

Ueber das Vorkommen von *Saccharomyces* *anomalus* beim Sakebrauen.

VON

K. Saito, *Rigakushi*.

Am Beginn des Jahres 1903 hatte ich Gelegenheit, einige Proben von frischem Sake aus verschiedenen Ortschaften¹⁾ Japans zu erhalten; alle erlitten allmählich die überall vorkommende bakterielle Trübung, und dann bildete sich auf der Oberfläche der Flüssigkeit eine weissgraue, feinfaltige Kahmhaut. Von der letzteren wurde eine Art der Kahmhefe, die leicht endogene Sporen bildet, isoliert. Das Vorkommen derartiger Pilze bei der Sakebrauerei ist schon in den Untersuchungen KLÖCKER und SCHIÖNNING'S²⁾ erwähnt. YABE³⁾ hatte auch eine *Mycoderma* im Reisstroh der Sakebrauereien konstatiert. Nach KOZAI⁴⁾ kommen im Koji zwei Arten der Kahmhefen stets vor, darunter eine Form mit endogenen, hutförmigen Sporen. Mit welcher der in den Arbeiten erwähnten Formen unsere Art identisch ist, sind wir nicht im Stande festzustellen, weil in den Arbeiten keine einschlägigen Versuche über

1) Nada, Itami und Ikeda (Provinz Settsu), Sakai (Prov. Idsumi), Muroyama (Prov. Ise), Handa und Kamesaki (Prov. Owari).

2) KLÖCKER, A. und SCHIÖNNING, H.: Centralbl. f. Bakt., Abth. II, Bd. I, 1895, p. 777.

3) YABE, K.: Bulletin imperial University Tokio, College of Agriculture, Vol. III, 1897, No. 3, p. 221.

4) KOZAI, Y.: Chemische und biologische Untersuchungen über Sake-Bereitung. Centralbl. f. Bakt., Abth. II, Bd. VI, 1900, p. 385.

die Formenmannigfaltigkeit und Lebensgeschichte der Kahlmhefe angestellt sind. Doch halte ich eine Gleichheit mit einem der Pilze für das Wahrscheinliche, weil unser Pilz sowohl in Koji, Maisch und Sake gefunden wurde.

Meiner Ansicht nach darf die Verfolgung der Formenmannigfaltigkeit und Lebensgeschichte, besonders der Stoffwechselprodukte eines solchen Organismus ein hohes Interesse beanspruchen, da die Umsetzungen, welche er in den gährfähigen oder vergohrenen Flüssigkeiten hervorzurufen im Stande ist, ein grosses Gewicht im Gährungsgewerbe haben. Sogar dann, wenn derartige Beziehungen heutzutage noch unvollkommen erkannt sind, darf man solche Studien nicht ganz ausser Acht lassen, da sie uns mit dem Verhalten der Kahlmhefe bei einem bisher in dieser Hinsicht kaum studierten Gewerbe bekannt machen und zugleich unsere Kenntniss über die Kahlmhefe an sich mehr oder weniger erweitern.

I. MORPHOLOGIE.

1. *Formen der Kolonien auf den Platten.* Die Kolonienbildung unseres Sprosspilzes wurde auf Würze- und Kojidekoktagelatineplatten genauer verfolgt. Die Formen der Kolonien waren nie beständig, auf denselben Platten aber stets konstant.

Die oberflächlichen Kolonien erschienen als kleine, runde, weisse Punkte; im älteren Stadium der Entwicklung wurden sie etwas gebuchtet, wenig erhaben, trocken mehlig, porzellanweiss und undurchsichtig, radial und konzentrisch fein gefaltet. Der Rand ist unregelmässig gewulstet, nie aber baumartig verästelt (Fig. 1). Auf Kojidekoktagarplatten zeigten sich nur selten flach ausgebreitete, glatte, unregelmässig gestaltete Kolonien. Die untergetauchten

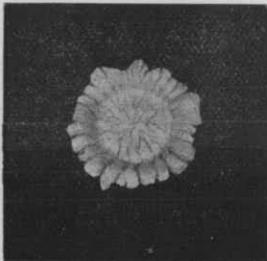


Fig. 1. Oberflächliche Kolonie.

Kolonien waren in den jugendlichen Stadien durchwegs kreisrund oder ellipsoidisch-oval, glatt und undurchsichtig; auch bei weiterer Entwicklung behielten sie ihre Formen.

2. *Riesenkolonien.* Die Riesenkolonien wurden auf Würzegeatine bei Zimmertemperatur herangezogen. Das Wachstum war sehr träge. Die Kolonie ist längsriefig und gekerbt. Im Zentrum ist sie etwas erhaben und zeigt dort eine gelbliche Farbe. In einiger Entfernung ziehen sich um das erhabene Zentrum konzentrische Ringe, die durch die nun zum Rande verlaufenden Längsriefen in zahlreiche Theilchen zerlegt werden (Fig. 2).



Fig. 2. Riesenkolonie.

3. *Stichkulturen.* In Würzegeatine gestochen, wuchs der Kopf trockenmehlig und zeigte ein gleiches Aussehen wie eine Zwergkolonie. Die Stichlinie bekam selten ein körniges Aussehen.

4. *Strichkulturen.* Der Strich auf Würzegeatine wuchs in Zimmertemperatur schon nach einem Tage. Er ist meist mehlig-trocken, dick und breit mit fein gestreiftem, selten glatt saftigem Rande versehen. Sowohl in Strich- als in Stichkulturen begann die Verflüssigung der Gelatine bereits nach zwei Wochen (Fig. 3).

5. *Kahmhautbildung.* Wenn unser Pilz in Würze, Kojidekott oder irgend einer zuckerhaltigen Nährflüssigkeit bei 28°C kultiviert wurde, trat die Kahmhaut schon nach 24 Stunden auf. Die Haut ist grauweiss, trocken und wird später gefaltet; sie



Fig. 3. Strichkultur auf der Gelatine.

besteht aus lebhaft sprossenden Hefezellen, zwischen welchen eingemischt reichliche Gasblasen vorkommen.

Mit der Gahrung schreitet die Haut in der Entwicklung immer fort und zieht sich als Ring über das Flüssigkeitsniveau an der Glaswand empor; sie bleibt nach Neigen des Gefässes an derselben haften.

Sobald die Gahrung vollendet ist, sinken die angefeuchteten Zellen allmählich zu Boden. Die Bodenmasse erscheint anfangs grauweiss, später aber etwas bräunlich; die Zellen werden dickwandig und vakuolenhaltig. Gleichzeitig mit der Bildung des Bodensatzes entsteht auf der Oberfläche eine sekundäre Haut, welche dünn und durchsichtig, fettglänzend und fein gestreift ist.

6. *Kultur in Gelatinetropfen.* In einem Tropfen 10 % Wrzelgelatine bildet der Pilz eine weisse kleine Kolonie, die unter schwacher Vergrösserung kreisrund und stets glattrandig erscheint. Nach einiger Zeit beginnt die Gelatine um die Kolonie herum allmählich verflüssigt zu werden.

7. *Zellformen,-grsse und-inhalt.* Die Formen der Zellen sind rundlich bis eiförmig, treten sowohl als Einzelglieder, wie bisweilen auch zu kleinen Sprossverbnden vereinigt auf. Die Formen bieten nach der Art der Nhrsubstrate kleine Schwankungen. Doch sind die Grssenschwankungen nicht von Bedeutung. Im Durchschnitt wurden gemessen: a) längliche Zellen 10–20 μ : 3–4 μ ; b) rundliche eiförmige Zellen 6–8 μ : 2–4 μ .

Die jugendlichen Zellen sind klar, plasmareich, kleine, stark lichtbrechende Körnchen führend, bisweilen auch vakuolig. Bald

früher, bald später wird der Inhalt jedoch gekörnt und die Wand stark verdickt, wobei sich seltener die Zelle unregelmässig gestaltet (Fig. 4).

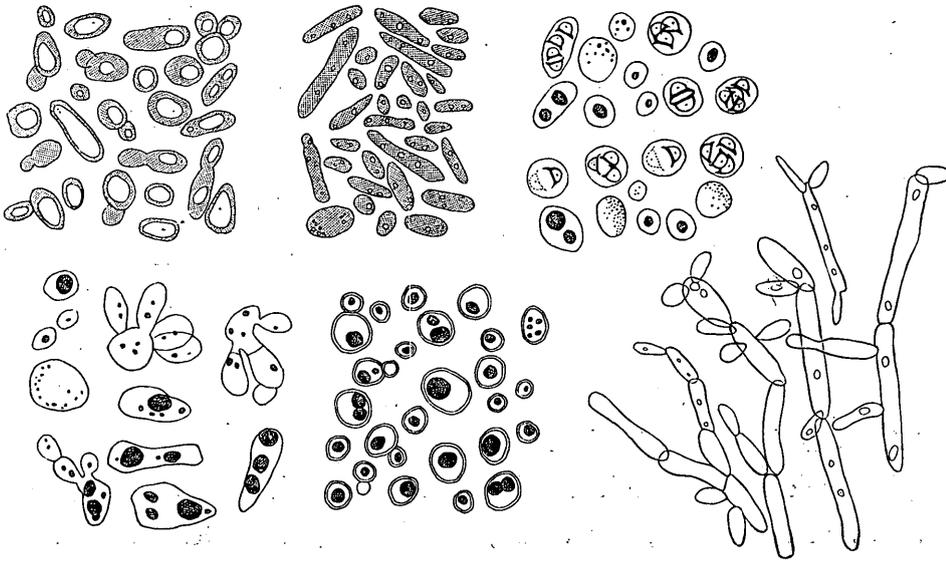


Fig. 4: Verschiedene Formen der Zellen ($\times 900$).

8. *Sporenbildung.* Die Sporen konnten bei unserem Pilze leicht auf verschiedenen Substraten, sowohl auf festen (Gelatine, Agar oder Gipsblöcken) als auch auf flüssigen, beobachtet werden. Die Sporen sind hutförmig und 2-4 in einer Zelle eingeschlossen.

II. PHYSIOLOGIE.

1. VERHALTEN GEGEN KOHLENHYDRATE.

Um das Verhalten unseres Sprosspilzes gegen verschiedene Kohlenhydrate näher zu bestimmen, unternahm ich eine Reihe

von Versuchen mit Dextrose, Laevulose, Saccharose, Maltose, Galaktose, Dextrin, Inulin und Stärkekleister. Für die Kultur diente mir die MAYER'sche Lösung mit 15 % Kohlenhydrat. Sie bestand aus:—

15.0 Gramm	Kohlenhydrat.
1.0 „	Weinsaures Ammon.
0.5 „	Kaliumphosphat.
0.25 „	Magnesiumsulfat.
0.05 „	Calciumphosphat.
100.0 c.cm.	Destilliertes Wasser.

Gleichzeitig unternahm ich, die Wirkung der Hefe auf der Würze und dem Kojidekocht zu ermitteln.

Nach Impfung mit Platin-öse standen die Kulturgläser in 28°C. In Dextrose, Laevulose, Saccharose, Galaktose trat die Gasentbindung schon nach 24 Stunden deutlich auf, dagegen in Maltose nur spärlich. Obschon die Entwicklung der Hefe in Inulin und Dextrin ziemlich gut vor sich geht, findet dabei doch keine Gasentbindung statt, und in Stärkekleister kommt fast keine Entwicklung zu Stande. Bezüglich der Gährverhältnisse verhalten sich Kojidekocht und Würze gerade umgekehrt, weil die Gasentbindung im ersteren sehr stark, aber im letzteren nur spärlich eintritt. Der Grund dieser Erscheinung liegt vielleicht an dem Reichtum der Maltose in der Würze und der Dextrose im Kojidekocht.

Die Hauptgährung in Dextrose, Laevulose und Galaktose dauerte 2½–3 Wochen lang; sie war kürzer in Maltose und Saccharose. Schnell endete die spärliche Gasentbindung in der Würze, die dann etwas lichtgelb entfärbt wurde.

2. GÄHRPRODUKT.

a) Gas. Im Gährungsrohre mit Dextrose-MAYER'scher Lösung entwickelte sich eine Menge Gas, welches von Kalilauge fast gänzlich absorbiert wurde. Daraus erkennen wir, dass bei der Gährung eine reichliche Menge Kohlensäure entstanden war. Der übrige Theil des Gases war so klein, dass keine weiteren Versuche möglich waren. Doch hielt ich den Ueberrest für die Luft, welche sich mit den Hefenzellen in der Flüssigkeit eingemengt vorgefunden hatte.

b) Alkohol. Das Destillat aus 16-tägiger Kulturflüssigkeit mit Dextrose roch stark geistig und enthielt eine mittelst der Jodoformreaktion nachweisbare Alkohölmenge. Nach Berechnung des mit Hilfe der GAY-LUSSAC'schen Alkoholmeter bestimmten Alkoholgehaltes an originalen Volumen der Kulturflüssigkeit ergaben sich ca. 5 %. Höhere Alkohole wie Propyl-, Butyl- und Amylalkohol konnte ich nicht feststellen.

c) Säure. Um die Art der gebildeten Säuren zu bestimmen, sind die Kulturen in Dextrose-MAYER'schen Lösungen am meisten zu empfehlen, weil hierbei die Gährungserscheinungen sehr stark zu Tage treten.

Von einer 16-tägigen Gährflüssigkeit—500 c. cm—wurden zunächst die event. entstandenen flüchtigen Säuren destilliert, bis das emporsteigende Destillat nicht mehr sauer reagierte. Das Destillat enthielt an Säure insgesamt entsprechend 106.75 c.cm $\frac{1}{16}$ NaOH, d. i. auf Essigsäure berechnet insgesamt : 0.6405 g flüchtige Säure. Diese Menge an flüchtiger Säure ist also bei der Gährung in 500 c.cm Kulturflüssigkeit gebildet worden. Infolgedessen beträgt der Gehalt der vergohrenen Flüssigkeit an flüchtiger Säure pro 100 c.cm : 0.1281 g oder 1.281 %.

Im Destillationsrückstand war an nichtflüchtigen Säuren insgesamt enthalten eine Menge entsprechend $68.25 \frac{1}{16}$ NaOH, d. i. auf Weinsäure berechnet insgesamt 0.5113 g nichtflüchtige Säure. Infolgedessen beträgt der Gehalt der Kulturflüssigkeit an nichtflüchtiger Säure pro 100 c. cm : 0.1024 g oder 1.024 %.

Zur näheren Bestimmung der einzelnen flüchtigen Säuren wurde alsdann das Destillat mit Soda sorgfältig neutralisiert, und in der neutralisierten Lösung konnte Essigsäure durch die bekannte Eisenoxydsalzreaktion (die dunkelrothe Färbung mit Eisenchloridlösung und das Gelbwerden der dunkelrothen Lösung mit Salzsäure) nachgewiesen werden. Essigsäure in dem Produkte verriet sich noch weiterhin durch die Bildung des angenehmen, erfrischenden Geruchs—des charakteristischen Geruchs des Essigsäureethylesters—, wenn man die wässrige Lösung der neutralen Natriumsalze mit Alkohol und konz. Schwefelsäure versetzte und gelinde erwärmt. Das Destillat ergab mit ammoniakalischer Silbernitratlösung die Spiegelbildung, doch ging diese Eigenschaft durch langes Aufbewahren des Destillats stets verloren. Auch das Fehlen der Quecksilberoxydreduktion und ameisensäurer Aethylesterbildung lässt den reduzierenden Körper nicht als Ameisensäure annehmen, sondern als ein Aldehyd, welches als ein Zwischenprodukt von Alkohol zu Säure entstanden ist.

Die Entstehung von Buttersäure ergab sich aus dem Auftreten des aromatischen Prinzips der Ananasfrucht, welches bei der Gährung deutlich erkennbar war.

Nachdem die Gährflüssigkeit so lange der Destillation unterworfen worden war, bis das emporsteigende Destillat keinerlei Säurereaktion mehr anzeigte, wurde der eingekochte Destillationsrückstand, welcher stark sauer reagierte, mit Tierkohle entfärbt

und filtriert. Darnach wurde die Lösung der näheren Bestimmung der einzelnen Säuren unterworfen.

Nach Neutralisation mit Ammoniak wurde der Flüssigkeit eine Menge Calciumchlorid beigesetzt und etwa eine Stunde stehen gelassen. Der erhaltene Niederschlag wurde abfiltriert, ausgewaschen und nach Zusatz von kalter Natronlauge wieder filtriert. Der Niederschlag enthielt kein Calciumoxalat.

Dem Filtrate von dem bei CaCl_2 -Zusatz abgeschiedenen Niederschlage wurde alsdann ein ca. dreimaliges Volumen Alkohol versetzt: es schied sich nunmehr ein weisser flockiger Niederschlag aus, welcher nach Waschen mit Alkohol in Salzsäure gelöst und nach Zusatz von Ammoniak abgekocht und wieder filtriert wurde. In dem so erhaltenen Niederschlage fehlt die Zitronensäurereaktion, aber das Filtrat ergab deutliche Bernsteinsäurereaktion.

Nach dem eben Gesagten konnten an flüchtigen Säuren mit Sicherheit Essigsäure und Buttersäure und an nichtflüchtigen Säuren Bernsteinsäure unter den Gährprodukten erkannt werden. Es ist jedoch keineswegs ausgeschlossen, dass auch noch Spuren anderer Säurearten bei der Gärung entstanden sind.

d) Ester. Mit der Bildung dieser Säuren neben der Alkoholproduktion hing zweifellos das Auftreten des aromatischen Prinzips zusammen, das den Kulturen einen angenehmen Geruch verlieh. Dasselbe ist hauptsächlich ein Gemenge des essigsauren und buttersauren Aethylesters.

3. TEMPERATUREINFLUSS.

Nach dem Augenschein des Wachstums auf der Strichfläche liegt die optimale Temperatur des Pilzes bei 28°C . Er ist jedoch

im Stande, bei 15°–37°C wohl zu wachsen und die Kahlhaut zu bilden. Bei 10°C wird das Wachstum sehr träge.

Um die Widerstandsfähigkeit unserer *anomalus*-Art gegen Erhitzen zu prüfen, wurden die Reagensgläser, die mit 10 c. cm. Kojidekokt beschickt waren, mit einer geringen Menge der eintägigen Kulturen geimpft, 5 Minuten lang bei 50°, 55°, 60°, 65°, 70°, 75°, 80° und 85°C erwärmt, und dann schnell abgekühlt. Nach einem Tage hatten eine volle Decke auf dem Kojidekokt gebildet die Kulturen, die bei 50°, 55° und 60°C erwärmt wurden. In den übrigen Gläsern war es zu keiner Entwicklung gekommen.

III. ALLGEMEINES.

Nachdem HANSEN¹⁾ die Abhandlung über *Saccharomyces anomalus* veröffentlicht hatte, wurde der Organismus und seine Eigenschaften von einigen Autoren näher studiert. FISCHER und BREBECK²⁾ unterscheiden von *S. anomalus* die sogenannte *Endoblastoderma pulverulentum* durch die beim letzteren vorkommende endogene Zellbildung. Mit den Vermuthungen KLÖCKER'S³⁾ verliert jedoch die Annahme FISCHER und BREBECK'S den Boden, und die *Endoblastoderma pulverulentum* genannte Form ist nichts anderes als echter *S. anomalus*.

STEUER⁴⁾ hatte vier verschiedene Rassen derartiger Or-

1) HANSEN, E. CHR.: Sur la germination des spores chez les Saccharomycetes. Comptes-rendus des travaux du laborat. de Carlsberg, Vol. III, livr. 1, Kopenhagen 1891.

2) FISCHER, B. und BREBECK, C.: Zur Morphologie, Biologie und Systematik der Kahlpilze, der *Monilia candida* Hansen und des Soorerregers, 1894.

3) KLÖCKER, A.: Undersøgelser over Saccharomyces Marxianus, *S. apiculatus* og *S. anomalus*. (Ref. in Bot. Jahresbericht, 1895, Bd. I, p. 169).

4) STEUER, L.: Zeitschrift für das ges. Brauwesen, 1900, No. 1–3. (Ref. in Centralbl. f. Bakt., Abth. II, Bd. VI, p. 217).

ganismen untersucht. LINDNER fügt in seinem Werke „Mikroskopische Betriebskontrolle“¹⁾ noch einige andere Formen der *anomalus*-Gruppe hinzu. In den neueren Arbeiten MEISSNER'S²⁾ an zahlreichen Kahlhefen findet man drei *anomalus*-Arten.

Mit Rücksicht auf die erwähnten Arbeiten ist es kaum zweifelhaft, dass der im allgemeinen unter dem Namen „*Saccharomyces anomalus*“ gefasste Organismus in einige Varietäten oder Rassen eingetheilt werden muss. Es ist also nicht unnötig zu diskutieren, welcher der beschriebenen Formen unsere Art nahe steht. Wenn man die von mir selbst zugegebenen Thatsachen berücksichtigt, so bedarf es kaum einer besonderen Erörterung, dass es sich um eine echte *anomalus*-Art handelt. Was ihre morphologischen Eigenschaften betrifft, steht sie mit dem MEISSNER'SCHEN *S. anomalus* No. 7 in nächster Verwandtschaft.

In physiologischer Hinsicht sind am ersten die Gährverhältnisse zu betrachten. STEUBER'S *anomalus*-Art No. 1 kann Saccharose, Dextrose und Lävulose vollständig vergähren, und zwar unter Bildung von Alkohol, Essigsäure und Essigäther, während No. 2, 3 und 4 nicht im Stande sind, Dextrose, Laktose, Galaktose und Maltose zu vergähren. Auch rufen sie in Lävuloselösungen nur schwache Alkoholbildung hervor. Durch die MEISSNER'SCHEN drei *anomalus*-Arten waren reichliche Mengen Alkohol gebildet worden, und die analytischen Bestimmungen ergaben bei No. 4 6.01 Vol.-%, bei No. 7 5.03 Vol.-% und bei No. 40 auch 5.03 Vol.-% Alkohol. Ca. 5% Alkoholgehalt betrug die Gährflüssigkeit mit dem BARKER'SCHEN *S. anomalus* (Hansen),³⁾

1) Dritte Auflage, 1902, p. 381.

2) MEISSNER, R.: Zur Morphologie und Physiologie der Kahlhefen und der kahlhautbildenden Saccharomyceten. Landw. Jahrb., Bd. XXX, 1901, p. 497.

3) BARKER, B. T. B.: A Fragrant 'Mycoderma' yeast, *Saccharomyces anomalus* (Hansen). Annals of Botany, Vol. XIV, 1900, p. 215.

welcher Dextrose, Laevulose und Saccharose lebhaft vergähren konnte.

Die von mir untersuchte *anomalus*-Art ähnelt demnach dem *S. anomalus* No. 1 STEUBER's, No. 7 und No. 40 MEISSNER's und auch der von BARKER untersuchten *anomalus*-Art.

Besonders erwähnenswert ist auch die Widerstandsfähigkeit der *anomalus*-Art gegen Erhitzen. BARKER's *anomalus*-Art wurde durch 5 Minuten langes Erhitzen bei 55°C getötet. Jüngere Zellen der MEISSNER'schen *anomalus*-Arten, die 2 Stunden lang bei 45°C im Moste erwärmt wurden, haben nach 2 Tagen auf der Oberfläche des Mostes eine volle Decke gebildet. Unsere Art widerstand dem 5 Minuten langen Erhitzen bei 60°C, erst durch gleichdauerndes Anwärmen bei 65°C aber starb sie gänzlich ab.

Ausser der spezifischen Verschiedenheit der Widerstandsfähigkeit der Zellen beruhen die verschiedenen Resultate theils auf dem Alter der geimpften Hefezellen,¹⁾ theils auf der chemischen Zusammensetzung der hierbei angewandten Flüssigkeit.

Was die gelatineverflüssigende Fähigkeit der *anomalus*-Art betrifft, so haben wir auch hier einige verschiedene Angaben. WEHMER²⁾ fand, dass *S. anomalus* die Gelatine nicht verflüssigt, und gleichzeitig bemerkte er, dass die von FISCHER und BREBECK beschriebene *Endoblastoderma pulverulentum* den Boden peptonisieren könne. Aber wir sind, nach meiner Ansicht, nicht im Stande, mit diesem Unterschiede allein beide Formen als verschiedene Arten von einander zu trennen, da die Untersuchungen BARKER's lehren, dass *S. anomalus* nach gewissen Kulturbedingungen auf der Gelatine mannigfache Wirkungen ausübt,

1) MEISSNER (l. c.) hatte den Nachweis geliefert, dass die Widerstandsfähigkeit der Kammhefe gegen die Erwärmung mit zunehmendem Alter zunimmt.

2) WEHMER, C.: Ueber die Verflüssigung der Gelatine durch Pilze. Chemiker-Ztg., 1895, No. 9, 2088.

so in einem Falle sie schnell verflüssigend, im anderen Falle aber sehr langsam. Unsere *anomalus*-Art verflüssigt auf der Strichfläche die Gelatine stets langsam, und es scheint mir wahrscheinlich, dass die Thätigkeit im höchsten Masse von der Temperatur abhängig ist.

Ueber die Rolle, welche *S. anomalus* im Sakebereitungsprozesse spielt, liegt noch keine Ansicht vor. Es taucht mir die Vermuthung auf, dass das bei der Reifung der Säkemaische bemerkbare angenehme Esteraroma der Hauptsache nach der Masse des stets vorkommenden *S. anomalus* zuzuschreiben sei. Es lässt sich nun fragen, wie diese Hefeart mit der eigenen Sakehefe während des Gährverlaufes in Konkurrenz tritt, und wann die Arbeit der einen endet und die der anderen beginnt. Die Beantwortung dieser und anderer hieran anzuknüpfender Fragen behalte ich mir für die Zukunft vor. Es sei hier hinzugefügt, dass die Widerstandsfähigkeit unserer *anomalus*-Art gegen Alkohol sehr niedrig ist; in Saccharose-MAYER'scher Lösung mit 10% Alkohol kann diese Art nicht zur Entwicklung kommen, während sie 5% Alkoholgehalt zu ertragen im Stande ist.

Nach einer mündlichen Mittheilung von Herrn Professor Dr. MIYOSHI beobachtet dieser sehr oft spontane Alkoholgährung des Blutungssaftes gewisser Pflanzen, hervorgerufen durch *S. anomalus*. In einer noch nicht publizierten Arbeit konstatiert er einen solchen Fall in dem Saft, welcher aus dem gleich über dem Boden geschnittenen Stamm von *Phyllostachys nigra* geflossen war. Aus der Gährmasse isolierte er *S. anomalus*, welcher die Zuckerlösung mit der charakteristischen Esterbildung in Alkohol vergährte. Eine Anzahl anderer Bakterien und Pilze liess sich

auch aus der Masse isolieren, darunter eine sehr auffallende, Buttersäure bildende Bakterienart.

Am Schlusse spreche ich Herrn Prof. Dr. MIYOSHI, unter dessen Leitung meine mykologischen Untersuchungen vor sich gehen, meinen herzlichen Dank aus.

Oktober, 1903.

Botanisches Institut,

Kais. Universität zu Tokio.

