

Bydrae tot die kennis omtrent die
FISIOLOGIE, MORFOLOGIE en SISTEMATIEK
van die
APICULATUS GISTE.



Proefskrif vir die graad van D.Sc.Agric.
ingehandig deur
Chas. J. G. Niehaus.

Die ondersoekinge in verband met hierdie proefskrif was uitgevoer in die Pflanzenphysiologische Versuchsstation aan die Preussische Lehr- und Forschungs Anstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau in Geisenheim a.d. Rhyn. Aan Prof. Dr. K. Kroemer, die bestuurder en Hoof van genoemde laboratorium, wil ek hiermee graag my innigste dank uitspreek vir sy vriendelike belangstelling en aanmoediging tydens die uitvoer van die ondersoekinge.

'n Groot gedeelte van die gemense analyses was uitgevoer in die Weinchemische Versuchsstation aan genoemde inrigting. Dit is my dus 'n baie aangename plig om ook aan Prof. Dr. C. von der Heide my hartelike dank te betuig vir die fasiliteite wat my verleen was, en verder ook vir sy opbouende kritiek.

Ook Drs. Gottfried Krumbholz en Kurt Hennig wil ek graag bedank vir hul belangstelling in, en hul hulp by die uitvoer van die proewe.

Sonder die meewerking van die baie persone in die verskillende wjnbooulande, wat so vriendelik was om druifemonsters te verskaf, sou die omvang van die ondersoekingsmateriaal nie so groot kon wees nie. Aan hul is ek ook baie dank verskuldig.

Bonn am Rhein,

9de April, 1932.

INHOUDSOPGAWE.

	bls.
Inleiding.....	1
HOOFSTUK I. Fisiologie:-	
1. Die gisbaarheid van verskillende suikers.....	9
2. Die gistingverskynsels.....	13
A. Die gisting van druiwemos sonder die toevoer van lug.....	14
B. Die gisting in druiwemos met die toevoer van lug.....	15
C. Die gisbaarheid van glukose en fruktose.....	18
D. Die ontwikkeling in vloeistowwe met hoë suiker-gehaltes.....	20
E. Die gisting in vloeistowwe met hoë suikerkon-sentrasies, met en sonder die toevoer van lug...	22
3. Die assimilasie van suikers en organiese sure.....	24
4. Die weerstandsvermoë teenoor etyl alkohol.....	27
5. Die weerstandsvermoë teenoor swawel-dioksied.....	30
6. Die weerstandsvermoë teenoor organiese sure.....	35
7. Die invloed van hoë temperature.....	38
A. Die maximale temperature vir die vermeerdering..	38
B. die dodende temperatuur in vloeistowwe.....	42
8. Die invloed van reaksie en suiker op die vloeibaar-wording van gelatien.....	50
HOOFSTUK II.	
1. Die vorm, inhoud en grootte van die selle in druiwemos.....	56
2. Die spruiting.....	58
3. Die groeiëienaardighede in vloeistowwe.....	63
A. In reagensbuis-kulture.....	63
B. Die kimvorming op grotere hoeveelhede van ver-skillende vloeistowwe.....	64
4. Die groeiëienaardighede op vaste voedingsmedia.....	66
A. Die eensel-kolonieë.....	66
B. Reusekolonieë.....	66
C. Streep- en steek-kulture.....	68
D. Die ontwikkeling waar die selle reëlmatig deur die gelatien versprei is.....	69
5. Die vorming van ascospore en hul ontkieming.....	71

	bls.
HOOFSTUK III. Siste matiek.....	84
Opsomming.....	94
Aanhangsel.....	96
Bibliografie.....	100

0-0-0-0-0-0

INLEIDING.

By 'n studie van die vakliteratuur kom 'n mens al gou tot die gevolgtrekking dat alreeds 'n groot aantal ondersoekinge oor die apiculatus giste uitgevoer is. Klöcker (1915) het 'n noukeurige samestelling gemaak van al die publikasies wat voor en tot 1912 oor hierdie mikrobe verskyn het. Sedert dien kan as die vernaamste publikasies in verband hiermee die volgendes aangehaal word:- Klöcker (1913), Will (1916 a en b), Janke (1923 en 1928), Kufferath (1929) en Stelling-Dekker (1931). Tog is dit by 'n studie van al die aangehaalde publikasies duidelik dat die toegespiste giste wat op druiwekorrels en in mos voorkom, nog geensinds noukeurig ondersoek was nie.

Tot dusverre was die meeste nader beskrewe verteenwoordigers van hierdie groep òf uit tuingrond (Hansen 1911, Klöcker 1912 en 1912), van die bas van bome (Klöcker 1912 en 1913) òf uit brouerye Will (1916 a) geïsoleer. Dit is wel waar, dat die stamme wat deur Röhling (1905) beskrewe was, en twee van die, wat tot die ondersoekinge van Will (1916 a) gedien het, òf uit wingerdgrond òf van druiwekorrels geïsoleer was. Daar die ondersoekingsmateriaal van genoemde twee navorsers uit 'n betreklike klein wynbougebied kom, kan hul resultate egter nie 'n algemeene oorsig gee oor die eienskappe van hierdie geslag se verteenwoordigers nie, wat gedurende die gisting van mos 'n rol mag speel.

Die vroeëre navorsers het by hul ondersoekinge ook meer praktiese doele voor oë gehad. So b.v. die teenwoordigheid van hierdie mikrobe op druiwe, vrugte, in mout en bier; welke verskillende suikers deur hul in alkohol omgesit kan word; die rol wat hul gedurende die gisting van mos en verskillende vrugte-sappe speel ens. Al hierdie ondersoekinge is egter baie onsamehangend, en by die publikasie daarvan word die metodes waarvolgens te werk gegaan was, geheel en al nie, of baie onsekuur aangegee. Hul is dus van uit die wetenskaplike

- Ras 18: van korrels van Früher Burgunder, Rhein-Hessen.
- Ras 19: van korrels van wit druiwe, Dechantenberg by Freiburg
a.d.Unstrut.
- Ras 20: " " " " " " " " " "
- Ras 21: " " " " " " " " " "
- Ras 22: " " " " " " " " " "
- Ras 25: van korrels van Müller-Thurgau druiwe, Grünberg in
Slesieë.
- Ras 26: van korrels van Riesling, Grünberg in Slesieë.
- Ras 27: van korrels van Früher Burgunder, Büdesheim a.d.Nahe,
Rhein-Hessen.
- Ras 31: van korrels van Silvaner, Dechantenberg by Freiburg
a.d.Unstrut.
- Ras 32: van korrels van Portugieser, Dechantenberg " "
" " "
- Ras 51: van korrels van Blauer Portugieser, Büdesheim a.d.
Nahe, Rhein-Hessen.
- Ras 58: van Korrels van Blauer Portugieser, Rhein-Hessen.
- Ras 59: van korrels van Spät Burgunder, Turmberg by Durlach.
- Ras 69: van korrels van Blauer Portugieser, Linz a.d.R.
- Ras 70: van Korrels van Spät Burgunder, Linz a.d.R.
- Ras 72: van korrels van Müllerrebe, Heilbronn, "Lage" Nordberg.
- Ras 73: van korrels van Riesling, Heilbronn, "Lage" Vordere
Heid.
- Ras 74: van korrels van Blauer Trollinger, Heilbronn, "Lage"
Breit.
- Ras 104: van die korrels van Spät Burgunder, Unkel a.d.R.
- Ras 112: van Korrels van Riesling, Niersten a.d.R.
- Ras 113: van korrels van Silvaner, Nierstein a.d.R.
- B. Uit Luxemburg.
- Ras 127: van korrels van Riesling, Grevemacher, "Lage" Pietert.
- C! Uit Frankryk.
- Ras 37: van korrels van Gamay Noir, Bordeaux.
- Ras 71: van korrels van Cabernet Sauvignon, St.Emilion.
- Ras 79: van korrels van rooi druiwe, Guinzac, Gironde.
- Ras 84: van korrels van Pinot Fin, Quinzac, Gironde.
- Ras 85: van korrels van Cabernet Sauvignon, Quinzac, Gironde.
- D. Uit Switserland.
- Ras 47: van Korrels van Blauer Portugieser, Stöfa a.d. meer
van Zürich.
- Ras 48: van korrels van Räuschling, Mannendorf a.d. meer
van Zürich.
- Ras 82: van korrels van Gutedel, Auvernier, "Lage" la Cote.
- Ras 83: van korrels van Cortailod, Auvernier, "Lage" la Vaux.
- Ras 94: van korrels van Hautrive, Auvernier, Domaine de Cham-
preeveyres.

- Ras 105: van korrels van Gutedel, Cressier, "Lage" les Cotes.
 Ras 106: van korrels van Pinot Noir, Cressier, "Lage" Les Cotes.
 Ras 107: van korrels van wit druiwe, Neuchatel.
 Ras 108: van korrels van swart druiwe, Neuchatel.
 Ras 109: van korrels van rooi druiwe, Neuchatel.

E. Uit Hongarye.

- Ras 52: van korrels van Gros Colman, broeikas te Budapest.
 Ras 53: van korrels van Pasatutti, gebied van Alföldi.
 Ras 54: van korrels van Mathias Fanosac, gebied van Alföldi.
 Ras 55: van korrels van Groot Andrassy Cyula, gebied van
 Buda Lashcay.
 Ras 56: van korrels van Leanyka, gebied van Buda Lashcay.
 Ras 86: van korrels van Chasselas Doré, gebied van Villany.
 Ras 87: van korrels van Chasselas Rouge, gebied van Nyersegi.
 Ras 88: van korrels van Chasselas Doré, gebied van Ballatoni.
 Ras 89: van korrels van Chasselas Doré, gebied van Badacsonyi.
 Ras 90: van korrels van Muskaat-druiwe, gebied van Pest-Nogradi.
 Ras 91: van korrels van Chasselas Doré, gebied van Somloyi.
 Ras 92: van korrels van Chasselas Doré, gebied van Gyongyas
 Visontai.
 Ras 128: van korrels van Muscat Hamburg, gebied van Tokay.
 Ras 129: van korrels van Chasselas Doré, gebied van Tokay.

F. Uit Roemenia.

- Ras 115: van die korrels van Riesling, Hasenberg, Siebenbürgen.
 Ras 120: van die korrels van Orange-Traube, Kersbach, Siebenb.
 Ras 122: van korrels van Grauer Clevner, Pressberg, Siebenbürgen.
 Ras 124: van korrels van Welsch Riesling, Hasenberg, Siebenb.

G. Uit Bulgarye.

- Ras 98: van korrels van Kokorko, Sarambei, Universiteits-
 variëteitwingerd.
 Ras 99: van korrels van Demiat, Sarambei, Universiteits-
 variëteitwingerd.

H. Uit Rusland.

- Ras 134: van korrels van Furmint, Krim, Regerings-wingerde.
 Ras 136: van korrels van Muscat Blanc, Krim, Regerings-wingerde.

I. Uit Portugal.

- Ras 110: van korrels van Morisco Tinto, Minho.
 Ras 111: van Korrels van Azal, Minho.

J. Uit Spanje.

Ras 78: van korrels van Vanlenci, Vanlencia.

K. Uit Italie.

Ras 3: van korrels van gekoopte wit tafeldruiwe.

Ras 49: van Korrels van Barbarossa, Bolzano (Bozen), Suid-Tirol.

Ras 50: van korrels van gekoopte wit tafeldruiwe.

Ras 100: van korrels van Inzolia Bianca, Verona, R. Osservatorio Fitopatologio.

L. Uit Turkye.

Ras 152: van korrels van wit druiwe, uit Ankorra.

Ras 154: van korrels van rooi druiwe, uit Ankorra.

M. Uit Suid-Afrika.

Ras 149: Van die bas van druifstokke uit die wingerde te Elsenburg.

Die bogenoemde rasse was op die volgende manier geïsoleer:- Dadelik na die aankoms van die druiwemonsters, wat meesal in reagensbuisies deur die pos gestuur was, was 5 korrels van 'n betreffende monster in pasteuriseerde mos in 'n reagensbuisie deur middel van 'n volkome steriele pinsette gebring. Die buisies was hierna in 'n termostaat by 25°C geplaas en sodra die eerste tekens van gisting in die mos te bespeur was, was die mikroflora daarvan mikroskopies ondersoek. Indien apiculatus giste voorhande was, was gelatien-plate van die mos gegiet. Daar hierdie giste hul gedurende die eerste gistingstadia baie vinniger as alle ander gissoorte vermeerder, het hul, wat getalssterkte aanbetref altyd die oorhand en kan hul kolonies sonder veel moeite op die gelatien-plate gevind word. Sodra die kolonies groot genoeg was, sodat een deel vir die mikroskopiese kontrole gebruik kon word, was hul nogmaals in steriele mos geënt. Uit die so ontstane kulture was dan later deur middel van die "Lindnersche Tröpfchenkultur"-metode die eintlike rein kulture gekweek.

Die toegespitste giste kom gedurende die herfs op goed ryp druiwe buitengewoon dikwels voor. Op nie minder as 78 van die 144 ondersoekte druiwemonsters het hul voorgekom. Die meeste van die monsters waarop geen ontwikkeling van

hierdie giste plaasgevind het nie, was gedurende die nader somer, voordat die druiwe behoorlik ryp was, ingelê. Hierdie monsters het sonder uitsondering 'n ontwikkeling van òf skimmelswamme òf Dematium aangetoon.

Uit die 14 grondmonsters wat gedurende die winter in Suid-Afrikaanse wingerde geneem was, het net een 'n ontwikkeling van apiculatus giste aangetoon. In die ander was behalwe skimmelswamme (oorwegend) ook nog asynbakterie aanwezig.

Ondersoekingstegniek.

Gistingsproewe. 400 ccm. Druiwemos of gisekstrak was in kolwe met 'n inhoud van ca. 'n halwe liter, pipetteer, Nadat die kolwe met watteproppe toegemaak was, was hul op die gewone manier gedurende drie agtereenvolgende dae in 'n stoon steriliseer apparaat vir 30 minute steriliseer. 'n Dag later was die mos met een platinoog per kolf uit 3 tot 4 dae oue moskulture ingeënt. Die kolwe was dan deur middel van gommastiekproppe en giskappies afgesluit. Die gebruikte proppe en kappies was voorheen sorgvuldig steriliseer. As afsluitingsvloei-stof in die giskappies, was glyserien gebruik. Gedurende die gistingstydperk was die kolwe gereeld elke dag geweë, nadat elke kolf gedurende 'n halwe minuut eers goed omgeskud was om die onopgeloste koolsuurgas uit die mos te verwyder.

In die serieë van proewe waar die mos gedurende die gisting gelug moes word, het dit op die volgende manier plaasgevind. In plaas van deur die giskappies was die kolwe met 'n kurpprop, met twee glasbuisies van 3 mm. binne-deursnit daardeur, afgesluit. Die deel van die buisies wat bo die prop uitsteek, was reghoekig gebuie tot die deel wat deur die prop en in die kolf gelei het. Die een buisie het in die nek van die kolf geëindig, terwyl die ander tot byna op die bodem gestrek het. Om die inkomende lug gedurende gasdruk-veranderinge in die kolwe, te filtreer en ook om infeksie teen te gaan, was...

die buitenste eendes van die buisies met watteproppies afgeafgesluit. Die toegevoerde lug, moes voordat dit deur die mos kon gaan, eers deur drie wasbottels passeer, die eerste waarvan met gekonsentreerde swawelsuur, die tweede met 'n konsentreerde oplossing van kaliumpermanganaat en die derde met sterk kaliloog gevul was. Met behulp van 'n aspirator was die trek van die lug so gereguleer, dat een liter lug gedurende 10 minute deur die vloeistof getrek was. Op hierdie manier was deur ^{elk van} ~~al~~ die kolwe elke 12 uur 'n liter lug getrek.

Invertsuker was volgens die resep van von Lippmann (1895, b. 497) op die volgende wyse berei: -2.5 gram wynsteensuur, 0.5 liter gisekstrak en twee kilogram saccharose was in 'n groot ronde glaskolf gedurende $1\frac{1}{2}$ uur op 100 tot 103°C verwarm. Na hierdie tyd was die rietsuker volkome in invertsuker omgesit. Uit die so ontstane stroop was deur verdunning met gisekstrak twee invertsuker-oplossings berei; die een met 90 en die ander met 30 gram suiker per 100 ccm. Deur hierdie twee oplossings in verskillende verhoudings met mekaar te meng, kon suikeroplossings van enige gewenste konsentrasie verkry word. Om egter die juiste suikergehalte van die so vervaardigde oplossings te bepaal, was hul soortelike gewig deur middel van die "Westphalische Waage" gemeet, en die suiker gehalte dan uit die ekstrak tafels van K. Windisch (sien Röttgers 1926, b. 2033) afgelees.

Die gisekstrak was volgens die bekende voorskrif (sien Will 1909, b. 445) vervaardig. Met byvoeging van verskillende suikers of organiese sure, of van ethyl alkohol het dit as voedingsvloeistof gedien by verskillende ~~serie~~ ^{serie} van die ondersoekinge; so b.v. die oor die gisbaarheid van verskillende suikers, die assimilasie van verskeie organiese sure, die weerstandsvermoë teenoor hoë konsentrasies van organiese sure en teenoor ethyl alkohol, die groei en gisting in hoog konsentreerde suiker-oplossings en die vloeibaarmaak van gelatien. Al hoewel gisekstrak geen konstante samestelling het nie, kan dit tog by ondersoekinge van hierdie aard met....

groot voordeel gebruik word.

Die bier-mout was in alle gevalle ongehop gebruik. Die ekstrakgehalte daarvan was tot op 12°Bal.gebring. Daar die hoofdoel van hierdie ondersoekinge die gisting in druiwemos was, was bier-mout in 'n baie ondergeskikte mate verwend.

By die ondersoekinge oor die spoorvorming en by die streepkulture was die gelatien in hoeveelhede van 6 tot 7 ccm. in die reagensbuisies gevul, en nadat dit gesteriliseer was, was dit toegelaat om styf te word sodat die oppervlakte daarvan skeef van onder na bo in die buisies gestrek het. By die inenting vir die spoorvorming, was 'n platinoog gebruik; by die inenting vir die streepkulture 'n reguit platindraad.

Waar nie anders gemeld is nie, was die gemiese analises volgens die amptelike duitse metodes gemaak (s. von der Heide und Schmitthenner, 1922). Die toetale suurgehalte is altyd as wynsteensuur, en die vlugtige suurgehalte as asynsuur aangegee.

Daar by 'n voorlopige ondersoeking daar geen groot onderskeidingstekens tussen die verskillende rasse, wat deur my isoleer was, te bespeur was nie, het ek vir die verdere ondersoekings een of meer verteenwoordigers uit elke wynproduseerende land geneem.

Ras 1 was deur Kroemer en Krumbholz van oorryp Rieslingkorrels uit die "Lage" Steinberg by Hattenheim a.d. Rhyne isoleer, en is in hul publikasie oor osmofiele spruitswamme (1931, b. 364 en 393) alreeds korteliks van melding gemaak. Deur die vriendelikheid van genoemde twee vorsers was ek in staat gestel om die swam noukeuriger te ondersoek.

Die 17 rasse waarmee die volgende ondersoekinge uitgevoer was, het die volgende herkoms:-

Uit Duitsland: 4 rasse (No. 1, 8, 10, 73).

Uit Luxemburg: 1 ras (No. 127).

Uit Frankryk: 2 rasse (No. 71 en 85).

Uit Switserland: 1 ras (No. 82).

Uit Hongarye: 1 ras (No. 52).

Uit Roemenia: 1 ras (No. 115).

Uit Bulgarye: 1 ras (No.99).

Uit Rusland: 1 ras (No.136).

Uit Portugal: 1 ras (No,110).

Uit Spanje: 1 ras (No.78).

Uit Italië: 1 ras (No.100).

Uit Turkye: 1 ras (No.154).

Uit Suid-Afrika: 1 ras (No.149).

Die tekeninge was met behulp van 'n mikroskopiese tekenapparaat gemaak. Hierby was die volgende lense gebruik:- okulêr-lens 4 en objektief-lens olie immersie $1/12$ van Seibert (vergroting 1470 X). Die mikrofotografiese portrette was met behulp van 'n "Maccam-aufsatzkamer^a" van Leitz-Wetzlar geneem. (In hierdie tesis kom portrette van die oorspronklike tekeninge voor).

HOOFSTUK I.

Fisiologie.

1. Die gisbaarheid van verskillende suikers.

In die literatuur kom baie gegewens oor die gisbaarheid van die verskillende suikers vir *Saccharomyces apiculatus* voor. Hansen (1911, b.61) het gevind dat die ras wat hy ondersoek het, nie daartoe in staat was om saccharose te inverteer en gevolglik te gis nie. Volgens Amthor (1888 a, b.64) het genoemde vorsi^r dit ook vir dieselfde ras vir maltose en laktose kon vasstel. Volgens Fischer en Thierfelder (1894, b.231) het Cremer gevind dat *Saccharomyces apiculatus* druiwesuiker, d-mannose en d-fruktose kan gis; en Voigt dat hierdie gisaard nie daartoe in staat is om d-galaktose te gis nie. Die laasgenoemde resultate kon deur bogenoemde twee vorsi^rs bevestig word.

Lindner (1900, b.714) gee aan dat een van die 4 rasse wat hy ondersoek het, d-galaktose en d-mannose in 'n geringe mate kan gis. Die ander 3 kan nog d-galkatose, nog d-mannose



gis, almal egter glukose en fruktose. Klöcker (1913, b.293 - 304) het gevind dat van 17 *Pseudosaccharomyces* species (*Saccharomyces apiculatus*) uit verskillende dele van Europa, Afrika en Asie, 9 invertase bevat. Die invertase kom egter as endoënsiem voor en kom vry eers nadat die selle vermorsel was. Hy kon deur sulke fyngedrukte selle tot 'n saccharose oplossing te voeg, die ontstaan van invertsuiker daarin aantoon. Op b. 305 gee hy verder aan dat 11 van die 17 species in die natuurlike toestand daartoe in staat is om klein hoeveelhede van maltose te gis. Verder is al die species daartoe in staat om glukose, fruktose en mannose te gis, maar nie d-galaktose of d-laktose nie.

Die rasse wat deur Will (1916a, b.269) ondersoek was, kon glukose en fruktose gis, maar nie d-galaktose, maltose, laktose, saccharose en raffinose nie. Verdere sitate uit die literatuur is by Will (1916a, b.257) te vind.

Uit hierdie paar aanhalings blyk dit duidelik dat die gegewens van alle outeure daarin ooreen stem dat hierdie gis d-glukose, d-fruktose en d-mannose kan gis. Hiermee stem ook my resultate ooreen. Die bewering van Klöcker oor die gisbaarheid van maltose en saccharose word nie deur my proewe se uitslae bevestig nie.

By hierdie proewe was die verskillende suikers se gisbaarheid deur die "Kleingis"-metode van Lindner uitgetoets. Die suikers was van die reinste preparate wat deur die firma Merck in Darmstadt gelewer word. Volgens die resultate van hierdie reeks proewe is al die 17 ondersoekte rasse daartoe in staat om glukose, fruktose en mannose te gis, maar nie arabinose, galaktose, saccharose, maltose, laktose, raffinose, dextrin en inulin nie.

Die kleingis-proewe het gewoonlik 24 uur geduur. Verskeie ondersoekers soos Will, Guilliermond, Davis en Klöcker (sien Klöcker 1924, b.211) het egter al daarop gewys dat in alle gevalle waar die gisting van 'n suiker baie swak is, lewer die kleingis-metode nie altyd betroubare resultate nie. In sulke gevalle kan slegs deur proewe wat met langer voortduuring

uitgevind word of 'n suiker gisbaar is of nie.

Verdere proewe met saccharose, maltose, laktose en galaktose was op die gvol ende manier uitgevoer: - Tot 'n gisekstrak was soveel $\frac{N}{12}$ natriumloog gevoeg totdat dit met lakmoes papier 'n uiters swak alkaliese reaksie aangetoon het. 5 Gram van die betrefende suiker was dan tot 100 ccm. van hierdie ekstrak gevoeg. Die oplossings van die di-saccharide was deur middel van 'n klein E.K. filter van die firma Seitz, Kreuznach i.d. Rhyndland kienvry gemaak en dan in steriele, 10 /ccm. lange reagensbuisies afgeful. Die galaktose oplossing was eers in genoemde buisies afgeful en dan 3 maal na mekaar in stoom steriliseer. Deur die watterproppe van die buisies was S-vormig gebuigde glasbuisies, wat in die buiging met 'n druppel glyserien afgesluit was en as giskappies moes dien, aangebring. Nadat die oplossings van die verskillende suikers ingeënt was, was die watterproppe effens afgedruk en bo oor met paraffien toegesmeer.

Die lugdigte afsluiting en die geringe lugruimte bo die vloeistowwe het verhoed dat daar 'n kim ontstaan het, en so 'n moontlikerwyse verbruik van die gevormde alkohol deur die gis kon plaasvind. Die selle waarmee ingeënt was, was uit 3 dae oue kulture in druiwemos geneem; dus uit 'n invertsuiker bevattende vloeistof. Die proewe was by 'n temperatuur van 25°C uitgevoer, Nadat hul 3 tot 4 weke aan die gang was, was die vloeistowwe se gehaltes aan alkohol deur middel van die mikro-metode van Ripper en Wohack (1917, b. 102) bepaal. Die resultate van die analyses is in tabelle 2 weergegee.

Die ph-bepalinge was gelyktydig met die analyses gemaak deur middel van die "Wulffschen Folien-Kolorimeter".

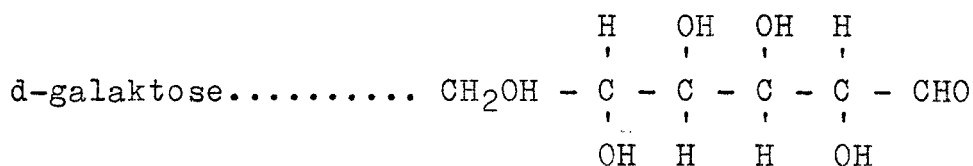
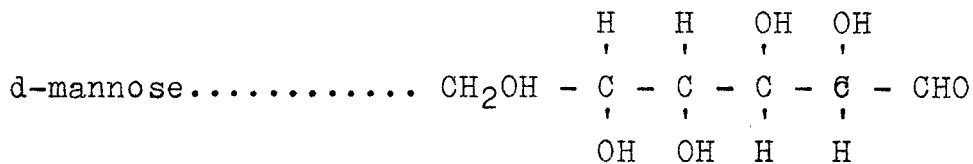
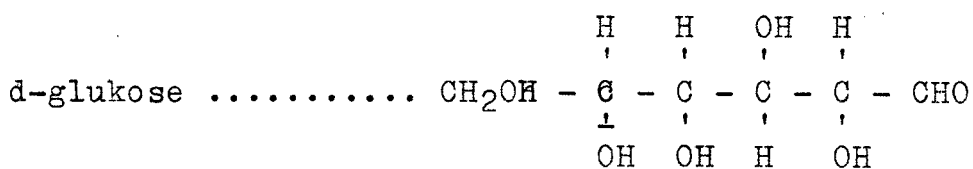
In al die gevalle kon die gis hul goed in die vloeistowwe vermeerder. Daar was egter nooit enige tekens van 'n gisting te sien nie. Soos uit die tabelle blyk, het gedurende die duur van die proewe, die vloeistowwe se suurgehalte effens toegeneem. Dit is dus nie onmoontlik nie dat daar 'n geringe inversie en gisting van die di-saccharide mag plaas-

gevind het. Op hierdie manier kan die ontstaan van die geringe hoeveelhede van alkohol wat by die analyses gevind was, verklaar word. In elk geval mag hieruit nie afgelei word nie dat sulke suikers gisbaar is nie. Hierdie groep van apiculatus giste is dus nie daartoe in staat nie om saccharose, maltose, laktose en galaktose te gis nie.

Tabelle 2.

Gis- ras	Gisekstrak + 5% saccharose na 19 dae		Gisekstrak + 5% maltose na 28 dae		Gisekstrak + 5% lak- tose na 22 dae		Gisekstrak + 5% galaktose na 19 dae.	
	alkohol g/l	ph-waarde	alkohol g/l	ph-waarde	alkohol g/l	alkohol g/l	ph-waarde	
kontrole	0.20	7.2	0.20	7.2	0.90	0.60	7.0	
1	1.20	5.0	0.50	6.7	1.15	0.60	6.9	
8	1.40	5.8	0.40	6.3	1.60	0.90	6.3	
10	0.30	5.4	0.70	6.9	1.20	1.30	6.7	
52	1.20	5.0	1.00	5.0	1.80	0.30	6.8	
71	0.30	4.9	0.65	6.9	1.20	0.80	6.4	
73	1.20	5.0	0.40	7.1	1.50	0.40	6.0	
78	0.35	5.0	0.40	7.1	1.80	0.60	6.5	
82	0.85	5.1	0.30	6.9	2.05	1.30	6.4	
85	0.60	5.0	0.25	6.6	1.10	0.50	6.3	
99	2.90	5.0	0.20	6.3	1.00	0.45	6.0	
100	1.30	5.2	0.50	7.2	1.65	1.05	6.2	
110	1.90	5.6	0.05	6.8	1.10	0.05	6.2	
115	0.80	5.4	0.10	7.0	0.95	0.50	6.7	
127	1.90	5.4	0.30	7.1	1.40	0.55	6.6	
136	1.20	5.4	0.40	7.1	1.75	0.49	6.6	
149	0.80	5.8	0.10	6.9	1.60	1.20	6.6	
154	0.65	5.1	0.70	6.9	1.55	1.00	6.5	

Volgens Fischer en Thierfelder (1894, b.236) is die mono-saccharid galaktose nie deur hierdie giste gisbaar nie, omdat die geometriese bou van sy molekule te veel afwyk van die van die ander mono-saccharide.



Die gisbaarheid van die mono-sacchariede is veral van die posiesie van die hidroksiel groepe in verhouding tot die ^aasimetriese koolstof atome afhanklik. Omdat daar in hierdie opsig 'n taamlike onderskeid bestaan tussen glukose en mannose aan die een kant en galaktose aan die ander, is dit vir so 'n swak gistende gisaard soos die apiculatus giste nie meer gisbaar nie. Deur die ander saccharomycete word galaktose net nog in 'n baie geringe mate gegis.

2. Die gistingsverskynsels.

Die apiculatus gis wat deur Hansen (1911, b.60) isoleer en ondersoek was, kon by 4 tot 7°C slegs 0.625 en by 20 tot 27°C 1.0 vol.% alkohol vorm. Alle latere vorsers soos Amthor, Müller-Thurgau, Röhling, Klöcker, Will ens. was daarin eens, dat hierdie spruitswam nie daartoe in staat is nie om gedurende die gisting hoë alkohol konsentrasies te laat ontstaan.

Daar hierdie rasse hoofsaaklik van druiwe isoleer was, was hul gisvermoë en giskrag tot 'n groot mate net in druiwemos uitprobeer. Kroemer en Krumbholz (1939, b.364) het gevind dat hierdie geslag se verteenwoordigers hul soms ook heel goed in konsentreerde druiwemos kan ontwikkel. Ek het dit dus goed gedink om die verskillende rasse ook oor hierdie eienskap nader te ondersoek.

A. Die gisting in druiwemos sonder die toevoer van lug.

Die mos wat vir hierdie proewe gebruik was, het bestaan uit 'n mengsel van 4 dele mos uit die jaar 1930 en 1 deel water.

Die samestelling daarvan was as volg:-

Ekstrakgehalte..... 57°Öchsle (=ca.14°Bal.).
 Toetale suurgehalte..... 11.3 pro mille.
 Vlugtige suurgehalte.... 0.07 pro mille.

Nadat die mos in die kolwe gesteriliseer was, was elke kolf met 'n platinoog vol gis uit 3 dae oue kulture in mos geënt. Die temperatuur, waarby die proewe uitgevoer was, het 25°C bedra. Nadat die gisting verby was, was die wyne se samestelling soos in tabelle 3 aangegee.

Tabelle 3.

Gisras No.	Alkohol g/l	Toetale suurgeh. g/l	Vlugtige suurgeh. g/l	Gr. vlugtige suur gevorm op 100 gram alkohol	Onderzoek na weke
kontrole	-	11.2	0.07	-	-
1	44.9	11.8	0.57	1.3	6
8	5.0	12.2	0.47	9.3	6
10	5.0	12.3	0.45	9.0	6
52	14.6	10.9	0.48	3.3	4
71	8.9	12.1	0.42	4.7	6
73	9.3	11.1	0.49	5.2	6
78	10.3	11.2	0.44	4.2	6
82	7.1	11.1	0.51	7.1	6
85	14.6	11.2	0.52	3.5	6
99	7.7	10.9	0.50	6.5	6
100	11.4	11.5	0.52	4.5	6
110	10.3	11.7	0.54	5.2	6
115	11.9	12.1	0.48	4.0	6
127	11.9	12.2	0.55	4.6	6
136	4.4	11.7	0.51	11.6	6
149	4.4	11.1	0.45	10.2	6
154	7.7	11.8	0.51	6.6	6

Oor die algemeen was die gisting baie langsaam en slepend. Net by ras 1 was dit effens vinniger (sien afbeeldinge 1 tot 3). Soos ook uit tabelle 3 te sien is, vorm hierdie ras veel meer alkohol as die ander. Terwyl die ^t 44.9 g/l alkohol gevorm het, kon die tweede sterkste gistende ras (ras 85) slegs 14.6 g/l alkohol laat ontstaan. In die opsig verskil ras 1 sterk van die ander en staan in 'n klas by homself. In die gisvermoë van die ander rasse bestaan daar ook verskille, maar die is relatief klein.

Die gehalte aan toetale suur in die wyn is in sommige gevalle gelyk aan die van die mos, in sommige gevalle meer en in ander weer minder. Waarvan hierdie onreëlmatighede afhang is nie uit die analyses af te lei nie. Soos 'n verdere proef aantoon, kon die giste hier onder geen omstandighede van die mos se organiese sure geassimileer het nie.

Die wyne het ook almal 'n betreklike hoë gehalte aan vlugtige sure bevat. Al hoewel hierdie giste 'n geringe gisvermoë besit kan hul heelwat vlugtige sure vorm. Deur ras 1 word die hoogste hoeveelheid van vlugtige sure in die wyn gevorm. Omdat genoemde ras ook ^{ee l} ~~v~~ alkohol laat ontstaan, is die verhouding van vlugtige sure tot alkohol (1 : 3) heelwat laer as by enige ^{iv} ~~a~~nder ras. Daar bestaan geen korrelasie tussen die gistingsvermoë en die vermoë om vlugtige sure te vorm nie. Gewoonlik vorm die rasse wat die sterkste gis ook die grttoste hoeveelheid vlugtige sure. Soos ras 136 aantoon, is dit egter nie altyd die geval nie.

Sonder uitsondering het die wyne 'n baie onaangename en sterk ruik na esters gehad. Hierdie walglike ruik het hom nie alleen in die aroma nie, maar ook in die smaak van die wyn nadelig openbaar. 'n Soortgelyke ruik was ook deur Amthor (1888b, b.560) opgemerk in wyne wat deur apiculatus giste gegis was. Hy beskrywe dit egter as 'n "angenehm obstartigen Bukett"! Na hom maak 'n reeks van ander vorsers soos Müller-Thurgau, Meissner, Röhling, Will ens. melding daarvan.

B. Die gisting in druiwemos met die toevoer van lug.

Die mos vir hierdie ondersoekinge het ook, soos in die vorige

geval, bestaan uit 'n mengsel van 4 dele druiwemos uit die jaar 1930 en 1 deel water. Die analise het die volgende samestelling aangetoon:-

Ekstrakgehalte..... 58°Ochsle (=ca.14.5°Bal.).
 Toetale suurgehalte..... 11 pro mille.
 Vlugtige suurgehalte.... 0.07 pro mille.

Die inenting ens. het plaasgevind soos voorheen beskrew. In plaas van die giskappies was hier kurkproppe ~~was~~ met twee gebuigde glasbuisies daardeur (s. bls. 6) tot afsluiting van die kolwe gebruik. Die ondersoekingstemperatuur was ook 25°C. Na 3 weke was die gisting verby. Na 6 weke was die wyne analiseer en die waardes soos in tabelle 4 aangegee, gevind.

Tabelle 4.

Gisras No.	Alkohol g/l	Toetale suurgeh. g/l	Vlugtige suurgeh. g/l	Gram vlugtige suur gevorm vir 100 gram alkohol
Kontrole	-	11.0	0.07	-
1	52.8	11.4	0.49	0.9
8	27.4	11.9	0.79	2.9
10	24.0	11.7	0.89	3.7
52	28.5	12.0	0.63	2.2
71	28.5	11.5	0,62	2.2
73	26.4	12.0	0.72	2.9
78	28.5	11.7	0.67	2.3
82	21.2	11.5	0.94	4.4
85	27.4	11.8	0.70	2.5
99	30.3	11.8	0.70	2.3
100	26.4	11.1	0.84	3.4
110	21.9	11.7	0.63	2.2
115	39.0	11.6	0.71	1.8
127	23.5	12.1	0.68	2.9
136	22.9	12.0	0.78	3.4
149	21.8	12.1	0.66	3.2
154	17.9	12.1	0.62	3.5

Die gisafsaksel was in die kolwe veelsterker as by die vorige proewe. Die kondiesies vir die vermeerdering van die giste moes hier dus gunstiger gewees het. Die onaangename ruik na esters het hom hier nie so sterk openbaar nie. Soos uit die grafieke (afb. 1 tot 3) te sien is, was die gisting hier baie lewendiger en sterker as sonder die toevoer van lug. Selfs by ras 10 wat anders betreklik swak gis, kan gedurende die eerste 8 dae 'n duidelike periode van sterk gisting opgemerk word. Die toevoer van lug begunstig dus nie alleen die vermeerderingsvermoë nie, maar ook die giskrag van die toegespitste giste op 'n aanmerklike wyse.

Volgens Korff (1898, b. 626) kan die gevolge van die toevoer van lug en die verwydering van suurstof hul, by die drie rasse wat hy ondersoek het, heel verskillend openbaar. Die gevolge van bogenoemde prosesse skyn soms teenstrydig te wees. Hy kon egter vasstel dat hul afhanklik is van 'n rasse suurstof-vereistes en sy gevoeligheid teenoor hierdie element.

Deur die toevoer van lug was by al die rasse behalwe die vermeerderingsvermoë en die gistingsenergie ook nog die gistingsvermoë in 'n sterk mate verhoog. Dit is onmoontlik om die invloed, wat die toevoer van lug op die vermeerderingsenergie van die selle het, uit hierdie proef af te lei. Al hierdie gunstige gevolge mag egter nie alleen aan die toevoer van lug toe geskrywe word nie. Sonder enige twyfel speel ook die verwydering van die kooldioksiedgas hierby 'n rol. Seiss (1907, b. 398) het by twee apiculatus rasse wat sy ondersoek het, gevind dat "das Wachstum, die Vermehrungsenergie dieser Hefen.... durch das Vorhandensein von Kohlensäure ganz beträchtlich reduziert wird".

By hierdie proewe verskil ras 1 weer sterk van die ander. In teenstelling tot hul word sy gisvermoë nie so sterk deur die toevoer van lug verhoog nie. Hy is dus minder gevoelig teenoor kooldioksiedgas, of het nie so 'n groot suurstofbehoefte nie. Wanneer lug gedurende die gisting toegevoer word

vorm hierdie ras ook minder vlugtige sure as sonder lug. Presies die omgekeerde is die geval met al die ander rasse. By hul skyn dit asof 'n toename in die gevormde hoeveelheid vlugt~~ige~~ sure gepaard gaan met die vermeerdering van die gistingsenergie en die gisvermoë.

Al hoewel die toevoer van lug 'n verhoging in die gehalte aan vlugtige sure as gevolg gehad het, word die alkohol-^{veel}vorming daardeur relatief ~~x~~sterker vermeerder, en die verhouding tussen die vlugtige sure en die alkohol is hier dus veel laer as sonder die toevoer van lug.

C. Die gisbaarheid van glukose en fruktose.

In die kleingisproewe volgens Lindner kon hierdie giste alleen glukose, fruktose en mannose gis; dus net mono-saccharide. Of glukose en fruktose, die enigste twee suikers wat in natuurlike druiwemos voorkom, ewe sterk omgesit word, was egter nie uit die kleingisproewe te sien nie. Verder was dit ook noodwendig om te weet welke gisprodukte uit genoemde twee suikers kan ontstaan. Hiertoë was daar 'n besondere gistingstingsproef uitgevoer met gisekstrak as voedingsvloëistof. Tot 1000 ccm. van die gisekstrak was ca. 90 gram glukose of fruktose gevoeg. Die gebruikte suikers was die reinste wat deur die firma Merck in Darmstadt gelewer word. Weens die koste daaraan verbonde, was die proef net met twee rasse, 1 en 52 uitgevoer. Gedurende die gisting was geen lug tot die suikeroplossings (500 ccm. in 1000 ccm. bevattende kolwe) toegevoer nie. Die ondersoekingstemperatuur was 25°C. Die vloëistowwe was met 1 platinoog gis uit 3 dae oue kulture in druiwemos ingeënt.

Soos dit uit tabelle 6 duidelik blyk was daar by geen van beide rasse enige onderskeid te merk tussen die gisting van die twee suikers nie. Alreeds na 12 dae was die gisting verby. Dit het dus veel vinniger as in druiwemos gegaan. Na 52 dae was die vloëistowwe geannaliseer. Die resultate is in tabelle 6 aangegee.

Soos uit tabelle 6 te sien is, was die suiker in albei die vloëistowwe deur ras 1 volkome uitgegis. Indien daar meer

suiker aanwesig was, sou hierdie ras heel waarskynlik meer alkohol kon gevorm het. Die met ras 52 ingeëntevloeistowwe het daarteen nog 'n geringe hoeveelheid suiker bevat. Wat die gistingsprodukte aanbetref was daar geen onderskeid tussen glukose en fruktose nie.

Tabelle 5.

Die gewigsverliese na verloop van ? dae	Verliese in die gewig van die gistende moste g/l			
	Ras 1		Ras 52	
	glukose	fruktose	glukose	fruktose
2	1.2	1.8	1.2	1.6
4	19.4	19.2	15.2	14.2
6	34.2	31.2	27.0	24.8
8	40.4	37.6	35.0	32.0
10	42.2	40.4	40.6	36.2
12	42.6	41.8	42.0	39.6
14	42.6	41.8	42.0	40.0
52	42.6	41.9	42.0	40.0

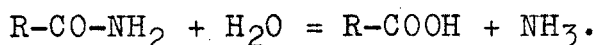
Tabelle 6.

	Suiker	Alkohol g/l	Toetale suurgeh. g/l	Vlugtige suurgeh. g/l	Gram vl. suur gevorm op 100 g.alk.
kontrole	glukose	-	0.6	0.1	-
	fruktose	-	0.6	0.15	-
ras 1	glukose	38.4	1.6	0.41	0.9
	fruktose	40.0	1.6	0.45	0.9
ras 52	glukose	36.7	2.0	0.69	1.6
	fruktose	39.6	1.9	0.69	1.5

Heel eienaardig is dit egter, dat terwyl ras 52 in druiwemos
slegs.
(s. tabelle 3 bls.14), 14.6 g/l alkohol kan vorm, kan dit in
gisekstrak onder analoge kondiesies tot 39.6 g/l alkohol laat

Ontstaan. Ook by verdere proewe het dit geblyk dat die apiculatus giste in gisekstrak nie so gevoelig is teenoor alkohol soos in druiwe mos nie.

In al die vier gevalle het die vloeistowwe se toetale suurgehaltes aanmerklik gedurende die gisting toegeneem. Selfs nadat die ontstane vlugtige suur afgetrek was, was daar nog 'n aanmerklike toename in die gehalte van nie-vlugtige sure. Die opvatting dat hierdie vermeerdering veroorsaak was deur die ontstaan van barnsteensuur, het by die analises geblyk verkeerd te wees. Geen van die vloeistowwe het die geringste spore van barnsteensuur bevat nie. Onder die beskrewe kondities is die twee rasse dus nie daartoe in staat nie om barnsteensuur te laat ontstaan. Die vermeerdering in die gehalte aan nie-vlugtige sure moet dus gesoek word in 'n verandering wat die gisekstrak gedurende die gisting ondergaan. Dit is nie onmoontlik nie, dat die suur-amide wat in gisekstrak in aanmerklike hoeveelhede aanwesig mag wees, deur hidroliseerende ensieme in hul komponente opgebreek word. B.v.



Die ammoniak mag as assimilaat dien vir die gis, en die sure kom vry.

D. Die ontwikkeling in vloeistowwe met hoë suurgehaltes.

In hierdie en ook in die volgende proef was gisekstrak met verskillende konsentrasies van invertsuiker, as voedingsoplossing gebruik. Die oplossings was in hoeveelhede van 10 ccm. in reagensbuisies afgevu, 3 maal steriliseer en dan uit 3 dae oue kulture in druiwemos met ca. 15 gram suiker per 100 ccm., geënt. Die ondersoekingstemperatuur was 25°C.

Proef 1. Die soortelike gewig van die suikeroplossing by 15°C was 1.1546. Die oplossing het dus 'n ekstrakgehalte van 406 g/l en 'n suikergehalte van 397 g/l gehad. 3 Dae nadat hul ingeënt was, het al die rasse hul alreeds sterk ontwikkel.

Proef 2. Soortelike gewig van die suikeroplossing by 15°C =

1.1986. Ekstrakgehalte = 524 g/l en suikergehalte = 515 g/l. Ses dae na die inenting het ras 1 al 'n sterk ontwikkeling en 'n matige gisting in die vloeistof aangetoon. Die ander rasse was nog almal veel minder ontwikkel en die gisting was taamlik swak. Na nog twee dae was die gisting effens sterker, maar tog nog veel swakker as by ras 1. Al die rasse het hul net in die onmiddellike nabyheid van die vloeistof se oppervlakte kon ontwikkel. Die mikroskopiese ondersoeking het aangetoon dat al hoewel die selle daar normaal uitgesien het, was hul vorm tog effens meer rond en dikker as gewoonlik.

Proef 3. Soortelike gewig van die suikeroplossing by 15°C = 1.2173. Ekstrakgehalte = 573.8 gram/l en die suikergehalte = 564 g/l. Na 10 dae was ras 1 goed ontwikkel en die mos was sterk aan die gis. Die ander rasse se ontwikkeling was baie swak en die gisting uiters swak. Na 17 dae was by ras 1 nog geen verandering nie. Intussen het die ander rasse hul sterker ontwikkel, maar die gisting was nog net so swak soos voorheen. Ook hier het die ontwikkeling net in die boonste gedeeltes van die vloeistowwe plaasgevind. Die vormens van die selle was soos in proef 2.

Proef 4. Soortelike gewig van die suikeroplossing by 15°C = 1.2356. Ekstrakgehalte = 624.6 g/l en die suikergehalte = 615 g/l. Na verloop van 6 dae was ras 1 matig|sterk ontwikkel en kon ook 'n geringe gisting veroorsaak. By die rasse 71,110,127 en 149 was 'n baie swak ontwikkeling, maar geen gisting te bespeur nie. Na 11 dae was met uitsondering van die rasse 10,73,99,100,115 en 136 die ontwikkeling oorals makroskopies sigbaar, maar behalwe by ras 1 was daar geen tekens van gisting te sien nie. So was dit ook na 15 dae.

Hier ook weer onderskei ras 1 hom duidelik van die ander rasse deur sy grotere uithoudingsvermoë teenoor hoë suiker konsentrasie. Terwyl die ongevoeligste van die ander rasse hul skaars nog kan ontwikkel by 'n konsentrasie van 615 g/l suiker, groei ras 1 hier nog sterk en kan selfs 'n gisting veroorsaak.

In meeste met normale suikergehaltes veroorsaak die apiculatus giste 'n ondergisting. Veral ras 1 is 'n tiepiese ondergis. Gedurende die gisting bly die vloeistof bo die gisafsaksel betreklik helder. In hoogkonsentreerde suikeroplossings daarteen ontwikkel die giste hul net in die boonste gedeeltes van die vloeistowwe. Volgens Kroemer en Krumbholz (1931, b.371) het ook Laurent, R.von der Heide, Zschocke en Satava hierdie verskynsel opgemerk. Eersgenoemde twee ondersoekers het dit sowel by hul osmofiele as ook by gewone giste kon waarneem. Uit hul resultate blyk dit dat die selle nie deur die hoë soortelike gewig van die vloeistowwe aan die oppervlakte gehou word nie, maar dat die giste hul in vloeistowwe met sulke hoë osmotiese waardes net in die dele wat ryk is aan suurstof, kan ontwikkel.

E. Die gisting in vloeistowwe met hoë suikerkonsentrasies met en sonder die toevoer van lug.

Die voedingsoplossings wat met gisekstrak en invertsuiker berei was, het die volgende samestellings gehad:-

- | | |
|--|----------|
| (1) S.Gew.= 1.1712, Toetale ekstrak=448.8 g/l, Suikergeh.= | 440 g/l. |
| (2) S.gew.= 1.1922, Toetale ekstrak=505.3 g/l, Suikergeh.= | 495 g/l. |
| (3) S.gew.= 1.2274, Toetale ekstrak=600.1 g/l, Suikergeh.= | 591 g/l. |

Die gistingsproewe, die inenting, die toevoer van lug ens.

het presies soos in die vorige proewe geskied. Die ondersoekings temperatuur was 25°C.

In al die serieë was die gisting na 17 dae al verby. Soos uit die grafieke (afb. 1 tot 3) te sien is, was met die toevoer van lug die hoofgisting al na 10 tot 11 dae verby. Waar lug toegevoer was, het die gisting gouer ingetree as sonder lug. Dit bewys weer dat die selle hul in die aanwesigheid van suurstof vinniger kan vermeerder. Sonder lug was die gisting veel langamer (s. tabelle 7). By ras 1 kan nog 'n hoofgistingsperiode tot op die 11 de dag waargeneem word. By die ander rasse was die gisting van die begin af slepend en hier is daar geen aanduidings van 'n hoofgisting nie. Na 52 dae was die vloeistowwe annaliseer. Die resultate is in tabelle 8 aangegee.

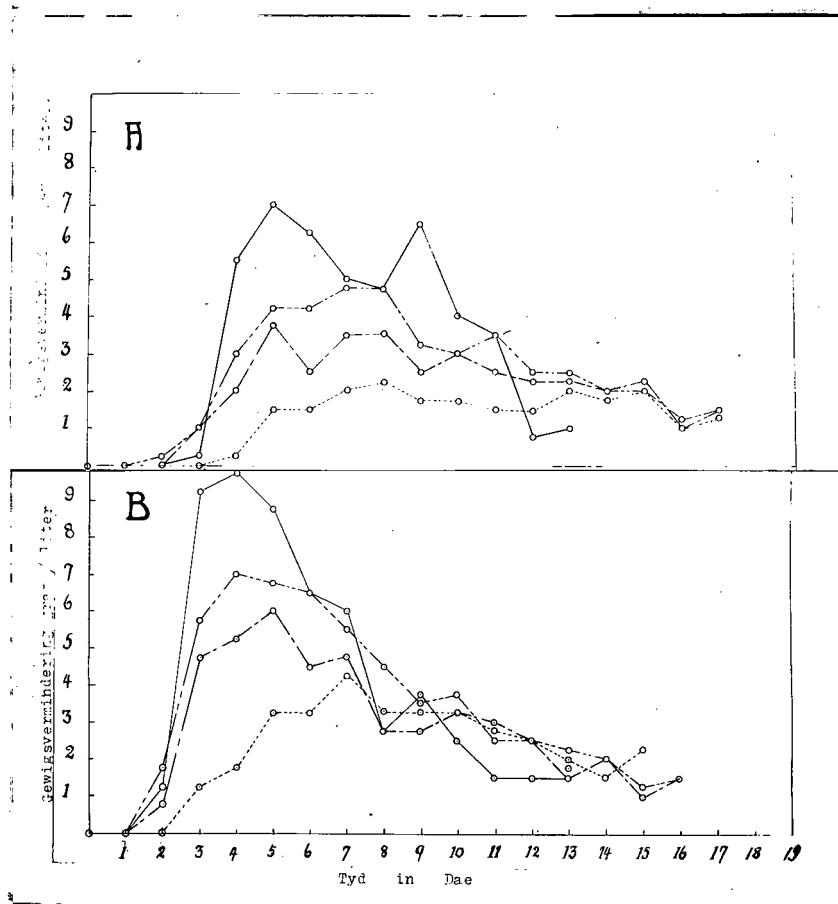
= 23 =

Tabelle 7.

Gisras No.	Ekstrakgeh. van die Suikeroplos- g/ 100 cc.	Duur van die proewe in dae	Gewigsverliese aan koolsuurgas g/l	
			met lug	Sonder lug
1	44.88	17	57.5	45.0
	44.88	45	62.5	51.0
	50.53	17	47.3	36.7
	50.53	45	51.7	48.2
	60.01	17	36.7	23.2
	60.01	45	45.2	35.2
10	44.88	17	26.7	14.0
	44.88	45	36.7	21.5
	50.53	17	22.5	11.7
	50.53	45	32.5	19.0
115	44.88	17	23.2	14.5
	44.88	45	36.2	25.2
	50.53	17	17.7	12.7
	50.53	45	27.5	20.4

Tabelle 8.

Gis- ras No.	Gram ekstrak in 100 ccm.	Met die toevoer van lug			Sonder die toevoer van lug		
		alkohol g/l	Toetale suurgeh. g/l	Vlugtige suurgeh. g/l	alkohol g/l	Toetale suurgeh. g/l	Vlugtig suurgeh. g/l
Kontrole	-	-	-	-	-	0.6	0.1
1	44.88	57.8	2.1	0.74	52.2	2.0	0.85
	50.53	52.2	2.1	0.74	43.7	2.2	0.93
	60.01	39.0	2.2	0.91	29.1	2.2	0.94
10	44.88	29.1	2.4	1.14	17.3	2.2	0.93
	50.53	27.5	2.3	1.03	13.7	2.0	0.73
115	44.88	30.3	2.3	1.12	22.9	2.0	0.90
	50.53	25.7	2.3	1.14	19.5	1.9	0.83



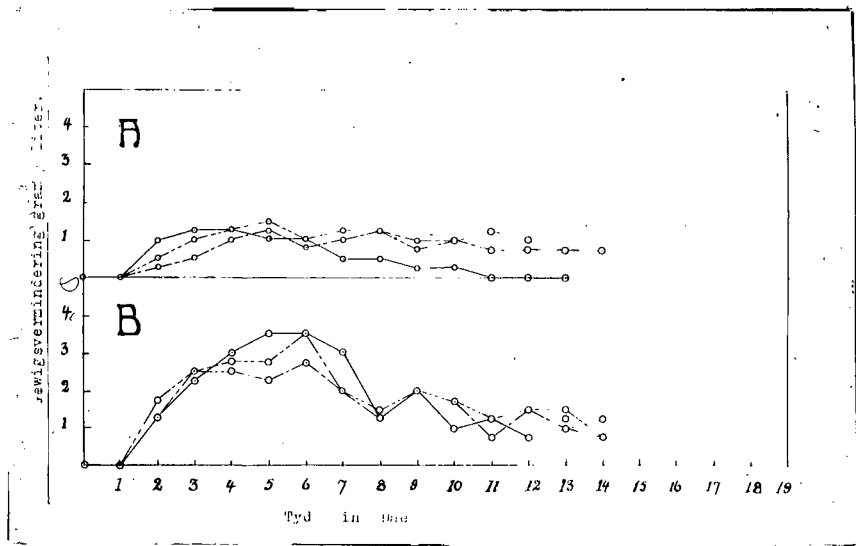
Afbeelding 1.

Die gang van die gisting by verskillende suiker-konsentrasies, met en sonder toevoer van lug. (Ras 1).

A. Met lug.

B. Sonder lug.

- in druiwemos met 145 g/l suiker.
- in gisekstrak met 440 g/l suiker.
- . - . - . in gisekstrak met 495 g/l suiker.
- in gisekstrak met 591 g/l suiker.

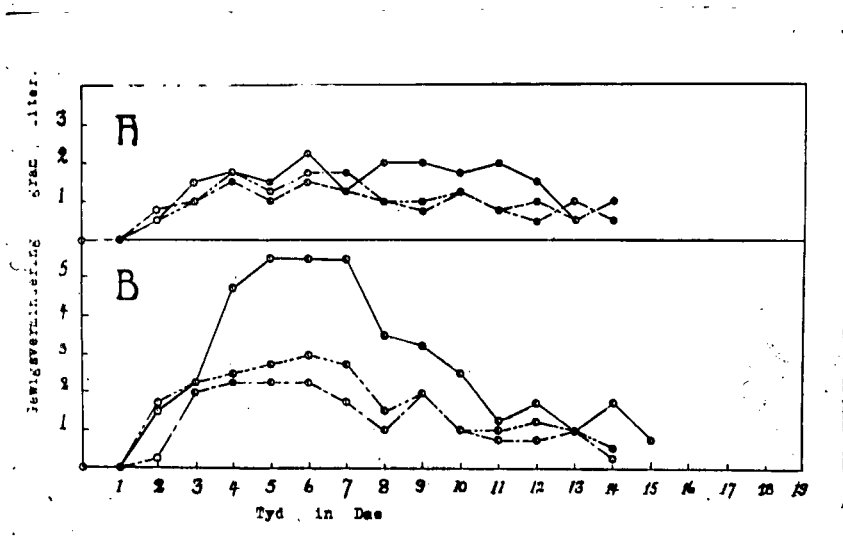


Afbeelding 2.

Die gang van die gisting by verskillende suiker-konsentrasies, met en sonder toevoer van lug. (Ras 10).

A. Met lug. B. Sonder lug.

- in druiwemos met 145 g/l suiker.
- in gisekstrak met 440 g/l suiker.
- · - · - in gisekstrak met 495 g/l suiker.



Afbeelding 3.

Die gang van die gisting by verskillende suiker-konsentrasies, met en sonder toevoer van lug. (Ras 115).

A. Met lug. B. Sonder lug.

- in druiwemos met 115 g/l suiker.
- in gisekstrak met 440 g/l suiker.
- · - · - in gisekstrak met 495 g/l suiker.

Ook in hierdie proewe het die gehalte aan nie-vlugtige sure gedurende die gisting toegeneem. Ras 1 kon in die konsentrasie 1 in albei die serieë meer alkohol vorm as in die ooreenkomstige proewe in druiwemos. In die konsentrasies 2 en 3 is in beide die gevalle die gehalte aan alkohol minder. Ras 10 het sowel in konsentrasie 1 as in konsentrasie 2 met en sonder lugtoevoer meer alkohol as in die paralelle proewe in druiwemos laat ontstaan. Die onderskeid is egter veel groter met as sonder lug toevoer. Met lug het ras 115 minder alkohol as in mos laat ontstaan. Daar sonder was in beide konsentrasies heelwat meer alkohol in die gisekstrak gevorm.

Soos voorheen reeds geblyk het, verskil ras 1 van die ander twee rasse deurdat hy in alle proewe met lug-toevoer minder vlugtige sure laat ontstaan as sonder lug. By die ander rasse is die teenoorgestelde die geval.

By al die drie rasse was in die verskillende suiker konsentrasies omtrent dieselfde hoeveelhede vlugtige sure gevorm. Word hierdie gegewens egter vergelyk met die in tabelles 3 en 4, dan blyk dit duidelik dat hoe hoër die suiker konsentrasie hoe meer vlugtige sure word deur 'n bepaalde gisras gedurende die gisting gevorm. R. von der Heide (1907, b.254) het by twee apiculatus rasse en vier wyngiste dieselfde verskynsel opgemerk. Ook Seiss (1907, b.399) kon by verskeie apiculatus giste dieselfde waarneem.

3. Die assimilasie van suikers en organiese sure.

Die proewe oor die assimileerbaarheid van die verskillende suikers deur die apiculatus giste is met heelwat moeilikhede verbonde. Soos Will (1916a, b.244) aangetoon het, groei hul nie in 'n mineraaliese-voedingsoplossing nie, waartoe die stikstof in die vorm van asparagin toegevoeg was. Ek het verskeie ander dergelyke oplossings met 'n toevoeging van asparagin of pepton probeer, maar die giste wou in geen een groei nie. As voedingsvloei-stof vir sulke proewe is gisekstrak ongeskik. Dit bevat so veel koolstof bevattende verbin-

dinge, dat die giste heel goed daarin groei sonder die toevoeging van een of ander suiker. Soos verder sal blyk kan die apiculatus giste hul selfs heel sterk in reine gisekstrak vermeerder. Daar die sekure bepaling van suikers, veral die van die di-en tri-saccharide 'n uiters moeilike proses is, ja by sulke klein hoeveelhede vloeistof onuitvoerbaar is, kan gisekstrak nie vir sulke proewe gebruik word nie. Ek het derhalwe probeer om deur middel van Beijerinck (1921, dl.2, b.190) se auxanografiese metode die assimileerbaarheid van die verskillende suikers uit te toets. By hierdie proewe was glukose, galaktose, saccharose, maltose, laktose, en raffinose gebruik. Nietteenstaande die proef meer male herhaal was, kon ek hierdeur tot geen vaste gegewens kom nie. Die gisting van glukose, fruktose en mannose gaan gepaard met 'n sterk vermeerdering van die giste. Genoemde suikers moet dus ook assimileerbaar wees. Of die orige suikersoorte ook vir hierdie giste assimileerbaar is, moet vireers 'n ope vraag bly.

By die assimileerbaarheids-proewe van organiese sure kan 'n vloeistof met die eienskappe van gisekstrak tog nog gebruik word. Deur die ontwikkeling van die mikrobe in gisekstrak, waartoe verskillende sure gevoeg was, te vergelyk met die in reine gisekstrak, kan 'n aanduiding van die waarde, wat so 'n suur as koolstof-voedsel het, verkry word. Gaan daar met die sterke ontwikkeling in die oplossing 'n goed merkbare suurvermindering (dit is hier deur middel van titrasies relatief maklik vas te stel), dan is dit seker dat daardie suur deur die mikrobe assimileer kan word.

By die assimileerbaarheids-proewe van die verskillende organiese sure was gisekstrak dus as voedingsvloeistof gebruik. Op 1000 ccm. gisekstrak was 5 gram Wynsteen-, appel-, barnsteen-, sitroen-, of melksuur gevoeg, of 3 gram asynsuur. Die verskillende oplossings was in hoeveelhede van 100 ccm in 150 ccm. bevattende kolfies afgevol, met watte proppe afgesluit en steriliseer. Hierna was hul met gis uit 4 dae oue kulture in druiwemos ingeënt, en in 'n termostaat by 25°C geplaas.

Na verloop van enige dae het die gis hul sterk begin te vermeerder in die gisekstrak met ~~as~~^asynsuur. Na 'n paar weke het die meerderheid van die rasse 'n meer of minder sterke kim aan die oppervlakte van die vloeistowwe gevorm. Maar ook in die reine gisekstrak was die ontwikkeling goed, en selfs hier het 'n kim ontstaan by sommige van die rasse. In die oplossings van al die ander sure was by geen van die rasse enige tekens van ontwikkeling te bespeur nie.

Na 96 dae was die suurgehaltes van die verskillende oplossings bepaal. In die wynsteen-, appel-, barnsteen-, sitroen- en melksuur-oplossings was dit deur titrasie met $\frac{1}{3}$ N natriumloog gedoen. By die ~~as~~^{as}synsuur was die gehalte aan toetale suur op dieselfde manier bepaal. Die vlugtige suurgehalte was egter deur middel van die oorstook-metode (sien bls.8) gevind. Hierby was instede van 200 ccm., 400 ccm. oorgestook, en die distillaat met $\frac{1}{12}$ N natriumloog titreer. Verdere besonderhede omtrent die resultate is uit tabelle 9 te sien.

Onder kondiesies soos die, waaronder hierdie proef uitgevoer was, word soos uit tabelle 9 blyk, geen een van die vaste organiese sure deur die toegespitste giste assimileer nie. Ook die geringe mate van ontwikkeling van die mikrobe in hierdie oplossing (dit was nog veel swakker as in reine gisekstrak) spreek daarvoor, dat die groeikondiesies vir hul nie gunstig moes gewees het nie.

In die asynsuur-oplossings was die geval heelwat anders. Soos reeds genoem, het die gisten hul hier sowel as kim as ook as gisafsaksel sterk vermeerder. By die bepalinge van die suur was 'n sterk vermindering, nie net in die toetale suurgehalte nie, maar ook in die vlugtige suurgehalte waar te neem. In hierdie oplossing het die ontwikkeling van die gis dus op koste van die asynsuur plaasgevind, en genoemde suur moet dus as bron van koolstof-voedsel vir die apiculatus giste kan dien. In die kolwe met die sterkste gisontwikkeling was ook die sterkste suurvermindering gevind. Soos uit tabelle 9 blyk, was die asynsuur deur ras 1 in 'n baie geringere mate assimileer. Die gehalte aan vlugtige suur was hier met net

Tabelle 11.

Gis- ras No.	Aantal ccm. ^N 3 natriumloog benodig om 25 ccm. van die verskillende vloeistowwe te neutraliseer.								
	Gisaktrak	Wynsteen- suur	Appel- suur	Barnsteen- suur	Sitroen- suur	Asynsuur		Melk- suur	% Verlies aan Vlug- tige sure
						Toetale suurgehalte	Vlugtige suurgeh.		
Kontrolle	0.6	5.1	5.2	6.4	5.5	4.2	3.11	4.8	-
1	0.8	5.2	5.3	6.5	5.6	4.0	2.84	4.9	9
8	0.9	5.0	5.0	6.5	5.5	2.0	1.19	4.8	61
10	0.8	5.1	5.0	6.4	5.5	3.1	2.03	4.8	35
52	1.1	4.9	5.2	6.5	5.5	3.4	2.25	4.8	28
71	1.1	5.1	5.2	6.5	5.6	3.5	2.35	4.8	24
73	0.8	5.0	5.2	6.4	5.5	4.0	2.71	5.0	13
78	1.0	5.2	5.2	6.5	5.6	3.3	2.25	4.9	28
82	0.9	5.1	5.2	6.5	5.5	1.1	0.61	5.0	80
85	1.2	5.1	5.2	6.5	5.6	2.8	1.12	5.0	64
99	1.2	5.1	5.3	6.5	5.6	3.1	2.20	5.0	32
100	1.3	5.1	5.2	6.5	5.5	3.1	2.20	5.0	32
110	1.2	5.0	5.2	6.5	5.6	2.9	1.96	5.1	37
115	1.1	5.1	5.2	6.6	5.6	3.3	2.17	5.0	27
127	1.2	5.1	5.2	6.5	5.6	3.9	2.77	5.1	11
136	1.0	5.1	5.2	6.5	5.6	3.2	2.13	5.0	31.
149	1.1	5.0	5.2	6.5	5.6	2.1	1.27	5.0	59
154	1.0	5.1	5.2	6.4	5.5	1.4	0.77	5.0	75

9 % verminder. By ras 82 was die assimilasië uitermate sterk. Nie minder as 80 % van die oorspronklike aanwesige suur was opgebruik.

Die kimvorming, die vorm van die selle wat daarin voorkom ens. word in hoofstuk 2, bls. 65 nader bespreek. Die vorm van die selle in die gisafsaksel het die gewone variasie aangetoon. Oor die algemeen het hul daar heel gesond en goed gevoed uit gesin. In die meerderheid van gevalle het hul verskeie klein sterk ligbreekende korreltjies (olie- of vetdruppeltjies) bevat. Hul was dus in staat om selfs reserwe voedsel op te bou. In die oplossings van die vaste sure was die selle sonder uitsondering baie swak of alreeds dood.

Oor die assimilasië van organiese sure deur apiculatus giste is daar nie veel gegewens nie. Schukow (1896, b.611) kon, nadat 'n apiculatus gis gedurende 75 dae toegelaat was om in 'n verdunde druiwemos met 9.6 g/l toetale suur te ontwikkel, 'n suurvermindering van 2.1 g/l vasstel. Müller-Thurgau (1899, b.52) neem aan dat 'n apiculatus ras wat hy ondersoek het, daartoe in staat was om die vaste organiese sure van druiwemos te assimileer. Will (1916a, b.52) het by sy ondersoekinge gevind dat wynsteen-, appel-, barnsteen-, sitroen-, melk- en asynsuur deur genoemde giste assimileer kan word. Teenoor laasgenoemde suur is die apiculatus giste volgens hom heelwat meer gevoeliger as teenoor die ander sure, en die proewe mag dus nie met te sterk konsentrasies uitgevoer word nie. Die resultate van my proewe stem met die van Will ooreen net in soverre dit die asynsuur aanbetref. In gis-ekstrak kan die rasse wat deur my ondersoek was, nie die vaste organiese sure assimileer nie.

4. Die weerstandvermoë teenoor ethyl alkohol.

Die verskillende rasse wat deur my ondersoek was, is afkomstig uit lande waar die groei- en lewenskondisies tot 'n baie groot mate verskil. Dit was dus te verwag dat hul gevoeligheid teenoor ethyl alkohol ook verskillend kan wees. Hier-

by was dit van belang om te weet of, en in hoe 'n sterk mate die weerstandvermoë afhanklik is van die groeikonditiesies, en dus by een en dieselfde ras in verskillende voedingsoplossings verskil.

Deur outeure soos Müller-Thurgau(1907, b.322), Meissner (1920, b.83) en ander word dit aangegee dat die apiculatus giste by 'n alkohol gehalte van 4 tot 4.5 vol.% nie meer daartoe in staat is om verder te gis nie. Sémichon sê as gevolg van sy proewe oor die mikroflora van druiwe se gevoeligheid teenoor alkohol die volgende:—" On peut en déduire que si le mout vierge de raisin est introduit dans un milieu contenant au moins 5 pour cent d'alcool, toutes les cellules vulgaires de moisissures et de mycodermes, les levures sauvages et les levures apiculées seront éliminées....." Op hierdie bevindinge is "fermentation superquatre" gebaseer. Volgens Will (1916a, b.273) was die maximum vir twee van die rasse wat hy ondersoek het, by 5.09% en vir twee ander by 4.18 % alkohol.

In die volgende proewe was gisekstrak en druiwemos as voedingsvloei-stowwe gebruik.

A. Proewe in gisekstrak.

Tot 1000 ccm. giekstrak was 30 gram glukose en 1.8 gram wynsteensuur gevoeg. Berekende hoeveelhede van 'n reine, 86 %ige alkohol was in meet-kolwe pipetteer en die kolwe dan verder met hierdie gisekstrak opgevol. Deur middel van 'n klein Seitz E.K. filter was die vloei-stowwe kiemvry gemaak, in hoeveelhede van 10 ccm. in sterile reagensbuisies afgevol en dadelik daarna met die verskillende rasse uit 3 dae oue kulture in druiwemos ingeënt. Die hoeveelheid entmateriaal het 1 platinoog per buisie bedra. Daar die toegevoegde hoeveelheid gisselle baie klein was, kon 'n vermeerdering in die verskillende vloei-stowwe heel maklik gemerk word.

Om te verhoed dat daar alkohol uit die vloei-stowwe sal verdamp, was na die inenting, die watteproppe van die reagensbuisies effens dieper ingedruk en die buisies met kurkproppe

afgesluit. Hierna was die buisies in 'n termostaat by 25°C geplaas. Na verloop van 3 weke was die toestand soos in tabelle 10 aangegee.

Tabelle 10.

Alkohol- konsen- trasie g/l	Gisras No.																
	1	8	10	52	71	73	78	82	85	99	100	110	115	127	136	149	154
5.0																	
11.4																	
17.9	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
34.3																	
37.8	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	2	3	2	3	3	1
40.8	3	0	0	1	0	0	2	0	0	1	2	1	1	0	1	0	0
50.3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
56.9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Die syfers in bostaande tabelle het die volgende betekenis:-

- 3 'n sterke ontwikkeling.
- 2 'n middelmatige ontwikkeling.
- 1 'n uiters swakke ontwikkeling.
- 0 geen ontwikkeling nie.

Ras 1 is dus heelwat meer ongevoelig teenoor alkohol as al die ander rasse. In 'n alkohol-konsentrasie van 50.3 g/l kan die selle van hierdie ras nog ~~heel~~ goed spruit, in 'n konsentrasie van 56.9 g/l alkohol egter nie meer nie. Hierop volg die rasse 52,78,99,100,110,115 en 136 wat in die teenwoordigheid van 40.8 g/l nog swak en by 50.3 g/l alkohol nie meer kan spruit nie. Die heel gevoeligste rasse is 8,10,71, 73,82,85,127,149 en 154. Hul kan reeds by 'n alkohol-konsentrasie van 40.8 g/l nie meer groei nie. Die verskillende rasse het dus in 'n bepaalde voedingsoplossing verskillende maksimale konsentrasies vir hul ontwikkeling.

B. Proef in druiwemos.

Vir hierdie doel was 'n Riesling-mos uit die jaar 1929 gebruik. Die samestelling daarvan was as volg:-

Toetale ekstrakgehalte..... 70°Öchsle.
Toetale suurgehalte..... 7.2 g/l.

Die verdere ondersoekingstegniek was net soos by die vorige proef. Die resultate is in tabelle 11 aangegee.

Tabelle 11.

Gis- ras No.	Alkohol-konsentrasie in die mos g/l						
	13.5	22.3	30.3	36.7	39.0	42.0	59.7
1	3	3	3	3	3	3	3
al die ander rasse	3	2	1	0	0	0	0

In die bostaande tabelle het die syfers die volgende betekenis:

- 3 'n sterke ontwikkeling.
- 2 'n middelmatige ontwikkeling.
- 1 'n uiters swakke ontwikkeling.
- 0 geen ontwikkeling nie.

In 'n alkohol-konsentrasie van 30.3 g/l was die ontwikkeling van rasse 82,110,127 en 154 uitermate swak. Dit skyn dus asof genoemde konsentrasie vir hierdie rasse die boonste grens daarstel. Dieselfde rasse was ook in gisekstrak die gevoeligste. Die onderskeid in die gevoeligheid is dus vasstaande vir die verskillende rasse - ook in verskillende voedingsoplossings.

'n Vergelyking tussen tabelles 10 en 11 wys duidelik dat vir die meeste rasse is die grenskonsentrasie in druiwemos laer as in gisekstrak. Hierop is ras 1 egter 'n uitsondering. Vir genoemde ras is die grenskonsentrasies in beide vloeistowwe omtrent ewe hoog. In mos kan die selle van die ander rasse nie meer in 'n konsentrasie van 36.7 g/l alkohol spruit nie, in gisekstrak nog in aanwesigheid van 37.0 g/l alkohol. Die maksimale konsentrasie vir 'n sekere ras is dus in verskillende vloeistowwe verskillend. In mos lê die maksimale grenskonsentrasies vir die verskillende rasse nader aan mekaar as in gisekstrak.

5. Die weerstandsvermoë teenoor swawel-dioksied.

Aan die einde van sy publikasie oor die swawel-dioksied in wyn sê Kerp (1904, b.39): "Im geschwefelten Most und in stark geschwefelten Süssweinen ist die Anwesenheit van Glukose-bzw. Fruktose schwefliger Säure abzunehmen. In mässig geschwefel-

ten ausgegorenen Weinen ist die gebundene schweflige Säure als acetaldehyd-schweflige Säure enthalten". En verder:-" Infolge der erheblich grösseren Spaltung der Glukose-schwefligen Säure in wässriger Lösung im Vergleich zu aldehyd-schwefliger Säure wird unter bestimmten Bedingungen die schweflige Säure in Most pharmakologisch anders zu beurteilen sein als in Wein".

Rost en Franz (1904, b.212) kom tot die gevolgtrekkings dat :-"die schweflige Säure durch ihre Anlagerung an Aldehyde, Zucker und Acetone ihre giftige Eigenschaften für alle verhältnisse keineswegs verliert". Maar:-"die Lösung der an den gebundenen schwefligen Säure vorhandenen organischen Bindung ist die notwendige Voraussetzung für den Eintritt der Wirkung".

Kerp neem dus aan dat die swawel-dioksied wat deur glukose en fruktose gebind word, tog nog 'n hinderende invloed in die gebonde toestand mag uitoefen. Rost en Franz is daarvan oortuig dat voordat die swawel-dioksied 'n dergelyke invloed kan hê, moet dit eers uit die suiker molekule vrygesit word. So sal b.v. volgens hul die swawel-dioksied in geswawelte mos geen invloed op die lewensfunksies van die gis kan uitoefen nie, voordat dit nie deur die intree van die gisting uit die gebonde toestand bevry was nie.

Tot dusverre is die probleem, of die gebonde swawelige suur nouwel 'n invloed kan uitoefen op die ontwikkeling van die gis of nie, nog nie 'n uitgemaakte saak nie. Müller-Thurgau en Osterwalder (1914, b.546) sê hieroor:-" In wieweit die Glukose-schweflige Säure einen gärungshemmenden Einfluss ausübt, geht aus unseren Versuchen nicht hervor, doch dürfte sie entsprechend ihrem leichten Zerfall in Glukose und freie schweflige Säure nicht ohne hemmende Wirkung bleiben".

Die enigste gegewens oor die apiculatus giste se weerstandsvermoë teenoor swawel-dioksied was deur Müller-Thurgau (1898, b.74) gegee. Volgens hom kan in druiwemos 33 mg/l vrye swawel-dioksied die ontwikkeling sterk verminder en 65 mg/l dit toetaal verhinder. Hy het egter van die standpunt uit-

gegaan, dat net die vrye swawelige suur ' antiseptiese invloed kan uitoefen. Om uit te vind of dit werklik die geval was, was die volgende proewe aangestel.

As voedingsmedium was by die proewe 'n wit druiwemos uit die jaar 1930 gebruik. Dit het 'n ekstragehalte van 157 g/l en 'n toetale suurgehalte van 13.1 g/l gehad. Volgens Müller-Thugau en Osterwalder (1914, b.493) het druiwemos vir sulke proewe die voordeel, dat dit, waneer dit van gesonde druiwe gepars was, geen aldehyde bevat nie. Die swawelige suur daarin kan dus net aan die suikers soos glukose en fruktose gebonde wees.

Sekuur 120 ccm. mos was deur middel van pipette in 150 ccm. bevattende kolfies afgemeet. Hierna was die mos op die gewone wyse drie maal steriliseer en op die vierde dag was daartoe met behulp van 'n burette wat in $\frac{1}{10}$ ccm. opgedeel is, berekende hoeveelhede van 'n 1%ige oplossing van kalium-meta-bisulfiat in distilleerde water toegevoeg. Die toevoeging van die swawelige suur het so steriel moontlik plaasgevind, en net in twee van die kolfies het daar 'n infeksie deur skimmelswamme voorgekom. Die ontwikkeling van hierdie organismes het egter opgetree eers nadat die proewe klaar was.

Die gehalte aan vrye en gebonde swawel-dioksied in die mos was in 'n kontrole kolfie bepaal 3 uur nadat die kalium-pyrosulfiat oplossing toegevoeg was. Hierna was die mos in die ander kolfies met selle uit 3 dae oue kulture in mos ingeënt, en nadat dit plaasgevind het, was die kolfies in plaas van met watteproppe met steriele kurkproppe afgesluit, en in 'n termostaat by 25°C geplaas.

By die eerste proewe was die mos met 'n platinoog gis-afsaksel ingeënt. Later was hierdie hoeveelheid tot 0.5 ccm. vermeerder. In 'n blinde bepaling het dit geblyk dat die mos stowwe bevat wat daartoe in staat is om met jood te reageer. Hierdie stowwe was ekwivalent met 19.0 mg/l toetale en 8.5 mg/l vrye swawel-dioksied. Omdat die mos nie voorheen met

swawel-dioksied of met enige stof waaruit dit mag ontstaan, in aanraking gewees het nie, was dit onmoontlik dat hierdie reaksies deur swawel-dioksied veroorsaak kon word. Die bogenoemde hoeveelhede was dus by al die volgende analises afgetrek van die hoeveelhede wat gevind was.

Proef 1.

Die mos het bevat 55 mg/l toetale swawel-dioksied.
0 mg/l vrye swawel-dioksied.
55 mg/l gebonde swawel-dioksied.

Die verskillende rasse het 3 dae nadat hul in die mos geënt was, hul so sterk ontwikkel, dat die mos sterk in gisting gekom het.

Proef 2.

Die mos het bevat 74.5 mg/l toetale swawel-dioksied.
0.5 mg/l vrye swawel-dioksied.
74.0 gebonde swawel-dioksied.

Die mos wat met ras 1 ingeënt was, het ny verloop van 4 dae begin te gis. By die orige rasse was op hierdie tydstep nog geen tekens van gisting of ontwikkeling te sien nie.

Na verloop van 6 dae het die mos by rasse 52,71, en 136 begin	
" " " 7 " " " " " "	te gis.
" " " 9 " " " " " "	8,10,73,78,85 en
" " " 10 " " " " " ras	127 begin te gis.
" " " 12 " " " " " ras	82,110 en 115 be-
" " " 15 " " " " " ras	gin te gis.
	ras 99 begin te gis.
	rasse 100 en 149 begin
	te gis.
	ras 154 begin te gis.

Wanneer hierdie twee proewe se resultate vergelyk word, is dit opvallend dat die gisting by proef 2 veel later ingetree het as by proef 1. By ras 1 is die vertraging nie so groot nie, maar soos uit verder proewe sal blyk is hierdie ras ver nie so gevoelig teenoor swawel-dioksied soos die ander rasse nie. By genoemde rasse was die gisting se begin by rasse 52, 71 en 136 met 3 dae, en by ras 154 met 12 dae vertraag.

Daar die mos in die tweede proef net 0.5 mg/l vrye swawel-dioksied bevat het, 'n hoeveelheid wat weens eksperimenteële foute, buite berekening gelaat kan word, moet die vertraging in die intree van die gisting in hierdie proef aan die invloed van die gebonde swawel-dioksied toegeskrywe word. Hieruit blyk

dit sonder twyfel dat nie alleen die vrye swawel-dioksied nie, maar ook die gebonde 'n vertraging in die ontwikkeling van die ondersoekte toegespitste giste kan veroorsaak.

Proef 3.

Die mos het bevat 115.0 mg/l toetale swawel-dioksied.
4.5 mg/l vrye swawel-dioksied.
110.5 mg/l gebonde swawel-dioksied.

In die serie waar met 'n platinoⁿog gisafsaksel ingeënt was, het ras 1 na 6 dae 'n sterk vermeerdering aangetoon. Na 'n maand was daar nog geen tekens van ontwikkeling by enige van die ander rasse te bespeur nie. Waar met 0.5 ccm. van die gisafsaksel ingeënt was, was die resultate soos volg:-

Na verloop van 2 dae het die mos by ras 1 begin te gis.

"	"	"	3	"	"	"	"	"	"	10	"	"	"
"	"	"	4	"	"	"	"	"	"	rasse 136 en 73	begin te		
"	"	"	5	"	"	"	"	"	"	52,71,78,100,110,115,	gis.		
										127 en 154	begin te		
"	"	"	6	"	"	"	"	"	"	ras 149	begin te	gis.	
"	"	"	7	"	"	"	"	"	"	85	"	"	"
"	"	"	8	"	"	"	"	"	"	rasse 8 en 82	begin		
											gis.		

Hierdie resultate toon duidelik dat by proewe van hierdie aard, mag die hoeveelheid gis, wat by die inenting toegevoeg word nie te klein wees nie. Veral naby die maksimale grens is die resultate wat met klein hoeveelhede verary word, nie meer betroubaar nie. By al die verdere proewe was dus met 0.5 ccm. gisafsaksel ingeënt.

Proef 4.

Die mos het bevat 125.0 mg/l toetale swawel-dioksied.
7.5 mg/l vrye swawel-dioksied.
117.5 mg/l gebonde swawel-dioksied.

Die mos wat met ras 1 ingeënt was, het na 6 dae begin te gis. Selfs na verloop van 'n maand kon die ander rasse geen gisting veroorsaak nie. Daar was ook geen tekens van ontwikkeling by hul te bespeur nie.

Proef 5.

Die mos het bevat 141.0 mg/l toetale swawel-dioksied.
11.5 mg/l vrye swawel-dioksied.
129.5 mg/l gebonde swawel-dioksied.

Ras 1 kon na 8 dae 'n gisting in die mos veroorsaak. Die orige

rasse was ook na verloop van 'n maand nie hiertoe in staat nie.

Proef 6.

Die mos het bevat 150.0 mg/l toetale swawel-dioksied.
 17.5 mg/l vrye swawel-dioksied.
 132.5 mg/l gebonde swawel-dioksied.

Hierdie proef en ook die volgende was alleen met ras 1 uitgevoer. 16 Dae na die inenting het die mos begin te gis.

Proef 7.

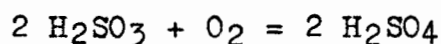
Die mos het bevat 173.0 mg/l toetale swawel-dioksied.
 35.5 mg/l vrye swawel-dioksied.
 137.5 mg/l gebonde swawel-dioksied.

Na verloop van 20 dae het die mos begin te gis.

Hierdie ras kon hom dus nog in 'n mos met 173 mg/l toetale en 35.5 mg/l vrye swawel-dioksied, ontwikkel; al gebeur dit ook na verloop van enige tyd. Die ander rasse is veel gevoeliger. Hul is nie meer daartoe in staat om hul in 'n mos met 125 mg/l toetale en 7.5 mg/l vrye swawel-dioksied te vermeerder nie.

Daar die gehaltes aan vrye en gebonde swawel-dioksied by een en dieselfde gehalte aan toetale swawel-dioksied in verskillende moste verskillend kan wees, kan hierdie resultate nie as algemeen en vasstaande beskou word nie.

Dit is 'n bekende feit dat die swawelige suur in mos 'en wyn met verloop van tyd tot swawelsuur geoksideer kan word.



Op hierdie manier gaan die antiseptiese uitwerking van die swawelige suur mettertyd verlore. Tot hoe 'n groot mate dit by hierdie proewe plaasgevind het, was nie bepaal nie. Daar die duur van die proewe betreklik kort was, kon dit egter nie 'n noemenswaardige rol gespeel het nie.

6. Die weerstandsvermoë teenoor organiese sure.

Dit is 'n algemeen bekende feit dat hoë konsentrasies van organiese sure 'n antiseptiese uitwerking op die ontwikkeling van spruit swamme kan hê. Dit was dus van belang om vas te stel of hierdie rasse van toegespitste giste, wat uit lande

stam waar die suurgehalte van hul voedingsmedia (mos, vrugtesappe ens.) heelwat in suurgehalte verskil, hul in hierdie opsig sterk van mekaar onderskei. Verder was dit ook van belang om te weet of die mate waarin die suëre gedesosieer is, enige invloed het op die maximale konsentrasies waarby die giste hul nog kan ontwikkel.

'n Gewone gisekstrak waartoe 10 % saccharose gevoeg was, was as voedingsoplossing gebruik. Die volgende sure was uitgetoets:- Wynsteen-, appel-, sitroen- en asynsuur. Die sure dus wat onder normale kondities in gegiste en ongegiste druiwe- en ander vrugte sappe voorkom.

Aanvanklik was in die bogenoemde gisekstrak betreklike hoë konsentrasies van die verskillende sure berei (wynsteen-suur 91.0 g/l, appelsuur 141.1 g/l, sitroensuur 146.3 g/l en asynsuur 50.0 g/l). Hierdie oplossings was in hoeveelhede van 10 ccm. in reagensbuisies afgevol, 3 maal steriliseer, uit 4 dae oue kulture in druiwemos geënt en in 'n termostaat by 25°C geplaas.

Indien na 14 dae nog geen tekens van 'n ontwikkeling in 'n sekere konsentrasie te bespeur was nie, was dit met dieselfde gisekstrak verdun totdat die suurgehalte ca. 10 g/l minder was. Die bepalinge van suurgehalte en ph-waarde was dan weer opnuut uitgevoer. In tabelle 12 is die hoogste konsentrasies ~~waarde~~ van die verskillende sure aangegee, waarby die 17 rasse hul nog kon ontwikkel.

Dit mag hier opgemerk word dat in die maximale konsentrasies van al die suëre met uitsondering van die asynsuur, die giste hul sonder uitsondering altyd net in die heel boonste gedeelte van die vloeistof kon ontwikkel. Sodra die buisies beweeg was, het van hier af vlokkies van selle wat tesame hang, afgesak. Behalwe die afsaksel wat op die manier ontstaan het, was die vloeistowwe meer na onder betreklik helder. Dit skyn dus dat ook hier soos in hoë suiker-konsentrasies, die suurstofspanning in die vloeistof 'n groot mate van invloed uitoefen op die ontwikkeling van die toegespitste giste. Hul kan hul net in die suurstofryke dele van die

Tabelle 12:
Tabelle-12:

Gis- ras No.	Die maksimale konsentrasies van die verskillende organiese sure waarby die giste hul nog kon vermeerder.							
	Wynsteensuur		Appelsuur		Sitroensuur		Asynsuur	
	g/l	ph-w.	g/l	ph-w.	g/l	ph-w.	g/l	ph-w.
1	28.5	2.0	55.0	2.1	53.6	1.9	5.9	3.5
8	35.5	1.8	92.0	1.8	61.6	1.9	5.9	3.5
10	35.5	1.8	77.7	1.8	61.6	1.9	5.9	3.5
52	35.5	1.8	73.2	2.0	61.6	1.9	5.9	3.5
71	35.5	1.8	73.2	2.0	61.6	1.9	5.9	3.5
73	46.0	1.8	65.2	2.0	61.6	1.9	5.9	3.5
78	35.5	1.8	87.1	1.8	61.6	1.9	5.9	3.5
82	35.5	1.8	65.2	2.0	61.6	1.9	5.9	3.5
85	35.5	1.8	77.7	1.8	61.6	1.9	5.9	3.5
99	35.5	1.8	65.2	2.0	61.6	1.9	5.9	3.5
100	35.5	1.8	77.7	1.9	61.6	1.9	5.9	3.5
110	35.5	1.8	77.7	1.9	61.6	1.9	5.9	3.5
115	35.5	1.8	73.2	2.0	61.6	1.9	5.9	3.5
127	35.5	1.8	65.2	2.0	61.6	1.9	5.9	3.5
136	35.5	1.8	65.2	2.0	61.6	1.9	5.9	3.5
149	35.5	1.8	87.1	1.8	61.6	1.9	5.9	3.5
154	35.5	1.8	65.2	2.0	61.6	1.9	5.9	3.5

vloeistof ontwikkel. Hier is dit buite die kwessie dat die soortelike gewig van die vloeistowwe die selle aan die oppervlakte kon gehou het.

Soos uit bostaande tabelle blyk is die toegespitste giste besonder gevoelig teenoor asynsuur. Die maksimale konsentrasie van hierdie suur lê vir al die rasse in die nabyheid van 5.9 g/l. Teenoor die vaste organiese sure is hierdie organismes egter heelwat meer ongevoelig. Dit skyn dat by hierdie sure die ontwikkeling in die eerste plek deur die waterstofioon-konsentrasie in die verskillende oplossings beïnvloed word. Die maksimale ph-waarde vir die ontwikkeling lê tussen 2.1 en 1.8. In die ~~asynsuur~~-oplossing word die

die ontwikkeling nie so sterk deur die eintlike suurgraad nie, as deur spesifieke gemiese uitwerkinge van hierdie suur beïnvloed. Dat dit die geval moet wees, blyk uit die feit, dat in 'n asynsuur-oplossing die maksimale konsentrasie by slegs 3.5 lê.

Hoe sterker die sure gedesosieer is, hoe gevoeliger is die giste teenoor hul. Die hennende invloed van appelsuur is dus by dieselfde konsentrasie volgens gewig, omtrent half so sterk soos die van wynsteensuur.

Ook hier verskil ras 1 van al die ander deurdat dit teenoor die vaste organiese sure heelwat meer gevoelig is. In die literatuur kom oor hierdie vraag nog baie min gegewens voor. In 'n pepton-oplossing met 5 % maltose het Will (1916a, b.282) by vier rasse van toegespitste giste gevind dat die maksimale konsentrasies vir wynsteen-, appel-, barnsteen-, sitroen- en melksuur tussen 3 en 5 % is. In die hierbo beskrewe proewe was die rasse, met uitsondering van ras 1, almal heelwat minder gevoelig teenoor appel- en sitroensuur.

7. Die invloed van hoë temperature.

A. Die maksimale temperature vir die vermeerdering.

Die enigste twee ondersoekers wat hul met hierdie saak besig gehou het, was Will (1916a, b.273) en Klöcker (1913, bb. 309 en 316). Will deel mee dat in die vloeistowwe wat hy gebruik het, die boonste grenstemperature vir die 4 ondersoekte rasse tussen 34 en 35°C afgewissel het. Verder neem hy ook aan dat die maksimale temperature, van die vloeistof, waarin die proewe uitgevoer word afhanklik is. In 'n latere ondersoeking het Will (1922, b.370) met egte saccharomycete bewys dat die resultate by sulke ondersoekinge deur die samestelling van die voedingsoplossing en ook deur die hoeveelheid gis wat by die inenting toegevoeg word, sterk beïnvloed kan word.

Volgens Klöcker (1913, b.308) is die boonste grenstemperature goeie onderskeidings-eienskappe. By die 17 rasse van toegespitste giste wat deur hom ondersoek was, het die maxime

male temperature tussen 32 en 39°C afgewissel.

Hierdie proewe was in die volgende twee voedingsoplossings uitgevoer. 'n Gisekstrak waartoe 150 g/l saccharose en 1 g/l wynsteensuur toegevoeg was, en 'n wit druiwemos uit die jaar 1929. Die toetale ~~lek~~strak-gehalte daarvan was 160 g/l, die suiker-gehalte ca. 130 g/l en die toetale suurgehalte 6.1 g/l. Gedurende die verskeie male waarop die gisekstrak steriliseer was, was die grootste gedeelte van die saccharose daarin inverteer. Die gehalte aan suiker was dus in die beide vloeistowwe min of meer dieselfde. Afgesien van die onderskeid in die in hul aanwesige eiwitte het die twee vloeistowwe van mekaar verskil net in die hoeveelheid suur wat hul bevat. Die een vloeistof was swak, die ander sterk suur.

Die inentings-materiaal vir hierdie proewe was steeds uit 3 dae oue ~~kultuur~~ moskulture wat by 25°C gekweek was, geneem. In die eerste serie was met 'n platinoog gis uit die opgeskudde moskulture geënt. By die tweede serie was met twee druppels van die gisafsaksel geënt. Die proewe was in reagensbuisies, waarin die betreffende vloeistowwe in hoeveelhede van 10 ccm. afgevol was, uitgevoer.

Dadelik nadat die vloeistowwe in die buisies ingeënt was, was hul in 'n termostaat by die gewenste temperatuur geplaas, en daar gedurende 14 dae gelaat. Hierna was hul in 'n termostaat by 25°C gebring, om te sien of die ingeënte selle in die gevalle waar geen ontwikkeling plaasgevind het nie, almal dood was.

Soos in tabelle 13 te sien is, lê die maksimale temperatuur vir al die rasse in druiwemos tussen 34.5 en 35.5°C. In die geval van ras 1 skyn die maksimale temperatuur baie naby 34.5°C te wees, want by hierdie temperatuur kan genoemde ras hom slegs baie swak ontwikkel. Die ander rasse groei by 34.5°C nog heel sterk, by 35.5 en 36.5°C egter nie meer nie, selfs waneer hul na 14 dae by 'n temperatuur van 25°C gebring was. Hul kan dus nie vir 'n tydperk van 2 weke die temperatuur van 35.5 en 36.5°C lewendig deurstaan nie.

Ook in die gisekstrak het ras 1 by 34.5°C uitermate swak

Tabelle 13.

Gis- ras No.	Die ontwikkeling met klein hoeveelhede inentings-materiaal.				
	In druiwemos by		In gisekstrak by		
	34.5°C	35.5 en 36.5°C	34.5°C	35.5°C	36.5°C
1	1	0	1	0	0
8	3	0	3	0	0
10	3	0	3	0	0
52	3	0	3	1	0
71	3	0	3	0	0
73	3	0	3	0	0
78	3	0	3	0	0
82	3	0	3	0	0
85	3	0	3	1	0
99	3	0	3	1	0
100	3	0	3	1	0
110	3	0	3	0	0
115	3	0	3	0	0
127	3	0	3	0	0
136	3	0	3	0	0
149	3	0	3	0	0
154	3	0	3	1	0

Die syfers in bostaande tabelle het die volgende betekenis:-

- 3 'n sterke ontwikkeling.
- 2 'n middelmatige ontwikkeling.
- 1 'n baie swak ontwikkeling.
- 0 geen ontwikkeling nie.

gegroeï. Die orige rasse kon hul hier egter nog sterk ontwikkel. Rasse 52, 85, 99, 100 en 154 het hul selfs nog by 35.5°C kon ontwikkel, by 36.5°C egter nie meer nie. In die termostaat by 25°C het die rasse 82 en 127 ook weer begin te spruit, nadat hul 14 dae lank by 35.5°C gehou was. In die kulture by 36.5°C was daar na verloop van 14 dae geen lewendige selle meer aanwesig nie.

Om hierdie resultate te kontroleer, was 'n tweede soort-

gelyke serie van proewe uitgevoer. Hier was egter 'n grotere hoeveelheid van selle ingeënt. Die resultate van die tweede serie is in tabelle 14 weergegee.

Tabelle 14.

Gis- ras No.	Die ontwikkeling met groot hoeveelhede inentings- materiaal.					
	In druiwemos by			In gisekstrak by		
	34.5°C	35.5°C	36.5°C	34.5°C	35.5°C	36.5°C
1	1	0	0	1	0	0
8	3	3	0	3	3	0
10	3	0	0	3	3	0
52	3	3	0	3	3	0
71	3	3	0	3	3	0
73	3	0	0	3	3	0
78	3	3	0	3	3	0
82	3	3	0	3	3	0
85	3	0	0	3	3	0
99	3	3	0	3	3	0
100	3	0	0	3	3	0
110	3	2	0	3	3	0
115	3	0	0	3	3	0
127	3	0	0	3	3	0
136	3	2	0	3	3	0
149	3	0	0	3	3	0
154	3	0	0	3	2	0

Die syfers in bostaande tabelle het die volgende betekenis :-

- 3 'n sterke ontwikkeling.
- 2 'n middelmatige ontwikkeling.
- 1 'n baie swak ontwikkeling.
- 0 geen ontwikkeling nie.

Die resultate in druiwemos stem by 34.5°C nog ooreen met die van die eerste serie. By 35.5°C kom daar egter al groot verskille voor. Waar die groter hoeveelheid selle ingeënt was, kon rasse 8,52,71,78,82,99,100,110 en 136 hul nog by hierdie temperatuur sterk vermeerder. Nadat die kulture waarin geen ontwikkeling plaasgevind het nie,gedurende 'n week by

25°C gehou was, was die selle in die afsaksel mikroskopies ondersoek. Sonder uitsondering was daar geen lewendige selle meer aanwesig nie. Hierdie rasse kon dus nie 'n temperatuur van 35.5°C gedurende 14 dae uitstaan nie. Ook by 36.5°C is dit die geval vir al die rasse.

In gisekstrak kon ras 1 homself by 35.5°C nie meer vermeerder nie. Die ander rasse het by hierdie temperatuur nog 'n sterk vermeerdering aangetoon. 'n Temperatuur van 36.5°C het egter op hul ook 'n dodende uitwerking gehad, soos bewys was deur die feit dat na verloop van 14 dae al die selle in die afsaksels dood was. Selfs by 35,5°C was dit vir ras 1 al die geval.

In druiwemos lê die maksimale temperatuur vir die rasse 1,10,73,85,115,127,149 en 154 tussen 34.5 en 35,5°C. Vir ras 1 is die grenstemperatuur effens laer as vir die ander. Vir rasse 8,52,71,78,82,99,100,110, en 136 se ontwikkeling lê die grenstemperatuur tussen 35.5 en 36.5°C.

Omdat die selle steeds by die temperatuur waarby geen ontwikkeling meer kon plaasvind nie, dood was, is dit wel aan te neem, dat die dood intree waneer hul vir 'n langere tydperk by 'n temperatuur effens hoër as die grenstemperatuur, gehou word. In druiwemos is die maksimale temperatuur effens laer as in gisekstrak. Hierdie resultate sê^etm ooreen met die bewering van Will dat die ingeënte hoeveelheid gis by dergelyke proewe nie te klein mag wees nie.

B. Die weerstandsvermoë teenoor verwarming (die dodende temperatuur in vloeistowwe).

Ondersiekinge om uit te vind by welke temperatuur die apiculatus giste in verskillende vloeistowwe gedood word, is reeds deur 'n hele reeks van ondersoekers uitgevoer (sien Klöcker, 1912, b.376). Hul resultate kom egter aan baie belangrike gewens kort. So b.v. die fisiologiese kondisie van die inentings-materiaal en noukeurige besonderhede oor die ondersoekings-tegniek. Hiertoë mag nog gevoeg word dat hierdie ouer vorsers, daar hul meesal praktiese doele voor oë gehad

het, hul proewe met verskillende vloeistowwe van geen konstante samestelling uitgevoer het. Sulke resultate is van geen sistematiese waarde nie en kan in die praktyk ook nie algemeen toegepas word nie.

Die resultate van Klöcker (1913, bb. 310 en 317) is die eerste gegewens in hierdie rigting wat enige sistematiese waarde besit. By die 17 apiculatusrasse wat deur hom ondersoek was, het die dodende temperatuur by 'n verwarming van 30 minute in bier-mout, tussen 42°C en 52°C varieer. Ongelukkig het Klöcker ook nie sy proewe met 'n "standaardmedium" uitgevoer nie. Soos Will (1916a, b. 274) met reg opmerk, het bier-mout, soos ook gisekstrak en druiwemos nie 'n vasstaande samestelling nie. Resultate wat dus in genoemde vloeistowwe verkry was, kan nie heel goed in die sistematiese beskrywing van 'n spesies gebruik word nie.

Ook Will (1916a, b. 275) het hieroor proewe uitgevoer. As vloeistowwe het hy bier-mout en distilleerde water gebruik. Laasgenoemde moes dien as "Normalflüssigkeit" soos hy dit noem. Sy resultate was egter baie weersprekend en onoortuigend en in sy opsomming sê hy :- "die Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen ist bei den Apiculaturskulturen bis jetzt eine viel zu unsichere Grundlage, als dass hierauf unterschiedende Merkmale aufgebaut werden können". Misskien is die oorsaak van sy proewe se mislukking daarin te soek dat hy die reagensbuisies met die ingeënte vloeistowwe, in stede van dadelik tot op die gewenste temperatuur te bring, eers langsaam warm gemaak het.

By my ondersoekinge was distilleerde water (as "standaardvloeistof") en wit druiwemos gebruik. Die mos was uit die jaar 1930 en het 172 g/l toetale ekstrak en 12.5 g/l toetale suur bevat.

Die proewe was op die volgende manier uitgevoer. In reagensbuisies, met vir hierdie doel spesiaal dun wande, was 10 ccm. mos of 5 ccm. distilleerde water afgeful en 3 maal steriliëseer. In die eerste reeks van proewe was 1 platinoog uit die opgeskudde moskultuere in 'n buisie ingeënt. Daar

in hierdie resultate skynbaar nog heelwat onreëlmatighede voorgekom het, was 'n tweede reeks van proewe uitgevoer. Hierby was 1 platinoog gis-afsaksel ingeënt. Die verwarming het onmiddelik na die inenting van die vloeistowwe in die buisies, geskied. By die inenting was daar op gepas dat geen selle aan die rante van die buisies bo die vloeistof se oppervlakte te lande sou kom nie.

Die waterbad, waarin die buisies verwarm was, was tot op 'n temperatuur effens hoër as die gewenste verwarm. Sodra die buisies daarin gebring was, het die temperatuur effens gedaal en op die gewenste hoogte bly staan. Die temperatuur van die vloeistowwe in die buisies was deur middel van 'n termometer, wat in 'n kontrole-buisie aangebring was, gemeet. Twee tot 3 minute nadat die buisies in die water gebring was, was die temperatuur van die vloeistowwe in hul net so hoog soos die van die water in die bad. Hiervoor was toe gegee, deur die buisies 3 minute langer as die ~~def~~intlike proeftyd in die waterbad te laat. Die selle moes vir 30 minute by die verskillende temperature gehou word. Die buisies was egter vir 33 minute in die waterbad gelaat. Hierna was hul so gou moontlik uitgehaal en vinnig afgekoel. Solank die buisies daarin was, was die water in die bad gedurig geroer om seker te maak van 'n egalige temperatuur. Klein temperatuur-skommeling van 0.2 tot 0.5°C het soms voorgekom.

Die buisies het aan die rant om hul openinge, deur passende gate in 'n ysterplaat so in die water gehang, dat hul tot op 'n hoogte van 5 cm. van bo af deur die water omgewe was.

By die proewe met distilleerde water was nadat die water afgekoel was, so sterile moontlik (in 'n Hansense steriele kas) 5 ccm. steriele druiwemos tot die water toegevoeg. Hierna was die geënte vloeistowwe by die laboratoriums-temperatuur (18 tot 22°C) gelaat om die gis se ontwikkeling te kan waarneem. In die proewe waar die temperatuur nie so hoog was nie, het die sigbare ontwikkeling na 'n paar dae al ingetree. Was

die vloeistowwe tot op hoëre temperature verwarm, het dit meesal 1 tot 1^{1/2} weke geduur voordat die vermeerdering van die selle waargeneem kon word. In twyfelagtige gevalle was die organismes mikroskopies kontroleer om te sien of daar nie 'n infeksie deur vreemde organismes plaasgevind het nie. Al die proewe was dubbeld uitgevoer. Die inentings-materiaal was uit 3 dae oue kulturen in druiwemos geneem.

1. Die verwarming in distilleerde water.

a. Ingeënt met een platinoog uit die opgeskudde kulture.

Tabelle 15.

Ontwik- keling by		Gisras No.																
		1	8	10	52	71	73	78	82	85	99	100	110	115	127	136	149	154
40°C	a	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
42°C																		
44°C	b	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
46°C	a	X	X	0	X	0	0	X	0	X	X	X	0	0	0	X	0	0
	b	0	0	0	X	0	X	0	0	X	0	0	0	0	X	0	0	0

Die letters a en b dui die dubbele proefreekse aan.

X staan vir 'n sterk ontwikkeling na verloop van 11 dae.
0 staan vir geen ontwikkeling na verloop van 11 dae nie.

Volgens die resultate van hierdie proewe was die selle van rasse 10, 71, 82, 110, 149 en 154 gedood deur hul vir 30 minute lank by 44°C te hou. Vir die rasse 1, 8, 73, 78, 99, 100, 115, 127 en 136 was die grenstemperatuur onder sulke konditiesies 46°C, terwyl die dodende temperatuur vir die rasse 52 en 85 hoër as 46°C gesoek moet word.

Om die skynbare onreëlmatighede wat in hierdie proef by rasse 1, 8, 73, 99, 100, 115, 127 en 136 voorgekom het verder te vervolgstel, en ook om die dodende temperatuur vir rasse 52 en 85 vas te stel, was hierna 'n tweede proef uitgevoer, waarby terselfdertyd ook met die groter hoeveelheid selle ingeënt was. Die resultate daarvan is in tabelle 16 aangegee.

b. Ingeënt met een platinoog gis-afsaksel.

Tabelle 16.

Gis- ras No.	Die ontwikkeling by										
	44°C		46°C		48°C		50°C		52°C		
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	
1	X	X	X	0	0	0	0	0	0	0	0
8	X	X	X	0	X	0	0	0	0	0	0
10	X	X	X	X	0	0	0	0	0	0	0
52	X	X	X	X	X	X	0	0	0	0	0
71	X	X	X	X	X	X	0	0	0	0	0
73	X	X	0	X	X	X	0	0	0	0	0
78	X	X	0	X	0	0	0	0	0	0	0
82	X	X	0	0	0	0	0	0	0	0	0
85	X	X	X	X	0	X	0	0	0	0	0
99	X	X	X	X	0	0	0	0	0	0	0
100	X	X	0	X	0	0	0	0	0	0	0
110	X	X	X	X	0	0	0	0	0	0	0
115	X	X	X	X	X	X	0	0	0	0	0
127	X	X	X	X	0	0	0	0	0	0	0
136	X	X	X	X	X	X	X	X	0	X	X
149	X	X	X	X	0	X	0	0	0	0	0
154	X	X	X	X	0	0	0	0	0	0	0

Die letters a en b dui die dubbele proefreekse aan.

X staan vir 'n sterk ontwikkeling na verloop van 11 dae.
0 staan vir geen ontwikkeling na verloop van 11 dae nie.

Wanneer die resultate uit tabelles 15 en 16 vergelyk word, blyk dit duidelik dat hul by die laere temperature heel goed ooreen stem. Sodra egter die temperatuur hoër word en nader aan die dodende-temperatuur kom, is daar heelwat verskille merkbaar. By 46°C het die resultate met rasse 1,8,52,73,78, 82,85,99,100,115,127 en 136 nog enigsinds ooreen gestem. Die rasse 10,71,110,149 en 154 kon in hierdie proef by genoemde temperatuur ook nog aan die lewe bly, terwyl hul selle in die eerste proef (Klein hoeveelheid inentings-materiaal) reeds by 46°C gedood was.

Die onderskeide wat daar in hierdie proef tussen die twee

twee serieëvoorkom b.v. by rasse 1 (46°C), 136 (52°C), 149 (48°C) ens. kan daardeur verklaar word dat hierdie temperature op die maksimale grens lê, sodat net die selle met die allergrootste weerstandsvermoë by hul aan die lewe kan bly. In distilleerde water is die dodende temperature vir die verskillende rasse as volg:-

Gisras No.	'n verwarming van 'n half-uur in distilleerde water	
	word nog verdra by	het 'n dodelike uitwerking by
82	44°C	46°C
1, 10, 78, 99, 100, 110, 127 en 154	46°C	48°C
8, 52, 71, 73, 85, 115 en 149	48°C	50°C
136	52°C	-

Ras 136 verskil in hierdie opsig dus baie van die ander rasse.

2. Die verwarming in druiwemos.

a. Ingeënt met 'n platinoog opgeskudde gis.

Die resultate van hierdie proef is in tabelle 17 aangegee.

Tabelle 17.

Gisras No.	Die ontwikkeling by					
	40 en 42°C		44°C		46°C	
	a	b	a	b	a	b
1	X	X	X	X	0	0
8	X	X	0	0	0	0
10	X	X	0	0	0	0
52	X	X	0	0	0	0
71	X	X	0	0	0	0
73	X	X	0	0	0	0
78	X	X	0	0	0	0
<u>82</u>	X	X	0	0	0	0
85	X	X	0	0	0	0
99	X	X	0	X	0	0
100	X	X	0	0	0	0
110	X	X	0	0	0	0
115	X	X	0	0	0	0
127	X	X	0	X	0	0
136	X	X	0	0	X	0
149	X	X	0	0	0	0
154	X	X	0	0	0	0

Die letters a en b dui die dubbele proefreekse aan.

X staan vir 'n sterk ontwikkeling na verloop van 11 dae.

0 staan vir geen ontwikkeling na verloop van 11 dae nie.

Ingeënt met een platinoog gis-afsaksel.

Tabelle 18.

Gisras No.	Die ontwikkeling by							
	42°C		44°C		46°C		48 en 50°C	
	a	b	a	b	a	b	a	b
1	X	X	X	X	X	X	0	0
8	X	X	X	X	0	0	0	0
10	X	X	X	X	0	0	0	0
52	X	X	X	X	0	0	0	0
71	X	X	X	X	X	X	0	0
73	X	X	X	X	0	0	0	0
78	X	X	X	X	0	0	0	0
82	X	X	X	X	0	0	0	0
85	X	X	X	X	0	0	0	0
99	X	X	X	X	0	0	0	0
100	X	X	0	0	0	0	0	0
110	X	X	X	X	0	0	0	0
115	X	X	X	X	0	0	0	0
127	X	X	X	X	0	0	0	0
136	X	X	X	X	X	X	0	0
149	X	X	X	X	0	0	0	0
154	X	X	X	X	0	0	0	0

Die letters a en b dui die dubbele proefreekse aan.

X staan vir 'n sterk ontwikkeling na verloop van 11 dae.
0 staan vir geen ontwikkeling na verloop van 11 dae nie.

'n Vergelyking van tabelles 17 en 18 bevestig alles wat by die vorige proef reeds gesê is. Opvallend is die gedrag van ras 136. Waar met die klein hoeveelheid ingeënt was, was al die selle na 30 minute by 44°C dood. In die tweede proef was na dieselfde tyd nog lewendige selle by 46°C voorhande. Hierdie resultate bewys weer dat vir sulke proewe die hoeveelheid selle wat by die inenting toegevoeg word nie te klein mag wees nie. In druiwemos is die dodende temperature vir die verskillende rasse as volg:-

Gisras No.	'n verwarming van 'n half-uur in distilleerde water word nog verdra by	het 'n dodelike uitwerking by
100	42°C	44°C
8,10,52,73,78,82,85,99, 110,115,127,149 en 154	44°C	46°C
1,71 en 136	46°C	48°C

Die dodende temperature is vir alle rasse in druiwemos heelwat laer as in distilleerde water. In teenstelling tot die resultate van Will (1916a,b.287) toon hierdie resultate duidelik aan, dat die temperatuur waarby die selle van 'n sekere ras gedood word in dieselfde vloeistof vasstaande is, en dus heel goed by die sistematiese beskrywing gebruik kan word. Dit geld egter net waneer die hoeveelheid selle wat by die inenting toegevoeg word, nie te klein is nie.

8. Die invloed van reaksie en suiker op die vloeibaarwording van gelatien.

Waar reusekolonies op gisekstrak-gelatien aangelê was, was die ondervinding immer dat enige dae nadat die kolonies sigbaar geword het, was die gelatien onder hul reeds vloeibaar. Sulke kolonies het mettertyd dieper en dieper in die gealtien gesink, en kon tot geen behoorlike ontwikkeling kom nie.

Om te sien of dit by alle reaksies die geval sou wees, was die volgende proef uitgevoer:- 'n Gelatien wat uit 100 ccm. gisekstrak, 10 gram gelatien en 2 gram glukose bestaan het, was eendeels angesuur en eendeels alkalies gemaak. Dit het geskied deur tot 100 ccm. van die gelatien 2 ccm. van 'n Normale wynsteensuur-oplossing of 1 ccm. Normale natriumhydroksied-oplossing te voeg. 'n Derde deel van bogenoemde gelatien was deur middel van 'n $1/12$ Normale natriumhydroksied-oplossing, en lakmoes-papier as indikator, noukeurig neutraliseer.

Op die so voorbereide gelatiene was dan nogmaals reusekolonies aangelê, met die gevolg dat die gelatien in al die gevalle weer vloeibaar gemaak was. Druiwemos-gelatien was

met uitsondering van ras 1 ook deur al die rasse vloeibaar maak. Mout-gelatien daarteen was deur hul eers na verloop van 2 maande vloeibaar maak.

Om hierdie verskynsels nader te ondersoek en ook om te sien welke invloed die reaksie en die in die gelatien aanwezige suiker presies op die vloeibaarwording daarvan het, was die volgende proewe aangestel.

Gewone gisekstrak was deur middel van natriumhydroksied en lakmose-papier as indikator neutraliseer. Een deel daarvan was so, dus neutraal, gebruik. En Tweede deel was aangesuur deur 4 ccm. van 'n Normale soutsuur-oplossing op elke 100 ccm. van die gisekstrak te voeg. 'n Derde deel was alkalies maak deur die toevoeging van 2 ccm. Normale natriumkarbonaat-oplossing tot 100 ccm. gelatien. Uit elkeen van hierdie 3 vloeistowwe was vervolgens 3 gelatiene berei, wat van mekaar net in die toegevoegde suiker verskil het. Hierdie gelatiene het die volgende samestelling gehad:-

Gisekstrak (neutraal, suur of alkalies).....	100 ccm.
Gelatien.....	6 gram.
Suiker (glukose, saccharose of maltose) ..	2 gram.

Op hierdie manier het daar 9 verskillende gelatiene van 3 verskillende reaksies ontstaan, in elke reaksie was daar 3 verskillende suikers. Deur middel van 'n "Wulffschen-Folien-Kolorimeter" was die volgende ph-waardes by die verskillende reaksies vas gestel:-

Reaksie suur, ph = 4.6,	glukose-gelatien. saccharose-gelatien. maltose-gelatien.
Reaksie "neutraal", ph = 6.3	glukose-gelatien. saccharose-gelatien. maltose-gelatien.
Reaksie alkalies, ph = 7.6	glukose-gelatien. saccharose-gelatien. maltose-gelatien.

Die verskillende gelatiene was in reagensbuisies in hoeveelhede van 10 ccm. afgevol, steriliseer en geënt. Die ent-materiaal was uit 4 dae oue kulture in druiwemos afkomstig. Die hoogte van die gelatien in die buisies was ca. 60 mm.

Voor die inenting was die gelatien op 33°C tot 35°C ver-

warm en dan met 'n platinoog uit die kulture, wat voorheen eers goed opgeskud was, geënt. Om die ingeënte selle reëlmatig deur die gelatien te versprei was die buisies direk na die inenting vinnig heen en weer tussen die beide handpalme roteer. Hierna was die gelatien eers toegelaat om eers goed vas te word, deur dit gedurende 'n nag by 'n lae temperatuur te plaas. Die volgende dag was dit dan in 'n termostaat by 25°C geplaas.

Na verloop van 4 dae het die verskillende rasse hul by al die reaksies en met al die suikers goed ontwikkel. Die sterkste ontwikkeling het egter in die suur glukose-gelatien voorgekom. In hierdie gelatien was daar by al die rasse kool-suurblase aanwesig. By ras 1 was daar nog geen tekens van vloeibaarwording van die gelatien ~~nies~~ te bespeur nie, By die ander rasse was die boonste gedeelte van die gelatien al vloeibaar.

Na 11 dae het by ras 1 die suur glukose-gelatien van bo af begin om vloeibaar te word. Die saccharose en maltose gelatiene was nog onveranderd. Die ander rasse het na hierdie tydperk al omtrent die boonste $\frac{3}{4}$ van die suur glukose-gelatien laat vloeibaar word. Van die saccharose- en maltose-gelatiene was 'n lagie van 1 tot 3 mm. dikte direk aan die oppervlakte vloeibaar.

In die neutrale reaksie het die gelatien na 4 dae by ras 1 nog nie begin vloeibaar word nie. Met die ander rasse was ook net 'n 1 tot 2 mm. dik lagie aan die oppervlakte van slegs die glukose-gelatien vloeibaar.

In die alkaliese reaksie het die 3 verskillende gelatiene by al die rasse na verloop van 4 dae al begin om vloeibaar te word, tog was hierdie proses in die glukose-gelatien die sterkste gevorder. Die verdere verloop van die vloeibaarwording is in tabelle 19 weer gegee.

In die begin was die vloeibare gelatien min of meer dik-vloeibaar. Met verloop van tyd het dit egter helemal dun-vloeibaar geword. Die selle het hul gewoonlik in 'n laag op die oppervlakte van die vaste gelatien aangesamel, sodat die

vloeibare deel helemal helder gebly het.

Na verloop van 11 dae was die selle uit die suur en alkaliese gelatiene mikroskopies ondersoek. Sonder uitsondering het hul daar gesond en sterk uitgesien. Daar was geen afgesterfde selle aanwesig nie. Ook nadat die proef na 89 dae nie meer verder ^{ver}gevolg was nie, was in al die reaksies en met al die suikers geen afgesterfde selle voorhande nie. Op hierdie tydstip het die selle meesal vakoules en verskeie olie-druppeltjies bevat.

Aan die einde van die proefnemings was die ph-waardes van die glukose-en maltose-gelatiene nogmals bepaal deur middel van die "Wulffschen Folien-Kolorimeter". Die resultate was as volg:-

Die oorspronklike suutrale gelatien se ph het variëer van
4.5 tot 4.7.

Die oorspronklike "neutrale" gelatien se ph het variëer van
4.9 tot 5.0.

Die oorspronklike alkaliese gelatien se ph het variëer van
5.1 tot 5.3.

Die suurgraad het dus in die alkaliese en "neutrale" gelatiene heelwat toegeneem. In die suur gelatien het dit effens verminder.

Soos uit die gegewens in tabelle 19 blyk, speel sowel die reaksie as ook die suiker 'n rol by die vloeibaarwording van die gelatien. By die monose, glukose wat deur al die rasse gegis kan word, was die vloeibaarwording veel sterker as by die ongisbare bioses, maltose en saccharose. In die suur en neutrale gelatiene was daar geen groot verskille tussen die invloede van hierdie twee suikers te bespeur nie. In die oorspronklike alkaliese reaksie was die maltose-gelatien na 'n langere tydsverloop sterker vloeibaar as die saccharose-gel.

In die glukose-gelatien was die gis se ontwikkeling in die begin sterker. Daar egter die ontwikkeling van die gis met verloop van tyd in die saccharose-en maltose-gelatiene heel sterk geword het, en die gelatien des nietteenstaande tog nie so sterk vloeibaar gemaak het nie, is dit duidelik

dat die intree van die vloeibaarwording nie van die giste se ontwikkeling in die gelatien afhang nie.

Die optimale reaksie vir hierdie proses is by ras 1 alkalies. Genoemde ras onderskei hom van die origes ook daarin dat hy die gelatien veel stadiger laat vloeibaar word. Vir al die ander rasse is die optimale reaksie suur. By 'n neutrale reaksie word die gelatien deur hierdie rasse veel lang-samer en swakke vloeibaar gemaak, en by 'n alkaliese reaksie vind hierdie proses uitermate langzaam plaas.

Soos bekend word die vloeibaarwording van gelatien veroorsaak deur 'n ensiematiese opsplitsing van die eiwitte tot stowwe met 'n minder komplekse samestelling b.v. peptone en aminosure. Volgens Dernby (1917, b.131) kan by gis hierdie opsplitsing deur die volgende ensieme veroorsaak word:-

- (1) Gispepsin met 'n optimale ph-waarde van 4.5.
- (2) Gistryptase " " " " " " 7.0.
- (3) Gisereptase " " " " " " 7.8.

Die twee eersgenoemde ensieme kan die eiwit-molekule in sy eenvoudiger boustene soos peptiede opbreek. Die peptiede ens. word dan deur die gisereptase verder na aminosure afgebou. Volgens Dernby het elke ensiem vaste reaksie-grense, waartussen dit aktief is. Lê die ph-waarde van die gelatien nie binne hierdie grense nie, dan bly die ensiem onaktief. Hiervolgens skyn dit ^dus dat die gispepsin - in die begin altans- as aktiefste ensiem by die toegespitste giste optree. In die gelatien met 'n ph-waarde van 4.5 tot 4.7 was die vloeibaarwording altyd die sterkste. In die alkaliese en neutrale gelatiene, waar die gistryptase die optimale aktiwiteits-reaksie had, het die gelatien baie langzaam vloeibaar geword.

By hierdie giste (ras 1 uitgesluit) kan die aktiewe ensiem dus nie dieselfde wees nie as die wat Beijerinck by ^h Schizosacc. octosporus gevind het nie. By sy proewe het dit geblyk dat die optimale reaksie vir die vloeibaarwording by hierdie gisaard swak alkalies is. Hieruit het hy afgelei dat dit gistryptase moet wees.

Volgens Beijerinck (1921,d1.3,b.269) en (1889,b.723).

Lindner (1930,b.190) en Oppenheimer (1926,b.1121) bestaan die ensiem-kompleks,wat daartoe in staat is om gelatien af te bou uit endoënsieme. Oppenheimer skrywe hieroor as volg:- " Hahn nannte das Ferment Endotryptase,weil er sie für nahe verwandt dem Trypsin hielt. Es ist in jeder Hefe enthalten, wahrscheinlich im Form eines Zymogens. Intra vitam tritt das Ferment niemals aus der Zelle aus,nur wenn die Hefe in bestimmter Weise abstirbt, z.B. erstickt oder mit Chloroform getötet wird,geht das Zymogen in aktieues Ferment über und dies diffundiert dann auch durch die Zellwand". Soos later by die ondersoekinge van Dernby geblyk het,bestaan die ensiem-kompleks wat deur Hahn as een ensiem beskou was,in werklikheid uit 3 verskillende ensieme. Beijerinck meen bewys te hê dat waneer die spore uit die asci van Schizosacc. octosporus tree,kom die ensiem ook vry.

Volgens hierdie ondersoekers is die vloeibaarmaking van die gelatien 'n nekrobiotiese proses,en nie 'n normale lewensfunksie nie. By my proewe kon ek altyd vasstel dat die selle in die vloeibare gelatien gesond en goed gevoed daar uitgesien het. Daar was ook geen asci aanwesig nie. Dit is dus helemaal onmoontlik dat die vloeibaarwording hier deur ensieme,wat uit afgesterfde selle vrykom,veroorzaak was. Die ensieme moes dus ^{deur}lewendige selle sekreteer gewees het, en nie soos Janke en Holzer (1930,b.243) eenvoudig aanneem, dat hul uit afgesterfde selle vrykom nie. Will (1901,b.808) het by twee rasse van *Willia anomala* (*Sacc. anomalus*) ook gevind, dat dergelyke ensieme deur lewendige,gesonde selle sekreteer kan word.

Tabelle.19.

Gisras No.	Reaksie van die gelation	Hoogte van die vloeibare saccharose-gelation in mm.			Hoogte van die vloeibare glukose-gelation in mm.			Hoogte van die vloeibare maltose-gelation in mm.		
		na 24 dae	na 40 dae	na 89 dae	na 24 dae	na 40 dae	na 89 dae	na 24 dae	na 40 dae	na 89 dae
1	s n a	5 7 4	10 8 15	30 20 --	7 3 15	7 6 25	55 20 --	4 7 6	8 9 20	55 55 --
8	s n a	5 4 4	7 5 11	15 10 --	55 6 5	60 8 12	60 18 --	6 5 4	7 5 15	20 10 --
10	s n a	5 3 1	7 3 7	17 9 --	55 7 6	60 9 12	60 30 --	5 3 4	7 3 12	16 10 --
52	s n a	3 1 1	5 3 1	25 9 6	57 3 4	60 13 5	60 27 10	5 1 --	8 3 --	27 10 --
71	s n a	5 3 3	6 4 5	20 10 11	60 9 --	60 12 --	60 20 --	5 3 2	8 5 4	60 10 12
77	s n a	4 2 0	6 4 1	17 10 8	50 7 3	60 10 4	60 50 10	4 2 1	5 3 3	15 10 12
78	s n a	3 2 0	5 3 2	15 10 7	58 6 2	60 8 4	60 60 10	4 2 1	7 3 2	17 10 10
82	s n a	4 3 2	6 5 4	25 12 8	53 10 5	60 10 6	60 60 14	5 3 3	9 6 5	60 12 7
85	s n a	4 3 1	7 4 3	17 10 9	55 7 5	60 9 6	60 20 12	5 4 4	8 5 6	20 15 15
99	s n a	5 3 1	7 4 2	20 11 9	55 10 6	60 12 7	60 20 15	6 2 5	9 4 6	21 11 15
100	s n a	5 3 1	7 5 3	20 13 9	55 10 6	60 12 8	60 60 17	6 3 4	7 4 5	19 10 15
110	s n a	5 2 1	6 4 3	15 10 8	60 10 5	60 11 5	60 20 14	5 2 2	8 4 6	60 10 15
115	s n a	5 1 0	6 4 3	27 10 6	60 7 2	60 8 5	60 60 12	5 1 0	7 2 1	26 10 9
127	s n a	3 2 0	3 3 1	15 9 9	55 10 6	60 10 7	60 17 16	3 2 3	3 3 3	20 10 14
136	s n a	4 2 2	8 3 3	20 10 8	60 7 6	60 8 5	60 18 15	6 2 5	8 4 5	22 13 15
149	s n a	-- 2 0	-- 5 1	-- 10 9	60 8 5	60 10 5	60 20 14	4 2 3	6 5 4	60 10 15
154	s n a	8 4 2	17 11 3	-- -- 10	60 8 5	60 18 6	60 -- 13	9 4 4	20 11 4	-- -- 16

In bostaande tabello beteken:- s suur, n neutraal en a alkalies.

HOOFSTUK II.

Morfologie.

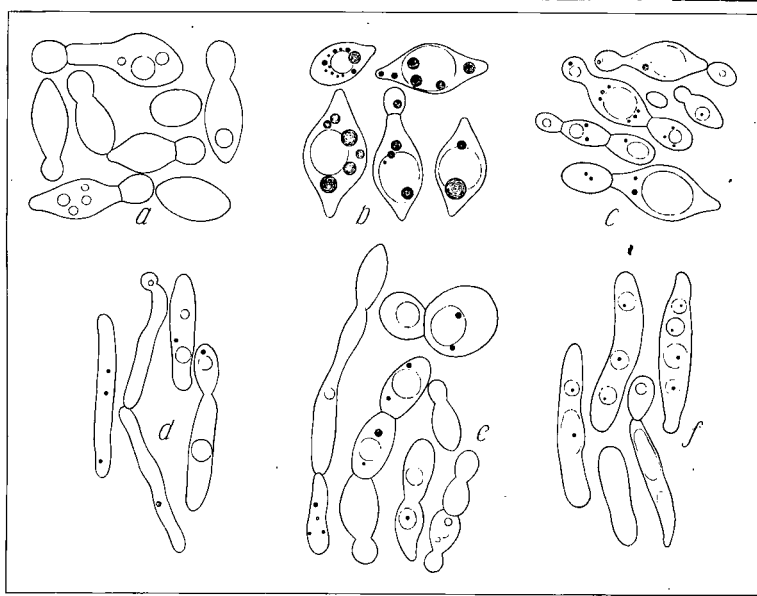
L. Die vorm, grootte en inhoud van die selle in druiwemos.

In reagensbuis-kulture in druiwemos is na 24 uur die toegespitste selle van ras 1 kort en dik (afb. 4, a). Die lengte van tiepiese toegespitste selle variëer van 10.5 tot 11 X4 tot 4.5 μ . Die vorm van die selle in kulture van hierdie ouderdom is egter meesal lang-ellipsoïed tot toegespits, en byna alle selle bevat 'n paar klein vakoules. Na 48 tot 72 uur is die toegespitste selle in die oorgrote meerderheid voorhande. Behalwe 2 tot 4 sterk ligbreekende korreltjies bevat elke sel nou in die breedste gedeelte 'n groot ronde vakuole.

Wat selvorm aanbetref kom die selle van rasse 8, 52, 71, 73, 82, 85, 99, 100, 110, 115, 127, 136 en 149 baie ooreen met die van ras 1. Ook hier is die toegespitste punte betreklik kort en dik (afb. 5, f). Die ellipsoïede selle is egter kort ellipsoïed in teenstelling tot die van ras 1. Die lengte van die toegespitste selle varieer tussen 6 en 8 μ en die dikte tussen 3 en 4.5 μ . Die selle van hierdie rasse is dus heelwat kleiner as die van ras 1.

By al die verskillende rasse variëer nie alleen net die grootte van die toegespitste selle nie, maar ook die van die ellipsoïede selle tot 'n baie sterk mate. Dit is dus onmoontlik om 'n juiste bepaalde grootte vir die selle van 'n ras aan te gee. Vroeëre ondersokers soos Hansen, Will, Meissner en andere het alreeds op hierdie verskynsel heengewys.

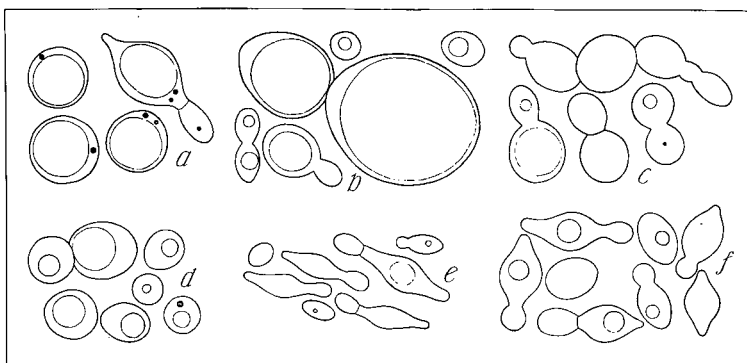
Na verloop van 48 uur oorweeg die toegespitste selvorm by die laasgenoemde rasse. Die grootste selle bevat dan alreeds groot ronde vakoules, maar die ronde, sterk ligbreekende korreltjies kom slegs in baie min selle voor. Na 72 uur is die oorwegende selvorm ellipsoïed. Die selle bevat nou almal 'n groot vakuol en een of meer sterk ligbreekende korreltjies. Na 6 dae is daar byna geen toegespitste selle meer voorhande



Afbeelding 4.

Ras 1, vegetatiewe selvorme . Vergr. 1200 X.

- a. in druiwemos na 27 uur by 25°C.
- b. selle met olie-druppeltjies, van gipsblokkies na 9 dae.
- c. Selle op mout-gelätien na 8 dae by 20°C.
- d. selle uit die uitgroeisels aan die onderkant van 'n reusekolonie op mout-gelätien na 42 dae by 20°C.
- e. selle uit die sentrale deel van 'n reusekolonie op mout-gelätien na 42 dae by 20°C.
- f. selle uit 'n steekkultuur in mout-gelätien na 26 dae by 20°C.



Afbeelding 5.

Vergr. 1200 X.

- a. ras 8, reuseselle uit 'n streepkultuur op mout-gelätien na 8 dae by 20°C.
- b. ras 154, selle uit 'n druiwemos wat om $\frac{1}{10}$ met water verdun was, na 3 dae by 25°C.
- c. ras 99, selle uit 'n druiwemos met 22.3 g/l alkohol na 3 dae by 25°C.
- d. ras 127, selle uit 'n druiwemos wat om $\frac{1}{10}$ met water verdun was, na 3 dae by 25°C.
- e. ras 154, spruitende selle uit druiwemos na 27 uur by 25°C.
- f. ras 10, spruitende selle uit druiwemos na 27 uur by 25°C!

nie. Die meeste selle skyn ook al in die rus-stadium oorgegaan te wees.

Die selvorm verskil by rasse 10,78 en 154 baie sterk van die van die orige rasse. Die selle is hier lank en dun en die toespitsing betreklik lank (afb.5,e). Die lengte van toegespitste selle varieer tussen 12 en 16 μ en die dikte tussen 3 en 3.5 μ . Hul protoplasmatiese inhoud en eienskappe is soos hierbo beskrywe was. In 24 uur oue kulture is die toegespitste selvorm oorwegend. Die presentasie van hierdie selle neem egter hierna vinnig af, sodat na verloop van 72 uur byna uitsluitelik ellipsoidede selle voorhande was.

Op geen tydstip gedurende die gisting het die toetse vir glykogeen by enige van die rasse positiewe resultate gelewer nie. Die ronde, sterk ligbreekende korreltjies tree sonder uitsondering na 48 tot 72 uur in die selle van hierdie organismes te voorskyn. In selle op vaste voedings-substrate en op gipsblokkies kan genoemde korreltjies 'n grootte van selfs tot 2.5 of 3 μ in deursnit hê (afb.4,b). In selle wat nog besig is met spruit en selfs in jong kulture word hul selfde of ooit aan getref. Waar 'n sel 'n vakuole besit, lê hul gewoonlik dig teen die vakuole aan (afb,4,b en c). Hul kan egter ook deur die plasma versprei wees. In 7 dae oue kulture van ras 1 is daar meesal 6 tot 8 sulke korreltjies in een sel voorhande. By die ander rasse daarteen is hul getal nooit so groot nie.

Wanneer die selle met sulke korreltjies in sudan-glyserien effens warm gemaak word, neem die korreltjies 'n orange-rooi kleur aan. Met nilblou gee hul 'n blou kleur. In bensool word hul opgelos, verloor hul vaste vorm en dring dan deur die hele protoplasma, wat hierdeur ook sterk ligbreekende eienskappe kry. Hierdie reaksies wys daartoe dat genoemde ligampies uit vet of olie moet bestaan, 'n slotsom waartoe ook Will (1916a,b.261) gekom het.

In jong kulture is die selle se protoplasma altyd homogeen en swak lig breekend. Dit is eers nadat die selle ouer word en in die rus-stadium begin oor te gaan, dat die proto-

plasma korrelrig en sterker ligbreekend word.

2. Die spruiting.

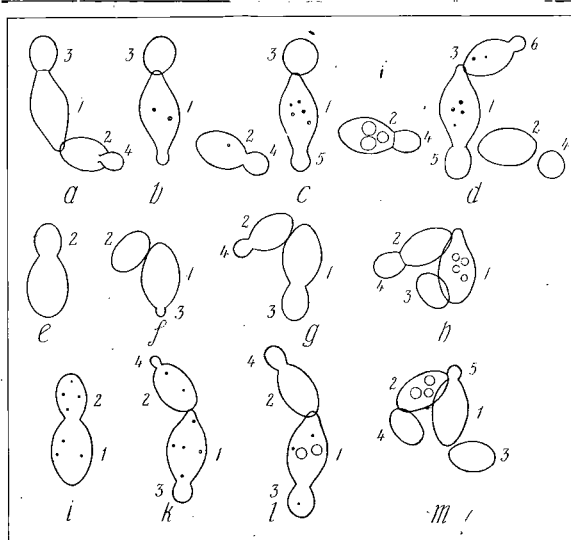
Volgens Reess (1870, b.27) spruit die apiculatus giste op die volgende manier:- " Die Tochterzellen entstehen als erst knopförmige, dann kugelig schwellende Ausstülpungen nur an den beiden Polen. Sie wachsen erst vollständig fast zur Grösse der Mutterzellen heran und werden dann etwa nach der Art der Konidien von Peronospera infestans rechtwinklig umgestülpt, sodass ihre Längsachse auf diejenige der Mutterzellen zu stehen kommt. Hiernach sprosst entweder die Tochterzellen im Verbands mit der Mutterzelle ein-oder zweimal weiter aus, oder sie löst sich sogleich ab und erhält erst nach der Ablösung ihre beiden Spitzchen. Röhrenzellige Sprossverbände werden nie gebildet". Engel (1872b, b.53) kom op grond van sy ondersoekinge tot dieselfde gevolgtrekkinge.

Hansen (1911, bb.54 tot 56) weerlê die resultate van Reess en Engel en sê in sy slotopmerkinge (b.56):- " Es wird nicht nur eine Art von Sprossen, wie Reess und Engel lehrt abgeschnürt, sondern regelmässig zwei, und in dem Entwicklungsgang der ovalen Sprosse macht sich das Gesetz geltend, dass sie, um die typische Gestalt der Art zu erhalten, eine oder mehrere Sprossungen durchmachen müssen".

Meissner (1901, b.40) neem aan dat die ellipsoiede selvorm die normale is, en die toegespitste selvorm die spruitvorm. Volgens hom is die toespitsinge die beginsels van die spruitproses. Verder beskrywe hy breedvoerig hoe die dogterselle later ombuie voordat hul van die moederselle losraak.

Müller-Thurgau (1907, b.317) stem met Hansen daarin ooreen dat 'n toegespitste sel onmiddelik as dogtersel kan ontstaan. Hy beskou die opvatting van Meissner, dat die toespitsinge die beginsel van die spruitproses is, as verkeerd.

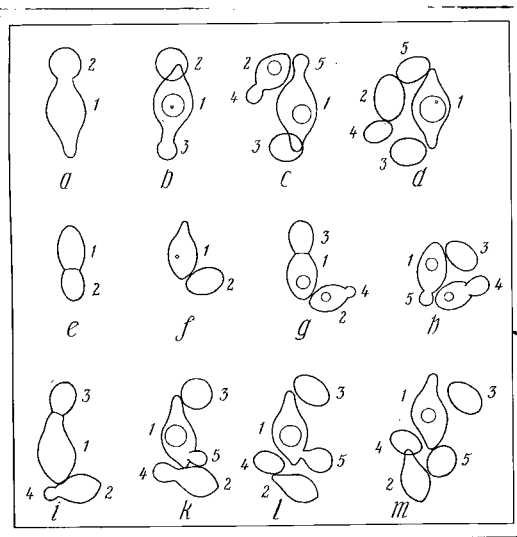
Volgens Will (1916a, b.239) kan die ellipsoiede selle op twee maniere spruit, In die eerste geval ontstaan die toespitsinge eers aan die pole van die moedersel. Aan hul



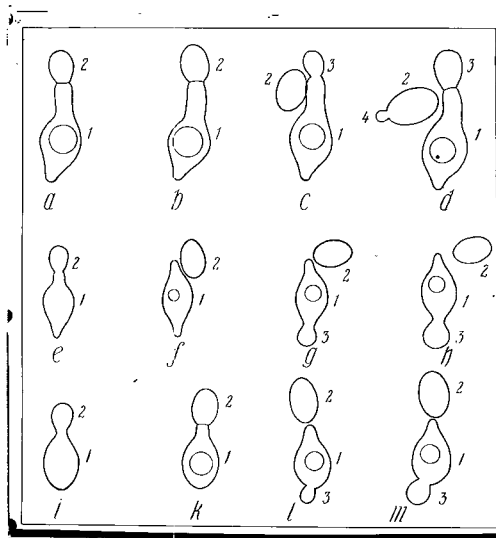
Afbeelding 6.

Ras 1, die spruiting in druiwemos by 25°C. Vergr. 1200 X.

- a. 10.30; b. 11.35; c. 12.45; d. 14.35;
 e. 10.05; f. 11.10; g. 12.15; h. 14.15;
 i. 10.20; k. 11.20; l. 12.30; m. 14.40;



Afbeelding 7.



Afbeelding 8.

Afb. 7: Ras 127, die spruiting in druiwemos by 25°C. Vergr. 1200 X.

- a. 9.30; b. 10.30; c. 12.00; d. 14.30;
 e. 9.30; f. 10.30; g. 12.00; h. 14.30;
 i. 9.50; k. 11.00; l. 12.30; m. 14.50;

Afb. 8: Ras 136, die spruiting in druiwemos by 25°C. Vergr. 1200 X.

- a. 10.30; b. 11.35; c. 12.45; d. 14.35;
 e. 10.05; f. 11.10; g. 12.15; h. 14.15;
 i. 10.20; k. 11.20; l. 12.20; m. 14.40;

ontstaan dan later die dogterselle in die vorm van koeël-vormige uitgroeisels. In die tweede geval kan die ellipsoïede selle direk spruit sonder om eers voorheen van gedaante te verander.

Dit is dus duidelik dat daar oor hierdie saak heelwat verskil in mening tussen die verskillende vorsers bestaan.

My ondersoekings oor die spruit van hierdie swamme was op die volgende manier uitgevoer:- Uit 8 tot 9 uur oue kulture in mos was deur middel van 'n platinoog 'n druppeltjie mos op 'n kiemvrye objekglas ^gegring en dan met 'n kiemvrye dekglasie bedek. Nadat die vloeistof hom onder die dekglasie uitgebrei het, was langs die rande van laasgenoemde met gesmelte paraffien toegesmeer. Die so bereide preparate was hierna in 'n termostaat by 25°C gebring en van tyd tot tyd was die veranderinge aan bepaalde selle mikroskopies waar geneem en geteken. Op hierdie manier was by 4 verskillende rasse die spruiting van omtrent 80 selle waargeneem.

By die toegespitste selle vind die spruiting as volg plaas:- By die selle met lang totspitsinge (afb.6,b; afb.7, a en c en afb.8 a tot e) kan die eerste begin van die spruiting as 'n klein swellinkie aan die end van die spits waargeneem word. Hierdie swellinkie neem toe in grootte en ontwikkel in 'n ronde of meesal kort-ellipsoïede dogtersel. Nadat die dogtersel tot omtrent $\frac{1}{3}$ van die moedersel se grootte aangegroei het, ontstaan daar aan die toegespitste end van die moedersel 'n dwarswand tussen die twee selle, sodat hul met hul breë basise op mekaar bly vas sit. Gedurende die verdere ontwikkeling van die dogtersel vind daar tussen beide plat oppervlakte van die twee selle 'n skeiding plaas. Daar hierdie skeiding aan een kant van die plat oppervlakte begin, en daar, waarskynlik weens die osmotiese druk in die selle, die plat oppervlakte van hierdie kant af na buite konveks word, word die dogtersel na δ een kant toe omgedruk en vorm gewoonlik 'n min of meer regte hoek met die moedersel. Die dogterselle is altyd ellipsoïed gevorm. Ek het nooit 'n toegespitste dogtersel kon waarneem nie.

Somtyds bly die moeder- en die dogterselle na die ombuiging vas aan mekaar. Na enige tyd begin hul dan aan die teenoorgestelde pole dogterselle te vorm. Op die manier kan kort selkettings van 3 tot 4 selle ontstaan. In die reël ontstaan die dogterselle afwisselend aan die twee pole van die moeder-sel. Dat dit egter nie altyd die geval is nie, bewys die afbeeldings 8 (a tot d). Hier ontstaan direk na mekaar twee dogterselle aan dieselfde pool. Dit is ook gebeurlik dat die dogterselle nie alleen aan die pole nie, maar ook aan ander gedeeltes van die moederselle kan ontstaan (afb.7,k tot m).

Die eerste tekens van die spruiting kan hul by die ellipsoïede selle op tweerlei wyse openbaar. In die meerderheid van gevalle ontstaan die dogterselle eers as klein uitgroei-sels aan een van die moederselle se pole (afb.6,f,g en k). Hierdie uitgroei-sels se verdere ontwikkeling vind dan plaas soos hierbo reeds beskrywe was. Dit kan egter ook voorkom, dat die begin van die spruitings-prosess as 'n toespitsing aan 'n pool sigbaar word (afb.6,h en afb.7,f). Hierdie toespitsing neem meer en meer toe in dikte en verander eindelijk in 'n ellipsoïede dogtersel. Soos uit afbeelding 7 (f tot h) duidelik sigbaar is, is die toespitsing in sulke gevalle geen voorbereidende prosess nie, soos Will (1916a, b. 239) meen, maar in werklikheid die spruiting self, want nadat die moeder- en die dogterselle los van mekaar is, bestaan daar aan die betreffende pool van die moederselle geen toespitsing meer nie.

Onreëlmatig gevormde selle en lang draadvormige selle soos in kimkulture voorkom, kan op dieselfde tyd meer as een dogtersel ontwikkel. Ook hier is die dogterselle sonder uitsondering altyd rond of ellipsoïed.

By die ellipsoïede en toegespitste selle begin die moeder-sel aan die ander pool te spruit eers nadat die skeidingswand tussen die moeder-en die dogterselle ontstaan het. Voordat die ellipsoïede selle die toegespitste vorm kan aan neem, moet hul eers verskeie male gespruit hê. Die toegespitste vorm stel dus die quere en die ellipsoïede vorm die

van 120 uur was by al die 4 rasse 'n baie swak ontwikkeling te sien. By die mikroskopiese ondersoeking het dit geblyk dat die selvorm in alle gevalle helemaal normaal was; d.w.s. meesal sitroenvormig en met min ellipsoïede selle.

C. Die spruiting in mos waartoe ethyl alkohol gevoeg was.

Tot dieselfde mos was verskillende hoeveelhede van ethyl alkohol gevoeg. By 'n analiese was dit vas gestel, dat die hoeveelhede alkohol 13.5 g/l en 22.3 g/l bedra het. 72 Uur na die inenting het al die rasse in die mos met 13.5 g/l alkohol hul strek vermeerder. Die selle van rasse 82 en 99 was meesal ellipsoïed. By rasse 127 en 154 was die sitroenvorm nog oorwegend. In die mos met 22.3 g/l alkohol was eers na 120 uur 'n swakke ontwikkeling sigbaar. Die selvorm was hier by al die rasse ellipsoïed tot rond (afb.5,c). Dit skyn dus asof van die drie stotwissel-produkte ethyl alkohol die grootste invloed op die selvorm uitoefen.

D. Die spruiting in verdunde druiwemos.

'n Verdere proef was ook aangestel om te sien of die selvorm nie miskien deur 'n gebrek aan assimileerbare stowwe (stikstof en mineraalstowwe) beïnvloed mag word nie. Hiertoe was verdunde mos as voedingsmedium gebruik. Een deel mos was met 9 dele water verdun en deur die byvoeging van wynsteen-suur en glukose weer tot op die oorspronklike suur- en suiker-gehaltes gebring. Dus was alleenlik die stikstof bestanddele en die mineraalstowwe met $\frac{1}{10}$ verminder. 74 Uur nadat hul in hierdie voedingsmedium geënt was, het al die 4 rasse hul slegs baie swak kon vermeerder. Die mikroskopiese ondersoek het ooral aangetoon dat die meeste selle ellipsoïed gevorm was. Hierdie ellipsoïede selle het egter van die normale vorm afgewyk in soverre as dat hul groter was en meesal groot vakuoles besit het (afb.5,d). Baie opvallend tussen die kleinere ronde selle, was die groot reuseselle. By hierdie selle was feitelik die hele binneruimte deur een groot ronde vakuole ingeneem (afb.5,b).

Volgens my mening kan die onderskied in selvorm tussen jong en ouere kulture op die volgende manier verklaar word.

Sodra in 'n gistende vloeistof daardie hoeveelheid alkohol, wat die verdere spruiting van die selle kan verhoed ontstaan het, hou die jongere selle, daar hul gevoeliger is teenoor alkohol as die ouer sitroenvormige selle, helemaal op met spruit, of hul spruit slegs nog baie langsaam. Die toegespitste selle spruit vireers nog op die normale wyse voort en so ontstaan daar meer en meer ellipsoïede selle, wat weens die feit dat hul nou ^{nie} ~~noe~~ meer spruit nie (of slegs baie langsaam) hul oorspronklike vorm behou. Misskæn het die alkohol gehalte ook 'n direkte invloed op die selvorm.

3. Die groeieienaardighede in vloeistowwe.

A. In reagensbuis-kulture.

Omtrent 12 tot 14 dae nadat die gisting verby is, ontstaan aan die oppervlakte van druiwemos en ander vloeistowwe wat gisbare suikers bevat, 'n kim. By ras 1 word die vorming van die kim vooraf gegaan deur die ontstaan van die gisring teen die kant van die buisie. By hierdie ras is die kim veel swakker ontwikkel as by die ander rasse. Morfologies is daar geen onderskied tussen die selle in die kim en die normale gisvorm nie. Dikwels is die sitroenvormige selle in kettings van 4 tot 6 selle aan mekaar vas.

By die ander rasse het daar geen gisringe ontstaan nie. Die kimme was egter baie sterker ontwikkel as by ras 1. Tussen die normaal gevormde ellipsoïede en sitroenvormige selle het hier ook lang draadvormige selle voorgekom. By al die rasse is die kim baie suttiel en word deur die geringste beweging van die buisies in kleinere vlokkies opgebreek, wat dan na die bodem sink.

Wat die eienskappe van die afgesakte selle ^baanbetref, verskil ras 1 baie sterk van die ander. By genoemde ras bestaan die afsaksel uit 'n vaste klewerige kluit, wat eers nadat dit goed geskud was, in kleinere ~~w~~ eweëns vaste kluitjies opbreek. By die ander rasse kan die afsaksel baie maklik in die vloeistof opgeskud wrd. By rasse 8, 10, 71, 73, 78, 99, 100, 115, 127, 136 en 149 is die afsaksel van 'n fyn

stofferige geaardheid, by rasse 52,85 en 110 daarteen is dit meer korrelrig.

B. Die kimvorming op grotere hoeveelhede van verskillende vloeistowwe.

By hierdie proewe was 80 ccm. van die verskillende vloeistowwe in 200 ccm. bevattende erlenmeyerkolffies afgemeet, driemaal steriliseer en dan ingeënt. Die kolffies was met watteproppe afgesluit. Die volgende vloeistowwe was as voedingsmedia gebruik:- druiwemos, peersap, mout, gisekstrak en gisekstrak waartoe 3 gram asynsuur per liter toegevoeg was. Die proewe met laasgenoemde twee vloeistowwe was nie in erlenmeyerkolffies gemaak nie, maar in botteltjies (s.bls.25).

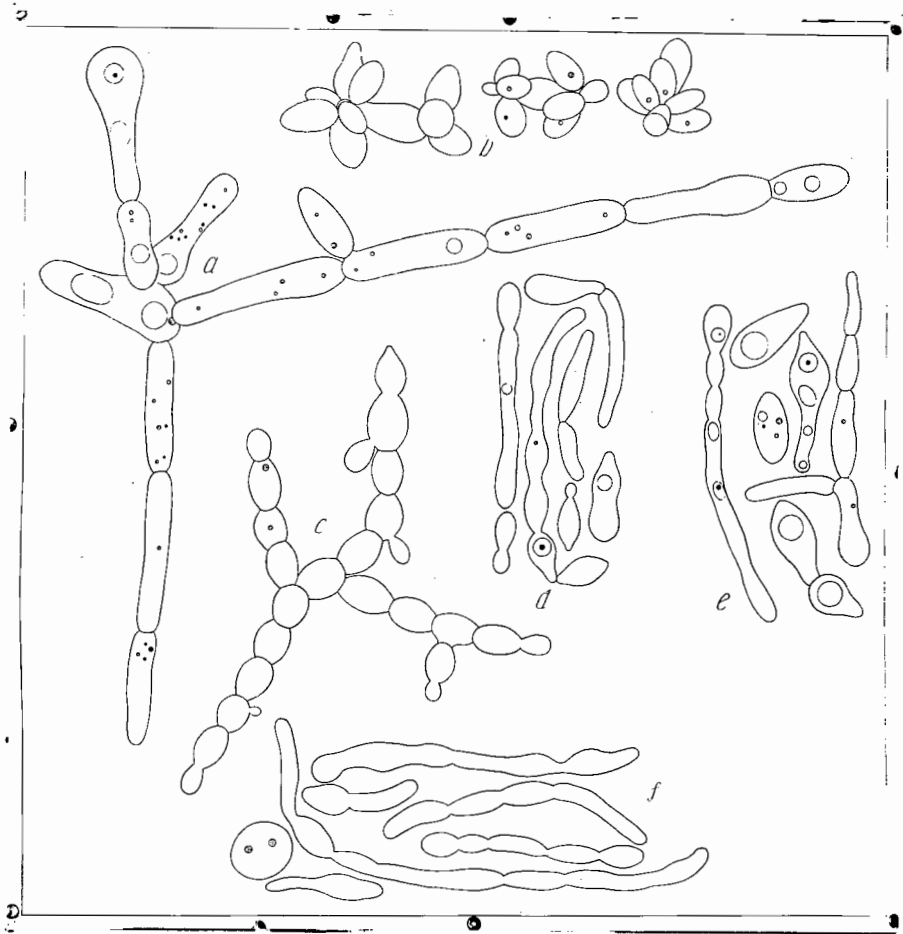
Die proewe met mos, peermos en mout was by 3 verskillende temperature uitgevoer; by 25°C en by 30°C in termostate en by 8 tot 10 in 'n yskas in 'n onderaardse keller. By 30°C was na 6 weke nog net 'n baie swak ontwikkelde gisring sigbaar. Van 'n kim was daar geen tekens te bespeur nie. By 8 tot 10°C het nog kim nog ring ontstaan. By 25°C was na 4 weke op die druiwemos en die mout 'n taamlik sterk ontwikkelde gisring en die beginsels van 'n kim te sien.

In die begin bestaan die ring uit isoleerde kolonies wat parallel tot die vloeistof se oppervlakte meer en meer uitbrei, totdat hul aan mekaar vas gegroei is. Die kimme ontstaan effens later. Hul oorsprong is klein eilandjies van gisselle wat onreëlmatig oor die hele oppervlakte versprei is. Dit is dus nie die geval dat die oorsprong van die kimme in die gisringe lê nie. Ook hier is die kimme en die gisringe buiten gewoon suttel.

a. Op druiwemos.

By ras 1 was na 8 weke nog geen kim sigbaar nie. Die ring het uit isoleerde kolonies bestaan. Na 12 weke was die ring by die orige rasse matig sterk ontwikkel. Die kim het egter nog uit isoleerde onreëlmatig gevormde eilandjies, wat oor die hele oppervlakte versprei was, bestaan. Die oppervlakte van die eilandjies was droog en die kleur vaal-wit.

Die selvorme in die kimme is baie veelvoudig. Afgesien



Afbeelding 9.

Selle uit kimkulture by 25°C .

Vergr. 1200 X.

- a. ras 1 op mout na 12 weke.
- b. ras 149, kroonvorming op gisekstrak waartoe asynsuur gevoeg was, na 96 dae.
- c. ras 99 op gisekstrak na 96 dae.
- d. ras 73 op druiwemos na 16 weke.
- e. ras 10 op mout na 12 weke.
- f. ras 154 op druiwemos na 16 weke.

van kleinere verskille, wat afhanklik mag wees van die plek waar die ondersoekings-materiaal geneem was, wys al die rasse 'n baie groot mate van ooreenkoms wat hul selvorm betref. Lang, draadvormige selle was in die oorgrote meerderheid aanwesig. Daartussen was daar nog lang en kort ellipsoïede selle, toegespitste selle en dikwels ook ronde selle (afb. 9, a tot ff).

b. Op mout.

Na 8 weke was by ras 1 'n taamlike sterk ring gevorm. Die kim het uit verskeie klein, van mekaar geïsoleerde eilandjies bestaan. In die ring was die meerderheid van die selle ellipsoïed of toegespits, met wenige lang ellipsoïede tot silindervormige selle daartussen. In die kim was die selle klein en groot ellipsoïed, toegespits en silindervormig en verder was baie opvallend die tiepiese, uit langgestrekte selle bestaande, vertakte spruitverbande (afb. 9, a).

By die orige rasse was die ontwikkeling van sowel die ringe as van die kimme baie swakker as op druivemos. Ook hier was die mees algemene selvorme ellipsoïed en toegespits.

c. Op peermos.

Op hierdie vloeistof het die giste geen ontwikkeling aan die oppervlakte getoon nie.

d. Op gisekstrak en op gisekstrak waartoe asynsuur gevoeg was.

Geen een van die 17 rasse het in hierdie voedingsmedia 'n ring kon vorm nie en ras 1 ook geen kim nie. By die ander rasse was die kimme baie sterker ontwikkel as op alle ander vloeistowwe. Ook hier was daar geen onderskeid tussen die selvorme van die verskillende rasse nie. Die vertakte spruitverbande wat hier ontstaan het, verskil van die voorheen beskrewe deurdat hul uitsluitelik uit tiepiese ellipsoïede selle bestaan (afb. 9, c). Verder was by alle rasse 'n eenaardige manier van kroonvorming baie opvallend. Hierby ontstaan aan een of beide pole van 'n langerige mpedersel verskeie kleiner, langerig-ellipsoïede dogterselle (afb. 9, b). Die oorheersende selvorm in die kimme was toegespits of ellipsoïed.

4. Die groeieienaardighede op vaste voedingsmedië.

A. Die eensel-kolonieë.

Die groei-tiep van die eensel-kolonieë was in 'n 10%ige mout-gelatien ondersoek. 24 Uur nadat die selle uitgesaai was, was die kolonieë reeds goed ontwikkel en het 'n tiepiese moerbe-tiepe (Lindner, 1930, b.472) aangetoon. In die optiese deursnit was die vorm van die kolonieë kort-ellipties tot rond. Die rante is betreklik reëlmatig. Die diameter variëer tussen 25 en 35 μ . Die selle lê dig aan mekaar en reëlmatig oor die hele kolonie versprei. Tussen die kolonieë van die verskillende rasse was daar geen onderskeid waar te neem nie. Na 'n verder 24 uur het die kolonieë heelwat aan grootte toegeneem; hul vorm ens. het egter onveranderd gebly.

B. Reusekolonieë.

Daar gisekstrak- en mos-gelatien deur hierdie giste vloeibaar gemaak word (s. bls. 50) kon as substraat by hierdie ondersoekinge net van mout-gelatien gebruik gemaak word. Op hierdie substraat bestaan daar tussen die kolonieë van die verskillende rasse, soos Will (1916a, b.251) trouens ook by sy ondersoekinge gevind het, geen groot verskille nie. By alle rasse brei die kolonieë hul aan die oppervlakte van die gelatien uit. In vergelyking tot die van alle ander Saccharomycete is hierdie reusekolonieë baie eenvoudig en plat in vorm. Na 4 tot 5 weke is die sentrale deel gewoonlik effens laer as die res, sonder dat die gelatien daaronder vloeibaar gemaak was.

Meesal kom aan die onderkant van die kolonieë uitgroeisels in die gelatien voor. Hierdie uitgroeisels is baie swak ontwikkel en kan waar geneem word eers nadat die boonste gedeelte van die kolonie met water aggespoel was. Hul bestaan uit bondels van selle wat in die gelatien groei en kom onreëlmatig aan die onderkant voor. Onder die middel van die kolonie is hul egter digter op mekaar en sterker ontwikkel as meer na buite.

Die rante van die kolonieë is vrywel reëlmatig en sterker of swakker getand. Die gelatien onder die kolonieë word eers

na 7 tot 8 weke vloeibaar. By ras 1 is hierdie tyd n
nog heelwat langer. Behalwe by hierdie ras sien die
oppervlakte van die reusekolonieë daar nat en blink
uit.

Volgens hul algemene tiepe kan die 17 rasse se reuse-
kolonieë in 6 hoof groepe klassifiseer word.

Groep 1. Die oppervlakte van die kolonie betreklik plat, deur
radiale plooië in sektore opgedeel. Aan die rant ontstaan
kleinere lappe :- ras 1.

Groep 2. Die oppervlakte van die kolonie helemal plat, in
die middel effens laer, hoegenaamd sonder enige kentekens :-
ras 10.

Groep 3. Die sentrale deel van die kolonieë effens ingesink,
tog is die effens hoëre wal daarom heen nog duidelik sigbaar.
Verder is die oppervlakte plat net hier en daar klein ronde
verhewinkies. Aan die rant is radiale strepe bemerkbaar :-
ras 136.

Groep 4. Die kolonieë is betreklik eenvoudig gevorm. Die
middelste deel effens ingesink en met kenmerkende vratvormige
verhewinge bedek. Hierdie verhewinge kan klein en baie tal-
ryk wees of minder talryk en groter. Aan die rant is radiale
strepe te sien:- rasse 52,71,82,99,115,149 en 154.

Groep 5. Hierdie groep stem baie ooreen met die vorige groep,
behalwe dat van die middel uit, radiaal smal verhewe dele
strek, wat nie tot op die rant van die kolonie loop nie:-
rasse 8,73 en 100.

Groep 6. Van die middel uit gaan twee of meer verhewe sektore
tot aan die rant. Die oppervlakte van sulke sektore kan of
glad wees (rasse 78 en 110) of met vratvormige verhewinge
bedek (rasse 85 en 127). Gewoonlik staan die sektore effens
uit by die originele deel van die kolonieë se rant:- rasse 78,85,
110 en 127.

Met uitsondering van ras 1, is daar in geen een van die
ander rasse se kolonieë enige tekens van selfdifferensiasie
te bespeur nie. In die sentrale deel is die selvorm net soos
aan die kant, aan die oppervlakte net soos dieper in - altyd

Die tiepiese ellipsoïede en sitroenvormige selle, met baie min langerige, worsvormige selle daartussen. Byna elke sel het 'n klein vakuole bevat en gewoonlik was in die daarin aanwesige selsap 'n klein korreltjie, wat die Brownse beweging uitvoer, aanwesig. By sommige van die rasse kon ek in selle uit die sentrale deel ook ascospore waarneem (afb.10,e).

Uit tafel 2, afbeeldinge a en b is dit duidelik te sien dat die reusekolonieë van ras 1 op mos-gelatien en op mout-gelatien sterk van mekaar verskil in hul vorm.

C. Streep- en steekulture.

Hierdie proewe was op die gewone manier aangestel en in dieselfde gelatien soos vir die reusekolonieë gebruik was. Nadat die reagensbuisies met gelatien, ingeënt was, was hul in 'n termostaat by 25°C gehou. Die streepkulture van ras 1 was na verloop van 7 dae reeds sterker ontwikkel as die van die ander rasse. Op die oppervlakte wat aan beide kante van die middellyn sterk ontwikkel het, was duidelike dwars voue sigbaar. Na 24 dae het die streepkulture van ras 1 hul net nog deur hul sterkere mate van ontwikkeling van die van die ander rasse onderskei. Die selvorm was uitsluitelik sitroenvormig en ellipsoïed (afb.4,c).

By al die orige rasse was die oppervlakte van die streepkulture glad en gelyk. Langs die middellyn (waar die inenting plaas gevind het) was 'n vlak holte, wat aan beide sye deur verhewe deke begrens was. Die rante was glad en ongetand. Na 24 dae was die gelatien onder die kolonie reeds vloeibaar.

By hierdie rasse was die ellipsoïede selvorm oorwegend. Tussen die so gevormde selle het daar egter ook nog sitroenvormige en worsvormige selle voorgekom. Die ronde en sitroenvormige reuseselle (afb,5,a) was hier ook baie opvallend. By verskeie van die rasse was in die streepkulture ook ascospore-bevattende selle aanwesig.

Na 7 dae was daar tussen die steekulture van die verskillende rasse geen onderskeid te sien nie. Onmiddelik onder die gelatien se oppervlakte het by al die rasse 'n

sterk ontwikkeling plaas gevind. Van hier af word die ontwikkeling immer swakker, totdat op 'n diepte van 3.5 cm. geen ontwikkeling makroskopies sigbaar is nie. Ook na 26 dae was daar nog geen verandering ingetree nie. Ras 1 het hom toe egter van die ander onderskei deurdat daar ^{keelruimte} fyn haarvormige uitgroeisels van uit die kolonieë in die steek-kanaal ontstaan het.

Deur hierna die onderste einde van die reagensbuisies te breek en voorsigsmatreels te tref teen infeksie van buite af, kon 'n sterk ontwikkeling van die giste in die onderste gedeelte van die steek-kanaal veroorsaak word. Dit skyn dus asof die ontwikkeling van hierdie giste in gelatien tot 'n sterk mate van die suurstof-spanning afhanklik is.

By ras 1 was die selle wat in die steek-kanaal voorkom oorwegend silindervormig, met wenige lang-ellipsoïede selle daartussen. Die langgestrekte selle het meesal meer as een vakuole bevat. Ook in hierdie vakuoles was daar klein bewegende ligaampies voorhande (afb. 4, f). Daar bestaan 'n groot mate van ooreenkoms tussen die vorm van hierdie selle en die van die selle uit die uitgroeisels aan die reusekolonieë. By die ander rasse was die selle meesal lang- of kort-ellipsoïed.

D. Die ontwikkeling waar die selle reëlmatig deur die gelatien verdeel was.

Hierdie waarneminge was aan dieselfde materiaal soos die oor die vloeibaarmaking van die gelatien (s. Bls. 50) gedoen. Na verloop van 4 dae was die ontwikkeling van die verskillende rasse by die suur en die neutrale reaksies feitelik ewe sterk.

Ras 1 kon homself net in die heel boonste deel van die saccharose- en maltose-gelatien ontwikkel. Tot op 2 mm. onder die oppervlakte was die uiters klein kolonieë dig op mekaar. Laer af was daar geen ontwikkeling makroskopies sigbaar nie. Daarteen het die kolonieë hul in die glukose-gelatien tot helemaal onder (diepte 55 mm.) ontwikkel. Die gelatien was deur blase van koolsuurgas uitmekaar geskeur. Hierdie verskynsel het in die suur gelatien sterker te voorskyn getree as in die neutrale. Die gelatien was nog nie vloeibaar nie.

Die orige rasse het by die neutrale reaksie 'n effens swakke-re ontwikkeling aangetoon as by die sure. By beide die re-aksies is die groeikondiesies in die glukose-gelatien veel gunstiger as in die saccharose- of maltose-gelatien. In laas- genoemde gelatien het die ontwikkeling op 'n diepte van 2 mm. opgehou. In die suur glukose-gelatien daarteen was die kolo- nieë tot in die diepste gedeeltes te sien; in die neutrale glukose-gelatien net tot op 'n diepte van 30 tot 35 mm. In beide gevalle was die gelatien vol koolsuur blase. By die suur reaksie was die gelatien vroeër vloeibaar as by die neutrale.

Al die rasse kon hul slegs baie swak in die alkaliese ge- latien ontwikkel. Ras 1 het homself in die saccharose- en mal- tose-gelatien tot op 3 mm. onder die oppervlakte ontwikkel. Die kolonieë was hier egter baie kleiner as by die suur en neutra- le reaksies. In die glukose-gelatien was daar 'n middelmatige sterk ontwikkeling tot op 10 mm. onder die oppervlakte. Hier- vandaan het die kolonieë se ontwikkeling verswak, totdat hul in die onderste dele van die gelatien nie meer sigbaar was nie. In geen geval was die gelatien vloeibaar nie. Koolsuurblase was te sien net in die sones waar die ontwikkeling sterk was.

Die orige rasse kon hulself in die saccharose- en mal- tose-gelatien slegs aan die oppervlakte ontwikkel. In die glukose-gelatien het die ontwikkeling, al hoewel baie swak, tot onder plaas kon vind. Koolsuurblase was aanwesig. Na ver- loop van 4 dae was die gelatien nog nie vloeibaar nie.

By hierdie proef is daar geen onderskeidingstekens tus- sen die verskillende rasse, ras 1 ingesluit, te bespeur nie. Ras 1 kon hom altyd effens sterker, ook in die dele arm aan suurstof, ontwikkel as die ander rasse. Fisiologies onderskei ras 1 hom van die ander daarin dat die gelatien nie so gou deur hom vloeibaar gemaak word nie. Die ontwikkeling van al hierdie giste is egter nie net van die suurstof-spanning in die gelatien afhanklik nie, naas ook tot 'n groot mate van die toegevoegde suiker. In gelatien wat 'n gisbare suiker be- vat kan hul met minder suurstof klaarkom as wanneer die toe-

gevoegde suiker nie gisbaar is nie.

5. Die vorming van ascospore en hul ontkieming.

Beijerinck (1921, dl.3, b.56) was die eerste ondersoeker wat die ontstaan van ascospore by 'n toegespitste gisvorm waargeneem het. In die jaar 1894 deel hy mee dat in die lug en op ryp vrugte soms toegespitste giste aangetref word, wat in enkele gevalle daartoe in staat is om asci met 4 tot 6 ascospore te vorm. Omdat die poging van alle vroeëre ondersoekers soos Reess, Hansen ens. om hierdie giste te laat spore vorm immer vrugteloos was, was dit algemeen aangeneem dat hul nie daartoe in staat moet wees nie.

Gedurende die jaar 1901 publiseer Lindner (1901, b.398) tekeninge van apiculatus giste met ligaame in hul selle wat 'n baie groot mate van ooreenkoms met ascospore aantoon. Soos hy self meedeel kon hy egter nie hierdie ligaame tot ontkieming bring nie. Na verloop van nog twee jaar (Lindner, 1903, b.505) deel dieselfde vorser mee dat hy by 'n apiculatus ras, wat hy van die blomme van *Robinia Pseudacacia* isoleer het, die ontstaan van ascospore kon waarneem. Daar het net een spoor per ascus ontstaan, en elke spoor was deur 'n duidelike sigbare membraan omgewe. Al hoewel hy ook hier nie die ontkieming van die spore kon waarneem nie, was hy nogtans daarvan oortuig dat in hierdie geval het hy werklik met spore te doen gehad.

Na nog enige jare het Röhling (1905, b.15) ook meedeel dat hy by die rasse, waarmee sy ondersoekings uitgevoer was, die ontstaan van endospore op gipsblokkies waargeneem het. Volgens sy berig het hy selfs ook daarin geslaag om die ontkieming van een spoor in 'n perdemis-ekstrak waartoe 5 % glukose gevoeg was, te vervolg. Volgens die beskrywing op bladsy 15 van sy publikasie moet dit aangeneem word dat in die geval die enkele spoor in die ascus direk, sonder eers vooraf 'n promycelium te laat ontstaan, begin te spruit het.

Volgens die resultate van sy eie ondersoekinge kon Müller-Thurgau (1907, b.316) nie die van Röhling bevestig nie.

Nadat Zikes (1911, b.144) baie uitgebreide ondersoekinge oor hierdie saak uitgevoer het, kom hy tot die gevolgtrekking dat die apiculatus giste onder geen omstandighede daartoe in staat is nie om ascospore te vorm.

Hierna het Klöcker (1912, b.384) in tuingrond uit die omgewing van Valby in Denemarke 'n toegespitste gis gevind wat wel daartoe in staat was om volop spore te vorm. By hierdie gis het daar meesal twee spore in 'n ascus ontstaan. Hierdie vorm van Klöcker het baie ooreen gestem met die gisvorm wat voorheen reeds deur Beijerinck gevind was. By 'n nadere ondersoek het dit egter geblyk dat die ras van Klöcker heelwat afwyk in sy eienskappe van die gewone apiculatus giste. In daarop volgende proewe is dit Klöcker ~~is~~ egter nie geluk nie om die apiculatusras wat deur sy voorganger Hansen isoleer was, te laat spore vorm.

Ook Will (1916a, b.292) kon by die twee spesies wat deur hom beskrywe was, na omvangryke proewe geen ascospore waarneem nie. Dit was dus algemeen aangeneem dat die egte apiculatus giste asporogeen is. Voor 'n paar jaar het Kufferath (1929, b.210) weer aandag na hierdie saak getrek deur mee te deel dat hy daarin geslaag het om by die apiculatus ras wat deur Hansen isoleer was, op 'n alkaliese mout-agar ascospore te laat ontstaan. Die spore het egter in 'n baie geringe mate ontstaan en hy kon hul onder die mikroskoop eers vind nadat hul op 'n spesiale manier gekleur was. Onder sulke omstandighede het dit my dus as baie gewens voorgekom om sy resultate te kontroleer en ook om die hele kwessie oor die spoorvorming nogmals noukeurig te ondersoek.

Om te vind of hierdie giste werklik daartoe in staat was om ascospore te vorm, moes vireers proewe met 'n hele reeks substrate deurgevoer word. By hierdie ondersoekinge was die volgende uit probeer:-

1. Gorodkowa-agar. Dit was op die bekende resep van Gorodkowa berei.
2. Alkaliese mout-agar berei volgens Kufferath (1929, b.197). Hierdie voedings-substraat was noukeurig volgens die aange-

gewe-resep berei, en die volgende alkaliteitsgrade was gebr-
bruik:- 3,5,13,23.en 33 ccm. Normale natriumloog op 250 ccm.
agar.

3. Grondekstrak-gelatien. Die grondekstrak was op die volgen-
de manier berei:- 1000 tot 1500 gram humusryke tuingrond was
vir 'n uur lank met ca. 'n liter water gekook en daarna was
die vaste dele toegelaat om af te sak. Na verloop van 'n pa-
paar dae was die betreklik heldere vloeistof filtreer, en met
die filtraat was 'n 15 %ige gelatien berei.

4. Gipsblokkies.

Die ondersoekinge oor die spoorvorming was op die volgende
manier uitgevoer:- Die verskillende rasse was in druiwemos
gekweek. Om seker te maak dat het jong, gesonde en goed ge-
voede selle vir die ondersoekinge gebruik sal word, was hul
na 24 uur weer in fris druiwemos oorgeënt.

Na 24 tot 26 uur was die verskillende gelatien-en agar-
substrate dan uit hierdie laaste kulture deur middel van 'n
platinoog geënt. Daar die toegespitste giste nie so gou 'n
afsaksel vorm nie, moes vir die ondersoekinge op gipsblokkies
altyd selle uit 3 dae oue kulture gebruik word. Die geënte
substrate was in 'n termostaat by 25°C gehou.

Na 8 dae was nog op die Gorodkowa-agar nog op die
grondekstrak-gelatien spore waar te neem nie. Op laasgenoem-
de substraat was die ontwikkeling uitermate swak. Op die
alkaliese mout-agar was by alle alkaliteitsgrade heelwat spore
aanwesig. Tog was op die agar met 23 en 33 ccm. Normale
natriumloog op 250 ccm. agar die meeste spore voorhande. Ras
1 het net by hierdie twee alkaliteitsgrade spore gevorm. Op
die gipsblokkies het met uitsondering van ras 1 al die ander
rasse na 5 dae 'n sterk mate van spoorvorming aangetoon. Om-
dat die presentasie van spoorvormende selle op hul baie
groter was as op enige ander substraat, was uitsluitelik van
gipsblokkies vir die verdere ondersoekinge gebruik gemaak.

Drie maande later was ras 1 onder geen omstandighede
meer spore vorm nie. Skygbaar is die oorsaak hiervoor dat

hierdie ras 'n jaar voor die anders isoleer was en sedert dien onder laboratoriums kondiesies gekweek was.

In selle uit kimkulture het ek nooit spore kon waarneem nie. By rasse 8 en 10 was egter in selle uit die sentrale deel van die reusekolonieë op mout-gelatien en ook in selle uit die streepkulture op dieselfde substraat soms spore te sien (afb.10,c en f).

By die voorproewe het rasse 73,127,136 en 154 by verreweg die grootste presentasies van spoor-bevattende selle aan getoon. Die verdere ondersoekings was derhalwe net met hierdie vier rasse uitgevoer. By rasse 73,127 en 136 was by 'n temperatuur van 25°C die eerste aanduidings van spore alreeds na 26 tot 28 uur sigbaar. By ras 154 was dit na 30 uur nog nie die geval nie.

Voordat 'n sel daartoe oorgaan om 'n spoor te vorm, word die protoplasma eers effens sterker ligbreekend en in beide die pole tree verskeie korreltjies te voorskyn. Enige tyd hierna word dan in die een pool 'n klein ronde of kort-ovale ligaampie met 'n deursnit van 0.5 tot 0.7 u sigbaar. Hierdie ligaampie is waarskynlik identies met die selkerne in die gekleurde preparate. Hierna ontstaan op enige afstand om die ligaampie heen 'n membraan wat duidelik van die originele protopl-asma onderskei kan word deurdat dit die lig sterker breek. Op hierdie stadium kan die spoor se ontwikkeling as volg beskrywe word. In die middel die sentrale ligaampie, daaromheen 'n sone van skynbare normale protoplasma wat na buite deur 'n membraan begrens word. Die sentrale ligaampie is slegs vir 'n baie kort tydperk sigbaar. Dit verdwyn weer later en daar kom enige sterk ligbreekende korreltjies in die spoor se protoplasma te voorskyn (afb.10,g). Die spoor se membraan neem hierna toe aan digte en dikte en sy protoplasma word sterker ligbreekend. Na 36 uur is die spore van al die vier rasse volwasse.

Gedurende die ontstaan en ontwikkeling van die spore ondergaan die sitroenvormige asci heelwat verandering in hul

vorm. Gedurende die eerste stadia is hul meesal nog tiepies toegespits. Hierdie vorm gaan meer en meer verlore namate die ontwikkeling van die spore vorder, sodat asci met volwasse spore kort-ellipsoïed of kort en dik toegespits is. Waar twee selle nog aan mekaar vas is, ontstaan die spore meesal in daardie pool wat nie met die dogtersel in aanraking is nie. Nie alleen die toegespitste selle nie, maar ook die grotere ellipsoïede selle is daartoe in staat om spore te vorm. By wyse van uitsondering kan daar in, plaas van net een spoor ook twee in 'n ascus ontstaan (afb. 10, e). Die spore lê in sulke gevalle vry van mekaar in die ascus.

Die spore is van net een membraan omgewe. Hierdie membraan besit 'n gladde oppervlakte en is relatief dik en sterk ligbreekend. In die merendeel van die gevalle is die spore rond. Hul kan egter ook kort-ellipsoïed wees (tafel 1, afb. a, b, c en d). By ras 1 is hul feitelik sonder uitsondering rond met 'n diameter van 3 tot 3.5 μ en by uitsondering 4 μ . By die ander rasse is die diameter van die ronde spore slegs 2.5 tot 3.2 μ .

Kort voordat die Saccharomycete tot spoorvorming oorgaan, ondergaan die selkern enige verdeelinge (sien Tischler, 1921-22, b. 273). Volgens Koh \ddot{u} l (1908, b. 187) is dit moontlik dat in 'n ascus met een of meer spore ook nog 'n vrye kern voorkom. Om te ondersoek of dit ook die geval by die toegespitste giste is, was hul 24 uur nadat die spoor-kulture op die gipsblokkies geënt was, en terwyl die eerste aanduidings van spore in relatief min selle te sien was, fixeer en die kerne deur kleuring sigbaar maak.

Hiertoe was die selle eers met distilleerde water gemeng, en op objekglasies, wat vooraf toetaal vetvry maak was, so reëlmatig moontlik versprei. Die objekglasies was daarna gedurende 1 $\frac{1}{2}$ uur in 'n termostaat by 28°C gelaat, sodat die selle goed kan vasdroë. Hierna was die selle gedurende 4 uur in 'n mengsel van swawel- en pikriensure (s. Behrens, 1898, b. 657) fixeer en dan gelooi in 'n oplossing van 2.5 gram

yster-aluin ($\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$) in 100 ccm. water, vinnig afgespoel en dan in die oplossing van haematoxylin (0.5 gram haematoxylin in 100 ccm. distilleerde water) geplaas. Hierin was die preparate vir 18 uur gelaat, en dan in 'n 0.75 %ige swawelsuur-oplossing vir 1 tot 3 minute gedefereensier, Nadat hul dan goed in water afgespoel was, was hul met 'n 33 %ige kalium-tartraat oplossing bedek. By hierdie behandeling het die vorm en grootte van die selle nie veel verander nie.

By die grotere en kleinere vegetatiewe selle is in sulke preparate die selkern se vorm baie afwisselend. Soms is dit amoeboid of stervormig, soms helemal onreëlmatig, soms in die vorm van 'n half-maan of ook rond. Ook die posisie van die kern in die sel is nie vasstaande nie. Dit kan as ronde ligaampie teen die selwand lê, of in die vorm van 'n half-maan langs 'n vakuole. Meesal is dit stervormig en lê in die middel van die sel. Sodra egter 'n sel hom voorberei om 'n spoor te vorm, beweeg die kern hom na een van die pole, en neem 'n ronde vorm aan. Hier ontstaan dan die membraan om die spoor heen. In jong spore is die kern taamlik groot (deursnit 1.5 tot 1.7 μ). In geen enkele geval kon ek behalwe die spoor kern nog 'n tweede vrye kern in 'n sel waarneem nie. Dit skyn dus asof by hierdie gistendie spoorvorming nie deur 'n kernverdeling vooraf gegaan word nie (tafel 1, afb. e). Die ligaame wat deur my as spore beskou was kon ek in baie talryke gevalle laat ontkiem (sien bls. 82.). Behalwe dit was ek ook in staat om die teenwoordigheid van kerne in hul te ^bgewys. Dit is dus volkome uitgesluit dat hierdie ligaame iets anders as spore kan wees.

Met die verloop van tyd kon ek duidelik waarneem dat die eienskap om ascospore te vorm by verskeie van die rasse sterk aan die afneem was. Hierdie feit en ook die vroeëre ondervinding met ras 1 skyn aan te dui, dat waneer hierdie giste onder laboratoriums konditiesies gekweek word hierdie eienskap buiten gewoon gou verlore gaan.

Dit skyn dat waneer die kulture by hoëre temperature gehou word, die verlies daarvan beginstig word. So was dit waar-

geneem dat kulture wat gedurende 6 maande in die laboratorium gestaan het (temperatuur 18 tot 22°C) feitelik nie meer daartoe in staat was om spore te vorm nie. Selfs ook by rasse 73, 127, 136 en 154 wat voorheen in so'n ryke mate daartoe in staat was. In kulture van hierdie selg^{fd}e rasse wat by 'n heelwat laer temperatuur gestaan het (8 tot 10°C), het omtrent nog 90 % van die selle in daaropvolgende proewe spore kon vorm.

Met die oog op die resultate van Beijerinck (1898, b. 657 en 721) was ook by hierdie giste versoek om die eienskap om spore te kan vorm te regeneer. Hiertoe was kulture van rasse 136 en 154 wat in die laboratorium gestaan het gebruik. Daar op die gipsblokkies gewoonlik 'n mengsel van vegetatiewe selle en asci voorkom, was die spoor-bevattende selle van eersgenoemdes bevry deur die mengsel gedurende 3 uur by 'n temperatuur van 52°C te hou. Hierna was die spore toegelaat om te ontkiem en die spoorvorming was dan by hul nasaat weer ondersoek. Insteede egter van streker te voorskyn te tree, het hierdie eienskap nou byna toetaal verdwyn. Net in baie min gevalle was spoor-bevattende selle te sien.

In opvolging hiertoe was soortgelyke proewe met die kulture wat by die lae temperatuur gestaan het, uitgevoer. Ook by hul was, iedere maal nadat die selle tot op 52°C verwarm was, 'n vermindering in die getal spoor-vormende selle te sien. Al hoewel aanvanklik ca. 90 % van die selle in hierdie kulture spore kon vorm, het die persentasie, nadat hul op die hierbo beskrewe manier 2 maal verwarm was, tot op 50 % verminder.

Die rede w^aarom so baie van die ouere navorsers nie daartoe in staat was om die spoorvorming by die apiculatus giste waar te neem nie, lê daarin opgesluit, dat die kulture waarmee hul proewe uitgevoer was, reeds te lank kunsmatig onder laboratoriums kondiesies gekweek was. Beide Klöcker en Will het as ondersoekings-materiaal, kulture, wat sedert enige jare in hul laboratoria gekweek was gebruik. Deur Zikes word dit nie gemeld nie hoe oud die kulture was, waarmee hy

sy ondersoekinge gemaak het. Hy sê egter ook nie dat die betreffende kulture kort tevore isoleer was nie.

Lindner daarteen het by twee verskillende kulture kort nadat hul isoleer was, die spoorvorming kon waarneem, Van 'n illustrasie wat deur hom gegee word (1903, b.505 en 1930, b.535) blyk dit duidelik dat hy in werklikheid die spoorvorming by hierdie giste gesien het. 'n Ouere tekening uit die jaar 1901 (b.398) werk egter minder oortuigend.

Daar hierdie eienskappe in die laboratorium so gou verlore raak, moet waneer die spoorvorming by die apiculatus giste bestudeer word, die proewe altyd met rasse wat kort tevore uit die natuur isoleer was, uitgevoer word. Onder sulke omstandighede sal tót sigbaarmaking van die spore, besondere kleurmetodes, soos deur Kufferath (1912, b.180) aan bevel oorbodig wees.

80 Van die 81 rasse wat deur my isoleer was, is, al hoewel hul uit die verskillendste dele van Europa stam, daartoe in staat om ascospore te vorm. Verdere besonderhede hieroor kom in tabelle 20 voor.

Tabelle 20.

Spoorvorming van die toegespitste giste op gipsblokkies na 48 uur by 'n temperatuur van 25°C.

Gisras No.	Persentasie van spoorbevattende selle	Groote van die spore in μ	Vorm van die spore
1	-	-	-
2	5	2.7 tot 3.0	rond tot ellipsoïed
3	40	3.2	kort ellipsoïed
4	20	2.5 X 3.0	ellipsoïed
5	15	2.5 X 2.7	ellipsoïed
6	5	2.7	rond
7	1	2.5 X 2.7	ellipsoïed
8	5	3.0	rond
9	1	3.0	rond
10	15	2.7 X 3 en 3	rond en kort ellip.
11	50	3 tot 3.2	rond

13	-	-	-
18	90	2.5 en 2.5 X 2.7	rond en kort-ellip.
19	90	3 en 3.2	rond en kort-ellip.
20	95	3.0	rond
21	2	2.7	rond
22	5	3.0	rond
25	10	3.0	rond
26	15	2.7 X 3	kort-ellipsoïed
27	10	2.7 X 3	kort-ellipsoïed
32	15	3 en 2.7 X 3	kort-ellipsoïed
37	10	3 en 2.7	kort-ellipsoïed
47	2	2.5 en 2.7	kort-ellipsoïed
48	10	3 en 3 X 2.7	rond en kort-ellip
49	80	3 en 3 X 2.7	rond en kort-ellip.
50	85	3.0	rond
51	10	2.8	rond
52	25	3 X 2.7	kort-ellipsoïed
53	70	3.0	rond
54	75	3.0	rond
55	25	2.2.X2.5	kort-ellipsoïed
56	25	3.0	rond
58	5	2.5 X 3.0	kort-ellipsoïed
59	10	3 x 2.5	kort-ellipsoïed
69	25	3 X 2.7	kort-ellipsoïed
70	75	2.7 tot 3.0	rond
71	10	3 en 3.2 X 2.7	rond en kort-ellip.
72	5	3 tot 3.2	rond
73	85	3.0	rond
74	15	3 tot 3.2	rond
78	10	3.2 X 2.7	kort-ellipsoïed
79	50	2.7 tot 3.0	rond
82	10	2.7 tot 3.0	rond
83	0.5	2.5	rond
84	5	2.7 X 3.0	kort-ellipsoïed
85	5	3.0	rond
86	1	2.7 X 3.0	kort-ellipsoïed

87	25	2.5	rond
88	20	2.7 X 3.0	kort-ellipsoïed
89	60	2.7 X 3.0	kort-ellipsoïed
90	5	3.0	rond
91	5	3.0	rond
92	10	3.0	rond
93	1	3 X 2.5	ellipsoïed
94	70	2.5 tot 2.7	rond
96	15	3.0	rond
98	15	2.7 X 2.5	kort-ellipsoïed
99	15	2.7	rond
100	20	2.0 tot 2.2	rond
104	20	2.5 tot 2.7	rond
105	10	3.0 X 2.7	kort-ellipsoïed
106	5	2.2 X 2.5	kort-ellipsoïed
107	50	3.0	rond
108	55	3 X 2.5	kort-ellipsoïed
109	60	3.0	rond
110	0.5	2.5	rond
111	1	2.7 tot 3.0	rond
113	5	2.2 tot 2.5	rond
115	15	3 X 2.7	kort-ellipsoïed
120	40	3.0	rond
122	10	3.0	rond
124	5	3.2	rond
125	0.5	2.5 X 2.2	kort-ellipsoïed
127	70	3 en 3 X 2.7	rond en kort-ellip.
128	1	3.0	rond
129	1	3.0	rond
134	30	2.7 tot 3.0	rond
136	90	2.8 tot 3.0	rond
149	0.5	3.0	rond
152	70	2.5 tot 3.0	rond
154	95	3.0	rond

Dit is wel aan te neem dat die optimale temperatuur vir die spoorvorming in die nabyheid van 25°C is, want by hierdie temperatuur word die spore, soos reeds aangetoon, na 30 tot 36 uur gevorm. Om egter 'n idee te kry oor die minimale en die maksimale temperature, was met die 17 noukeuriger ondersoekte rasse, proewe by 16 en 30°C uitgevoer.

By 16°C was na verloop van 12 dae 'n baie geringe mate van spoorvorming by ras 52 te sien. Selfs na 24 dae was by die orige rasse nog geen aanduidings hiervan te bespeur nie. By 25°C was die presentasies van spoor-bevattende selle soos in tabelle 21 aangegee.

Tabelle 21.

Gisras No.

	1	8	10	52	71	73	78	82	85
Presentasie van spoor-bevattende selle.	-(1	5	15	20	10	80	10	10	5

Gisras No.

	99	100	110	115	127	136	149	154	
Persentasie van spoor-bevattende selle.	15	15	0.5	10	75	90	1	95	

By 30°C was na 12 dae nog geen tekens van ascospore te sien nie. Op hierdie tydstip het die selle alreeds so swak en sieklik daaruit gesien, dat hul onmoontlik nie nog daartoe in staat kon wees om spore te vorm nie. Die optimale temperatuur vir die spoorvorming is dus in die nabyheid van 25°C. Die maksimale temperatuur is onder 30°C en die minimale temperatuur in die nabyheid van 16°C, meesal effens hoër.

Hierdie resultate stem nie met die van Kufferath (1929, b.210) ooreen nie. Dit is heel eienaardig dat hierdie vorser by temperature van 25°C tot 28°C onder geen omstandighede spoorvorming kon konstateer nie. Hy gee as die optimaal temperature tussen 10°C en 15°C aan, vind egter by 30°C 'n betreklike sterk mate (sporogénèse assez fréquente) van spoorvorming. Sy resultate weerspreek alles wat tot dusver oor die kardinaal temperature (minimum, optimum en maximum) vir die spoorvorming van die Saccharomycete bekend is.

(1 Sien bladsy 73.

Dit skyn dus asof daar by genoemde ondersoekinge ergens 'n fout ingesluit het.

Om 'n gekkikte medium vir die ontkieming van die spore te vind, was die volgende voedingsmedia uitprobeer:-

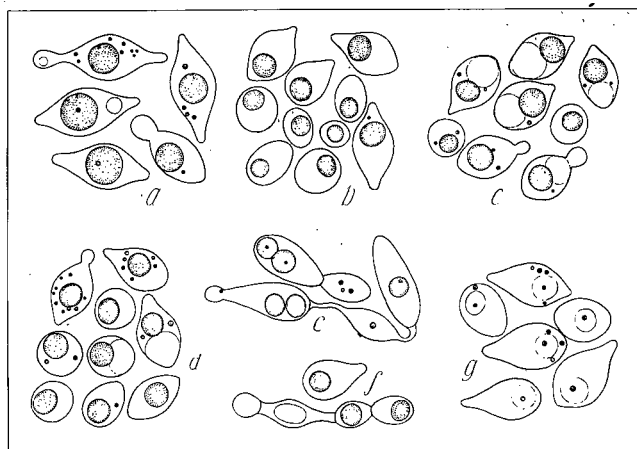
1. 'n 10 Persentige mout-gelatien. Spoor-bevattende selle was in die vloeibare gelatien by temperature van 32°C tot 33°C gebring en goed daarmee gemeng. Met hierdie mengsel was dan "adhaensions"-kulture in hol geslypte objekglasies of in klamkamers volgens Böttcher aangelê. Ook na 5 dae was in die gelatien geen enkele ontkiemende spoor te sien nie.
2. Geneutraliseerde gisekstrak met 5 % glukose.
3. Geneutraliseerde gisekstrak met 5 % maltose.
4. Grondekstrak met 5 % glukose.
5. Appelmos.
6. Druiwemos.

'n Hoeveelheid van spoor-bevattende selle was op 'n kiemvrye objekglasie met 'n paar druppels van die verskillende vloeistowwe gemeng. Die objekglasie was dan onder 'n steriele glasklok in 'n termostaat by 25°C geplaas. Die glasklok was deur water van buite afgesluit. Onder sulke omstandighede was die ontkieming in druiwemos goed, in appelmos effens swakker, in gisekstrak baie swak terwyl hul in die grondekstrak geen sinds wou ontciem nie.

In 'n ander serie van proewe was die selle in mout, druiwemos en appelmos in reagensbuisies gebring. Al hoewel die aanwesige vegetatiewe selle strek kon spruit, het die spore onveranderd gebly. Dit kom dus voor asof hul net in die teenwoordigheid van genoeg suurstof kan ontciem.

Alle verdere ondersoekinge oor die ontcieming was dus op objekglasies en in druiwemos uitgevoer. Daar was geen onderskeid te bespeur nie in die manier waarop die verskillende rasse se spore ontciem het.

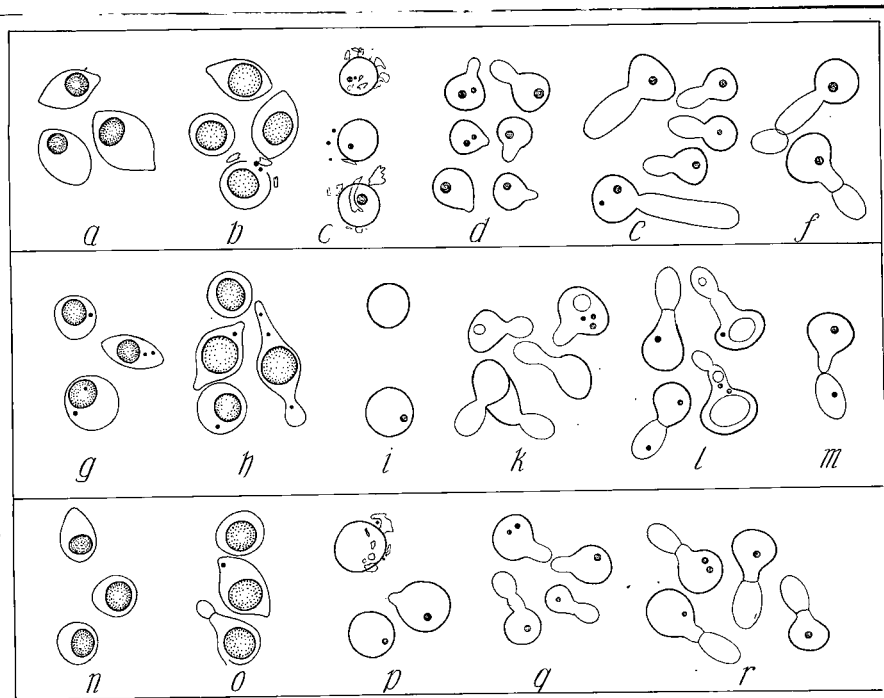
Onder die gemelde konditiesies was die eerste tekens van ontcieming gewoonlik na 9 tot 10 uur sigbaar. Die spore begin sterk uit te swel, en gedurende hierdie proses word hul inhoud meer en meer swak ligbreekend (afb. 11, b, h en o en



Afbeelding 10.

Die ontstaan van die spore. Vergr. 1200 X.

- a. ras 1, op mout-agar volgens Kufferath na 8 dae by 25°C.
- b. ras 127, op gipsblokkies na 3 dae by 25°C.
- c. ras 136, op gipsblokkies na 3 dae by 25°C.
- d. ras 154, op gipsblokkies na 3 dae by 25°C.
- e. ras 8, uit die sentrale deel van 'n reusekolonie op mout-gelatien na 26 dae by 20°C.
- f. ras 8, uit 'n streepkultuur op mout-gelatien na 26 dae by 25°C.
- g. ras 136, spore in hul ontstaan, uit kulture op gipsblokkies na 31 uur by 25°C.



Afbeelding 11.

Die ontkieming van die spore in druiwemos by 25°C. Vergr. 1500 X.
 a tot f ras 127; g tot m ras 136; n tot r ras 154;

tafel 1,afb.f). Dikwels swel die spore so sterk uit terwyl hul nog in die asci lê dat daar nie tussen die spoormembraan en die ascuswand onderskei kan word nie. Tot op hierdie stadium het die ascuswand dunner en dunner geword. Eindelik verval dit in kleinere stukkies (afb.11,b en c). Hierdeur kom die spore en ook die vetdruppeltjies vry (afb.11,b,c,en p). Die spore swel nog verder uit, hul protoplasma word meer en meer swak ligbreekend, en een of meer vetdruppeltjies en soms ook 'n klein ronde vakuole tree in hul te voorskyn. (afb.11,c,i en q en tafel 1,afb.g). Gedurende die uitswellingsprosess word die spoormembraan nie dunner nie. Eindelik kom aan die oppervlakte daarvan 'n kiembuis of promycelium te voorskyn (afb.11,d en p en tafel 1,afb.g) (hier is die kiembuis nie reg in die gesigsveld nie)). Die wand van die so ontstane kiembuis is betreklik dun. Nadat dit in lengte toegeneem het, ontstaan meesal net een vakuole daarin. Op hierdie stadium toon die ontkiemende spoor se vorm heelwat ooreenkoms met die van 'n peer of 'n knopkierie (afb.11,e,1 en q). Wanneer die kiembuis 'n lengte van omtrent 3 tot 5 u (soms ook langer) bereik het, ontstaan deur spruiting op 'n breë basis (soos by die sitroenvormige vegetatiewe selle) aan die voorste einde daarvan 'n dogtersel (afb.11,f,m en r).

In gevalle waar twee spore in 'n ascus aanwesig is, bly hul soms aan mekaar vas. Hul kiembuise ontstaan egter apart van mekaar.

By hierdie rasse vind die ontkieming van die spore dus heelwat anders plaas as wat Röhling (1905,b.15) dit by die een ontkiemende spoor van 'n apiculatus ras gevind het. By die ondersoekte rasse kon ek nooit, soos deur die genoemde outeur beskrywe is, 'n direkte spruiting sonder die vorming van 'n promycelium waar neem nie.

HOOFSTUK III.Sistematiek.

Die naam en die sistematiese groepeerings van die apiculatus giste het, sedert hul in 1870 vir die eerste maal deur Reess beskrywe was, dikwels veranderinge ondergaan. Met die verloop van tyd was hierdie spruitswamme onder heelwat verskillende geslagte geklassifiseer. Ja selfs was hul verskeie male op dieselfde tyd onder verskillende name beskrywe.

Reeds in die jaar 1912 het Klöcker (1912, b.378) op hierdie kaotiese toestand in die sistematiek van genoemde spruitswamme heen gewys. Tot orientering hieroor mag dit dus van enige nut wees om die volgende kort oorsig te gee. Terselfdertyd verwys ek ook ~~op~~ Klöcker (1915, b.369).

Reess (1870, b.28) kon by die sitroenvormige giste wat deur hom ondersoek was, geen spoorvorming waarneem nie, maar omdat " Alle seine 1) bekannte morphologischen Erscheinungen und sein physiologisches Verhalten als Alkoholfermentpilz mit Saccharomycesarten übereinstimmen" het hy gemeen " Diesen 2) muss er als unvollständig gekannte Art einstweilen angeordnet werden, in der Erwartung, dass bei irgend einem anderen Kulturverfahren seine Ascosporenbildung sich noch auffinden werden lassen". Hierdie swam was dus deur Reess as Saccharomyceet beskou net op grond van die feit dat hy 'n alkoholiese gisting kan veroorsaak.

Twee jaar later beweer Engel (1872, b.468) dat hy 'n heelmaal nuwe hoëre vrugvorm by die toegespitste giste ontdek het. Hierdie vrugvorm het 'n seker mate van ooreenkoms met die van die geslag Protomyces gehad. Engel het hierop die naam Carpozyma as geslagsnaam vir hierdie giste voorgestel. Pasteur (1876, b.148) het hom egter nog by die naam Saccharomyces

1) Het betrekking op Saccharomyces apiculatus.

2) Het betrekking op die Saccharomycete.

apiculatus, wat deur Reess gegee was, gehou. Hansen (1911, b.59) het gedurende die jaar 1881 mee gedeel dat al hoewel hy sy proewe verskeie male herhaal het, kon hy die resultate van Engel nie bevestig nie. Hy kon egter ook by hierdie giste geen ascospoorvorming vind nie. Tog het hy die naam van *Saccharomyces apiculatus* behou. In die sistematiese oorsig oor die famielie *Saccharomycetaceae* wat hy in die jaar 1904 (1904, b. 529) gegee het, maak hy egter geen melding van *Saccharomyces apiculatus* nie.

Van Laer (1893, b.100) het die naam *Pseudosaccharomyces* as geslagsnaam vir die *apiculatus* giste gebruik. Die volgende jaar deel Beijerinck (1921, dl.3, b.266) mee dat hy vorme van toegespitste giste ontdek het, wat daartoe in staat is om ascospore te vorm.

Nadat Lindner in 1904 die ontstaan van spore by hierdie giste ontdek het, het hy die naam van *Hansenia* as geslagsnaam vir hul voorgestel (1904, b.448). Al hoewel die naam *Hansenia* reeds vroeër aan 'n ander geslag van swamme deur Zopf (1883, b.539) gegee was, was dit tog deur verskeie ondersoekers vir die *apiculatus* giste gebruik. So b.v. gee Kohl (1908, b. 251) die geslag *Hansenia* Lindner as tweede geslag van die famielie *Saccharomycetaceae* aan. Ook Guilliermond (1912, b.292) het hierdie geslag onder die *Saccharomycete* klassifiseer. Omdat egter Reess, Engel, Hansen, Klöcker en ander nooit die ontstaan van ascospore by hierdie giste, kon waarneem nie, en omdat Lindner dit net by twee rasse gedoen het, was die algemene opinie nog altyd dat die toegespitste giste hoofsaaklik uit asporogene vorme bestaan.

Ook Will (1909, bl.67) het die geslag *Hansenia* van Lindner as na verwand met die geslag *Saccharomyces* beskou. Hy het dit egter nie onder die egte *Saccharomycete* nie, maar onder die twyfelagtige *Saccharomycete* gerangskik. Die asporogene toegespitste vorme het hy tot die tweede groep van die *Torulaceë* gereken.

Nadat Zikes (1911, b.144) met twee *apiculatus* rasse baie

omvangryke maar vrugtelose preewe oor die spoorvorming uitgevoer het, kom hy tot die gevolgtrekking dat hierdie groep van spruitswamme naas spoorvormende vorme, soos deur Beijerinck en Lindner gevind was, ook asporogene vorme insluit. Ter onderskeiding van hierdie twee groepe het hy die name *Hansenia* en *Hansenaspora* voorgestel. Laasgenoemde geslag was tot die *Saccharomycetaceae* gereken en het alle spoorvormende *apiculatus* giste - dus ook die van Lindner - ingesluit. Die asporogene vorme was onder die naam *Hansenia* saam gevat.

Hierna het Klöcker (1910) 'n gis wat 'n baie groot mate van ooreenkoms met *Saccharomyces apiculatus* gewys het, ontdek. Hy was nie alleen in staat om by genoemde gis die ontstaan van ascospore te vind nie, maar kon selfs hul ontkieming gadeslaan. Hy het hom derhalwe ook heel intensief met die nomenklatuur van hierdie giste besig gehou. Later (1913, b. 340) het hy 'n volledige beskrywing van hierdie gis, wat deur hom *Hansenaspora valbyensis* genoem was, gegee. In jong kulture is die selvorm meesal sitroenvormig. Die volwasse spore is half-koeëlvormig en besit 'n meer of minder sterk ontwikkelde rant rondom, sodat hul vorm tot 'n sekere mate ooreenkoms met die van 'n hoed. Die spore ontkiem sonder die ontstaan van 'n promycelium, deur direkte spruiting. Klöcker beskou *Hansenaspora* as sinoniem met *Hansenia* Lindner. Hierdie opvatting is nie reg nie, want die spore van die giste wat deur Lindner beskree was, is in teenstelling tot die van *Hansenaspora valbyensis* koeëlvormig. Verder gee Lindner duidelik aan dat by die spruitswamme wat hy ondersoek het, het daar altyd net een spoor, en nie twee soos by die *Hansenaspora* nie, in 'n ascus ontstaan.

Klöcker (1912, b. 375) het hierop by verskeie rasse van *Saccharomyces apiculatus* verdere vrugtelose poginge aangewend om hul te laat spore vorm. Hy het dus ook tot die gevolgtrekking gekom dat die toegespitste giste sporogene en asporogene vorme insluit. Omdat egter die naam *Hansenia* weens prioriteits regte nie meer aan hierdie swamme gegee kon word nie, het hy vir die asporogene vorme die geslagsnaam *Pseudo-*

saccharomyces voorgestel. Die sporogene vorme het hy in die geslag *Hanseniaspora* klassifiseer.

Will (1916a,b.289) het die beide spesies van toegespitste giste, wat deur hom ondersoek was onder die naam *Pseudosaccharomyces* beskrywe. Nog in dieselfde jaar (1916b,b.247) meld hy egter dat hierdie asporogene giste soveel ooreenkoms het met die verteenwoordigers van die geslag *Eutorula*, wat deur hom opgestel was, dat hul onder hierdie geslag klassifiseer moet word.

'n Paar jaar hierna het Janke (1923,b.310) daarop gewys dat die naam *Pseudosaccharomyces* in die jaar 1906 deur Briosi en Farneti aan 'n ander geslag van swamme gegee was. Weens prioriteits regte kon die naam soos deur Klöcker voorgestel nie behou word nie. Om hierdie moeilikhede uit die weg te ruim en om alle verdere verwarrings te voorkom het hy die naam Klöckeria vir al die asporogene toegespitste giste voorgestel. Later (1928) het genoemde swamkundige hierdie naam na Kloeckera verander.

Volgens Kufferath (1929,bb.231 en 234) moet die apiculatus giste as spoorvormende spruitswamme beskou word. Hy onderskei volgens die getal spore wat in 'n ascus ontstaan, twee geslagte. Die vorme met net een spoor per ascus klassifiseer hy onder die geslag *Pseudosaccharomyces Klöcker*, die met twee spore per ascus onder die geslag *Hanseniaspora*.

Die nuutste omskrywing van hierdie genus wat deur Stelling-Dekker (1931,b.484) gegee is, is ook nie helemal duidelik nie. Maar ok sy reken tot die genus *Hanseniaspora* net giste met hoedvormige spore (sien bls. 489, "Sporen anfangs kugelig später hutförmig, was aber nicht immer deutlich ist".).

Die ontwikkeling van hierdie spruitswamme se sistematiek kan skematies as volg gegee word:-

1870. Reess: *Saccharomyces apiculatus*, voorlopig asporogeen behoort tot die groep van die ascomycete.

1872. Engel: *Carpozyma apiculatum*.

1881. Hansen: *Saccharomyces apiculatus*, voorlopig asporogeen.
1893. van Laer: Geslag *Pseudosaccharomyces*.
1894. Beijerinck: Ontdek die spoorvorming by toegespitste giste.
1905. Lindner: Geslag *Hansenia*, famielie *Saccharomycetaceae*.
1908. Kohl: Geslag *Hansenia*, famielie *Saccharomycetaceae*.
1909. Will: Spoorvormende vorme = geslag *Hansenia*, behoort tot die twyfelagtige *Saccharomycete*, wat 'n na verwandskap met die geslag *Saccharomyces* het.
Die asporogene vorme behoort tot die eerste groep van die *Torulaceë*.
1911. Zikes: Sporogene vorme = geslag *Hanseniaspora* (sin. *Hansenia* Lindner, famielie *Saccharomycetaceae*.
Asporogene vorme = *Hansenia* Zikes.
1912. Guilliermond: Al die toegespitste giste behoort tot die geslag *Hansenia* Lindner, famielie *Saccharomycetaceae*.
1913. Klöcker: Asporogene vorme = geslag *Pseudosaccharomyces*, famielie *Torulaceae*.
Sporogene vorme = Geslag *Hansenia* Zikes, famielie *Saccharomycetaceae*.
1916. Will: Asporogene vorme = geslag *Eutorula* Will, famielie *Torulaceae*.
1923. Janke: Asporogene vorme = geslag *Klöckeria*, famielie *Hyalosporae*.
1928. Janke: Asporogene vorme = geslag *Kloeckera*, famielie *Hyalosporae*.
1929. Kufferath: Vind by verskeie rasse van die geslag *Pseudosaccharomyces* Klöcker' (*Kloeckera* Janke) 'n geringe mate van spoorvorming.
Een spoor per ascus = *Pseudosaccharomyces* Klöcker.
Twee spore per ascus = *Hanseniaspora* Zikes.

Deur die voorgaande ondersoekinge is dit duidelik bewys geword, dat daar talryke rasse van toegespitste giste voorkom, wat daartoe in staat is om ascospore te vorm. Ek kon nie alleen die aanwesigheid van selkerne in die spore bewys nie, maar was ook daartoe in staat om by honderde van spore die

ontkieming mikroskopies te vervolg. Hierdie giste behoort dus sonder enige twyfel tot die famielie Saccharomycetaceae.

Die sitroenvormige giste kan egter onder geen van die reeds bestaande geslagte van hierdie famielie klasifiseer word nie. Dit is wel waar, dat hul wat die vorm van die promycelium aanbetref 'n sekere mate van ooreenkoms met die geslag Saccharomycodes Hansen aantoon. By genoemde geslag versmelt egter twee tot drie spore met mekaar gedurende die eerste stadla van hul ontkieming, en vorm dan 'n gemeenskaplike promycelium. Hier kom daar by die ontkieming dus 'n oorblyfsel van 'n seksuele paaring voor, wat ek by die giste, wat deur my ondersoek was, nooit aangetref het nie. Ook tot die geslag Hanseniaspora kan hul nie gereken word nie. Hiervoor wyk hul te sterk af wat betref die vorm van hul spore en die manier waarop die spore ontkiem.

Die opstelling van 'n nuwe geslag onder die famelië Saccharomycetaceae is dus onvermydelik. Hiervoor stel ek die naam Kloeckeraspora voor. Hierdie nuwe geslag stem baie nou ooreen met die geslag Kloeckera Janke. Die enigste verskil is dat die verteenwoordigers van die geslag Kloeckeraspora ascospore vorm, terwyl dit by die geslag Kloeckera Janke nie gebeur nie. Die verhouding tussen hierdie twee geslagte is analoog tot die tussen die geslagte Saccharomyces en Torulopsis. Volgens die gegewens van Kufferath behoort die spesies Kloeckera apiculata waarskynlik tot hierdie geslag.

By al die proewe het dit immer weer geblyk dat ras 1 sterk van die ander rasse verskil. Hierdie verskille is so groot dat genoemde ras nie in een spesies met die ander klassifiseer kan word nie. Omdat ras 1 hom besonder sterk deur sy ongevoeligheid teenoor hoë suikerkonsentrasies onderskei, stel ek die naam Kloeckeraspora osmophila vir hom voor. Die ander rasse stem vrywel sterk met mekaar ooreen. Ek klassifiseer hul dus almal in een spesies met die naam Kloeckeraspora uvarum.

Geslag Kloeckeraspora nov.gen. Fam. Saccharomycetaceae - Saccharomycetales - Protoascales - Ascomycetes. Spruitselle òf sitroenvorming weens toespitsinge aan die beide pole òf ellipsoïed. Die ronde of kort ellipsoïede spore ontstaan enkel, net by wyse van uitsondering tot twee, in die asci. By die ontkieming ontstaan eers 'n promycelium. Op vloeistowwe ontwikkel die kim baie swak.

Kloeckeraspora osmophila nov.spe. (ras 1).

Die toegespitste selle kort en dik, 10.5 tot 11 X 4 tot 4.5 μ . Die ander kort ellipsoïed. In druiwemos, mout en ander gisbare vloeistowwe ontstaan na verloop van enige dae 'n vaste slymerige afsaksel.

Kim-en ringvorming by 25°C:

Op druiwemos het na verloop van 8 weke nog geen kim ontstaan nie, net 'n swak ontwikkelde ring. Op mout kom na 8 weke verskeie klein, van mekaar isoleerde kimeilandjies voor. Die ring is effens sterker ontwikkel. Op gisekstrak en gisekstrak waartoe asynsuur geveog was, ontwikkel na 13 weke nog geen kim nie. Die selle in die kimeilandjies is ellipsoïed of toegespits met daartussen baie, groot en vertakte spruitverbande wat uit lang silindervormige selle bestaan.

Eensel-kolonieë in mout-gelatien:

Moerbei-têpe.

Reusekolonieë:

Na 6 weke by 25°C op druiwemos-gelatien veel kleiner as op mout-gelatien, 1.2 cm. in deursnit. Die sentrale diep ingesink, met 'n sterk ontwikkelde wal daarom heen. Die oppervlakte dof, deur radiale plooië in verskeie smal sektore opgedeel. Hierdie sektore gaan naby die kant in klein lappe oor. Duidelike konsentriese ringe op die oppervlakte te sien. Die omgrensing van die kolonieë taamlik reëlmatig, met klein vlak inhamme. Onder die sentrale deel taamlik veel uitgroeisels in die gelatien. Selvorm baie verskillend, lang- en kort-ellipsoïed, los van mekaar of in klein verbande, draadvormig en rond, in die uitgroeisels meesal lang silindervormig.

Na 6 weke by 25°C op mout-gelatien 3.2 cm. in deursnit.

Taamlik gelyk sonder 'n sentrale deel en wal. Bestaan uit verskeie groot sektore, wat aan die rant in kleinere lappe opgedeel is. Die rant is onreëlmatig en grof getand. Die oppervlakte is droog en dof. Die uitgroeisels aan die onderkant is onreëlmatig versprei. Die gelatien nog nie vloeibaar nie. Die selvorme soos op druiwemos-gelatien.

Steek-kulture in mout-gelatien:

In die boonste gedeeltes is die ontwikkeling sterk, laer af swakker. Vanaf 3.5 cm. onder die oppervlakte geen ontwikkeling meer nie. Die selle lang en silindervormig.

Optimale temperatuur vir die spoorvorming op gipsblokkies:

In die nabyheid van 25°C.

Hierdie spesies gis glukose, fruktose en mannose.

In druiwemos met 115 g/l suiker ontstaan 45 g/l alkohol. In 'n gisekstrak met 624.5 g/l suiker word nog 'n geringe gisting veroorsaak. In 'n ekstrak met 600 g/l suiker word na 52 dae 39 g/l alkohol gevorm.

Assimilasie van organiese sure:

Asynsuur word in 'n geringe mate assimileer. Wynsteë-, appel-, barnsteen-, sitroen- en melksuur geheel en al nie.

Die weerstandsvermoë teenoor organiese sure in gisekstrak:

Die ontwikkeling kan nog in aanwesigheid van 65.0 g/l appelsuur, 28.5 g/l wynsteënsuur, 53.6 g/l sitroënsuur en 5.9 g/l asynsuur plaasvind.

Geveeligheid teenoor ethyl alkohol:

In druiwemos kan die vermeerdering nog by 59.7 g/l alkohol plaasvind. In gisekstrak by 50.3 g/l ethyl alkohol maar nie by 56.9 g/l nie.

Die maksimale temperatuur vir die ontwikkeling in druiwemos en gisekstrak lê tussen 34.5 en 35.5°C.

Die dodende temperatuur by 'n verwarming van 30 minute is in druiwemos tussen 46°C en 48°C, in distilleerde water by 46°C.

Kloeckeraspora uvarum nov. spe. (Rasse 8, 10, 52, 71, 73, 78, 82, 85, 99, 100, 110, 115, 127, 136, 149 en 154).

Groep A. Die vorm van die toegespitste selle is kort en dik en die toespitsing kort. Die lengte van die toegespitste selle variëer tussen 6 en 8 μ en die dikte tussen 3 en 4.5 μ . Rasse 8,52,71,73,82,85,99,100,110,115,127,136 en 149.

Groep B. Die vorm van die toegespitste en ellipsoïede selle meer langerig en skraal. Lengte van die toegespitste selle 12 tot 15 μ , en die dikte 3 tot 3.5 μ . Rasse 10,78 en 154.

Beide groepe het die volgende eienskappe in gemeen:-

Die gis-afsaksel is los, stofferig of effens meer krummelrig.

Kim- en ringvorming by 25°C:

Op druiwemos na 12 weke groot, van mekaar geïsoleerde kimeilande met 'n grou-wit kleur en droë oppervlakte. Die ringvorming tree in 'n geringe mate te voorskyn. Die selle uit die kimme is ellipsoïed of kort- of lank toegespits. Ook veel lang silindervormige selle aanwesig, maar geen spruitverbande nie.

Op Biermout na 12 weke: Die kim baie swak ontwikkel net uitermate klein kimeilandjies aanwesig. Die selvorm net soos op druiwemos, egter geen silindervormige selle aanwesig nie.

Op gisekstrak en gisekstrak waartoe asynsuur toegevoeg was: Na 13 weke is die kimme nog heel dun, maar bedek die hele oppervlakte. Kleur grou-wit. Oppervlakte droog. Die selvorm meesal ellipsoïed en sitroenvormig. Vertakte selverbande wat uit ellipsoïede selle bestaan aanwesig. Kroonvorming § sien bls. 65) kom ook voor.

Eensel-kolonieë in mout-gelatien:

Moerbei-tiepe.

Reusekolonieë na 6 weke by 25°C:

Druiwemos-gelatien word baie gou vloeibaar gemaak.

Op mout-gelatien het die kolonieë 'n baie eenvoudige voorkome. Hul groei feitelik nie in die gelatien nie, maar brei hul aan die oppervlakte daarvan uit. Die uitgroeisels aan die onderkant is baie swak ontwikkel. Die omgrensing van die kolonieë taamlik reëlmatig. Die rant min of meer sterk getand.

Steekulture in mout-gelatien:

Bo in die steek-kanaal is die ontwikkeling sterk. Na onder meer en meer swak totdat op 'n diepte van 3.5 cm. geen ontwikkeling meer te sien is nie. Selvorm ellipsoïed of toegespits.

Die optimale temperatuur vir die spoorvorming op gipsblakkies: In die nabyheid van 25°C.

Die verskillende rasse van hierdie spesies gis glukose, fruktose en mannose.

In druiwemos met 115 g/l suiker ontstaan 5 tot 14.6 g/l alkohol. In gisekstrak met 624.6g/l suiker kan net nog 'n baie swak ontwikkeling plaasvind maar geen gisting meer nie. In gisekstrak met 505.3 g/l suiker kan tot 27.5 g/l alkohol gevorm word.

Assimilasie van organiese sure:

In gisekstrak word asynsuur sterk assimileer. Wynsteen-, appel-, barnsteen-, sitroen- en melksuur geheel en al nie.

Weerstandvermoë teenoor organiese sure:

In gisekstrak is daar nog 'n ontwikkeling by 46.0 tot 35.5 g/l wynsteensuur, 92.0 tot 65.2 g/l appelsuur, 61.1 g/l sitroensuur en 5.9 g/l asynsuur.

Weerstandvermoë teenoor ethyl alkohol:

In gisekstrak nog 'n swak ontwikkeling by konsentrasies van 37.8 g/l tot 40.8 g/l ethyl alkohol. In druiwemos by 30.3 g/l alkohol maar nie meer by 36.6 g/l nie.

Die maksimale temperatuursgrens vir die ontwikkeling:

In druiwemos en gisekstrak tussen 35.5 en 36.5°C.

Die dodende temperatuur by verwarming van 30 minute:

In druiwemos tussen 44 en 46°C.

In distilleerde water tussen 46 en 48°C, by ras 136 in die nabyheid van 52°C.

Opsomming.

In Europeese wynlande kom die apiculatus giste op ryp druiwekorrels baie algemeen voor. Ook op ryp vrugte soos appels, pere en pruime is hul dikwels aanwesig. In grondmonsters wat gedurende die winter in Suid-Afrikaanse wingerde geneem was, kon hul teenwoordigheid ook bewys word. Op druiwe wat nog nie goed ryp is nie, word hul daarteen byna nooit aangetref nie.

79 Uit die 81 rasse wat deur my ondersoek was, kon op gipsblokkies by 25°C ascospore vorm. Een ras (13) wou onder geen omstandighede hiertoe oorgaan nie, 'n ander (*K. osmophila*) was hiertoe net op alkaliese mout-agar in staat. Omtrent altyd ontstaan net een spoor in 'n ascus. In wenige uitsonderlike gevalle kan ook twee spore voorkom. Die spore is rond tot kort ellipsoïed, en het by *K. osmophila* 'n deursnit van 3 tot 3.5 μ en by *K. uvarum* 'n deursnit van 2.5 tot 3.2 μ . Gedurende die eerste ontkiemingsstadia ontstaan uit die spore 'n promycelium. Die dogterselle wat aan die einde hiervan deur spruiting ontstaan is altyd ellipsoïed. Alle rasse verloor die eienskap om spore te kan vorm baie gou. Omdat die ondersoekte toegespitste giste ascospore vorm, moet hul tot die familie Saccharomycetaceae gereken word. Weens verskillende redes kan hul nie onder een van die bestaande geslagte van genoemde famielie klassifiseer word nie. Daar word derhalwe voorgestel om die eensporige toegespitste giste in 'n nuwe geslag *Kloeckeraspora* te groepeer. Twee nuwe spesies *K. osmophila* en *K. uvarum* word beskrywe (sien blss, 90 tot 93).

Morfologies besit hierdie giste geen besondere kenmerkende eienskappe nie. By die proewe in druiwemos het dit geblyk dat die jongste selle in die eerste instansie ellipsoïed is, en dat daardie ellipsoïede selle eers nadat hul verskeie male gespruit het, die tiepiese "sitroenvorm" aanneem.

Al die rasse wat ondersoek was, kon slegs 'n betreklike swak gisting veroorsaak. Indien gedurende die gisting lug toegevoer word, word die gistingsenergie en die gisvermoë verhoog.

Gedurende die gisting ontstaan relatief veel vlugtige sure. Die hoeveelheid van vlugtige sure wat ontstaan neem toe namate die suikergehalte van die vloeistof wat gegis word, styg. By *K. uvarum* verhoog die toevoer van lug gedurende die gisting die hoeveelheid van vlugtige sure wat ontstaan. By *K. osmophila* is die geval omgekeerd. Oplossinge van glukose en fruktose word ewe sterk gegis en lewer dieselfde gistingsprodukte. Gedurende die gisting ontstaan by beide spesies baie onaangename boeketstowwe in die mos.

In gisekstrak verdra beide spesies hoër konsentrasies van etyl alkohol as in druiwemos. *K. Osmophila* is heelwat meer ongevoelig teenoor swawel-dioksied as die verskillende rasse van *K. uvarum*. Nie alleen die vrye nie, maar ook die gebonde swawel-dioksied het 'n antiseptiese uitwerking op die ontwikkeling van hierdie organismes.

Deur beide die spesies word gelatien taamlik gou vloëibaar gemaak. Met glukose-gelatien gebeur dit eerder as met saccharose- of maltose-gelatien. By *K. uvarum* is die optimale reaksie vir hierdie proses suur, by *K. osmophila* alkalies.

AANHANGSEL.Die rol van die apiculatus giste in die
praktyk.

Soos uit die voorgaande ondersoekinge blyk, kom die toegespitste giste nie alleen op vrugte soos pere, appels ens. voor nie, maar ook op ryp druiwe is hul baie wyd verbrei. Dit is dus sonder enige twyfel dat hul saam met die ander gisting veroorsakende kieme wat op die druiwe aanwesig kan wees, in die mos te lande kom. Soms gebeur dit dat die toegespitste giste op die druiwe, en dus gedurende die eerste gistingsstadia, in verhouding tot die gewenste wyngiste feitelik die oorhand het. So het ek b.v. die geval gevind by druiwemonsters uit Spanje. Toe genoemde monsters in die laboratorium aangekom het, was weens 'n onsoorgvuldige verpakking die korrels gekneus en die mos sterk aan die gis. By 'n mikroskopiese ondersoek het dit geblyk dat net apiculatus giste aanwesig was. Hier en daar was 'n egte wyngis te bespeur.

Hierdie toestand van sake is egter nie so gevaarlik soos dit mag voorkom nie. Soos uit die proewe blyk, is die twee grootste nadele, wat aan die ontwikkeling van die apiculatus giste in 'n mos verbonde is (1) Die ontstaan van 'n relatiewe groot hoeveelheid vlugtige sure en (2) Die ontstaan van 'n baie onaangename boeket in die mos. Hierdie wlaglike reuk en smaak tree later in die wyn ook baie skerp op die voorgrond.

Volgens hierdie ondersoekinge kan die apiculatus giste in druiwemos, waartoe gedurende die gisting geen lug toegevoer word nie, 'n maximum van 0.6 g/l vlugtige sure laat ontstaan. Word lug toegevoer, dan kan hierdie hoeveelheid tot op 0.95 pro mille styg. Dit moet egter in ag geneem word, dat die toestand van sake so is alleen waneer die apiculatus giste aan hulself oorgelaat word. In die proewe was, daar geen sterker gistende, konkureerende giste, soos by die spontane gisting, aanwesig nie. Dit is feitelik seker dat in die prak-

tyk die ontwikkelings-kondiesies vir die apiculatus giste nooit so gunstig is nie. Daar bestaan verskeie maniere, natuurlike (biologiese) en antiseptiese, waarop hul ontwikkeling gedurende die gisting tot op 'n minimum gebring kan word.

Gedurende die eerste gistingsstadia het die apiculatus giste wel die oorhand. Daar hul in die natuur altyd van giste met 'n sterker gistingsenergie en 'n hoer gisvermoë as hul self vergesel is, word hul vroeër of later verdring. Wanneer dit geskied hang van die omstandighede af. In die kouere wynlande waar die mos by taamlike lae temperature in die giskuip kom, kan hul vermeerdering veel vinniger as die van die egte wyngiste plaasvind. Hier lei hul dan ook meesal, soos deur ondersoekinge van Worthmann, Müller-Thurgau en ander aange-
toon was, die gisting in. Gedurende die eerste paar dae nadat die wyngiste aktief begin optree het, het hul nog altyd die oorhand en kan die kwaliteit van die toekomstige wyn heelwat benadeel. Hierop volg 'n periode wanneer die gistinge deur die apiculatus giste en die egte wyngiste veroorsaak, omtrent ewe sterk is. Gedurende hierdie tydperk kan die apiculatus giste nog steeds hul ongewenste fisiologiese prosesse voortsit. Dit is heel onwaarskynlik dat die stofwisselprodukte van die apiculatus giste daartoe in staat is om die ontwikkeling van die gewenste wyngiste te vertraag of te verhinder. Die hoeveelheid alkohol wat hul laat ontstaan is veels te laag hiertoe, en ook die vlugtige sure het by dergelyke konsentrasies nie so 'n sterk uitwerking nie. Tog het dit uit proewe van Müller-Thurgau geblyk dat die ontwikkeling van die wyngiste deur aanwesigheid van apiculatus giste vertraag kan word. Hoe dit geskied is nog nie 'n uitgemaakte saak nie.

'n Ander faktor wat die ontwikkeling van hierdie giste sterk bevorder is die feit dat in koue wynlande elke giskuip feitelik net een maal gedurende 'n parstyd gebruik word. In elke giskuip moet die gisting dus reg van voor af aanvang. Nadat 'n giskuip eers met die gewenste wyngiste inge-

ent is, word nie meer gebruik nie.

In warmerenwynlande soos b.v. Suid-Afrika is die geval heelwat anders. Hier kom een giskuip verskillende male gedurende dieselfde parstyd in gebruik. Al hoewel dus die apiculatus giste gedurende die eerste gisting tot 'n taamlike ontwikkeling mag kom, is dit by alle volgende gistinge uitgesluit. Die kuip is hiervoor te sterk met giste wat 'n hoër alkohol-konsentrasie kan verdra, ingeënt. Die gisting word dus deur laasgenoemde giste ingelei. Wens die hoër temperature spruit die egte wyngiste ook heelwat vinniger. Die apiculatus giste word dus nooit so lank aan hulself oorgelaat nie.

'n Ander manier om o.a. ook die ontwikkeling van hierdie organismes te onderdruk, is die gisting "oor vier" soos deur Sémichon ingevoer. Deur die alkohol gehalte van die mos tot op 4 vol.% te bring. Word van die begin af verhoed dat die apiculatus giste hul sal vermeerder. Soos uit hierdie proewe blyk, is daar baie min apiculatus giste wat by so 'n alkohol konsentrasie in mos nog kan spruit. Selfs by die rasse waar dit wel moontlik is, sal die spruiting so stadig plaasvind, dat dit van byna geen praktiese belang sal wees nie. Die enigste nadeel aan hierdie metode verbonde, is dat dit die maak van wyne met 'n lae alkoholgehalte uit berhoorlike ryp druiwe in warm lande, nog heelwat onmoontliker maak.

Verder is die apiculatus giste veel meer gevoelig teenoor swawel-dioksied as die egte wyngiste. Reeds by 'n gehalte van 174 mg/l toetale swawel-dioksied word in mos die ontwikkeling van die ongevoeligste onder hul heelwat vertraag. *K. osmophila* kan by hierdie gehalte aan swawel-dioksied 'n mos eers na verloop van 20 dae laat gis. Deur dus, soos in Suid-Afrika algemeen aanbeveel word, 6 tot 8 onse kalium-metabisulfiëet per lêer mos of ton druiwe (= 147 tot 196 mg/l swawel-dioksied) tot die mos voor die gisting begin, te voeg, is die ontwikkeling van hierdie giste helemal uitgeskakel.

Uit hierdie paar opmerkinge blyk dit, dat al hoewel die

apiculatus giste in groot getalle op druiwe aanwesig kan wees en in die mos te lande mag kom, kan hul weens hul swak gistingsenergie en hul lae gisvermoë nooit enige noemenswaardige skade aanrig nie. In die koue Europese wynlande is dit nog onder uitsonderlike kondiesies moontlik, maar in warmere wynlande en waar gedurende en voor die intree van die gisting genoegsame hoeveelhede van swawel-dioksied gebruik word, bestaan daar geen gevaar weens hierdie organismes nie.

.....0.....

BIBLIOGRAFIE.

- Amthor, C. (1888a) Studien über reine Hefen. Zeitschr.f. physiol.Chem., Bd.12, 1888, b.68.
(1888b) Über den Saccharomyces apiculatus. dieselfde, b.558.
- Behrens, W. (1898) Tabellen zum Gebrauch bei mikroskopischen Arbeiten. 3^{ed.}, Leipzig 1898, b.65.
- Beijerinck, M.W. (1898) Über Regeneration der Sporenbildung bei Alkoholhefen wo diese Funktion im Verschwinden begriffen ist. Centrbl.f.Bakt., II, Bd.4, 1898, bb. 657 en 721.
(1921) L'Auxanographie. Verzamelde geschriften van M.W.Beijerinck, dl.II, Delft 1921, b.190.
Proteolytische Erscheinungen bei Alkoholhefen. dieselfde, dl.III, b.266.
- Dernby, K.G. (1917) Studien über die proteolytischen Enzyme der Hefe und ihre Beziehung zu der Autolyse. Biochem. Zeitschr.Bd.81, 1917, b.107.
- Engel, E. (1872a) Etude morphologique des diverses espèces de levûres alcooliques. Compt.rend.de l'Acad.de Paris., Bd.74, 1872, b.468.
(1872b) Les ferments alcooliques, etudes morphologiques. Paris 1872.
- Fischer, EN und Thierfelder, H. (1894) Verhalten der verschiedenenem Zucker gegen reine Hefen. Ber.d.Deutsch.Chem. Ges.Bd.2, 1894, b.2031.
- Guilliermond, A. (1912) Les Levûres, Paris 1912.
- Hansen, E.C. (1904) Grundlinien zur Systematik der Saccharomyseten. Centrbl.f.Bakt., II, Bd.12.1904, b.529.
(1911) Gesammelte theoretische Abhandlungen über Gärungsorganismen. Jens 1911.
- Janke, A. (1923) Zur Nomenklatur der "Saccharomyces apiculatus"-Formen. Centrbl.f. Bakt., II, Bd.59, 1923, b.310.
(1928) Dieselfde, Bd.76, 1928, b.161.
- Janke, A und Holzer, H. (1930) Probleme des Stickstoffkreis-

- laufes. 2 Mitt., Biochem. Zeitschr., Bd. 266, 1930, b. 234.
- Kerp, W. (1904) Über die schweflige Säure in Wein. 2 Abh., Separatdruck uit die Berichten d. Kaiserlichen Gesundheitsamtes, Bd. 21, Heft 2, 1904, b. 18.
- Klöcker, A. (1910) Invertin und Sporenbildung bei *Saccharomyces apiculatus*-Formen. Centrbl. f. Bakt., II, Bd. 26, 1910, b. 513.
- (1912) Beschreibungen von 17 *Saccharomyces apiculatus*-Formen. Centrbl. f. Bakt., II, Bd. 35, 1912, b. 375.
- (1913) Reserches sur 17 Formes du *Saccharomyces apiculatus*". Compt. rend. des trav. du Labor. de Carlsberg, vol. 10, 1913, b.
- (1915) Chronologische Zusammenstellung der Arbeiten über *Saccharomyces apiculatus* von 1870 bis 1912. Centrbl. f. Bakt., II, Bd. 43, 1915, b. 369.
- (1924) Die Gärungsorganismen. ed. 3, Berlin 1924.
- Kohol, F. G. (1908) Die Hefepilze, Leipzig 1908.
- Korff, G. (1898) Einfluss des Sauerstoffs auf Gärung, Gärungsenergie und Vermehrungsvermögen verschiedener Heferassen unter verschiedenen Ernährungsbedingungen. Centrbl. f. Bakt., II, Bd. 4, 1898, b. 465, 501, 529, 561 en 616.
- Kroemer, K. und Krumbholz, G. (1931) Untersuchungen über osmophile Sprosspilze. Mitt., Archiv f. Mikrobiol., Bd. 2, 1931, b. 352.
- Krumbholz, G. (1931) Dieselde. 2 Mitt. b. 411.
- Kufferath, H. (1928-29) A propos des spores du *Pseudosaccharomyces apiculatus* (Rees-Hansen) Klöcker. Ann. de la Brasserie et de la Distillerie. T. 27, 1928-29, bb. 177, 194, 210 en 231.
- Lindner, P. (1900) Gärversuche mit verschiedenen Hefen und Zuckerarten. Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 17, 1900, b. 713.
- (1901) Mikroskopische und biologische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 3 ed., Berlin

1901.

(1903) Sporenbildung bei *Saccharomyces apiculatus*.
Wochenschr.f.Brauerei.Bd.20,1903,b.505.

(1904) Neue Erfahrungen aus dem letzten Jahre in
Bezug auf Hefe und Gärung. Jahresb.d.Versuchs- und
Lehranst.f.Brauerei in Berlin.Bd.7,1904,b.441.

(1930) Mikroskopische und biologische Betriebskon-
trolle in den Gärungsgewerben. ed.6,Berlin 1930.

Meissner,R. (1901) Anleitung zur mikroskopischen Untersuch-
ung und Reinzuchtung der am häufigsten in Most und
Wein vorkommenden Pilze.Stuttgart 1901.

(1920) Technische Betriebskontrolle im Weinfach.
Stuttgart 1920.

Müller-Thurgau,H.(1898) Einfluss der schwefligen Säure auf
die Gärung. Jahresb.d.Schweiz.Versuchsanst.in
Wädenswil.1898,b.56.

(1899) Einfluss der zugespitzten Hefen auf die
Gärung der Obst- und Traubenweine. Dieselfde,1899,
b.51.

(1907) *Saccharomyces apiculatus* in Lafar,Hand-
buch der technischen Mikologie.Bd.4,Jena 1907,b.315.

Müller-Thurgau,H.und Osterwalder,A.(1914) Einfluss der
schwefligen Säure auf die durch Hefen und Bakterien
verursachten Gärungsvorgänge im Wein und Obstwein.
Landwirtschaft. Jahresber. d.Schweiz. 1914,
b.480.

Oppenheimer,C.(1926) Die Fermente und ihre Wirkungen. ed,5,
Leipzig 1926.

Osterwalder,A.(1926) Die Zersetzung von Äpfelsäure durch
verschiedene aus Obst- und Traubenweine gewonnene
Saccharomyces Arten und Rassen. Centrbl.f.Bakt.,
II,Bd.67,1926,b.289.

Pasteur,L.(1876) Etudes sur la bière. Paris 1876,b.148.

Reess,M. (1870) Botanische Untersuchungen über die Alkohol-
gärpilze. Leipzig,1870.

- Ripper, M. und Wohack, F. (1917) Die Mikroanalyse des Weines. Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in, Österreich, Bd. 20, 1917, b. 102.
- Röhling, A. (1905) Morphologische und physiologische Untersuchungen über einige Rassen der *Saccharomyces apiculatus*. Dissertation Erlangen, 1905.
- Rost, E. und Franz, F. (1904) Die schweflige Säure und ihre Verbindungen mit Aldehyden und Ketonen. Separatdruck mit die Berichten d. Kaiserlichen Gesundheitsamtes. Bd. 21, Heft 2, 1904, b. 172.
- Schukow, E. (1896) Über den Säureverbrauch der Hefen. Centrbl. f. Bakt., II, Bd. 2, 1896, b. 601.
- Seiss, C. (1907) Einfluss der im Most gelösten Luft, des Wasserstoffs und der Kohlensäure auf Wachstum und Gärtätigkeit von *Sacc. ellipsoideus* und *Sacc. apiculatus*. Ber. d. Kgl. Lehranst. zu Geisenheim, 1907, b. 381.
- Sémichon, L. (1926) Action d'alcool sur les microorganismes des raisins. Revue de Vit. Bd. 65, 1926, b. 601.
- Stelling-Dekker, N.M. (1931) Beiträge zu einer Monographie der Hefearten. dl. 1, Die sporögen Hefen. Amsterdam 1931, b. 484.
- Tischler, G. (1921-22) Handbuch der Pflanzenanatomie. Bd. 2, Allgemeine Pflanzenkaryologie. Berlin 1921-22.
- von der Heide, R. (1907) Über die Bildung abnormer Mengen flüchtiger Säuren durch Hefen in Zuckerreichen vergorenen Mosten. Ber. d. Kgl. Lehranst. zu Geisenheim, 1907, b. 254.
- von der Heide, C. und Schmitthenner, F. (1922) Der Wein. Braunschweig, 1922.
- van Laer, H. (1893) Rapports de l'oxygène avec la levure. Bull. d. l'assoc. belge d. Chemists, 1893-94, b. 100.
- von Lippmann, E.O. (1895) Chemie der Zuckerarten. ed. 2, Braunschweig 1895.
- Will, H. (1901) Studien über die Proteolyse der Hefen. Centrbl. f. Bakt., II, Bd. 7, 1901, b. 794.

(1909) Anleitung zur biologischen Untersuchung und Begutachtung von Bierwürze, Bierhefe, Bier und Brauwasser, zur Betriebskontrolle sowie zur Hefereinzucht. München und Berlin, 1909.

(1916a) Vergleichende morphologische und physiologische Untersuchungen an vier Kulturen der Gattung *Pseudosaccharomyces* Kloecker. *Centrbl.f.Bakt.*, II, Bd.44, 1916, b.223.

(1916b) Beiträge zur Kenntnis der Sprosspilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. *Dieselfde*, Bd.46, 1916, b.247.

(1922) Die Grenztemperaturen für die Vermehrungs- und Lebensfähigkeit der *Saccharomyceten* und die bei diesen auftretenden Zellgrößen als diagnostisches Merkmal. *Dieselfde*, Bd.55, 1922, b.465.

Windisch, K. (1926) In Röttgers *Nahrungsmittelchemie*. ed.5, Leipzig 1926, b.2033.

Zikes, H. (1911) Zur Nomenklaturfrage der Apiculatushefen. *Centrbl.f.Bakt.*, II, Bd.30, 1911, b.144.

Zopf, W. (1883) Zur Kenntnis der anatomischen Anpassung der Sporementleerung. *Zeitschr.f.Naturw.*, Bd.56, 1883, b.539.

Verduideliking van die afbeeldinge in tafel II.

Reusekolonies by 20°C.

Vergr. 5 X.

- A. ras 1 op mos-gelatien na 42 dae.
- B. ras 1 op mout-gelatien na 42 dae.
- C. ras 73 op mout-gelatien na 28 dae.
- D. ras 10 op mout-gelatien na 42 dae.
- E. ras 82 op mout-gelatien na 28 dae.
- F. ras 85 op mout-gelatien na 28 dae.

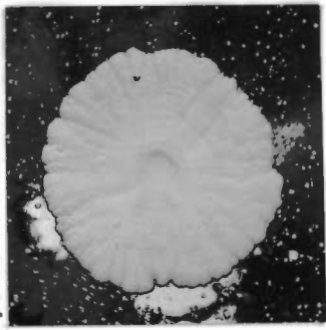
Verduideliking van die afbeeldinge in tafel III.

Reusekolonies by 20°C.

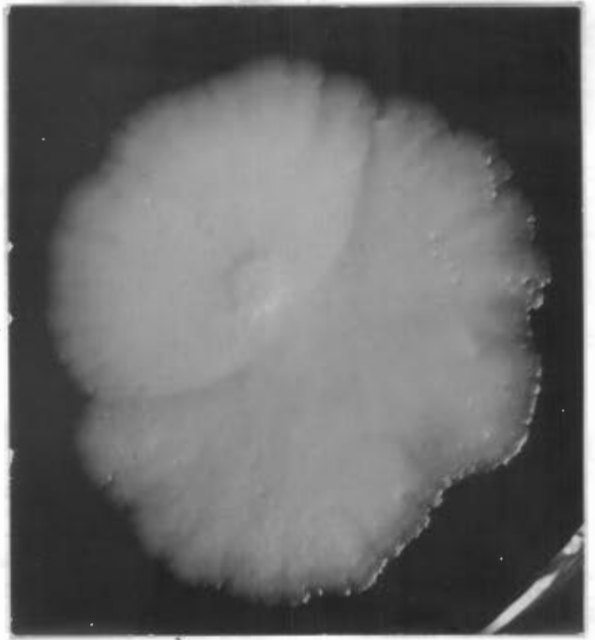
Vergr. 5 X.

- A. ras 127 op mout-gelatien na 42 dae.
- B. ras 136 op mout-gelatien na 28 dae.
- C. ras 115 op mout-gelatien na 28 dae.
- D. ras 78 op mout-gelatien na 21 dae.

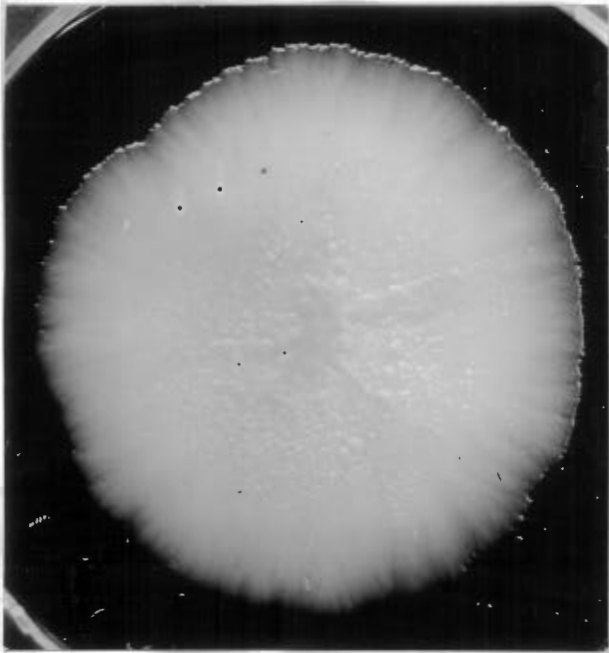
Tafel II.



A



B



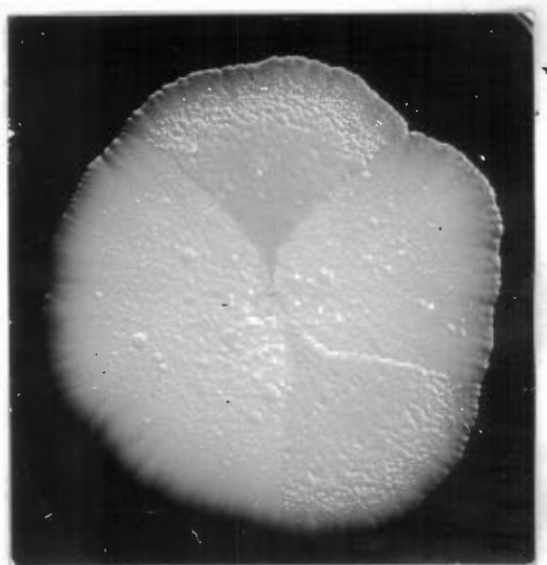
C



D

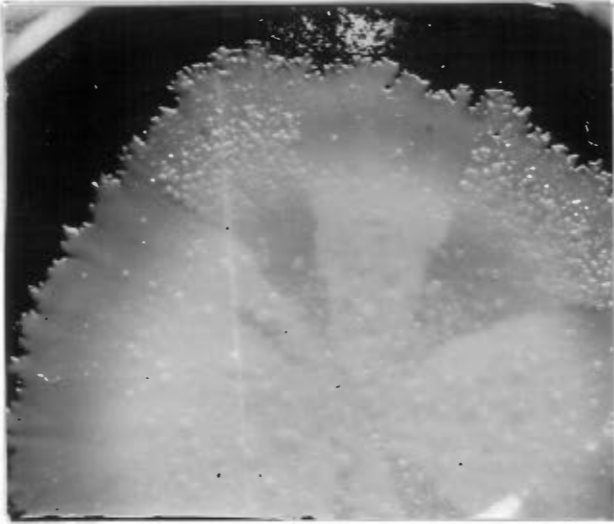


E

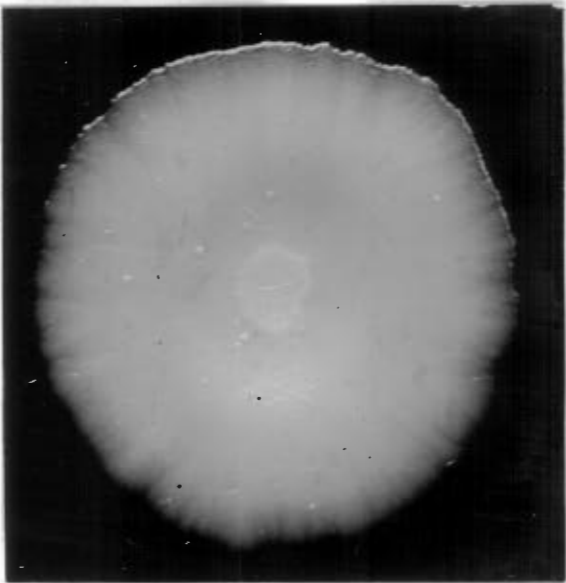


F

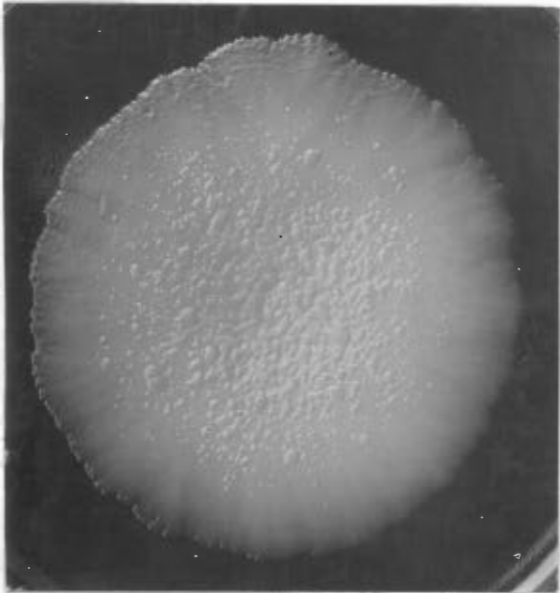
Tafel III.



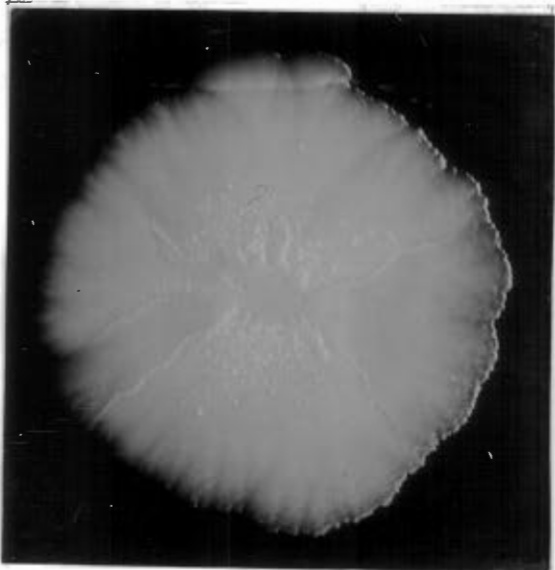
A



B



C



D

Verduideliking van die afbeeldinge in tafel I.

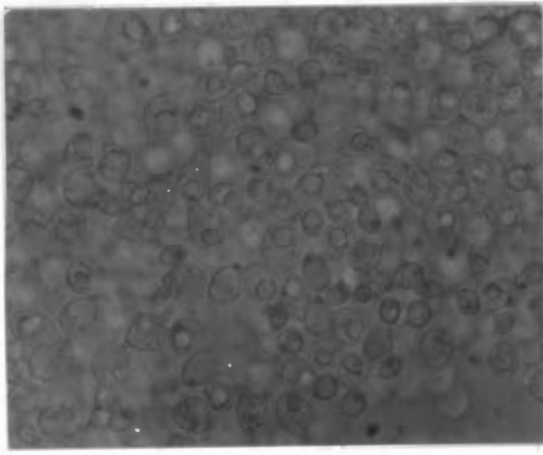
A tot D asci met volwasse spore, uit kulture op gipsblokkies na 3 dae by 25°C. Vergr. 840 X.

- A. ras 73.
- B. ras 127.
- C. ras 136.
- D. ras 154.

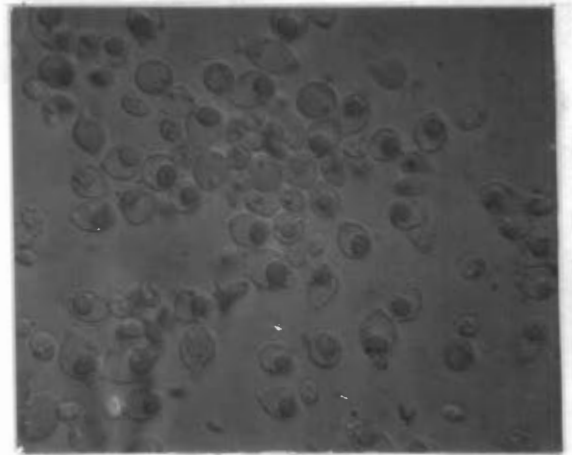
E. ras 73. Selle met die beginsels van spore in hul aanwesig. Selkerne gekleur volgens die metode van Heidenhain. Vergr. 840 X.

F tot I, ras 154. Die verskillende stadia van die spore se ontkieming. Vergr. 1680 X.

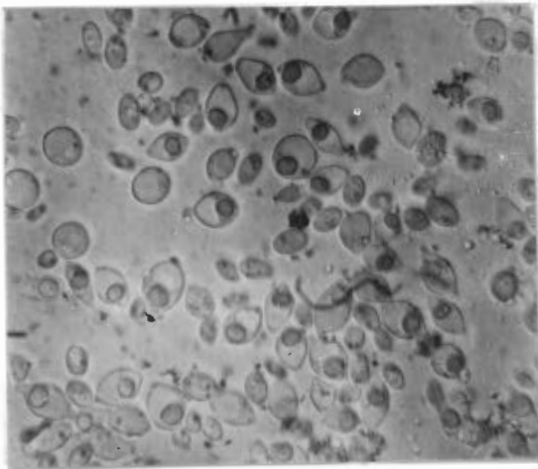
Taβel I.



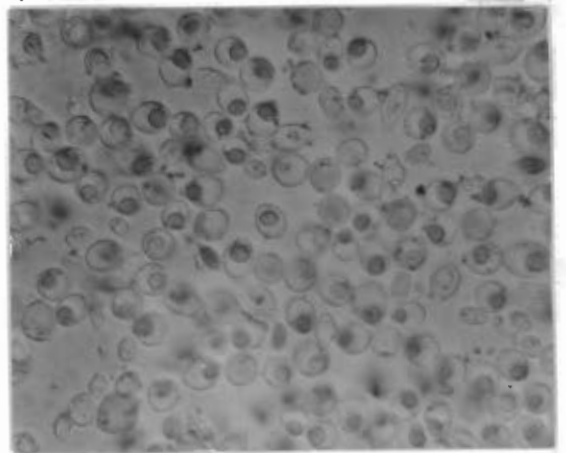
A



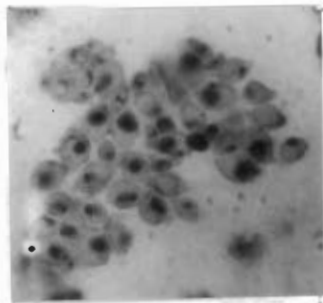
B



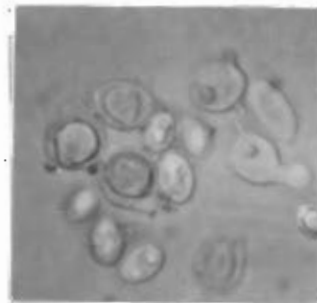
C



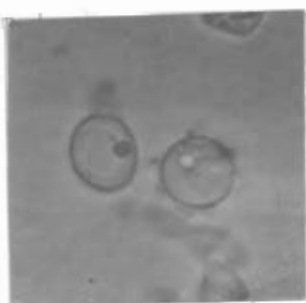
D



E



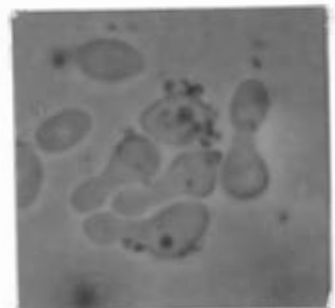
F



G



H



I