forhold i Urtens kemiske Sammensætning eller Bakterier, men visse Celler i Gæren selv. En af disse Sygdomme havde paa den Tid netop gjort stor Skade paa Tuborg, en anden paa Gamle Carlsberg. Paa Grund af disse Undersøgelser opstillede jeg da det Princip, at man ogsaa i den store Praksis skulde føre hver Gæring med sin rendyrkede, udvalgte Gærart eller Race, nemlig med den for vedkommende Fabrikation gunstigste.

Man maa i saadanne Forsøg gaa ud fra en eneste Celle; dette er Betingelsen for at faa fat paa Arterne og Racerne hver for sig. En Beskrivelse af de Kunstgreb og Apparater, som hertil fordres, vilde føre ind paa Enkeltheder, som paa dette Sted næppe vilde have tilstrækkelig Interesse, og jeg skal derfor ejheller dvæle derved. Dyrkningen foregaar hele Tiden i Urt, som er gjort kimfri ved Kogning. For at avle den store Portion Paasætningsgær, som et af Bryggeriets Gæringskar kræver, sætter man bestandig større og større Portioner Urt i Gæring, idet man gaar ud fra Renkulturen i den lille Glaskolbe, og slutter med 4 Metalkolber, hver rummende 10 Liter og $^2/_3$ fyldte med Urt. Her avles saa megen Gær, at man dermed kan tage fat i Gæringskælderen selv.

Da jeg i 1883 henvendte mig til J. C. Jacobsen for at udbede mig Tilladelse til at anstille Forsøgene i det store i hans Bryggeri, var jeg selv saa opfyldt af mine Undersøgelser og saa fast overbevist om deres Rigtighed og om Rigtigheden af de dertil knyttede Slutninger, at jeg ikke kunde forstaa, at han ikke straks gik ind paa mine Planer. Jacobsen troede navnlig ikke, at en Renkultur af een Art alene var i Stand til at gennemføre hele Gæringen, ikke blot Hovedgæringen i Gæringskælderen, men tillige Eftergæringen i Lagerkælderen. Da Jacobsen ved mine Forsøg havde overbevist sig om Rigtigheden af min Paastand, at man med Gær, avlet fra een eneste Celle, virkelig kunde fremstille et godt Øl i den store Drift, og at dette var Fremtidsvejen, gjorde han hurtigt Skridtet helt ud og aabnede hele sit Bryggeri derfor. Den samme Hovedindvending, som han rejste, er af og til med Mellemrum ogsaa fra andre Sider kommen op. At en saa radikal Reform maatte møde Modstand, saavel hos Teoretikerne som hos Praktikerne, er forøvrigt noget, der ret beset, følger af sig selv.

Jacobsen var ubestridelig sin Tids berømteste Brygger, og han bidrog ved sin Autoritet i overordentlig Grad til, at min Reform i forholdsvis kort Tid vandt Indgang, ikke blot her hjemme, men ogsaa i Udlandet. Kort efter at jeg havde begyndt mine Forsøg paa Gamle Carlsberg, overførte jeg dem ogsaa paa Ny Carlsberg. Den nye Reform er nu optagen Verden over. Fordelene derved bestaar ikke blot deri, at man opnaar et finere, ensartet Produkt og kommer bort fra den tidligere Tids store Usikkerhed og store Tab, men tillige deri, at der samtidig er gjort et Skridt fremad i hygiejnisk Henseende.

Der har i det foregaaende kun været talt om Undergæringsbryggerier; den beskrevne Reform er i Aarenes Løb imidlertid ligeledes bleven indført i Overgæringsbryggerierne, i Spiritus- og Pressegærfabrikationen, i Frugt- og Druevingæringen og i andre Grene af den kemiske Industri, hvor der arbejdes med Gæringer. Det er ogsaa paa disse Omraader det samme Princip og i det væsentlige den samme Fremgangsmaade som ovenfor beskreven, men ikke de samme Gærarter, som anvendes; disse maa selvfølgelig altid udvælges i Overensstemmelse med de særlige Krav, som vedkommende Industri stiller. I Overgæringen blev det nye Fremskridt ogsaa først indført herhjemme, nemlig allerede i 1885 af Alfred Jørgensen.

Størst Betydning fik Rendyrkningen vistnok i Druevingæringen. Det viser sig, at Vinens Buket, Smag og hele Beskaffenhed ikke blot bestemmes af Druerne, men tillige i væsentlig Grad af den Gærart, man anvender. Gæringskemikerne skelner her mellem primære og sekundære Buketstoffer; de sidstnævnte skyldes Gærcellernes Virksomhed. Man er nu i Stand til, ogsaa naar man gaar ud fra en simpel Most, dog at faa en Vin, som har noget af de finere Vines Buket og Smag, altsaa en betydelig og ejendommelig Forbedring og uden ekstra Udgift. Hvad enten Mosten er fin eller simpel, har Anvendelsen af den rendyrkede, planmæssig udvalgte Gærart den Betydning, at den fremkalder en god Gæring og derved værner mod Angreb af Sygdomsgærarter og Bakterier, og selv den simple Vindruemost er en meget kostbarere Vare end f. Eks. Ølurten, for ikke at tale om den Most, der giver Vin til 100 Kr. Flasken.

Nær til de foran omtalte gæringstekniske Undersøgelser slutter sig mine Studier over Luftens og Vandets mikroskopiske Væsener. I disse gives nemlig Oplysninger om Kilderne til den Smitte, for hvilken Bryggerierne er udsat. Det er en Beretning om de Kampe, der uafbrudt maa føres for at bevare Gæringernes Renhed. Som en Udløber deraf kan atter betragtes de Undersøgelser, som jeg anstillede over Gærarternes Kredsløb i Naturen. Da der i „Frem"s Aargang 1907, Nr. 26, findes en Fremstilling deraf, kan jeg her indskrænke mig til at henvise dertil. Jeg haaber tilmed senere at kunne give en Meddelelse i nærværende Aarbog om mine fortsatte Studier i den Retning.

Hvis jeg ikke var blevet ansat i Carlsberg Fondets Tjeneste, vilde jeg næppe være kommen saa langt frem i de gæringstekniske Studier. Det rigt udstyrede Laboratorium, jeg herved fik til min Raadighed, var af den største Betydning for mig, men ikke mindre vigtigt var det, at jeg kunde anstille mine Forsøg i det store i selve Bryggerierne Gamle og Ny Carlsberg. Næppe noget andet Sted vilde man have bragt saadanne Offre. Navnene Carlsberg, J. C. Jacobsen og Carl Jacobsen er fast knyttede til min Forsknings Historie.

Som vi har hørt tog mine praktiske Undersøgelser deres Udgangspunkt fra Rendyrkningen af den enkelte Celle. Hermed begyndte tillige en eksakt videnskabelig Forskning paa dette Omraade. Man havde tidligere ogsaa ved rent videnskabelige Undersøgelser arbejdet med Sammenblandinger af ukendte Størrelser; nu traadte Fordringen frem om i enhver Undersøgelse at gaa ud fra den sikre Enhed. Da dette Punkt var naaet, kunde der stilles Spørgsmaal, hvor man hidtil havde ladet sig nøje med at gætte sig frem, og Spørgsmaal, der forhen laa hen som fuldstændig dunkle, kunde nu tages op til en skarp eksperimentel Behandling.

Forinden vi gaar videre, vil det være paa Tide nærmere at omtale de i det foregaaende saa ofte nævnte Gærceller, deres Udviklingsformer og Virkemaade, naar de befinder sig i Ølurt.

Omstaaende Fig. 107 og 108 giver en Forestilling om, hvorledes Cellerne af Bryggeri-Undergær ser ud. Anbringer vi dem i Ølurt ved 25° C. og foretager Dyrkningen i Løbet af et Døgn, saa danner der sig et tyndt, dejagtigt, lysegraat Bundfald. Cellerne hos Arten *Saccharomyces Carlsbergensis* har Udseende som Fig. 107; de fleste er ægformede eller pæreformede, kun faa er kort pølsedannede. Hos den anden i Fig. 108 afbildede Art, *Sacch. Monacensis*, danner der sig under lignende Dyrkningsforhold en Vege-

tation, som har stor Lighed med den førstnævnte Arts. I Fig. 108 er dog de runde og ellipsoide Celler særlig hyppige. Med disse to Arter indførte jeg mit Rendyrkningssystem i Carlsberg Bryggerierne;

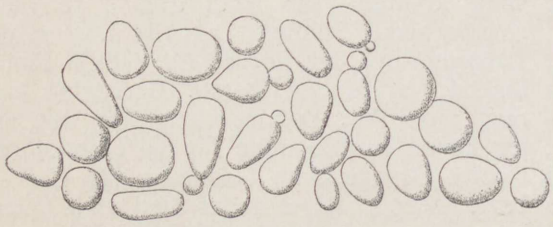


Fig. 107. SACCH. CARLSBERGENSIS.
Vegetation fra 1 Døgns Dyrkning i Ølurt ved 25° C. Forstørrelsen 1000 Gange lineær.

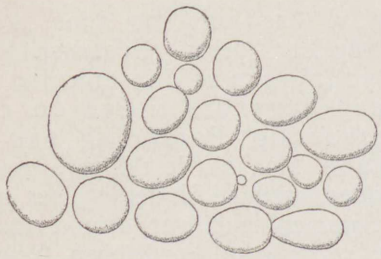


Fig. 108. SACCH. MONACENSIS.
Vegetation fra 1 Døgns Dyrkning i Ølurt ved 25° C. Forstørrelsen 1000 Gange lineær.

den førstnævnte har sit Navn efter disse Bryggerier, af hvis urene Gær jeg, som det erindres, udskilte den; den anden har jeg kaldet efter Bryggeri-Byen München, hvorfra den Gær stammede, hvori jeg fandt den.

Den førstnævnte Art giver i Bryggeriernes Gæringskar et temmelig tyndt Skumdække, en stærk Forgæring, langsom og slet Klaring af Vædsken og løstliggende Bundgærlag; ogsaa i Lagerkælderen gaar Klaringen temmelig langsomt for sig. Det er en Gær, som mangler de ydre Kendetegn, hvorpaa Bryggerne i Almindelighed sætter Pris, og dog giver den et udmærket og overordentligt holdbart Produkt. Den anden Art giver under de samme Omstændigheder et kraftigt Skumdække, svagere Forgæring, bedre og hurtigere Klaring og fastliggende Bundgær; dens Øl er fyldigere i Smag end den foregaaende Arts, men langtfra saa holdbart.

Gærsvampenes Celler bestaar af en Væg og et Indhold, hvilket kaldes Plasma. De formerer sig, som Fig. 107 og 108 viser, ved Knopskydning, men de har tillige en anden Art af Formering, idet der under visse Betingelser kan dannes Sporer i deres Indre. En Del af Plasmaet trækker sig sammen, afrunder sig (Fig. 109, *a—e*) og omgives med Væg (*f-j*). Antallet af Sporer er hyppig 4, men det kan variere fra 1 til 12. Sporerne er mere modstandsdygtige mod Indtørring og høje Temperaturer end de knopskydende Celler og kan under vanskelige Forhold tjene til at bevare Artens Liv i længere Tid, end det ellers vilde ske.

Ved Knopskydningen sørges der i Almindelighed for en rigelig Formering. Naar Cellerne befinder sig i en sukkerholdig Næringsvædske, formerer de sig ved Knopskydning og danner endeløse Generationer af Celler. De foran beskrevne to Bryggeri-Undergærarter bestaar paa dette Stadium hovedsagelig af Celler som de afbildede. De optræder da som Alkoholgæringsform, idet de kløver Sukkeret i Alkohol, Kulsyre og nogle Biprodukter. Andet Arbejde faar de ikke Lov til at udrette i Industrien; men lader vi det delvis udgærede Øl staa ved en ikke for lav Temperatur i en Kolbe, hvor Cellerne har rigelig Adgang til Luft, saa fortsætter de deres Formering, og fra at være Vædskeform udvikler de sig efterhaan-

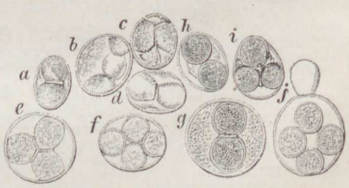


Fig. 109. SACCH. CEREVISIÆ.
De første Udviklingstrin af Sporerne. Forstørrelsen 1000 Gange lineær.

den til at blive Luftform, for tilsidst at brede sig ud over Overfladen som en slimet Hinde. I denne Tilstand er deres kemiske Virksomhed en helt anden end tidligere; de bevirker, at Øllets Alkohol forsvinder, og at en Affarvning af Vædsken finder Sted. De kemiske Enkeltheder ved denne Proces kendes endnu ikke. Cellernes Form bliver for de to Arters Vedkommende hele Tiden væsentlig den

samme. Hovedformen er den ovale; men der gives andre Arter, hos hvilke Hindens Celler er langstrakt pølsedannede; i dette Tilfælde er de ofte ordnede i store, grenede Kolonier og har et helt andet Udseende end Udsædens Celler.

En ret betydelig Del af mine Undersøgelser handler om Betingelserne for Knopskydning og Sporedannelse og om disse to Virksomheders indbyrdes Forhold. Medens fri Ilt er en absolut nødvendig Betingelse, for at Sporedannelsen skal kunne finde Sted, viser det sig, at Knopskydning ogsaa kan foregaa under Forhold, hvor der ingen fri Ilt er tilstede. Angaaende Temperaturens Indvirkning kunde jeg opstille den Sætning som almengyldig for alle de egentlige Gærsvampe, at Sporedannelsen har lavere Temperatur-Maksimum end Knopskydningen, og at Sporedannelsens Temperatur-Minimum ligger højere end Knopskydningens. Ved Temperatur-Maksimum forstaas den højeste Temperatur, ved hvilken vedkommende Udvikling kan foregaa, og ved Temperatur-Minimum den laveste; det er altsaa Grænsetemperaturerne, hvorom Talen er. De yder i mange Tilfælde vigtige Skælnemærker mellem Arterne; dette gælder særlig om de maksimale Temperaturer. Ofte kan her to ellers nærstaaende Arter vise en Forskel paa flere Grader. Det højeste Temperatur-Maksimum, som jeg hidtil fandt, var 47° og laveste Temperatur-Minimum 0°.

Saalænge Forholdene tillader Cellerne at gaa frem ad Knopskydningens Bane, bliver de ved dermed. I Bryggerierne og Brænderierne avles derfor gennem lange Tider uhyre Antal af Generationer, udelukkende bestaaende af vegetative Celler, uden at der indskydes et eneste Led af Sporer. Naar Knopskydningen af en eller anden Grund maa standse, søger Cellerne at fortsætte Livet paa anden Maade; dette sker i Almindelighed derved, at de danner Sporer. Anbringer vi unge Gærceller i et fugtigt Kammer med Vand og rigelig Lufttilførsel paa Mikroskop-Bordet ved 25° C., saa vil de først en Tid lang formere sig ved Knopskydning og danne Kolonier, derefter indtræder Sporedannelsen, og saaledes, at den begynder i Koloniens Modercelle og derfra skrider videre ud til Koloniens yngre Led (Fig. 110); efter flere Dages Forløb vil der i Reglen ogsaa optræde Sporer i de yngste Celler, altsaa i Celler, som ikke selv endnu har skudt

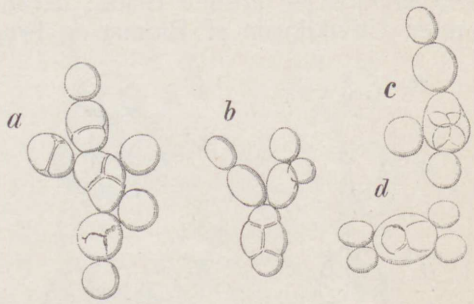


Fig. 110. SACCH. CEREVISIÆ.
Unge Celler i Vand efter 5 Døgns Henstand ved 25° C. *a* en Koloni, hvis Modercelle findes i Midten; Modercellen har skudt fem Knopper og derefter dannet Sporer i sit Indre; tre af Døttrecellerne indeholder ligeledes Sporer, den underste endnu i umoden Tilstand. I *b*, *c* og *d* er kun Modercellerne naaet til Sporedannelsen; Sporerne er umodne i *c* og *d*. Forstørrelsen 1000 Gange lineær.

Knopper. Dette Forsøg lærer os, at Cellerne er i Stand til direkte uden forudgaaende Knopskydning at danne Sporer.

Sporerne besidder, ligesom den sædvanlige Gærcelle, en ganske mærkværdig Evne til at skifte Form og Natur. Anbringes en Spore i en god Næringsvædske f. Eks. Ølurt, saa svulmer den op, og naar vi lader den blive der en Tid lang, begynder den at udskyde Knopper, d. v. s. den bliver til en Gærcelle. Der danner sig nu Generationer af Gærceller og endelig tilsidst, naar Vædsken kun er tilstede i et tyndt Lag, og der altsaa er rigelig Adgang for Luften, og ifald Temperaturen er passende, udvikles der ogsaa Sporer i nogle af de saaledes nydannede Gærceller. Tager vi derimod den i Næringsvædsken opsvulmede Spore kort forinden, den begynder at indrette sig paa at skyde Knopper, og anbringer den i en vandig Opløsning af svovlsur Kalk, saa finder der ingen Knopskydning Sted, men Sporen danner nu selv Sporer i sit Indre; vi staar da overfor det mærkværdige Forhold, at Sporen er bleven til en Sporemodercelle. Ejendommelig er den Kendsgerning, at alle Mellemled springes over. Fig. 111 viser os dette Forhold; se Figurforklaringen.

Sporen kan paa en vis Maade lignes

ved Frøet hos Blomsterplanterne, og Sporemodercellen med Frugten. Naar et Frø spirer, dannes der, som bekendt, først et vegetativt System bestaaende af Rod, Stængelstykker og grønne Blade; derefter kommer Udviklingen af Blomst og Frugt.

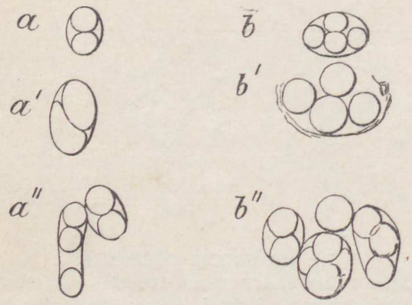


Fig. 111. EN VINGÆRSVAMP.

a en Sporemodercelle med to Sporer, a^1 Sporerne er ved Dyrkning i Ølurt blevne opsvulmede. Ved den derefter følgende Dyrkning i svovlsur Kalk er de begge. a^{11}, traadte ud af Modercellen; den ene er bleven pølsedannet og har i sit Indre udviklet tre Sporer; den anden er bleven ellipsoid og har udviklet to Sporer. *b* en Sporemodercelle med fire Sporer. b^1 viser, at disse efter Dyrkning i Ølurt er svulmede op og Modercellens Væg ifærd med at opløses; forneden ses en Rest af den. b^{11} viser, hvorledes de tre Sporer efter Dyrkning i svovlsur Kalk derpaa selv har dannet Sporer i deres Indre; den fjerde Spore foroven har holdt sig uforandret. Forstørrelsen 1000 Gange lineær.

Den samme Gang i Udviklingen finder vi hos Svampene. Flere af mine Læsere har muligvis haft Lejlighed til at se Svampedriverier f. Eks. paa Rosenborg. De vil da have bemærket, at der af Sporen udvikles et hvidt, trævlet Svampevæv, og først efter nogen Tids Forløb danner dette smaa, hvide, knoldformede Legemer, der endelig tilsidst udvikler sig til Frugterne, de saakaldte Champignons, hver med sin Stilk og sin runde Hat, og paa dennes Underside findes de som Radier anordnede Blade, der bærer de brune Sporer; altsaa ogsaa her har vi en hel Række Mellemled i Udviklingen fra Spore til Spore. Gærsvampene er, som jeg foran paaviste, en mærkelig Undtagelse i den Henseende.

Efterat Rendyrkningen er blevet indført, har vi lært, at der ogsaa af Kulturgærarterne findes et meget stort Antal Racer og Varieteter. Som alle levende Væsener er Gærsvampene underkastet Variation, og, saavidt vi kan se, hverken i højere eller lavere Grad end de højere Planter. De i Industrien dyrkede Gærsvampe kan uden Overdrivelse siges at høre til vore vigtige Kulturplanter, og der er derfor ogsaa alene af den Grund al Aarsag til at underkaste deres Variations- og Arvelighedsforhold et nøje Studium. En af de Indvendinger, der blev rejst mod mit Rendyrkningssystem, kort efter at jeg havde indført det i Praksis, var den, at Variationen skulde være særlig stor hos Gærsvampene, og saa stor, at man ikke vilde kunne holde Rede derpaa. Encellekulturen, som jeg anvendte, mente man vilde i kort Tid komme ind paa helt nye Baner og blive til noget helt andet end den var, da jeg afleverede den til Driften. Gennem de mange Aars Erfaring i de talrige Fabriker og Laboratorier Verden over, hvor der nu arbejdes med Rendyrkningssystemet, har vi imidlertid lært, at vi kan dyrke disse mikroskopiske Væsener mindst med den samme Sikkerhed som vore højere Planter i Have-, Land- og Skovbrug.

Variationen er den ene af de to store Hovedmagter, som behersker alle levende Væsener. Det er den, som fremkalder Omdannelserne og bevirker, at det hele kommer mere eller mindre i Bevægelse. Den anden af disse Magter er af en konservativ Art, vi kalder den Arvelighed; den gaar ud paa at gentage det bestaaende, at fæstne det og bevare det, og den modsætter sig det nye, som Variationen bringer frem; af og til bliver den dog tvungen til at give efter. Uden denne konservative Magt vilde Arternes Kendetegn hurtig blive udviskede. Naar en Varietet træder frem, kan dette dels bero paa en i Cellen selv liggende Faktor, dels tillige paa en Indvirkning af ydre Faktorer. Enhver Celle er et Produkt af to Kategorier af Faktorer, den er paa den ene Side betinget af de omgivende Forhold og paa den anden Side af, hvad Forfædrene har overført paa Afkommet. I sidstnævnte Henseende rummer den i Virkeligheden en indviklet Historie, som strækker sig meget langt tilbage. Alt dette gælder lige saa godt om de laveste som om de højeste Organismer. Enhver Organisme har modtaget Præg af sine Forfædre, modtaget Arv i forskellig Retning af dem. Det er det, som jeg kaldte det historiske, Resultatet af de indre Faktorer. Det behøver imidlertid ikke i ethvert Tilfælde at vise sig; det kan undertiden ligge skjult gennem flere

Led, og derpaa pludselig træde frem for Dagens Lys.

Der er visse Karakterer som Gærcellen absolut holder fast ved og ikke vil opgive; hertil hører dens Evne til at fremkalde Alkoholgæring, til at omdanne Maltsukker til Druesukker, Rørsukker til Invertsukker osv., kort sagt hvad vi kalder Enzymvirkningerne overfor Sukkerarterne. Alle mine Forsøg paa at bringe Cellerne bort fra disse Baner gav bestandig kun et negativt Resultat.

I andre Henseender er det let at fremkalde en livlig Variation, det gælder f. Eks. om Cellernes Form. Under Indvirkningen af visse Varmegrader indtræder stærkt iøjnefaldende Formændringer. Som Eksempel tages her den forannævnte *Sacch. Carlsbergensis*. Dens Grænser for Knopskydning i Ølurt er $33^1/_2{}^0$ C. og 0^0. Udsædens Celler er afbildede i Fig. 107. Imellem 0^0 og 9^0 C. tager de nydannede Celler gennemgaaende til i Størrelse, og mange bliver langstrakte; der opstaar kort sagt Kolonier som de i Fig. 112 afbildede, medens Varmegrader over 9^0 C. giver Udsædens ovale Form. Der er andre Gærarter, hos hvilke det netop er den høje Temperatur, der bevirker, at den ellers ovale Celle strækker sig og danner Kolonier som de i Fig. 112 fremstillede. Arterne reagerer forskelligt ogsaa overfor andre Indvirkninger; der er her et helt Spil af forskellige Yttringer, som hjælper os til at skelne den ene Art fra den anden.

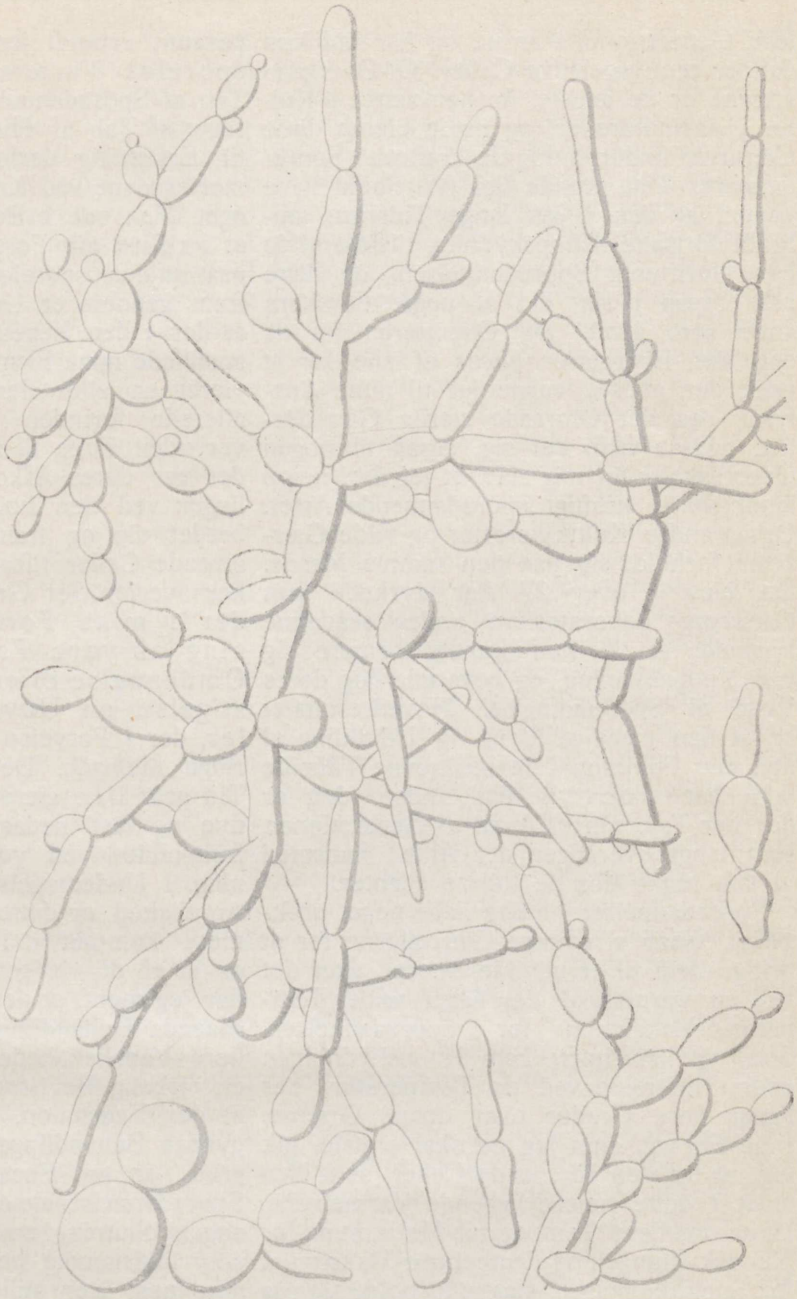


Fig. 112. SACCH. CARLSBERGENSIS.
Vegetation fra 2—3 Mndrs. Dyrkning i Ølurt ved c. $^1/_2{}^0$ C. Forstørrelsen 1000 Gange lineær.

Det er i det foregaaende omtalt, at Kulturgærarterne i Fabrikerne gennem ende-

løse Generationer Aar ud og Aar ind kun danner rent vegetative Celler. Øl-Overgærarterne er de ældste, de har været i Kultur i Aarhundreder, og netop blandt disse Gærarter finder vi dog de kraftigste Sporedannere. Man kunde her tværtimod have ventet, at den i saa lange Tidsrum uafbrudt fortsatte Knopskydning tilsidst vilde have fortrængt Sporedannelsen, og dette blev ogsaa i sin Tid af nogle Forskere anset som givet. Da Overgæren fra de engelske Bryggerier anses af alle for at være den ældste, valgte jeg til mine Analyser paa det Omraade særlig Gær derfra; og saa viste det sig, ogsaa til nogen Overraskelse for mig selv, at jeg deri netop fandt særlig kraftigt sporedannende Arter. Ogsaa andre Kulturgærarter og vilde Gærarter forholdt sig paa den samme Maade. De blev i over 27 Aar dyrkede paa Carlsberg Laboratorium under saadanne Forhold, at de kun kunde formere sig ved Knopskydning, og bevarede dog deres Evne til Sporedannelse. Hovedresultatet er, at den ensidige Brug og Udvikling af den ene Funktion i de beskrevne Tilfælde ikke har undertrykt den anden, dog er der her Tale om et Antal af Generationer, som langt overstiger det Antal, hvormed vi kan regne hos de højere Planter.

Sporedannelsen er dog ikke noget urokkeligt. Naar vi dyrker Gærcellerne for at bringe dem til at udvikle Sporer, sker det ved en Varmegrad, der ligger under Temperatur-Maksimum for Sporedannelsen. Som vi har hørt, kan Knopskydningen endnu indtræde ved en Temperatur, der ligger flere Grader over denne Grænse. I de Forsøg, som jeg nu skal omtale, gik jeg ud fra den Ide, at de Celler, som blev avlet i dette højere liggende Varmebælte, altsaa imellem Temperatur-Maksimum for Knopskydningen og Temperatur-Maksimum for Sporedannelsen, maatte forholde sig paa en særegen Maade. Det viste sig da ogsaa, at der ved en saadan Dyrkning hurtig fremkom en Vegetation, som kun i ringe Grad var i Stand til at udvikle Sporer, men som under gunstige Forhold dog let blev bragt tilbage til det normale; men idet jeg fortsatte denne Dyrkning igennem en Række Kulturer, hvorved den ene blev indpodet fra den anden, og altsaa talrige Generationer blev avlet ved den høje Temperatur, erholdt jeg tilsidst en konstant sporeløs Varietet. Dette fuldstændige Tab af Sporedannelsesevne var ogsaa ledsaget af Tab af Hindedannelsesevne, men til Erstatning derfor var Cellernes Formeringsevne ved Knopskydning blevet forøget. Man var i Begyndelsen tilbøjelig til at forklare mit Forsøg som beroende derpaa, at den sporeløse Form var kommen frem gennem et Udvalg, idet man mente, at der i den Vegetation, med hvilken jeg anstillede mine Eksperimenter, maatte have været en eller flere Celler tilstede, som allerede forinden Forsøgets Begyndelse var uden Evne til at danne Sporer, og at det var deres Afkom, som ved Behandlingen ved den højere Temperatur havde bredet sig og trængt de normale, sporegivende Celler tilbage. Kort sagt: vi staar her overfor det Grundspørgsmaal, om der i mine Forsøg under Indvirkning af ydre Faktorer er Tale om Omdannelse eller kun om en Begunstigelse, en Udvælgen af visse Celler, der i Forvejen var tilstede, om end i ringe Mængde. De fleste Forskere i vor Tid gaar ikke gærne med til at antage, at nye og fast nedarvelige Karakterer kan fremkaldes ved ydre Faktorers Indvirkning. I Undersøgelserne over Variation og Arvelighed er dette Spørgsmaal mere og mere kommet i Forgrunden, og da det er et af de vigtigste paa dette Omraade, har jeg ment, at det fortjente en i Dybden gaaende Behandling. Forsøgene frembyder flere Vanskeligheder, hvis man vil opnaa en virkelig Bevisførelse. Det er ikke nok, at den Vegetation, med hvilken man begynder Behandlingen ved den høje Varmegrad, er en Encellekultur med en rig Sporedannelsesevne, og at man ved Forsøgets Slutning ender med en Vegetation, som fuldstændig har opgivet Sporedannelsesevnen. Der stilles tillige den Fordring til Udgangspunktets Celle, at den Vegetation, som den grundlægger, ikke maa indeholde en eneste Celle uden Evne til at danne Sporer; den maa kort sagt være fuldstændig inde paa Sporedannelsens Bane, for at vi kan slutte, at den sporeløse Vegetation, der ved Forsøgets Slutning udvikler sig deraf, virkelig skyldes en Omdannelse. Vi begynder altsaa med sporegivende Celler uden en eneste spore-

løs Form og ender med lutter sporeløse Celler, og dette Resultat erholdes med enhversomhelst *Saccharomyces*-Celle, der tages som Udgangspunkt. Den Omdannelse, der saaledes er kommen frem under Paavirkning af ydre Faktorer (navnlig den høje Temperatur) har som angivet vist sig at være nedarvelig og af en aldeles fast Natur. De ældste af mine sporeløse Former er nu over tyve Aar gamle, og er i Løbet af den Tid gaaet gennem endeløse Generationer under de mest forskellige Dyrkningsforhold; de har desuagtet holdt fast ved de nye, nedarvede Egenskaber og har ikke bevæget sig et eneste Skridt tilbage henimod Udgangspunktet.

Den faste Omdannelse foregaar ikke paa en Gang; i de ved den høje Temperatur først udviklede Slægtled opstaar nemlig Celler, som kun foreløbig har opgivet Sporedannelsen, og Celler, der befinder sig paa et Mellemstadium imellem disse og Udgangspunktets kraftige Sporedannere.

Denne Omdannelse er Udtryk for en Lovmæssighed, der har sin Gyldighed for *Saccharomyces*-Arterne overhovedet. At den ogsaa kan foregaa i Naturen er højst sandsynlig; mine Undersøgelser viser i den Retning.

Jeg har i den foregaaende Fremstilling af Forsøgene over Omdannelse, fremkommen ved ydre Faktorer, dvælet ved Fremgangsmaaden og Tankegangen, for dog paa et Punkt at give en Forestilling om de Veje, jeg følger i min teoretiske Forskning.

Andre af mine Studier paa dette Omraade stilede direkte mod et praktisk Maal. Hertil hører de Forsøg, ved hvilke jeg under en vis Behandling af Bryggeriundergærarter fremstillede nye Racer dels med stærkere, dels med svagere Gæringsevne og i sidstnævnte Tilfælde tillige med Evne til at give en bedre Klaring af Øllet, end de Former havde, hvorfra jeg gik ud.

Til mine Arbejder i de senere Aar hører Forsøg over Over- og Undergærformerne. De Gæringsfænomener, som betegnes ved disse Navne, vil være kendt af alle de Læsere, som har haft Lejlighed til at aflægge et Besøg i Bryggerier og Brænderier. Naar man arbejder med Overgær, stiger der i Gæringens Begyndelse tykke Gærmasser op til Vædskens Overflade, og en Del af Gæren sætter sig fast i store Lag i Randen af Karret. I et Kar med Undergær er det kun faa Celler, vi finder foroven i Vædsken, men derimod et tykt Lag paa Bunden. Til nogle Ølsorter anvender man Overgær, til andre Undergær. Overgær bruges desuden i Spiritus- og Pressegærfabrikationen. De to Fænomener træder i Praksis frem med saa stor Tydelighed, at man aldrig er i Tvivl, om man staar overfor det ene eller det andet af dem. Derimod har der blandt Gæringskemikerne og Fysiologerne været megen Strid, om Over- og Undergærformerne var selvstændige Former eller, om den ene udviklede sig af den anden; snart har man sagt det ene, snart det andet. Det er paa disse Omraader saa let at diskutere, men saa vanskeligt gennem Forsøgenes trange Vej at bringe Klarhed frem. Det efterfølgende viser dette. Som Eksempel paa mine Forsøg vil jeg her først dvæle et Øjeblik ved dem, som blev udført med de to forannævnte Bryggeriundergærarter. De viste begge en overvejende Tilbøjelighed til at danne typiske Undergærceller; dog havde nogle af Cellerne paa en kendelig Maade fjærnet sig fra Undergæringsbanen, og enkelte grundlagde endogsaa en Vegetation med tydelig, om end ikke stærk Overgæring. I 400 Analyser, hver med 1 Celle som Udgangspunkt, fandtes hos *Sacch. Carlsbergensis* i 27 Tilfælde Overgæring; hos *Sacch. Monacensis* under de samme Omstændigheder kun i 2 Tilfælde Overgæring.

Bevægelsen fra Overgærformen til Undergærformen foregaar med endnu større Vanskelighed. Hos den forannævnte Bryggeriovergær *Sacch. cerevisiæ*, fandtes saaledes iblandt 2423 Celler kun 7, som fremkaldte Undergæring, og iblandt 5644 Celler af en anden Overgærart var der kun 1, som afveg fra Overgæringsbanen. Alle disse Tal betegner vegetative Celler. Med den sidstnævnte Art blev der ogsaa anstillet en Række Forsøg, til hvilke Sporer toges som Udgangspunkt; der blev isoleret 9948 Celler, og i dette store Antal fandtes ligeledes kun 1 eneste Celle, der ikke var en typisk Overgærcelle. Celleantallene angiver bestandig Tallet af

særlige Gæringsforsøg med tilhørende Analyser.

Hovedresultatet er, at de to fysiologiske Former Over- og Undergær ikke er selvstændige, men at den ene kan udvikle sig af den anden. Almindeligt var det at iagttage, at en eneste Celle grundlagde en Vegetation, hvori der fandtes saavel Over- som Undergærceller og Celler, som indtog et Mellemstadium i den nævnte Henseende.

Det er i det foregaaende omtalt, at de egentlige Gærsvampes Forhold til Sukkerarterne er af en overordentlig fast Natur. I dette Forhold og i de forskellige Kombinationer, det frembyder, har vi derfor udmærkede Arts- og Gruppekarakterer. Jeg fandt, at Hovedantallet af dem forgærer Rørsukker og Druesukker og en stor Del af dem, omend langtfra alle, ogsaa Maltsukker. Ølurt og Mæsk indeholder fortrinsvis denne Sukkerart; Bryggerierne og Brænderierne maa derfor søge deres Paasætningsgær i den sidstnævnte Gruppe af Gærarter.

Da der var skabt en sikker Metode til Fremstilling af rene Kulturer, og da Arbejderne med de rendyrkede Arter rigtig tog fat, fik Spørgsmaalet om deres Bevarelse i levende Tilstand en særlig Betydning saavel i praktisk som i teoretisk Henseende. Efter forskellige Prøver fandt jeg, at en 10 %'s Rørsukkeropløsning egner sig fortrinligt hertil. De allerfleste Arter holder sig levende deri i en lang Række Aar; nogle af mine Arter havde tilbragt over 26 Aar deri, da de sidst blev prøvede, og var fremdeles levende.

Efter denne Metode opbevares i Almindelighed de talrige Gærarter, hvoraf nutildags ethvert gæringsteknisk Laboratorium er i Besiddelse, for med kort Varsel at kunne forsyne Praktikerne med den ønskede Gær. Vi har saaledes ogsaa paa denne Maade faaet disse Organismer i vor Magt. De staar i vore Skabe opstillede i Rækker hver i sin Kolbe, ofte i Hundredevis, rede til hvad Øjeblik det skal være at adlyde vore Befalinger.

Til en saadan Opbevaring har jeg ogsaa anvendt en Indtørring af Celler paa Bomuld i smaa Kolber eller Flasker. Reglen var, at Arterne under disse Omstændigheder ikke holdt sig levende længere end 1—2 Aar. Dette er ogsaa i Almindelighed alt, hvad der behøves. Metoden har vist sig at være udmærket til lange Forsendelser, og ved Hjælp af den er Bryggerier i Asien, Australien og Sydamerika blevet forsynet med rendyrkede Gærarter fra Laboratorierne i Europa.

Efterat Rendyrkningen var indført, gik det i Aaringer fremad med Undersøgelser over Gærarternes kemiske og fysiologiske Forhold. Interessen for systematiske Beskrivelser var skudt helt tilbage; i Almindelighed brød man sig ikke en Gang om at give de nye Arter særegne Navne. Efterhaanden blev dog deres Antal, dels gennem mine, dels gennem andres Undersøgelser, saa stort, at en stærk Trang til at faa et Overblik over deres systematiske Forhold gjorde sig gældende. I 1904 udgav jeg derfor mine systematiske Grundlinier. De foregaaende Undersøgelser drejer sig, som bemærket, om de egentlige Gærsvampe. Disse sammenfattes af mig i en Slægt, hvortil jeg knytter det gamle Navn *Saccharomyces*. Foruden denne har vi nu 7 andre Slægter. Af hertilhørende Arter er der beskrevet omkring 100. Hos min Forgænger paa det systematiske Omraade, Reess, findes kun 1 Slægt, og under denne beskrives 7 Arter. Det er altsaa en meget betydelig Forøgelse, der har fundet Sted.

Foruden de til Familien *Saccharomycetes* hørende Slægter og Arter, findes der flere andre Svampe, som ogsaa fremkalder Alkoholgæring og derfor ligeledes kaldes Alkoholgæringssvampe; hertil hører f. Eks. Slægten *Mucor* og nogle andre Skimmelsvampe. Flere af disse Svampes kemiske og fysiologiske Forhold har ligeledes været Genstand for min Forskning, men Hovedvægten blev dog lagt paa Saccharomyceterne, fordi denne Familie indeholder de for Gæringsindustriens forskellige Grene vigtigste Arter.

I mine første Arbejder paa Carlsberg Laboratorium findes flere Meddelelser om Bakterier og deres Virksomheder. Mine Studier paa dette Omraade samler sig senere navnlig om de i vædskende Ekzem (en almindelig Hudsygdom) optrædende Arter og om Eddikesyrebakterierne. Om de sidstnævnte har jeg offentliggjort fire Afhandlinger. Eddikesyrebakterierne er

vigtige for Industrien i dobbelt Forstand, dels fordi de anvendes direkte i Eddikefabrikationen, og dels fordi de er farlige Sygdomsvækkere, navnlig i Ølfabrikationen og i Vingæringen. Af disse Undersøgelser vil jeg i Tilslutning til de foran omtalte over Temperaturen som formdannende Kraft hos de egentlige Gærsvampe her drage en af mine Undersøgelser frem over *Bacterium aceti;* det er en af de Arter, som tidligere blev kaldt *Mycoderma aceti*, og som er nævnt i det foregaaende.

Dens Temperatur-Minimum i Dyrkning paa Dobbeltøl er 4—5° C., Optimum 34° C. og Maksimum 42° C. Saavel ved de lave Temperaturer som navnlig ved Varmegrader omkring Optimum optræder den i sin typiske Skikkelse nemlig i Kædeform, Fig. 113. Overfører vi nogle Celler af en saadan Vegetation i en Kolbe med den samme Næringsvædske og stiller den derpaa hen ved 40 –40½° C., vil der efterhaanden foregaa en hel Omdannelse af Cellerne, og der vil efterhaanden udvikle sig, hvad vi kan kalde Artens Traadform, Fig. 114. Vidste vi ikke, at denne havde udviklet sig af Kædeformen, vilde vi antage, at den hørte til en hel anden Art, saa forskellige er de to Former fra hinanden. Naar Traadformen atter dyrkes ved 34° C. under de samme Omstændigheder, vender Kædeformen tilbage.

Den under Temperaturens Indvirkning fremkaldte Vekslen i Cellernes Form og Størrelse gælder for en hel Gruppe af Arter, henhørende til Eddikesyrebakteriernes Afdeling. Og vi staar saaledes ogsaa her overfor en Lovmæssighed, der ikke er indskrænket til en enkelt bestemt Art.

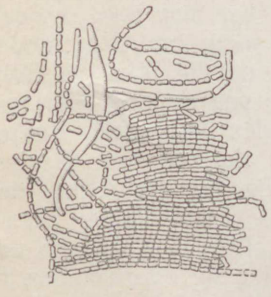


Fig. 113. BACT. ACETI. Vegetation fra en ung Hindedannelse paa Dobbeltøl ved 34° C. Forstørrelsen 1000 Gange lineær.

Idet jeg hermed slutter de foranstaaende smaa Meddelelser, henviser jeg de Læsere, der maatte ønske at faa et fuldstændigt Indblik i Undersøgelserne, til Afhandlingerne i Carlsberg Laboratoriets Tidsskrift; her findes ligeledes den paagældende Literatur opført. — Teoretiske og praktiske Strømme gaar sammen i mine Arbejder, og de giver ligesaa vel Bidrag til Gæringstekniken og Gæringskemien som til Bakteriologien. Da deres Maal er at bringe Reformer frem, maatte de i lange Tider komme til at staa i Kampenes Tegn, men de har tillige bragt mig den Forskerglæde, hvorom Pasteur taler, naar han siger:

„Der er Intet, der opfylder Forskeren mere end det at gøre nye Opdagelser, dobbelt stor bliver dog hans Glæde, naar han ser, at de finder en direkte Anvendelse i det praktiske Liv."

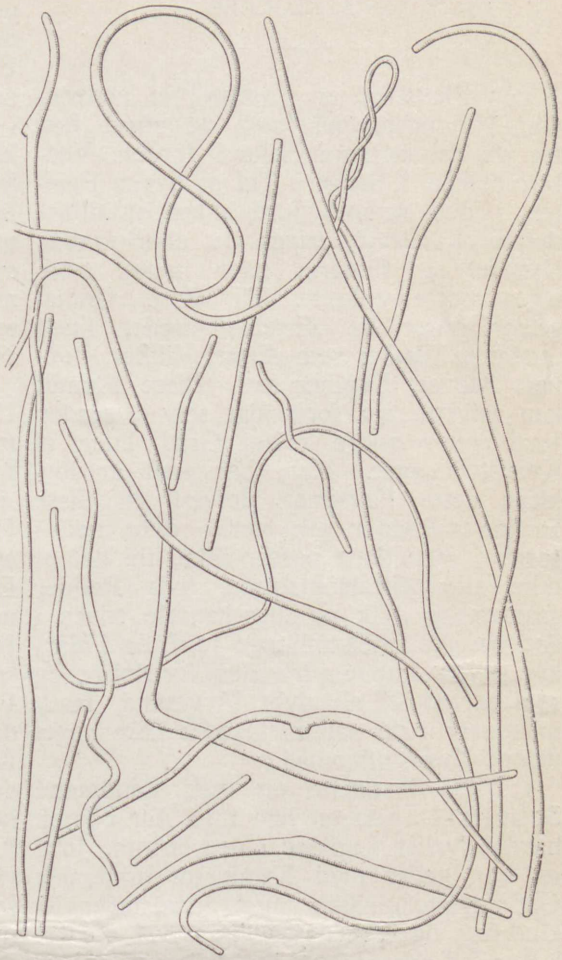


Fig. 114. BACT. ACETI. Traadformen fra 1 Døgns Dyrkning i Dobbeltøl ved 40—40½° C. Forstørrelsen 1000 Gange lineær.