

# Ueber das Vorkommen von Cellulose in Bacillen, Schimmel- und anderen Pilzen.

Von

**Isidor Dreyfuss.**

(Der Redaction zugegangen am 27. Juli 1893.)

Seit Payen<sup>1)</sup> besteht Uneinigkeit der Meinungen darüber, ob die Cellulose, der Zellwandbestandtheil der Pflanzen, ein chemisch einheitlicher Körper sei, höchstens durch sogenannte «incrustirende» Substanzen in ihrem physikalischen Verhalten modificirt, oder ob der Begriff der Cellulose mehrere Arten verschiedener Cellulosen umfasse.

Rudolf Reiss<sup>2)</sup> stellte die ganze bezügliche Litteratur zusammen und kam schon auf Grund dieser Sammlung zu dem Ergebniss, dass «die Einheitstheorie für den Grundstoff der Zellmembranen zweifelhaft geworden ist», durch die darauf folgenden eigenen Versuche botanischer und chemischer Natur aber wurde er darauf geführt, in den Zellwänden verschiedener Pflanzensamen eine von der gewöhnlichen Cellulose verschiedene Substanz, «die Reservecellulose» mit Sicherheit anzunehmen. Diese Angabe nun, dass diese sogenannte Cellulose kein einheitlicher Körper sei, wurde seitdem durch mehrere Untersuchungen bestätigt.

E. Schulze stellte die bisher bekannten Versuche der Art in zwei Mittheilungen<sup>3)</sup> zusammen und reihte daran seine eigenen, aus denen als unzweifelhaft hervorgeht, dass neben

<sup>1)</sup> Mémoires sur les développements des végétaux. 1844.

<sup>2)</sup> Ueber die Natur der Reservecellulose und über ihre Auflösungsweise bei der Keimung der Samen. Landwirthschaftl. Jahrbücher, Bd. 18, S. 711.

<sup>3)</sup> Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 14, S. 227, und Bd. 16, S. 387.

der Cellulose, welche die bisher aufgestellten Merkmale trägt, noch andere Cellulosen in den Pflanzenzellwänden enthalten sind. E. Schulze geht bei seinen Versuchen von der Angabe Flechsig's<sup>1)</sup> aus, dass die Cellulose ein Anhydrid der Dextrose darstelle und beim Kochen mit verdünnten Mineralsäuren sich in diese überführen lasse. Er betont aber mit Recht<sup>2)</sup>, dass sich diese Angabe Flechsig's nur auf einen Versuch mit einem einzigen Objecte, der Baumwollcellulose, stützt und macht nun selbst Versuche mit verschiedenen anderen Pflanzen, aus denen sich als Resultat ergibt, dass, wie bei der Baumwolle, so bei sämtlichen anderen untersuchten Pflanzen in der Cellulosenlösung nach der Hydrolyse sich Traubenzucker nachweisen lasse, dass aber neben diesem, und zwar manchmal in ganz beträchtlicher Menge, sich noch andere Zuckerarten finden, die also, da sie natürlich andere Anhydride haben wie die Dextrose, von anderen Cellulosen abstammen müssen. Alle Cellulosen aber, die sich so in den Zellwänden der Pflanzen nachweisen lassen, theilt er nach einem ganz anderen Gesichtspunkte, nämlich nach der Löslichkeit in verdünnten Säuren<sup>3)</sup> in zwei grosse Gruppen: einmal in diejenigen, welche das bisher als strenge Forderung aufgestellte Merkmal der Unlöslichkeit in verdünnter Säure tragen, die «ächten Cellulosen», sodann die in verdünnter Salzsäure löslichen und also bei seiner Behandlung im Salzsäureextract befindlichen Zellwandbestandtheile, die beim Kochen ebenfalls in Zucker übergehen, die er «Hemicellulosen» nennt.

So fand er neben dem Traubenzucker, theils «von ächter», theils von «Hemicellulose» abstammend, u. A. Mannose und Pentaglucose, und er schlägt vor, da die betreffenden Cellulosen kaum isolirt gewonnen werden können, einfach immer auf die Zuckerart zu untersuchen, die sie bei der Hydrolyse liefern und sie auch nach diesen zu benennen,

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 7, S. 523.

<sup>2)</sup> 2. Mitthlg. (Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 16, S. 389).

<sup>3)</sup> 2. Mitthl., S. 390.

so nämlich, dass man statt der Endung «-ose» die Endung «-an» anhänge, z. B. das Anhydrid der Galactose Galactan nenne, wie es in einzelnen Fällen schon vorher gebräuchlich gewesen. E. Schulze lässt die Frage zunächst noch offen, ob, wenn sich irgendwo nach der Hydrolyse mehrere Zuckerarten zugleich finden, dann dieselben aus einer Mischung oder aus einer chemischen Verbindung verschiedener Cellulosen hervorgegangen sein können.

Es erscheint nun auffallend, dass E. Schulze bei seinen Versuchen, die zumeist im natürlichen System ziemlich hochstehende Pflanzen betreffen, gerade bei den Pflanzen, die von den behandelten am niedrigsten stehen, den Palmaceen, von der gewöhnlichen Cellulose verschiedene Cellulosenkörper nachweisen konnte. Aus diesem Grunde scheint es wichtig, in dieser Richtung den niedrigeren Pflanzen, besonders den Kryptogamen die Aufmerksamkeit zuzuwenden. Ich folgte gerne der dahin gehenden Anregung des Herrn Prof. F. Hoppe-Seyler, jene Untersuchungen auf Umwandlungsfähigkeit der Cellulose in Dextrose und, wo es möglich war, in andere Zuckerarten, des fernern auf ihre Scheidung in «ächte» und in «Hemicellulosen» weiter auszudehnen gerade auf die im System am niedrigst stehenden Körper, auf höhere Pilze, Schimmelpilze und Bacterien. Eingeschlossen in die Versuchsreihe wurde auch ein Versuch mit verkästen tuberculösen Lymphdrüsen, in denen, wie in allem tuberculösen Gewebe und Blut, nach einer Angabe von Ernst Freund<sup>1)</sup> Cellulose enthalten ist.

Was zunächst die höheren Pilze betrifft, so ist man sowohl unter Botanikern wie Chemikern noch sehr im Zweifel über die Natur ihrer Zellmembran. Während C. Richter<sup>2)</sup> eine eigene, von der gewöhnlichen Cellulose verschiedene «Pilzcellulose» leugnet, hält De Bary<sup>3)</sup> an dieser fest und findet ihre Unterscheidungsmerkmale von der Cellulose höherer

<sup>1)</sup> Wiener medic. Jahrbücher, 1886, S. 334.

<sup>2)</sup> Sitzungsber. d. Wiener Acad., Bd. 83, S. 494.

<sup>3)</sup> De Bary, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, S. 8.

Pflanzen in ihrer Unlöslichkeit in Kupferoxydammoniak, sowie in dem Mangel der Jodschwefelsäure-Reaction. Jedoch werden wir weiter unten sehen, dass in beiden Punkten die Pilze sich nach gehöriger Behandlung ähnlich verhalten wie die höheren Pflanzen.

Wir kommen nun zu den Bacterien. Während über die chemische Zusammensetzung der Hefepilze seit lange und fleissig gearbeitet wird, und speciell auch die Cellulose dabei berücksichtigt wurde, während ebenso der Chemismus der Stoffwechselproducte der Spaltpilze schon mehrere Untersuchungen erfahren hat, war über die chemische Zusammensetzung der Spaltpilze selbst bis in die letzten Jahre hinein so gut wie gar nichts bekannt. Brieger<sup>1)</sup> macht gelegentlich seiner Untersuchungen über die Spaltungsproducte der Bacterien allerdings auch schon Angaben über die chemische Zusammensetzung der Bacillen selbst, aber er macht keine Angaben über Cellulose.

Den Grund nun für jene Thatsache, dass die analytische Forschung die Ausscheidungsproducte der Bacterien untersuchte, sich um die Urheber jener Metamorphose aber nicht kümmerte, suchten Nencki und Schaffer<sup>2)</sup>, die ersten Untersucher auf diesem Gebiete, mit vollem Rechte nicht in der Schwierigkeit, die nöthigen Mengen von Material zu beschaffen, sondern vielmehr darin, dass die Trennung der isolirt zu behandelnden Culturen von der Nährflüssigkeit so ungemein schwer fällt. Denn bekanntlich sind die Bacillen so klein, dass sie bei unsern gewöhnlichen Filtern anfangs, die Poren passirend, ins Filtrat gehen, nachher aber dieselben verstopfen und ein weiteres Filtriren oder gar Auswaschen illusorisch machen. Nencki und Schaffer überwand diese Schwierigkeit dadurch, dass sie die Culturen mit verdünnter Mineralsäure fällten. Aber ihre Arbeit verliert hinsichtlich der Cellulose dadurch sehr an Bedeutung, dass sie die Culturen nachher

<sup>1)</sup> Ueber Spaltungsproducte der Bacterien. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 9, S. 7.

<sup>2)</sup> Ueber die chem. Zusammensetzung der Fäulnissbacterien. Journal f. pract. Chemie, Bd. 20 (N. F.), S. 443.

durch Leinwand abfiltrirten und mittelst Fliesspapiers trockneten. Dadurch musste natürlich fremde Cellulose in Menge hineinkommen und zweifelhaft werden, ob die am Schluss gefundene Cellulose von den Bacterien oder von jenen Fremdkörpern herrühre. Ebenso verhält es sich mit den andern Arbeiten aus demselben Laboratorium. So will Bovet<sup>1)</sup> Cellulose in den Bacillen des Erythema nodosum, und Albert Hammerschlag<sup>2)</sup> in Culturen von Tuberkelbacillen, ebenso nachher Nadina Sieber<sup>3)</sup> in Schimmelpilzen nachgewiesen haben. Aber alle diese Arbeiten leiden an dem oben genannten Mangel, der die Herkunft der gefundenen Cellulose zweifelhaft macht. Durchaus ungenügend war auch in all diesen Versuchen der Nachweis der Cellulose selbst, denn nach der der Kupferprobe voraufgegangenen Behandlung konnten wohl noch verschiedene reducirende Körper in der Substanz enthalten sein. Ausserdem hatte Hammerschlag auch Nährlösungen, die sehr reich an Kohlehydraten waren und so Fehlerquellen abgeben konnten.

Vorsichtiger war Livio Vincenzi<sup>4)</sup>, der durch Asbest abfiltrirte. Derselbe hatte aber in Bezug auf Cellulose negatives Resultat.

Positiven Befund ergaben dagegen die Versuche von A. Brown<sup>5)</sup> mit *Bacterium xylinum*. Besonders interessant ist dabei die Beobachtung, dass die Cellulose nicht nur, wenn sie aus Dextrose, sondern auch wenn sie aus Lävulose gebildet war, beim Kochen mit verdünnter Säure in Dextrose übergeht. Denn dadurch wird gezeigt, dass jene Bacterien aus irgend welchen Kohlehydraten, nachdem sie dieselben

<sup>1)</sup> Ueber die chemische Zusammensetzung der Bacillen des Erythema nodosum. Monatshefte f. Chem., Bd. 9, S. 1154.

<sup>2)</sup> Bacteriologisch-chemische Untersuchungen der Tuberkelbacillen. Monatshefte f. Chemie, Bd. 10, S. 9—18.

<sup>3)</sup> Beiträge zur chemischen Zusammensetzung der Schimmelpilze. Journal für pr. Chemie, Bd. 23, S. 418.

<sup>4)</sup> Ueber die chemischen Bestandtheile der Spaltpilze. Zeitschrift für phys. Chemie, Bd. 11, S. 181.

<sup>5)</sup> Chem. Soc. 1887, 1, S. 643, sowie 1886, 1, S. 432. Ref. s. Ber. d. deutsch. chem. G., Bd. 20, Referatsb. S. 580.

assimilirt, Cellulose selbständig zu bilden und ihrem Körper anzusetzen vermögen.

Hier anschliessen möchten wir einige Bemerkungen betreffend die Untersuchungen Ernst Freund's<sup>1)</sup> über Cellulose in Tuberkeln und im Blute Tuberkulöser. Denn sonderbarer Weise bezieht E. Freund die Cellulose, die er hier findet, nicht auf Anwesenheit von pflanzlichen Organismen, speciell von Bacterien, was doch so nahe läge, sondern er betrachtet die Cellulose als «eines der chemischen Substrate der bei der Tuberkulose auftretenden Wucherungen» und erinnert, daran anschliessend, wie zur Parallele, an jene Fälle, wo schon früher Cellulose bei thierischen Organismen, wie bei den Ascidien und Tunicaten, nachgewiesen sei. Was nun aber die Art betrifft, wie E. Freund seine Untersuchungen anstellte, so zeigt dieselbe verschiedene Mängel. Erstlich fehlt uns jede Angabe darüber, wie weit bei den Untersuchungen das Hineingelangen von fremder Cellulose vermieden wurde. Dass hierauf wahrscheinlich keine Rücksicht genommen wurde, dürfen wir wohl aus dem Umstande schliessen, dass zu den meisten der Versuche tuberkulöses Lungengewebe, das ja seiner Natur nach viel Cellulose intra vitam aufgenommen haben kann, verwandt wurde und so diesen meisten Versuchen von vornherein der Werth des etwaigen Resultats geraubt wurde. Aber auch bei den übrigen Untersuchungen und von einer etwaigen Unvorsichtigkeit abgesehen, ist der Nachweis der Cellulose keineswegs ein sicherer, und das Gleiche, was oben bereits bezüglich der Versuche mit Bacterien gesagt wurde, gilt auch hier. E. Freund extrahirt nämlich die zerkleinerten und gewaschenen Massen mit Alkohol, Aether und verdünnter Mineralsäure, unterwirft die übrigbleibenden «Kügelchen» der Hydrolyse und dann der Trommer'schen Probe. Das Kupfer wird reducirt, und nun hält er die ganzen nach der Säurebehandlung ungelöst bleibenden «Kügelchen» für Cellulose. Dass bei dieser wenig durch- und angreifenden Behandlung verschiedene reducirende Körper zurückbleiben konnten, die

<sup>1)</sup> A. a. O.

keineswegs besonders resistent zu sein brauchten und deshalb von der Cellulose sehr verschieden sein konnten, und dass daher auf diese Art ein einwandfreier Nachweis der Cellulose nicht gelingen kann, liegt auf der Hand. Wir werden weiter unten zeigen, wie wir die Cellulose isolirten, sodass nachher nach der Hydrolyse jeder andere reducirende Körper ausser von der Cellulose stammender Dextrose ausgeschlossen war, und so natürlich obigen Uebelstand vermieden.

Wir sehen also, wenn wir die Ergebnisse der Litteratur zusammenfassen, hinsichtlich der Bacterien keine unanfechtbaren Versuche über Cellulose, höchstens diejenigen von A. Brown, und was die höheren Pilze betrifft, Uneinigkeit, ob sie «gewöhnliche» oder «Pilzcellulose» enthalten. Diese Fragen behandeln die in Folgendem beschriebenen Versuche.

Der Weg, den ich im Allgemeinen einschlug, war in Kürze folgender: Die Objecte wurden — in den nöthigen Fällen nach vorhergehender Zerkleinerung — mit Wasser gewaschen, mit Alkohol, Aether, verdünnter Salzsäure (ungefähr 2%), verdünnter Natronlauge (ebenfalls etwa 2%) extrahirt, und zwar mit sämtlichen Extractionsmitteln längere Zeit (einige Tage) stehen gelassen und dann erwärmt. Der nach der Extraction mit diesen vier Medien bleibende Rest wurde sodann im Oelbad mit concentrirtem Aetzkali auf 180° erhitzt. Denn bei dieser Behandlung bleibt, wie F. Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> gezeigt hat, die Cellulose vollständig unverändert, während alle anderen organischen Substanzen sich zersetzen, eine Angabe, auf die G. Lange<sup>2)</sup> sogar eine quantitative Bestimmung der Cellulose gegründet hat. An diesem Verhalten der Cellulose gegen Aetzkali hat man eine scharfe Grenze für die Cellulose. Bis jetzt nun ist dies Verhalten nur für die eigentliche, die bisher aufgestellten Merkmale tragende Cellulose, die also bei der Hydrolyse Dextrose liefert, bekannt. Es könnte aber sehr wohl sein, dass bei den Pflanzen noch andere Cellulosen vorkommen, die andere

<sup>1)</sup> Ueber die Bildung von Huminsubstanzen, Zeitschrift für phys. Chem., Bd. XIII, S. 84.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. XIV, S. 283.

Zuckerarten liefern, und die gleichwohl jenes Verhalten zum Aetzkali zeigen. Jedenfalls ist dieses Verhalten, diese eminente Resistenz, für Cellulose sehr charakteristisch, und man hat darin ein vorzügliches Unterscheidungsmerkmal derselben gegen eine grosse Zahl von Kohlehydraten und andere Körper, die in den Pflanzen mit der Cellulose vereinigt vorkommen. Gestützt auf diese Eigenschaft ist man im Stande, auch in kleinen Quantitäten das Vorkommen der Cellulose festzustellen, und was besonders wichtig und angenehm erscheinen mag, es bleibt bei dieser Behandlung sogar die Textur des Gewebes vollständig erhalten, wovon man sich durch das Mikroskop leicht überzeugen kann. Man erhitzt nur mit sehr wenig<sup>1)</sup> Wasser und viel Aetzkali langsam und die Textur bleibt dann geschont. Die Anordnung bei der Kalischmelze war im Wesentlichen die gleiche, wie sie F. Hoppe-Seyler<sup>2)</sup> angegeben, und ihre Schilderung mag deshalb hier unterbleiben.

Bleibt nun nach diesem Prozesse ein ungelöster Rest, der nach Auflösung in concentrirter Schwefelsäure und Kochen der verdünnten Lösung den Nachweis von Traubenzucker gestattet, so darf es nach den oben citirten Versuchen F. Hoppe-Seyler's als sicher hingestellt werden, dass jener ungelöste Rest aus Cellulose bestand<sup>3)</sup> und es mag jetzt erkannt werden, wie unsicher, von allem Anderen abgesehen, die früheren Untersuchungen waren, die nach einfacher Extraction mit Alkohol, Aether und höchstens noch mit ganz verdünnter Natronlauge in dem Reste nach Cellulose suchten, in einem Reste also, der ganz gut andere Kohlehydrate von ähnlicher Zusammensetzung enthalten konnte, sowie andere Körper<sup>4)</sup>, die nach dem Kochen mit Säure Kupferoxyd reduciren, ohne Traubenzucker zu sein.

<sup>1)</sup> Die Substanzen sind, mit etwas Wasser befeuchtet, mit dem 10fachen Gewichte Aetzkali zu erhitzen. Verdünntes Kali kann zersetzend wirken (F. Hoppe-Seyler).

<sup>2)</sup> A. a. O., S. 77.

<sup>3)</sup> Auch Hemicellulosen können der Einwirkung des Aetzkali bei hoher Temperatur Widerstand leisten.

<sup>4)</sup> F. Hoppe-Seyler, Handbuch, 4. Aufl. — Landwehr, Ueber Mucin, Metalbumin und Paralbumin. Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 8, S. 114.

Es wurde also nach dem Erkalten die Masse — das wenige Wasser war durch den Kühler abgelaufen — aus der Retorte herausgewaschen, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, und, da sich dabei in der Regel sehr viel Kohlensäure entwickelte, einige Zeit zum Absetzen des Ungelösten im Vacuum stehen gelassen. Sodann wurde das Ganze durch Asbest filtrirt, das auf dem Filter gebliebene gut gewaschen und das ganze Filter im Luftbade bei  $105^{\circ}$  getrocknet, die getrocknete Masse bis zur Durchtränkung des Asbestes mit concentrirter Schwefelsäure übertropft und kurze Zeit über Schwefelsäure stehen gelassen. Die Masse ward nachher mit etwa der zwanzigfachen Menge Wasser übergossen, so dass sie ungefähr 5% Säure enthielt und über freier Flamme 1—2 Stunden erhitzt, noch heiss neutralisirt (in der Regel mit Baryumcarbonat), filtrirt und eingedampft. Bei dem so entstandenen Syrup wurde sodann die Untersuchung auf Traubenzucker vorgenommen, und zwar bediente ich mich dabei in sämtlichen Fällen sowohl der Trommer'schen Probe, als auch hauptsächlich der Phenylhydrazinprobe, in manchen Fällen auch der Gährungsprobe, indem dabei der Alkohol mittelst der Jodoformprobe, die Kohlensäure mit Barytwasser nachgewiesen wurde.

Natürlich wurde, wo es die Menge erlaubte, auch auf die Löslichkeit in Kupferoxydammoniak geprüft. Jedoch erscheint diese Absicht von vornherein ziemlich aussichtslos bei den Bacterien, wo man nach der Behandlung mit Natronlauge überhaupt makroskopisch nichts mehr erkennen kann — was schon Nencki und Schaffer berichten und auf die Lösung ihres Mycoproteins zurückführen —, vielmehr auf die Weiterbehandlung des als Filter benützten Asbestes angewiesen ist.

Selbstverständlich musste bei der ganzen Procedur sorgsam darauf gesehen werden, dass keine Cellulose von aussen in die zu behandelnden Massen hineingelange, dass also vor Allem sämtliche Gegenstände, die irgendwie in Betracht kamen, beständig vor Staub geschützt waren und nie mit Papier und dergl. in Berührung kamen. Deshalb wurde nie durch Papier filtrirt, sondern immer Asbest benützt und zwar

vorher geglühter Asbest. Ebenso wurden bei Herstellung der Culturen nur Asbest, nie Baumwollpfropfen als Verschluss verwandt. Kurzum, bei dem ganzen Prozesse ging ich so zu Werke, dass ich mich vor der Verunreinigung durch fremde Cellulose vollständig geschützt wusste.

Im Einzelnen nun stellten sich die Resultate, die ich in der Reihenfolge gebe, in der die Versuche angestellt wurden, folgendermassen:

### I. Eine Polyporus-Art.

Der zuerst zur Untersuchung gekommene Pilz, eine von einem abgestorbenen Pappelstamme abgenommene Polyporus-Art, ein besonders harter und zäher Pilz, wurde zuerst völlig von den äusseren, mit Holz in Berührung gekommenen Schichten befreit und dann behandelt, wie oben geschildert.

Von der auf diese Weise erhaltenen Lösung wurde ein Theil zur Untersuchung auf Traubenzucker verwandt. Dieselbe reducirte alkalische Kupferlösung sehr stark und ergab bei der Phenylhydrazinprobe einen Niederschlag, der unter dem Mikroskop die bekannten Glucosazonkrystalle zeigte. Es muss angenommen werden, dass der grösste Theil aus Traubenzucker bestand.

Mit dem Reste der vergohrenen Flüssigkeit wurde die Probe mit Phloroglucin und Salzsäure auf Pentaglucose angestellt, deren Vorhandensein auch nach der Gährung recht wohl angenommen werden konnte, da ja die Xylose durch Hefe unvergährbar ist. In der That wurde auch durch Erhitzen mit Phloroglucin und Salzsäure eine schöne rothe Flüssigkeit erzielt, die bei längerem Stehen immer dunkler und kirschenfarbiger wurde. Des Vergleichs halber wurde nun dieselbe Probe mit unvergohrener Flüssigkeit gemacht, und auffallender Weise fiel sie hier, wenn auch ebenfalls deutlich, doch viel schwächer aus. Ein Versuch, den ich deshalb mit Bierhefe allein anstellte, hatte ein negatives Resultat. Vielleicht lässt sich jener Umstand, dass nämlich Pentagluco-sen-reaction bei vergohrener Flüssigkeit deutlicher ist als bei

unvergohrener, der Angabe von E. Schulze<sup>1)</sup> an die Seite stellen, der auch bei seinen Syrupen nach Auskrystallisierung und Entfernung des Traubenzuckers — ein Vorgang, welchem hier die Entfernung durch Gährung entspräche — eine viel deutlichere Pentagluosenreaction bekam, woraus er schliesst, dass vielleicht die Gegenwart von Traubenzucker jener Reaction schadet.

Ein Theil des bei der Kalischmelze Ungelosten war aufbewahrt worden. Dasselbe war in Kupferoxydammoniak fast vollständig löslich und liess sich als weisser Körper durch verdünnte Säuren wieder ausfällen. Es liessen sich die Partikelchen unter dem Mikroskope durch Jod und concentrirte Schwefelsäure nur bloss-violett färben, das bei der Kalischmelze Ungeloste trug also nicht alle Merkmale der Cellulose. Jedenfalls ist diese Violett-, nicht Blaufärbung die einzige auffallende, aber scheinbar geringe Verschiedenheit.

Was nun die Umwandlung dieser Cellulose in verschiedene Zuckerarten betrifft, so haben wir gesehen, dass in unserer Endflussigkeit, die nach der beschriebenen Behandlung natürlich nur «ächte Cellulose» enthalten konnte, nach der Hydrolyse hauptsächlich Dextrose, wie in allen bisher untersuchten Pflanzen, nachzuweisen war, daneben aber eine gewisse Menge von Pentakohlehydraten. Die «ächte Cellulose» des behandelten Pilzes besteht also aus Anhydriden dieser verschiedenen Zuckerarten.

## II. *Agaricus campestris* (Champignon).

Die Behandlung war im Wesentlichen dieselbe wie im vorigen Falle und wurde nach mehrfacher Kalischmelze ein grau-weisses Pulver erhalten, das sich, wenn auch schwer, in Kupferoxydammoniak auflöste und durch verdünnte Säuren daraus als weisser Niederschlag wieder erhalten werden konnte, entgegen der Angabe Fremy's<sup>2)</sup>, nach der die Cellulose des Champignon in Kupferoxydammoniak vollständig unlöslich sein soll.

<sup>1)</sup> 2. Mittheilg., S. 417.

<sup>2)</sup> Jahresbericht 59.

Nachdem das bei der Kalischmelze erhaltene Pulver in derselben Weise wie im vorigen Falle weiter behandelt war, erhielt man eine Masse, welche alkalische Kupferlösung sehr stark reducirte und bei Einwirkung von Bierhefe reichliche Gährung zeigte. Die Phenylhydrazinprobe ergab einen Niederschlag, der unter dem Mikroskop Krystalle von der typischen Form und Lagerung der Glucosazonkrystalle darbot, die sich aber durch ungewöhnlich kleine Dimensionen auszeichneten, so dass sogar starke Vergrösserung zu Hilfe genommen werden musste. An der Identität derselben konnte aber umsoweniger gezweifelt werden, als sie beim mehrfachen Umkrystallisiren aus Alkohol immer gleich blieben, als ferner, wie erwähnt, die Hefegährung eine sehr starke war, und als drittens ja durch den vorigen Versuch bewiesen ist, dass Cellulose in der Form von Dextrosenanhydrid bei den höheren Pilzen vorkommt. Wir werden weiterhin in allen Fällen auf diese Formen stossen. Aber Form und Lagerung der Krystalle war die gewöhnliche — nur ihre Grösse differirte von der gewöhnlich gesehenen —, und Gährung und Reduction waren sehr reichlich, was nach der Kalischmelze nach den bisherigen Erfahrungen nicht leicht einem andern Körper als der Cellulose und daraus gewonnenem Traubenzucker zugeschrieben werden kann.

Die Prüfung mit Phloroglucinsalzsäure auf Pentaglucofen ergab nur einen leicht röthlichen Schimmer, auch wenn die Probe mit vergohrener Flüssigkeit vorgenommen wurde, so dass also jene Körper nicht in allen Pilzarten zu sein scheinen. Die «ächte Cellulose» des Champignons besteht also wohl hauptsächlich aus Anhydrid der Dextrose.

Mit diesen zwei Versuchen war gezeigt, dass die Pilze überhaupt «ächte Cellulose» enthalten, und es konnte somit nun zu der Aufgabe übergegangen werden, dieselbe auch bei den niedrigsten Pilzen, den Bacterien, zu suchen. Naturgemäss konnten hier in allen Fällen, bei der Feinheit der Objecte, selbst bei verhältnissmässig grosser Menge von verwandtem Material, nur Spuren erwartet werden.

Zunächst kamen tuberkulöse verkäste Lymphdrüsen zur Untersuchung.

### III. Verkäste Lymphdrüsen.

Eine grössere Menge stark verkäster tuberkulöser Lymphdrüsen — Lunge wurde aus oben entwickelten Gründen nicht gewählt — wurde in der Reibschale zerkleinert und wie die vorigen Objecte behandelt. Nach der Behandlung mit Natronlauge war in der mittlerweile beim öfteren Filtriren hinzugekommenen Asbestmasse makroskopisch nichts mehr zu sehen, und auch mikroskopisch gelang es nicht, die von Freund angeblich erreichte blaue Färbung mit Jod — Chlorzink zu erzielen. Der Umstand, dass nach der Behandlung mit verdünnter Natronlauge makroskopisch fast nichts mehr zu sehen war, ist ein Beweis dafür, dass die Meinung Freund's, die ganzen nach Behandlung mit verdünnter Säure ungelösten «Kügelchen» beständen aus Cellulose, auf Irrthum beruhen muss. Nach der Extraction mit Natronlauge wurde die ganze Asbestmasse in der üblichen Weise mit concentrirtem Alkali auf 180° erhitzt und dann wie in den vorigen Fällen weiter behandelt behufs Umwandlung von etwa vorhandener Cellulose in Dextrose. Die dann folgende Untersuchung auf Letztere ergab deutliche Reduction von alkalischer Kupferlösung. Die Phenylhydrazinprobe lieferte einen ziemlich reichlichen Niederschlag und dieser bot überraschender Weise unter dem Mikroskop dasselbe Bild, das er bei der Untersuchung von *Agaricus campestris* gezeigt hatte, nämlich jene ausserordentlich kleinen Kryställchen, die aber vermöge ihrer Lagerung und Form nicht anders denn als Glucosazonkrystalle gedeutet werden können.

Ein Theil des Asbestes wurde mit Kupferoxydammoniak übergossen. Eine Auflösung war natürlich nicht sichtbar, doch wurde aus dem abfiltrirten Kupferoxydammoniak durch verdünnte Salzsäure ein im Ueberschuss der Säure unlöslicher Niederschlag, also Cellulose, gewonnen, wie ja auch nach Nägeli<sup>1)</sup> die Cellulose der Essigmutter in Kupferoxydammoniak löslich ist.

Wie aus Obigem hervorgeht, konnte ich die Angabe Freund's, dass in tuberkulösen Geweben ein Körper vor-

<sup>1)</sup> Journal f. prakt. Chemie, Bd. 17, S. 422.

handen sei, der, in gewöhnlichen Lösungsmitteln unlöslich, sich in concentrirter Mineralsäure löse, beim Kochen der verdünnten Lösung in Dextrose übergehe, der sich weiterhin in Kupferoxydammoniak löst und daraus als weisser Niederschlag wieder erhalten werden kann, bestätigen und konnte diesen Körper, nachdem er sich einerseits beim Erhitzen mit concentrirtem Aetzkali nicht gelöst hatte, und nachdem andererseits seine Umwandlung in Traubenzucker durch die Phenylhydrazinprobe viel sicherer nachgewiesen war als durch die Trommer'sche Probe allein, um so gewisser für Cellulose erklären, nur ist diese sicherlich nicht in so grosser Menge und in Form von Kügelchen vorhanden, wie es Freund angibt.

Die Phloroglucinsalzsäureprobe (auf Pentaglucosen) ergab nur einen schwach röthlichen Schimmer. Die Untersuchung auf Mannose (Niederschlag durch essigsaures Phenylhydrazin in der Kälte) ergab negatives Resultat.

Es konnte also im Wesentlichen nur die Cellulose constatirt werden, welche bei der Hydrolyse Dextrose liefert. Ob diese nun, wie Freund will, als «chemisches Substrat» der tuberkulösen Gewebe aufzufassen sei oder ob sie auf darin enthaltene Bacterien zurückgeführt werden müsse, das lehren uns die nachstehenden Versuche mit Reinculturen, die in der That dasselbe Resultat lieferten, wie die tuberkulösen Lymphdrüsen, also den Schluss rechtfertigen, dass die in den tuberkulösen Geweben vorkommende Cellulose auf die darin enthaltenen Bacterien zurückzuführen sei).

#### IV. *Bacillus subtilis*.

Zur Erhaltung der Reincultur verfuhr ich nach Roberts und Hans Buchner<sup>1)</sup>, indem ich ein Heuinfus 1 Stunde erhitzte und dann bei 36° stehen liess, bis es sich mit einer Schicht von Heubacillen bedeckt hatte. Nun war natürlich nicht daran zu denken, in dieser sehr viel Heutheilchen ent-

<sup>1)</sup> Untersuchungen über niedere Pilze. S. 140, Anm.

haltenden Flüssigkeit die Cellulose als Bestandtheil der Bacillen nachzuweisen, der Bacillus musste zuerst auf eine von fremder Cellulose sowie auch von sonstigen Kohlehydraten freie Nährlösung übergeimpft werden. Dazu wurde die alte Pasteur'sche Lösung benützt, die auf einen Liter Wasser 10 gr. Pepton und etwas Kaliumphosphat und Magnesiumsulfat enthält. Mit dieser Flüssigkeit wurden mehrere grössere, 2—3 L. haltende Kolben, sowie ein kleines Kölbchen zur Hälfte angefüllt. Von der dargestellten Cultur wurden nun auf das kleine Kölbchen und erst von diesem aus nach einem Tage auf den Inhalt der grösseren Kolben, der chemisch verwendet werden sollte, übergeimpft. Auf diese Weise erhielt ich Culturen, die von Heu und sonstigen Verunreinigungen sicher frei waren. Die Kolben wurden mit Asbest verschlossen.

Bezüglich des Verhaltens der Culturen auf diesem Nährboden sah ich das Nämliche, was G. Vandevelde<sup>1)</sup> in seinen «Studien zur Chemie des *B. subtilis*» von seinen auf Fleischextractlösung gezüchteten Culturen schildert. Am ersten Tage trübt sich die Flüssigkeit, wird am dritten Tage wieder klarer, aber nicht mehr ganz klar, und zeigt nachher auf der Oberfläche eine derbe, graue, zusammenhängende Haut, die nach einiger Zeit aufspringt und zu Boden sinkt, um eine neue, zartere Decke folgen zu lassen. Nach drei Wochen war die ganze Flüssigkeit von sich bewegenden Bacillen durchsetzt, wie ich mich des Oeftern mittelst hängender Tropfenpräparate überzeugte.

Auf diese Weise erhielt ich reichliche Mengen von Culturen. Nun trat aber eine Hauptschwierigkeit heran, die schon, wie erwähnt, von Nencki und Schaffer gebührend gewürdigt wurde, nämlich die Culturen von der Nährlösung zu trennen. Ich filtrirte einfach durch geglühten Asbest ab, soviel Geduld und Zeit dies Verfahren auch fordert. Die abfiltrirten Culturen wurden mit Wasser gewaschen, mit Alkohol, Aether u. s. w. extrahirt, mit concentrirtem Alkali auf 180° erhitzt und, wie bereits geschildert, weiter behandelt

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. XIII, S. 367.

behufs Umwandlung von etwa vorhandener Cellulose in Zucker. Die am Ende resultirende Flüssigkeit ergab in 2 Mal angestellten Versuchen schwache, aber deutliche Reduction von alkalischer Kupferlösung. Die Phenylhydrazinprobe ergab wieder jene charakteristischen kleinen Glucosazonkrystalle, die wir jetzt schon in mehreren Fällen getroffen. Wir können also annehmen, dass die Heubacillen in ihrer Zellmembran «ächte Cellulose», wenn auch nur in Spuren, enthalten. Und da nach der vorausgehenden Behandlung wohl der Reduction von Kupferoxyd mehr Bedeutung wie sonst zugesprochen werden muss, so darf man wohl den aus der Cellulose dargestellten Zucker für Traubenzucker, diese Cellulose also für ein Anhydrid der Dextrose, erklären. Für Gährungsversuche reichte leider das Material nicht aus.

#### V. Eiterbacillen.

Ein von Herrn Privatdocent Dr. Martin B. Schmidt aus pyelonephritischem Urin dargestellter Eiterbacillus wurde mir von demselben gütigst zur Verfügung gestellt, wofür ich an dieser Stelle meinen besten Dank ausspreche. Es ist ein kleiner Pilz, der sich zu Zweien aneinander lagert und so das Aussehen eines Diplococcus gewinnen kann, aber die Fähigkeit hat, zu Stäbchen auszuwachsen, der wegen seiner Feinheit allerdings nur schwache Ausbeute an Cellulose versprach. Ich verwandte denselben aber trotzdem zu meinen Zwecken wegen seiner ungemein raschen Vermehrung. Es wurde von dem Pilze einerseits auf kleine Erlenmeyer'sche Kölbchen mit Gelatine-Bouillon übergeimpft, und zwar in Stichen, andererseits auf einen grossen, mehrere Liter haltenden Kolben mit Urin. Auf der Gelatine zeigten sich bei gewöhnlicher Temperatur — es war im Sommer — schon am nächsten Tage an den Einstichstellen starke, schön weisse, 1—2 mm. im Durchmesser haltende Culturen, die schon nach drei bis vier Tagen zu einer dicken, die ganze Oberfläche bedeckenden Schicht zusammengewachsen waren. Die Menge der Bacillen wurde noch dadurch erhöht, dass jedesmal, wenn die Oberfläche

bedeckt war, die Gelatine bei 25° verflüssigt, durcheinander geschüttelt, und so die Oberfläche für neue Generationen freigebracht wurde. Im Urin zeigte sich wenige Tage nach dem Einbringen der Keime die Oberfläche von einer grauen Schichte bedeckt und später die ganze Flüssigkeit von Bacillen durchsetzt. Jedoch war die Vermehrung hier eine weniger starke als auf der Gelatine-Bouillon.

Beide Arten von Culturen, Gelatine sowohl wie Urin, blieben mehrere Wochen stehen und wurden dann jede für sich untersucht. Unter dem Mikroskop boten beide das gleiche Aussehen. Die Gelatine-Culturen wurden im Heisswassertrichter abfiltrirt und gewaschen. Im Uebrigen war die Behandlung die nämliche wie im vorigen Falle. Ebenso stimmte das Resultat genau mit dem vorigen überein: Die am Schlusse des Versuches erhaltene Flüssigkeit reducirte deutlich alkalische Kupferlösung, und die Phenylhydrazinprobe ergab wiederum jene Kryställchen, die uns in dieser Dimension jetzt schon Bekannte geworden sind. Das vorhin Gesagte auch hier angewandt, enthält also auch dieser Bacillus «ächte Cellulose» im Sinne E. Schulze's, und zwar wiederum solche, die bei der Hydrolyse Dextrose liefert, also deren Anhydrid darstellt. Zu Gährungsversuchen, sowie zur Untersuchung auf andere Zuckerarten fehlte leider auch hier das Material.

## VI. *Aspergillus glaucus*.

Während der beschriebenen Versuche waren auf den aufbewahrten alkalischen Lösungen, die von den Extraktionen der verschiedenen Objecte mit Natronlauge herrührten, dichte Schimmelrasen und zwar solche von *Aspergillus glaucus* entstanden. Da dieselben durch beständiges Zudecken vor Eindringen von Staub geschützt waren, konnten sie recht wohl zur Untersuchung auf Cellulose verwandt werden. Ich verfuhr mit den Schimmelpilzen ebenso wie mit den vorhergehenden Versuchsobjecten und erhielt am Ende eine Flüssigkeit, die Kupferoxyd deutlich reducirte und bei der Phenylhydrazinprobe eben jene mit Ausnahme des ersten in allen

vorhergehenden Fällen gefundenen Krystallfiguren lieferte, diesmal etwas grösser, aber immer noch starke Linsen verlangend. Auch diese Schimmelpilze enthalten also «ächte Cellulose» und wahrscheinlich wieder solche, die Dextrose liefert.

Damit schliesse ich den ersten Theil meiner Mittheilungen. Dieselben ergeben, dass sämmtliche zur Untersuchung gekommenen Pilzarten, sowohl die höheren, grosse Mycelverbände bildenden, als auch besonders jene kleinsten Lebewesen, die Bacterien, Cellulose enthalten, und zwar im Sinne E. Schulze's «ächte Cellulose», d. h. solche, die sich in verdünnter Mineralsäure nicht löst.

Was das Verhalten dieser Cellulose bei der Hydrolyse betrifft, so haben wir gesehen, dass sie, allen anderen bisher untersuchten Pflanzen entsprechend, in sämmtlichen Fällen sich in Dextrose überführen liess, bei dem einen der untersuchten höheren Pilze jedoch auch Pentaglucosen lieferte. Bei den Bacterien und Schimmelpilzen auf diese letzteren Zuckerarten zu untersuchen, fehlte es leider an Material. Auffallend war, dass die Glucosazonkrystalle, ausgenommen bei der Untersuchung des ersten Pilzes, in allen Fällen übereinstimmend ungemein klein waren, auch beim Champignon, wofür die reichliche Gährung, abgesehen von der in allen Fällen gefundenen Reduction, die Identität der Dextrose bewies.

Nachdem auch bei den tuberkulösen Lymphdrüsen dieselben kleinen Kryställchen sich zeigten, unterliegt es wohl keinem Zweifel mehr, dass die bei tuberculösem Gewebe gefundene Cellulose auf darin befindliche Bacterien zu beziehen, nicht aber, wie E. Freund will, als «chemisches Substrat» jener Gewebe zu betrachten ist.

Was E. Schulze's «Hemicellulosen» betrifft, so habe ich aus fast allen erhaltenen Salzsäureextracten nach längerem Kochen Osazonkrystalle erhalten können, und dürfen diese vielleicht auf Hemicellulosen bezogen werden. Doch muss ich zugeben, dass bei den vielen Körpern, welche in

jenen Extracten enthalten sein können, jene Deutung eine ganz unsichere ist.

Betrachten wir das Gesamtergebnis, so kann bei den zuerst untersuchten Pilzen, besonders bei *Polyporus* als sicher constatirt werden, dass sie wirkliche Cellulose enthalten, die durch Unlöslichkeit beim Schmelzen mit Aetzkali charakterisirt ist und zwar solche, die bei der Hydrolyse im Wesentlichen Traubenzucker liefert. In den anderen haben sich allerdings auch Spuren gefunden von Körpern, die beim Schmelzen mit Aetzkali einen Rückstand liefern, welcher die Charaktere der eigentlichen Cellulose zeigt, aber in so geringer Quantität, dass eine weitere Untersuchung durchaus nothwendig erscheint, da von dem Glucosazon die näheren Charaktere nicht weiter untersucht werden konnten ausser der Krystallform, und auch die Reductionsprobe nur sehr schwach ausfiel. Ueberhaupt sollen bei der Schwierigkeit dieser Untersuchungen, die beschriebenen Versuche nur als Vorversuche gelten, aber jedenfalls ist ihre Angängigkeit bei dem Mittel, das wir in dem charakteristischen Verhalten der Cellulose gegen Aetzkali besitzen, diese auch in kleinsten Mengen sicher zu bestimmen, unzweifelhaft.

Ist es nun auch zunächst noch nicht gelungen, für verschiedene Bacterien verschiedene Cellulosen als für die einzelnen Arten charakteristische Bestandtheile nachzuweisen, so muss, bei der von E. Schulze klar gezeigten Thatsache, dass verschiedene Pflanzen verschiedene Cellulosen enthalten können, und bei dem obigen Befunde der beiden höheren Pilze, der jene Thatsachen auch für die Klasse der Fungi beweist, dennoch die Möglichkeit einer chemischen Unterscheidung mancher Bacterien zugegeben werden. Insbesondere ist es nicht ausgeschlossen, dass auf diese Weise der Streit über die Identität oder Nichtidentität mancher Bacterienarten einst einem Ausgleich näher gebracht werden kann.

Neben den bisher berichteten chemischen Versuchen gingen solche anderer Art einher, welche die Färbung der Bacillen betrafen. Es schien nämlich interessant, nach der Extrahirung mit den verschiedenen Medien jedesmal die Färbe-

kraft der Bacillen auf Zu- oder Abnahme zu prüfen und dadurch zu erfahren, ob, eventuell durch welches Extrahens der die Farbe bindende Körper entzogen werde. Auch A. Hammerschlag<sup>1)</sup> hatte schon darauf geachtet. Er prüfte seine Tuberkelbacillen, nachdem er sie mit Alkohol, Aether und Natronlauge von 0,5% extrahirt hatte, auf ihre Färbbarkeit und fand, dass sie nach dieser Behandlung ihre Form, wenn auch in manchmal etwas zerrissenem Zustande, im Wesentlichen bewahrt haben, mit Anilinfarbstoffen jedoch sich nicht mehr färben lassen. Er schliesst daraus, dass das durch die Natronlauge entzogene Eiweiss den Farbstoff binde.

A priori konnte angenommen werden, dass die Cellulose der die Farbe bindende Körper nicht sei, mit anderen Worten, dass die Cellulose bei dieser «mikrochemischen Reaction»<sup>2)</sup> nicht Theil nehme; denn erstens färben sich ja mit denselben Farben auch die Kerne thierischer Zellen und zweitens sehen wir in der Industrie, wie, um Cellulose zu färben, sogar kräftige Beizen angewendet werden müssen. Dass aber die Bacterien eine solche Beize nicht in sich schliessen, werden wir nachher daraus ersehen, dass sie auch nach Behandlung mit verdünnten Säuren sich färben lassen. Es war also wegen dieses Verhaltens der Cellulose vorauszusehen, dass die Färbkraft nach Behandlung mit Natronlauge, sicherlich aber nach der Kalischmelze verschwinden werde.

Als besonders geeignet bei diesen Untersuchungen erwies sich ein von Franz Hoffmeister angegebener und von Universitätsmechaniker Albrecht in Tübingen gefertigter Apparat, der es gestattet, sechs Deckglaspräparate zu gleicher Zeit zu färben, sie alle gleich lange in der Farbe zu lassen und dadurch die nachherige Vergleichsfähigkeit ihrer Färbkraft wesentlich zu erhöhen.

So wurden denn in obiger Hinsicht alle Objecte untersucht (mit Ausnahme der Lymphdrüsen), die auch chemisch

<sup>1)</sup> A. a. O., Tafel I, Fig. 2.

<sup>2)</sup> Carl Fränkel, Grundriss der Bacterienkunde, S. 61.

behandelt waren. Ausserdem Tuberkelbacillen, und zwar sowohl aus der Wand von Cavernen einer tuberculösen Lunge, die ich der Güte des Herrn Professor Dr. von Recklinghausen verdanke, als auch aus Reinculturen, die mir Herr Privatdocent Dr. E. Levi liebenswürdiger Weise überliess, wofür ich diesen Herren an dieser Stelle herzlich danke.

Alle Objecte zeigten nun bei der Färbung übereinstimmende Resultate. Nach Behandlung mit Alkohol zeigt die Färbekraft keine Veränderung, ebenso nach der mit Aether und mit Salzsäure. Nach der Behandlung mit Natronlauge dagegen färbten sich die Bacterien und Schimmelpilze sowohl wie die Fasern der grossen Pilze nur an ganz vereinzelt Stellen, offenbar an solchen, wo die Natronlauge nicht genügend eingewirkt hatte. Das Cellulosepulver dagegen, das von den höheren Pilzen durch die Kalischmelze erhalten war, verhielt sich den Anilinfarbstoffen gegenüber vollständig negativ.

Wir sehen also aus Obigem, dass der die Farbe bindende Bestandtheil ein in verdünnter Natronlauge löslicher, in Alkohol, Aether und verdünnter Mineralsäure unlöslicher Körper sein muss. Daraus geht auch hervor, dass die Annahme A. Hammerschlag's, die Eiweisskörper würden den Farbstoff binden, nicht das Richtige treffen kann, denn diese gehen ja als Acidalbumine mit Säure in Lösung, und müsste in diesem Falle die Färbungsfähigkeit bei der Behandlung mit Säure schwinden. Was nun aber einen Körper betrifft, der den oben aufgestellten Forderungen entspricht, so können hier wohl nur die Nucleine in Betracht kommen. Dieselben sind in Alkohol, Aether und verdünnter Mineralsäure unlöslich, in verdünnter Natronlauge dagegen löslich, sie sind in thierischen und pflanzlichen Zellen gleich verbreitet, und sie sind es deshalb, die wahrscheinlich jene Verbindungen mit den Anilinfarbstoffen eingehen.

Bemerkt mag werden, wenn auch ohne vorläufig einen Schluss daraus zu ziehen, dass Natronlauge, in der aus Eiter gewonnenes Nuclein gelöst war, auf Anilinfarbstoffe viel weniger zerstörend einwirkte als reine Natronlauge. Jedenfalls steht die Annahme, dass die Nucleine die Farbstoff bindenden Körper seien, mit der Kernlosigkeit der Bacterien nicht im Wider-

spruch; denn auch die Hefepilze scheinen ja kernlos und enthalten trotzdem beträchtliche Mengen von Nucleinen, die also durch den ganzen Zelleib verbreitet sein müssen, wozu auch die diffuse, ja in der Peripherie sogar oft noch stärkere Färbung der Pilze stimmen würde.

---

Zum Schluss ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Hoppe-Seyler, für die Anregung zu dieser Arbeit und das lebhafte Interesse, das er derselben fortwährend entgegenbrachte, herzlichen Dank zu sagen.

---

---