

(Aus den Botanischen Anstalten der Universität Göttingen.)

Über die Membran niederer Pilze, besonders von *Rhizidiomyces bivellatus* nov. spez.*.

Von
Kurt Nabel.

Mit 7 zum Teil farbigen Textabbildungen.
(Eingegangen am 12. September 1939.)

In der Frage nach der Phylogenie der *Pilze* stehen sich in der Hauptsache die beiden Ansichten gegenüber, daß entweder die Pilze polyphyletisch aus *Algen* entstanden seien, oder daß sie sich von primitiven, einzelligen Formen aus in aufsteigender, im großen ganzen zusammenhängender Reihe entwickelt hätten. Eine endgültige Entscheidung zwischen diesen beiden Anschauungen ist heute noch nicht möglich.

Eine sehr wesentliche Rolle für die Beurteilung der verwandtschaftlichen Verhältnisse spielt dabei — besonders seit den Untersuchungen *F. von Wettsteins* (1921) — die chemische Zusammensetzung der Membran der Pilze. Die höheren Pilze mit Ausnahme der *Saccharomycetinae* und *Laboulbeniae* haben nach *von Wettstein* und früheren Autoren sämtlich Chitinmembranen; bei den *Phycomycetes* haben die *Zygomycetes* und *Chytridieae* Chitin, während die Membranen der *Monoblepharideae* und *Oomycetes* aus Cellulose bestehen sollen. Chitin und Cellulose sollen sich nach *von Wettstein* gegenseitig ausschließen, die beiden Substanzen sollen weder in verschiedenen Gliedern einer systematischen Einheit, noch viel weniger nebeneinander in einem einzigen Organismus vorkommen.

Von Wettstein benutzt seine Ergebnisse, um damit die Ansicht von der polyphyletischen Abstammung der Pilze zu stützen. Er hält die Cellulosemembranen für ursprünglicher, die Cellulosepilze für relativ junge Abzweigungen aus *Algen*, während die Chitinmembranen nur bei abgeleiteten, alten Formen vorkommen sollen. Dabei sollen die Chitinpilze nicht eine einheitliche Reihe bilden, sondern verschiedene aus *Algen* abgeleitete Formen enthalten.

Zur sicheren Beurteilung der Verhältnisse war es wünschenswert, noch weitere Objekte als bisher auf ihre Membranensubstanzen zu untersuchen. Darüber soll nachstehend berichtet werden.

* D 7.

I. Methodisches.

A. Der Chitin- und Cellulosenachweis.

Eine brauchbare Methode zur mikrochemischen Untersuchung von Pilzmembranen stammt von *van Wisselingh* (1925). Auch *von Wettstein* hat sie zu seinen Untersuchungen verwandt. Mit ihr kann man nacheinander am selben Objekt eine Prüfung der Pilzmembran auf Chitin und Cellulose vornehmen. Das Chitin wird dabei durch die von *Gilson* gefundene Chitosanreaktion nachgewiesen: Chitin wird durch Erwärmung in konzentrierter Kalilauge in Chitosan übergeführt und färbt sich mit Jodjodkalium und verdünnter Schwefelsäure rotviolett. Die Cellulose weist man durch Blaufärbung mit Jodjodkalium und konzentrierter Schwefelsäure nach. Außerdem wird das Chitosan durch Pikrinsäure bleibend gelb gefärbt, während bei Cellulosemembranen die Gelbfärbung auswaschbar ist. In konzentrierter Schwefelsäure löst sich das Chitosan im Gegensatz zur Cellulose auf. Durch Anwendung dieser Prüfungen hat man neben der eigentlichen Farbreaktion zwei weitere Möglichkeiten, das Vorhandensein von Chitin oder Cellulose zu belegen.

Da sich auch noch andere Zellwand- oder Inhaltsstoffe mit Jod bläuen, ist es nötig, die zu untersuchenden Objekte einer vorausgehenden „Reinigung“ zu unterwerfen. Das geschieht durch Erhitzen in Glycerin bis auf 300° C, wobei fast alle anderen Stoffe außer Chitin und Cellulose zerstört werden. Lösen sich die Membranen bei dieser Behandlung auf, so deutet das darauf hin, daß in den Membranen Cellulose oder Chitin nicht oder höchstens in Spuren vorhanden sind.

Man verfährt im einzelnen folgendermaßen: In ein Glasröhrchen von etwa 6 cm Länge und 6 bis 7 mm Weite, das an einer Seite bereits zugeschmolzen ist, bringt man eine 1 bis 2 cm hohe Glycerinschicht. Nachdem man das zu untersuchende Objekt in das Glycerin gebracht hat, wird das Röhrchen sorgfältig zugeschmolzen und im Ölbad auf 300° C erhitzt. Nach dem Erkalten schneidet man das Röhrchen knapp über dem Flüssigkeitsspiegel ab, härtet das durch das Kochen sehr weich und zart gewordene Präparat in absolutem Alkohol und wäscht es in destilliertem Wasser aus. Danach bringt man es in ein neues, mit konzentrierter Kalilauge versehenes Glasröhrchen, schmilzt dieses zu und erhitzt wieder im Ölbad auf 180° C. Man läßt abkühlen, härtet und wäscht das Objekt wiederum in Alkohol und destilliertem Wasser. Nun kann man die Farbreaktionen vornehmen.

Dazu bringt man das Präparat auf einen Objektträger und setzt Pikrinsäure hinzu. Die eintretende Gelbfärbung läßt sich auswaschen, wenn die Membranen aus Cellulose bestehen, während sie bei chitinhaltigen Membranen nicht auswaschbar ist. Gibt man einige Tropfen Jodjodkaliumlösung und verdünnte (1%ige) Schwefelsäure hinzu, so tritt beim Vorhandensein von Chitosan eine schöne Rotviolettfärbung ein, die je nach dem Objekt intensiver oder schwächer sein kann, aber doch immer ungefähr den gleichen Farbton zeigt (*Ostwald'sche Farbtafeln* Nr. 10, erstes Veil, zwischen ga und ia). Setzt man nun konzentrierte Schwefelsäure hinzu, so verschwindet die Violettfärbung und das Chitosan löst sich langsam auf. Ist in den Membranen kein Chitin, sondern Cellulose vorhanden, so bleiben sie bei Behandlung mit Jodjodkalium und verdünnter Schwefelsäure ungefärbt, bei Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure tritt aber eine deutliche Blaufärbung ein (*Ostwald'sche Farbtafeln* Nr. 13, erstes U-Blau, zwischen ga — ia — la).

Auf diese Weise wurden Membranen von Pilzen aus möglichst vielen Pilzgruppen untersucht und ergaben eindeutige Resultate. Zum Vergleich wurde auch tierisches Chitin von Fliegen und Krebsen in der gleichen Weise behandelt und gefärbt. Die auftretenden Farbtöne waren die gleichen wie bei den untersuchten Pilzen, die Chitinmembranen besitzen. Ebenso zeigte Cellulose verschiedener Herkunft: a) von *Pilzen*, b) von *höheren Pflanzen*, c) von *Tunicaten* gleiche Farbreaktionen und gleiche Farbtöne. Damit wird auch mikrochemisch noch einmal die Identität von Chitin tierischer und pflanzlicher Herkunft, sowie die Identität pflanzlicher und tierischer Cellulose unterstrichen, die analytisch-chemisch, vor allem auch röntgenographisch, längst nachgewiesen ist.

Gegen die mikrochemische Methode sind von verschiedener Seite Einwände gemacht worden, da die Farbreaktionen nicht spezifisch sein sollen. Bei sorgfältiger Arbeitsweise und einiger Übung im Erkennen der Farben ist die Kritik aber nicht stichhaltig. Zudem sind makrochemische Ergebnisse von *Schmidt* (1936), wie weiter unten noch gezeigt wird, von uns mikrochemisch bestätigt worden; damit ist ein neuer Beweis für die Zuverlässigkeit der *Wisselingh*-Methode erbracht worden.

B. Herkunft des Pilzmaterials.

Das Schwergewicht der Untersuchungen lag bei den niederen Pilzen¹. Die Isolierungen niederer Pilze wurden auf folgende Weise vorgenommen:

1. *Aus Gewässern*. An den verschiedensten Stellen in der Umgebung Göttingens und meines Heimortes Schönebeck an der Elbe wurden in Tümpeln und Teichen, in Altwässern der Elbe und in der Elbe selbst Fangbeutel ausgelegt. Diese bestanden aus feiner Drahtgaze und enthielten als „Köder“ und Nährsubstrate Früchte, wie Äpfel, getrocknete Pflaumen, Hagebutten und Weizenkörner, sowie auch Stücke von frischen Eschenzweigen. „Ameiseneier“ und Fliegen. Nach 1 bis 2 Wochen wurden die Fangbeutel wieder eingesammelt, zur Vermeidung der Austrocknung in Moos oder Gras feucht verpackt und darauf im Laboratorium einer näheren Untersuchung unterworfen.

¹ Das Untersuchungsmaterial stammte zum Teil aus den Sammlungen der Botanischen Anstalten Göttingen, des Centralbureaus voor Schimmelcultures Baarn, des Instituts für Mikrobiologie Göttingen, der botanisch-mykologischen Abteilung der Forsthochschule Hann.-Münden und des Instituts für Gärungsgewerbe Berlin. Ich möchte auch an dieser Stelle den Leitern dieser Institute für das Überlassen der Kulturen meinen Dank sagen. — Zum andern Teil wurden die Untersuchungen an Neuisolierungen von Pilzen angestellt, die ich teils selbst vornahm, oder die von Herrn Dr. *Sörgel*, Assistent am botanischen Institut Göttingen, ausgeführt und mir für meine Untersuchungen übergeben wurden. Ich möchte Herrn Dr. *Sörgel* auch hier dafür danken.

Dazu wurden die Köder in *Petri*-Schalen mit sterilem Leitungswasser verteilt und mit dem Mikroskop auf Besiedelung durch Pilze untersucht. Fanden sich Pilze, so wurde neues Nährsubstrat hinzugegeben, um sie zu vermehren. Unter mehrmaligem Wechsel des sterilen Leitungswassers wurde die *Petri*-Schale mehrere Tage stehengelassen. Darauf wurde nach den üblichen Methoden darangegangen, Reinkulturen der eingefangenen Pilze herzustellen. (Überimpfen der Pilze auf Agarplatten, die — falls der Pilz nicht durch schnelles Wachstum die Bakterienverunreinigungen hinter sich ließ — umgeklappt wurden; dadurch wurde der Pilz gezwungen, durch die Platte hindurchzuwachsen; er kam meist ohne Bakterien auf der anderen Seite der Platte heraus. Schüttelkulturen und Isolierung von Schwärmern zu Einspor-Reinkulturen.)

2. *Aus Erdproben.* Dazu wurden Bodenproben an vielen Stellen Deutschlands und auf Institutsexkursionen auch in Oberitalien, Jugoslawien und der Schweiz gesammelt. Als besonders wertvoll stellten sich mittel- und südamerikanische Erdproben heraus, über die das Institut verfügte. Sie waren in Gläsern oder Blechdosen gegen Austrocknung geschützt und konnten noch nach längerer Lagerung im Laboratorium verwendet werden.

Zur Herauszüchtung der in den Erden enthaltenen Pilze wurde etwa ein Teelöffel voll von der Probe in einen *Erlenmeyer*-Kolben (500 ccm) getan, der etwa 300 ccm sterilisiertes Leitungswasser enthielt. In jeden Kolben wurden außerdem sterilisierte oder frische Birnen, Fliegen und ähnliche Nährmedien getan; die Köder schwammen meist an der Wasseroberfläche der Kolben. Die Kolben wurden mit einem Wattebausch verschlossen und bei Zimmertemperatur stehengelassen. Waren in den Bodenproben niedere Pilze oder ihre Dauerstadien enthalten, so entließen sie Schwärmer, die auf den Nährmedien auskeimten, oder auch ihre Dauerorgane selbst gelangten in der Aufschwemmung an die Substrate. Nach einigen Tagen ließ sich schon makroskopisch die Entwicklung der Pilze feststellen. Aus den Rohkulturen wurden dann in der schon oben genannten Weise Rein- und Einsporkulturen hergestellt.

Die Isolierung der niederen Pilze aus Erdproben hat neben ihrer großen Einfachheit vor allem den Vorteil, daß man dadurch auch Material aus Gegenden untersuchen kann, in denen man keine Fangbeutel auslegen kann.

II. Die Membranuntersuchungen.

A. Voruntersuchungen.

Zur Schilderung der Versuchsmethodik am Pilzmaterial selbst sei zunächst ein Beispiel näher dargelegt. Dünne Längs- und Querschnitte von dem Fruchtkörper einer *Coprinus*-Art wurden in der oben geschilderten Weise in Glycerin bzw. Kalilauge erhitzt, gehärtet und gewaschen. Die Schnitte überstanden das Kochen verhältnismäßig gut, was auf Chitin oder Cellulose in ihren Membranen hindeutet; sonst hätten sie sich beim Kochen in Glycerin zum Hauptteil auflösen müssen. Sie sahen vor der Färbung blaßgelblich aus, wobei unter dem Mikroskop die einzelnen Hyphen im Hyphengeflecht deutlich zu erkennen waren.

1. *Nachweis.* Einige Schnitte wurden auf einen Objektträger in Pikrinsäure gelegt. Sie wurden schön gelb, und es zeigte sich, daß die Gelbfärbung nicht auswaschbar war. Das deutete auf Chitin hin.

2. *Nachweis.* Zu den durch die Pikrinsäure gefärbten und auch zu noch nicht gefärbten Schnitten wurden einige Tropfen Jodjodkalium und einige Tropfen 1%iger Schwefelsäure gegeben. Im Mikroskop konnte man in sämtlichen Schnitten eine von den Rändern her beginnende und sich über den ganzen Schnitt verbreitende schöne Rotviolett färbung eintreten sehen. Das ist aber die typische Chitosanreaktion. Die untersuchte *Coprinus*-Art hatte also, wie nicht anders zu erwarten, in ihren Membranen Chitin, das durch die Erhitzung in Kalilauge in Chitosan übergeführt worden ist.

3. *Nachweis.* Gibt man nun zu den rotvioletten Schnitten mehrere Tropfen konzentrierter Schwefelsäure und beobachtet die Schnitte dabei unter dem Mikroskop, so sieht man die Rotviolett färbung schlagartig verschwinden und dafür eine Braunfärbung der Schnitte eintreten. Diese ist jedoch nicht lange zu sehen, denn bald findet langsam eine vollständige Auflösung der Hyphen statt, wobei bräunliche Schlieren in der sonst klaren Schwefelsäure zurückbleiben. Auch dieser Nachweis deutet auf Chitin hin.

Um noch einen weiteren, aber durch Eigenfarbe etwas schwieriger zu untersuchenden Pilz mit sicher bekannter Zusammensetzung der Membran studiert zu haben, wurden Fruchtkörperschnitte einer *Polyporus*-Art analysiert. Die Schnitte behielten nach der Vorbehandlung eine braune Eigenfarbe. Trotzdem ließ sich auch hier eine nicht auswaschbare Färbung mit Pikrinsäure feststellen. Der zweite Nachweis, die Chitosanfärbung, ließ sich vor allem schön an ganz dünnen Schnitten beobachten; dickere Schnitte wurden schwarzviolett. In konzentrierter Schwefelsäure verschwand die Violett färbung; die braune Eigenfarbe kam wieder hervor, und eine teilweise Auflösung des Schnittes fand statt. Hier ist also ebenfalls *Chitin* vorhanden, außerdem aber auch noch eine Inkrustierung der Membranen mit noch anderen unbekanntem Stoffen, worauf die in konzentrierter Schwefelsäure nicht löslichen Bestandteile hinweisen. Cellulose liegt aber nicht vor, denn bei den mehrmals durchgeführten Nachweisreaktionen trat niemals eine Cellulosereaktion auf.

Ein zur Einarbeit in die Methodik besonders günstiges Objekt ist die auf Ahornblättern parasitierende *Rhytisma acerinum*. Man kann hier die Untersuchung auf Chitin und Cellulose am selben Präparat durchführen. Nach dem Erhitzen von infizierten Blattstücken in Glycerin und Kalilauge ließ sich beim Betrachten unter dem Mikroskop feststellen, daß der Pilz als dunkle, dichte, schwarzbraune Masse übrigblieb, während das Blattgewebe deutlich noch die Zellstruktur zeigte und gelbbraun aussah. Beim Färben ließ sich mit Pikrinsäure wegen der „Schwärze“ des Pilzrückstandes dort nichts erkennen, im Blattgewebe war die Gelbfärbung auswaschbar. Mit Jodjodkalium und verdünnter Schwefelsäure entstand im Pilzrückstand die Chitosanfärbung. Sie ließ sich besonders schön beim Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure erkennen, da sich dann die Pilzmasse langsam aufhellte und hell rotviolett erschien, bevor sie sich braun färbte und auflöste. Dabei konnte man auch die einzelnen Hyphen des Pilzes erkennen. Das restliche Blattgewebe färbte sich bei Zusatz der konzentrierten Schwefelsäure blau. Die Blattcellulose hatte denselben Farbton wie die Cellulose von *Saprolegniaceae*, die zum Vergleich zur selben Zeit untersucht wurden.

Auch bei Objekten mit Inkrustierungen und ausgesprochener Eigenfärbung läßt sich also einwandfrei feststellen, ob Chitin oder Cellulose in den Membranen vorhanden ist. Bei allen folgenden Untersuchungen lag überdies ein zartes, nicht inkrustiertes Material vor, das meist keine oder nur eine sehr geringe Eigenfarbe hatte, so daß für das Erkennen *aller* Farbreaktionen keine Schwierigkeiten mehr auftraten.

B. Untersuchungen an niederen Ascomycetes, Hefen und anderen sprossenden Pilzen.

Mit dem Namen „Hefen“ im engeren Sinne bezeichnet man im allgemeinen die *Saccharomycetes*, bei denen das Wachstum des Vegetationskörpers durch Sprossung über die Ausbildung von echten Hyphenmycelien völlig überwiegt. Aber abgesehen davon, daß einzelne dieser Formen unter besonderen Ernährungsbedingungen imstande sind, echte Hyphen hervorzubringen, tritt die Ausbildung von Sprossungswachstum, also von Hefeformen, an den verschiedensten Stellen im Pilzsystem auf. Und zwar nicht nur in enger Nachbarschaft der *Saccharomycetes*, wie bei den *Endomycetes*, sondern auch in ganz entfernten Pilzfamilien, wie bei den *Mucorineae*, den *Exoasceae* und den *Ustilagineae*. Diese Formen haben wie die *Endomycetes* außerdem zum Teil auch die Fähigkeit der Hefen im engeren Sinne, die Vergärung von Zucker in Alkohol durchzuführen.

Eingehende mikrochemische Untersuchungen liegen über die Membranen der Hefen nicht vor. Es wurden deshalb neben verschiedenen Vertretern der *Saccharomycetes* auch mehrere *Mycelhefen* und andere, mir erreichbare Pilze, die zur Ausbildung von Sprossungswachstum befähigt sind, untersucht. Nach den schon erwähnten makrochemischen Untersuchungen von *Schmidt* (1936), der bei einigen *Mycelhefen* makrochemisch Chitin festgestellt hat, während *Saccharomyces cerevisiae* nach seinen und auch früheren Untersuchungen kein Chitin enthält, schien es ihm möglich zu sein, daß allgemein die *Mycelhefen* Chitin, die Sproßhefen kein Chitin in ihren Membranen besitzen. In einer solchen Tatsache könnte aber ein wertvolles Merkmal für die systematische Stellung der einzelnen Hefen liegen.

1. Sproßhefen.

Saccharomyces cerevisiae Rasse *Johannisberg II*. Schon nach dem Kochen in Glycerin erschien das Material unter dem Mikroskop stark angegriffen und fast völlig zerfallen. Es wurde abfiltriert und in der üblichen Weise mit Kalilauge behandelt. Es blieb ein morphologisch völlig undefinierbarer Rest übrig, der weder Chitin- noch Cellulosereaktion zeigte und sich beim Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure fast vollständig auflöste. Wir kommen daher zu dem gleichen

Ergebnis wie *van Wisselingh* (1925), *Schmidt* (1936) u. a.: Die Membran von *Saccharomyces cerevisiae* enthält kein Chitin (und auch keine Cellulose).

Weiter wurde *Pichia membranaefaciens* untersucht, die ebenfalls ein Vertreter der *Saccharomycetes*, also der *Sproßhefen* ist. Sie gehört aber zu den Formen, die unter besonderen Kulturbedingungen, z. B. auf Gelatinenährböden, imstande sind, echte Hyphen auszubilden. Bei meinem Untersuchungsmaterial lag allerdings immer nur reines Sprossungswachstum vor. Nach der Erhitzung zeigte sich unter dem Mikroskop eine „körnig-fettige“ Masse ohne besondere morphologische Strukturen. Wurde Pikrinsäure hinzugesetzt, so trat eine Gelbfärbung des Rückstandes ein, die an verschiedenen Stellen des Überbleibselns sich nicht ganz wieder auswaschen ließ, wenn unter dem Deckglas, das zur „Festlegung“ und besseren Beobachtung unter dem Mikroskop über den Rückstand gelegt war, mehrmals destilliertes Wasser hindurchgesaugt worden war. An diesen selben Stellen trat bei Zusatz von Jodjodkalium und verdünnter Schwefelsäure eine verschieden tiefe, meist leichte Violettfärbung auf. Nach dem Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure färbten sich diese Stellen braun, und es traten hier Auflösungsschlieren auf, während der übrige Rest sich nicht auflöste. Die Reaktion wurde zu wiederholten Malen ausgeführt und hatte immer das gleiche Ergebnis. Somit ist also deutlich, daß *Pichia membranaefaciens*, also eine Sproßhefe, Chitin enthält.

Noch deutlicher wurde das bei *Saccharomycodes Ludwigii*, einer Hefe, die sich durch Sprossungswachstum ihrer länglichen, wurstförmigen Zellen vermehrt. Hier blieben nach dem Kochen die einzelnen Sproßzellen relativ gut erhalten und zeigten sehr schöne Chitinreaktionen.

Die übrigen von mir untersuchten Sproßhefen: *Torulaspora Delbrückii*, *Nematospora coryli*, *phaseoli* und *Nagpuri* zeigten das gleiche Verhalten wie *Saccharomyces cerevisiae*. Nach dem Erhitzen hatten sie sich fast vollständig aufgelöst, und der spärliche Rückstand gab keinerlei Farbreaktionen, die auf das Vorhandensein von Chitin schließen ließen. Die Membranen dieser Hefen scheinen aus ähnlichen Stoffen zu bestehen, wie die von *Saccharomyces cerevisiae*.

Die Membranen der Sproßhefen sind also nicht einheitlich zusammengesetzt; während bei manchen (*Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspora Delbrückii*, *Nematospora coryli*, *phaseoli* und *Nagpuri*) weder Cellulose noch Chitin nachweisbar ist, geben *Saccharomycodes Ludwigii* und *Pichia membranaefaciens* eindeutig Chitinreaktion.

2. Mycelhefen und niedere Ascomycetes.

Mikrochemische Untersuchungen der Membranen von *Mycelhefen* sind meines Wissens noch nicht vorgenommen worden. Durch die

makrochemischen Untersuchungen von *Schmidt* (1936) weiß man aber, daß einige Mycelhefen, nämlich *Endomycopsis fibuliger* und *capsularis* und der mit ihnen nahe verwandte Pilz *Eremascus fertilis*, Chitin enthalten. Sonstige Angaben über die Membranstoffe der Mycelhefen liegen meines Wissens nicht vor.

Das *Schmidtsche* Ergebnis konnte ich durch mikrochemische Untersuchungen von *Eremascus fertilis*, *Endomycopsis fibuliger* und *capsularis* bestätigen. Ebenso verhielten sich die nahe verwandten *Endomyces decipiens* und *Endomyces Magnusii*. Alle diese Pilze wachsen gewöhnlich mit einem gut ausgebildeten Mycel; die Hyphen zergliedern sich aber leicht in Oidien, und diese können unter günstigen Bedingungen zu einem Sproßverband auswachsen. Nach dem Kochen blieben die Hyphen gut erhalten und zeigten sehr schön die *Chitinfärbungen*.

Ganz anders lagen die Verhältnisse dagegen bei den folgenden niederen *Ascomycetes* aus dem gleichen Verwandtschaftskreis:

Ashbya gossypii. Dieser nach den Untersuchungen von *Ashby* und *Nowell* (1926), *Guilliermond* (1928) u. a. in die Verwandtschaft von *Nematospora* gehörige Pilz wuchs auf Agarschrägröhrchen in Form einer schmutzig-weißen, runzeligen Decke. Sprossung trat nur in Kulturen mit schwachem und langsamem Wuchs auf, normalerweise bildeten sich Hyphen mit Sporangien. Nach dem Kochen in Glycerin und Kalilauge war von den Hyphen, den Sporangien und den Sporen nichts wieder aufzufinden, es blieben nur ähnlich wie bei *Saccharomyces cerevisiae* und den *Nematospora*-Arten einheitliche, geringfügige Rückstände übrig, die keine Chitinreaktionen zeigten. Die Inhaltsstoffe und Membranen der Mycelien hatten sich bei dem „Reinigungsprozeß“ in Glycerin aufgelöst; im Gegensatz zu den vorgenannten Mycelhefen enthält also *Ashbya gossypii* kein Chitin.

Spermophthora gossypii. Der Pilz steht nach *Guilliermond* (1928) *Ashbya gossypii* nahe und wird von *Gwynne-Vaughan* und *Barnes* (1937) zu den *Endomycetaceae* gestellt. Er wächst im allgemeinen mit einem wohlausgebildeten Hyphenmycel, doch trat in meinen Kulturen gelegentlich hefeförmiges Sprossungswachstum auf, wie es bereits von *Guilliermond* beschrieben worden ist. Wurden selbst verhältnismäßig große Mycelmengen der üblichen Vorbehandlung für die Membranuntersuchung unterworfen, so ließ sich das gleiche, nun schon verschiedentlich geschilderte Verhalten feststellen: Nach dem Kochen blieb ein morphologisch undefinierbares Überbleibsel zurück, das sich in allem genau so verhielt, wie der Rückstand von *Saccharomyces cerevisiae* u. a. Es traten beim Färben weder Chitin- noch Cellulosereaktionen auf, und in der konzentrierten Schwefelsäure fand eine fast vollständige Auflösung des Restes statt. Somit läßt sich vermuten, daß auch die Membran von *Spermophthora gossypii* aus ähnlichen Stoffen besteht wie die

Zellwände von *Saccharomyces cerevisiae*, *Ashbya gossypii* u. a. Zumindest steht einwandfrei fest, daß in den Membranen von *Spermophthora gossypii* kein Chitin enthalten ist.

Weiter wurde das nach *Guilliermond* (1935 und 1936) mit *Spermophthora* und *Ashbya* verwandte *Eremothecium Ashbyii* untersucht. Seine Membranen zeigten völlig das gleiche Bild, wie es von *Saccharomyces cerevisiae*, *Spermophthora gossypii* u. a. schon geschildert ist. Chitin ist also nicht vorhanden.

Die Mycelhefen und die den Hefen verwandten niederen Ascomycetes sind also bezüglich der Zusammensetzung ihrer Membran nicht einheitlich. Ein Teil von ihnen (*Ashbya*, *Spermophthora*, *Eremothecium*) spricht weder auf Cellulose- noch Chitinreaktion an, während bei anderen (*Eremascus*, *Endomyces* und *Endomycopsis*) Chitin einwandfrei nachweisbar ist.

3. Sprossende Pilze aus anderen Verwandtschaftsgruppen.

In der Hoffnung, irgendwelche Hinweise auf die hier erörterten Fragen zu finden, wurden auch noch Pilze aus ganz anderen Verwandtschaftsgruppen untersucht, die in der Lage sind, ähnlich wie die Hefen durch Sprossung zu wachsen.

Ustilago zaeae. Die Brandsporen des Pilzes wurden in eine Nährlösung ausgesät; ihre Keimschläuche (Basidien) wuchsen zu einem weißlichen, leicht zerfallenden Sproßmycel mit schwach ellipsoidischen Sproßzellen aus. Bei der mikrochemischen Untersuchung blieben die Membranen der Basidien gut erhalten und zeigten sehr schön die Chitinsreaktion.

Die Ascosporen von *Taphrina aurea* (*Exoascales*) wachsen in zuckerhaltigen Nährlösungen zu hefeartigen Sproßmycelien aus, die sich auch in künstlicher Kultur auf Agarnährböden weiterziehen lassen. Die Mycelien blieben nach dem Kochen gut erhalten und zeigten Chitinreaktion.

Mucor subtilissimus. Die *Sectio Racemosus* und die *Sectio Hiemalis* der *Mucorineae* (*Zycha*, 1935) enthalten eine ganze Reihe von sprossenden Formen, die außerdem die Fähigkeit der echten Hefen besitzen, Zucker in Alkohol zu vergären. In besonderem Maße neigt *Mucor subtilissimus* zur Bildung von Mycel- und Sproßgemmen; auf festen Nährböden läßt sich der Pilz lange Zeit in reiner Hefenform kultivieren. Ich untersuchte Proben aus solchen Kulturen und konnte an den nach dem Erhitzen noch gut erhaltenen Sproßzellen einwandfrei feststellen, daß die Wände dieser Sproßzellen von *Mucor subtilissimus* aus Chitin bestehen. Untersuchungen an *Mucor Rouxianus*, der ebenfalls zum Sprossungswachstum befähigt ist, ergaben in gleicher Weise das Vorhandensein von Chitin in den Membranen der Sproßzellen.

Eine Zusammenfassung der Versuchsergebnisse dieses Abschnittes ist in Tabelle I gegeben.

Tabelle I. Vorkommen von Chitin und Cellulose bei Hefen und anderen sprossenden Pilzen.

<i>Sproßhefen</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	kein Chitin, keine Cellulose
	<i>Torulaspora Delbrückii</i>	„ „ „ „
	<i>Nematospora coryli</i>	„ „ „ „
	„ <i>phaseoli</i>	„ „ „ „
	„ <i>Nagpuri</i>	„ „ „ „
	<i>Pichia membranaefaciens</i>	Chitin
<i>Mycelhefen</i>	<i>Saccharomycodes Ludwigii</i>	„
	<i>Endomyces decipiens</i>	Chitin
	„ <i>Magnusii</i>	„
	<i>Endomycopsis fibuliger</i>	„
	„ <i>capsularis</i>	„
<i>Niedere Ascomycetes</i>	<i>Eremascus fertilis</i>	Chitin
	<i>Spermophthora gossypii</i>	kein Chitin, keine Cellulose
	<i>Ashbya gossypii</i>	„ „ „ „
	<i>Eremothecium Ashbyii</i>	„ „ „ „
<i>Andere sprossende Pilze</i>	<i>Ustilago zeae</i>	Chitin
	<i>Taphrina aurea</i>	„
	<i>Mucor subtilissimus</i>	„
	„ <i>Rouxianus</i>	„

C. Membranuntersuchungen an *Phycomycetes*.

Über die Membranen der *Phycomycetes* liegt bereits eine Reihe von Untersuchungen vor. Hier seien vor allem die Arbeiten von *van Wisselingh* (1897 und 1925), *Petersen* (1910) und von *Wettstein* (1921) genannt. Sie führten dazu, im chemischen Aufbau der Zellmembran ein wichtiges Merkmal für die Einordnung in die systematischen Einheiten der *Phycomycetes* zu sehen.

So war bei den zahlreich untersuchten *Zygomycetes* festgestellt worden, daß ihre Membranen aus Chitin bestehen. Ich konnte das bei den von mir untersuchten *Zygomycetes* bestätigen. *Mucor indicus*, *M. hiemalis* + und —, *M. racemosus*, *M. subtilissimus*, *M. Rouxianus*, *Rhizopus nigricans* + und —, *Rh. arrhizus*, *Endogone malleola*, *Empusa muscae* und *Basidiobolus ranarum*: bei allen war Chitin in den Membranen enthalten.

Eine abweichende Angabe ist in der neueren Literatur vorhanden. Bei *Mucor Rouxianus* will *Hopkins* (1929) in alten Kulturen neben einander Chitin und Cellulose gefunden haben. Die Cellulose soll neben anderen Reaktionen auch mit Jodjodkalium und Schwefelsäure, also mit der auch von uns angewandten Reaktion, nachgewiesen worden sein. Nähere methodische Einzelheiten werden von *Hopkins* nicht angegeben. Ich konnte seine Feststellungen, die für die Bewertung von

Chitin und Cellulose für die Pilzsystematik von großer Bedeutung wären, trotz zahlreicher Versuche nicht bestätigen. Es wurden dazu wiederholt Kulturen in flüssigen und auf festen Nährmedien angesetzt, und es wurden verschieden alte Mycelien von allen möglichen Stellen der Kulturen geprüft. Die Mycelien überstanden die Erhitzung in Glycerin und Kalilauge nicht sehr gut, doch blieben neben braunen, undefinierbaren Klumpen, die wohl aus restlichen Inhaltsstoffen bestanden, gut erkennbare, bräunlich gefärbte Hyphen übrig. Diese zeigten Chitinreaktionen und lösten sich in konzentrierter Schwefelsäure vollständig auf. Dabei traten hier und auch an den erwähnten sonstigen Rückständen keine Cellulosereaktionen auf. Es ist mir niemals gelungen, Anhaltspunkte für die *Hopkins*schen Angaben zu finden; in allen meinen Kulturen bestand die Membran von *Mucor Rouxianus* immer nur aus *Chitin*.

Die *Oomycetes* sollen nach den bisherigen Anschauungen in ihren Membranen ohne Ausnahme Cellulose besitzen. Das zeigte sich auch bei den von mir untersuchten *Peronosporaceae* (*Pythium de Baryanum*, *gracile* und *proliferum*), *Saprolegniaceae* (Arten von *Saprolegnia*, *Thraustotheca*, *Achlya*, *Dictyuchus*), *Leptomitaceae* (Arten von *Apodachlya*, *Sapromyces*) und der zu den *Ancylistinaceae* gehörigen *Lagenidium giganteum*; sie alle ergaben klare *Cellulosereaktion* ihrer Membranen.

Die *Blastocladiaceae* mit den beiden Gattungen *Allomyces* und *Blastocladia* gehören nach den Untersuchungen *Knieps* (1929/30) u. a. zusammen mit den *Monoblepharidaceae* auf Grund ihrer morphologischen und sexuellen Eigenart an die Basis der *Oomycetes*. In der letzten Auflage des Handbuches der systematischen Botanik von *R. von Wettstein* sind beide Pilzgruppen zu der Ordnung der *Monoblepharidales* zusammengefaßt und an den Anfang der *Oomycetes* gestellt. Während nun durch die Untersuchungen *F. von Wettsteins* festgestellt ist, daß die Membranen der *Monoblepharidaceae* aus Cellulose bestehen, liegen für die Zellwandstoffe der *Blastocladiaceae* noch keine genauen Angaben vor. *Petersen* (1910) und *Kanouse* (1927) geben an, daß in den Membranen der *Blastocladiaceae* keine Cellulose nachweisbar sei. *Von Wettstein* scheint auf Grund von Schwierigkeiten beim Cellulosenachweis bei den *Monoblepharidaceae* anzunehmen, daß es bei den *Blastocladiaceae* ähnlich wäre, und daß es dort auch gelingen würde, Cellulose nachzuweisen. Jedenfalls sagt er, daß alle *Monoblepharidales* — zu denen er ja auch die *Blastocladiaceae* rechnet — Cellulosemembranen besitzen. *Harder* (1936) läßt dagegen aus zellwandchemischen Gründen die *Blastocladiaceae* von den *Monoblepharidaceae* getrennt. Er berichtet auf Grund der ersten Untersuchungen, die ich damals gemacht hatte, daß *Allomyces* Chitinmembranen besitzt, und nimmt an, daß alle *Blastocladiaceae* mit Chitinmembranen ausgerüstet sind. Eine ein-

gehende Untersuchung der *Blastocladiaceae* war daher besonders wichtig.

Die Mycelien von *Allomyces Kniepii* (Sörgel, 1937) zeigten nach der üblichen Behandlung, daß sie das Erhitzen gut überstanden hatten. Die Hyphen waren zwar stark zusammengeschrumpft, doch noch gut erhalten und kaum zerrissen. Die Zoosporangien und Dauersporangien, die Mikro- und Makrogametangien waren dagegen fast gar nicht geschrumpft und enthielten, sofern sie nicht aufgeplatzt waren, eine zusammengeschrumpfte Inhaltsmasse, die bei den Dauersporangien braunrot gefärbt war. Die Pseudosepten in den Hyphen und die einzelnen Membranen der Dauersporangien waren in dem sonst blaß-weißen Mycel gut zu sehen, das für die Farbreaktionen gute Beobachtungsmöglichkeiten versprach. In Pikrinsäure färbten sich die Hyphen und die Fortpflanzungsorgane gelb, und diese Farbe ließ sich nicht wieder auswaschen. Nach Zusatz von Jodjodkalium und 1%iger Schwefelsäure trat eine schöne, klare Violettfärbung ein. In konzentrierter Schwefelsäure verschwand diese violette Farbe, das gesamte untersuchte Material färbte sich braun und löste sich bis auf den Rest aus den Inhaltskörpern der Fortpflanzungsorgane vollständig auf. Eine Blaufärbung, wie sie beim Vorhandensein von Cellulose eintreten muß, beobachtete ich nie. So kann kein Zweifel bestehen, daß unter den *Blastocladiaceae* *Allomyces* in den Membranen ihres gesamten Thallus Chitin besitzt, Cellulosereaktion trat niemals ein. Übereinstimmende Reaktionen wurden auch bei anderen, gleichzeitig untersuchten *Allomyces*-Arten aus westindischen Erden beobachtet. *Allomyces* ist also ein Pilz, der zwar auf Grund seiner morphologischen und sexuellen Eigenschaften nahe mit den *Oomycetes* verwandt ist, aber trotzdem nicht wie diese Cellulose- sondern Chitinmembranen aufweist.

Diese Eigenschaft ist aber unter den *Blastocladiaceae* nicht allein *Allomyces* vorbehalten. In den Göttinger Botanischen Anstalten wurden aus tropischen Erden einige weitere neue *Blastocladiaceae* isoliert, die ich gleichfalls untersuchte. Unter ihnen befand sich die von Harder und Sörgel (1938) beschriebene *Blastocladiella variabilis*¹: auch dieser Pilz hat Chitinmembranen.

Das gleiche gilt auch für die neue Art der *Blastocladiaceae* *Sphaerocladia variabilis* (Stüben, 1939), deren Beschreibung von Stüben demnächst erscheinen wird, und für eine weitere, noch unbeschriebene Art der *Blastocladiaceae*, die wahrscheinlich eine neue *Blastocladia*-Art ist. Sie besitzen gleichfalls Chitinmembranen.

¹ Der Pilz wurde ursprünglich von Harder und Sörgel *Rhopalomyces* genannt, hat aber inzwischen den Namen *Blastocladiella* erhalten (Harder und Sörgel, 1939).

Weitere Gesichtspunkte lieferten Untersuchungen an *Chytridiaceae*. Bei der verhältnismäßig großen Seltenheit der einzelnen Arten, die sich meist nicht künstlich weiterziehen lassen, war ich auf die wenigen Formen beschränkt, die auf die oben beschriebene Weise eingefangen werden konnten.

Soweit an *Chytridiaceae* Membranuntersuchungen vorgenommen wurden, hat man gefunden, daß die Zellwände aus Chitin bestehen. Ich konnte das für eine noch nicht näher bestimmte Art der *Cladochytridiaceae* bestätigen. Nach dem Kochen blieb das Mycel mit den zahlreichen Zoosporangien gut erhalten und zeigte sehr schöne *Chitinreaktion*. In einer neuisolierten *Allomyces*-Art wurde der Parasit *Rozella allomycetes*¹ gefunden. Die befallenen Hyphen von *Allomyces* waren völlig von den zahlreichen, rundlichen Zellen des Parasiten erfüllt. Nach der Vorbehandlung für die mikrochemische Untersuchung ließen sich in den Hyphen keine besonderen Strukturen mehr feststellen. Die Hyphen ergaben klare Chitinreaktion. Auch beim Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure trat nur eine Auflösung des gesamten Mycels und keine Blaufärbung ein. Also scheinen auch die Membranen von *Rozella allomycetes* aus Chitin zu bestehen, jedenfalls läßt sich mit Bestimmtheit aussagen, daß sie keine Cellulose enthalten.

Bei *Synchytrium endobioticum* und *Plasmodiophora brassicae* konnte ich in Übereinstimmung mit früheren Autoren *Chitin* nachweisen.

Ganz unerwartete Ergebnisse lieferte aber eine neue *Rhizidiomyces*-Art, die in Göttingen mehrfach aus tropischer und später auch aus jugoslawischer Erde isoliert werden konnte. Ich habe den Pilz aus noch näher zu schildernden Gründen *Rhizidiomyces bivellatus* genannt. Hier seien zunächst wegen der Wichtigkeit der Schlüsse, die aus den Untersuchungen seiner Membranen gezogen werden, diese eingehend geschildert.

Der Pilz erschien in den Rohkulturen als einzelliger, kugelig-Organismus auf toten, sterilisierten Fliegen, die an der Oberfläche des Wassers in den Kulturkolben schwammen. Wenn *Drosophila*-Fliegen als Kultur- oder Fangmaterial verwendet wurden, ließ sich an dünnen, durchscheinenden Stellen der Fliegen deutlich erkennen, daß der Pilz meist nur ein einziges, oft langes und meistens reich verzweigtes Rhizoid ins Innere der Fliege getrieben hatte. Nachdem es durch Übertragung von Fliegenteilen, die ausschließlich mit *Rhizidiomyces* bewachsen waren, in neue Kolben gelungen war, den Pilz außer von einigen Bakterien von allen anderen Begleitern — auch von den in Rohkulturen häufigen Protozoen — zu trennen, nahm ich die Membranuntersuchungen vor.

¹ Eine Beschreibung dieser wahrscheinlich neuen *Rozella*-Art steht noch aus.

Die am dichtesten besiedelten Fliegenteile (Kopf, Beine, Abdomen) oder ganze *Drosophila*-Fliegen, die ringsum von dem Pilz in dichtem „Rasen“ bewachsen waren, wurden in die Röhrchen mit Glycerin bzw. Kalilauge eingeschlossen und erhitzt. Nach dem Erhitzen blieben Fliegenteile und Pilze gut erkennbar zurück. Die Fliegenteile waren hellgelb oder bräunlich gefärbt. Die Pilze hatten sich zum Teil beim Kochen von den Fliegen gelöst und fanden sich nun als oft deformierte Kugeln, denen das mehr oder weniger gut erhaltene Rhizoid wie ein Schwänzchen anhing (Abb. 1 und 2). Eine große Anzahl von Pilzen blieb aber auch auf den Fliegen sitzen. Waren die Pflänzchen aufgeplatzt oder schon vorher durch Zoosporenbildung entleert, so blieben nur ihre Membranen als durchsichtige, ungefärbte Blasen zurück. Die nicht zerplatzten und nicht entleerten Pilze zeigten nach dem Erhitzen in ihrem Innern eine hellbraun gefärbte Inhaltsmasse.

Für das weitere Verständnis der Untersuchungen ist es notwendig hervorzuheben, daß ich die erste Prüfung auf die Membransubstanz an relativ alten Kulturen vornahm¹. Wurde nun zu einer Portion des Untersuchungsmaterials Pikrinsäure hinzugesetzt, so trat in Fliegen und Pilzen eine gut wahrnehmbare Gelbfärbung ein. Während diese auch bei mehrmaligem Waschen in den Fliegenteilen erhalten blieb, wurde sie aus den Pilzen dabei wieder entfernt; der Pilz schien also keine Chitinmembranen zu haben. Beim Zusatz von Jodjodkalium und verdünnter Schwefelsäure zu einem anderen Teil des Materials trat in den Fliegen sofort eine von den Rändern der Körperteile her beginnende Violettfärbung ein, die in ihrem Farbton sich völlig mit der früher an den Fliegen wie auch bei den früher untersuchten Pilzarten oft beobachteten Chitosanfärbung deckte. Die auf den Fliegen sitzenden Pilze aber blieben vollkommen ungefärbt. Auch die Inhaltsmasse behielt selbst nach längerer Einwirkung der Chemikalien nur ihre bräunliche Eigenfarbe. Wurde nun konzentrierte Schwefelsäure hinzugegeben, so verschwand in den Fliegenteilen die violette Farbe, eine Braunfärbung und die Auflösung des Chitins traten ein, wobei auch die noch fest-sitzenden Pilze aus den Fliegen herausgelöst wurden. Die Pilze aber hatten sich schlagartig blau gefärbt, und der entstandene Farbton stimmte mit den bisher beobachteten Cellulosefärbungen anderer Pilze völlig überein. Die gleichen Reaktionen traten auch ein, als ich zu einem dritten Teil meines Materials sofort Jodjodkalium und konzentrierte Schwefelsäure hinzusetzte (Abb. 1).

Nach diesen Untersuchungen war ich also davon überzeugt, daß *Rhizidiomyces bivellatus* Cellulosemembranen hat und glaubte, damit

¹ Der Pilz schließt, wie wir später noch sehen werden, innerhalb von 48 Stunden seinen Entwicklungszyklus ab. Die zuerst untersuchten Kulturen waren 6 Tage alt.

die erste Art der *Chytridiaceae* gefunden zu haben, die nicht Chitin, sondern Cellulose als Wandsubstanz besitzt.

Als nach einigen Tagen an neuen, 1 bis 2 Tage alten, also gegenüber den ersten Untersuchungen viel jüngeren Kulturen die Nachweisreaktionen wiederholt wurden, ergaben sie überraschenderweise völlig andere Ergebnisse: Neben Individuen, die sich genau so verhielten wie bei der ersten Untersuchung, die also Cellulosereaktion ergaben, traten andere, morphologisch damit vollkommen übereinstimmende auf, die



Abb. 1 und 2.

Links: Pilz mit Cellulosereaktion (etwas zerrissen).
Rechts: Exemplar mit Chitinreaktion. Vergr. etwa 300 mal.

eindeutige Chitinreaktion zeigten: nämlich bleibende Gelbfärbung in Pikrinsäure, Violettärfärbung in Jodjodkalium und verdünnter Schwefelsäure, Braunfärbung und Auflösung in konzentrierter Schwefelsäure. Auch bei Wiederholungen der Reaktionen zeigte sich immer wieder das gleiche Bild (Abb. 2). Ein Irrtum war vollständig ausgeschlossen, zumal sich immer im selben Präparat Fliegenteile als Test- und Vergleichsobjekte für die Chitinreaktion befanden. Auffällig war nur, daß es sich bei den cellulosehaltigen Individuen zumeist um schon entleerte oder doch verhältnismäßig große, ausgewachsene Organismen handelte, während die Chitinpilze meistens losgelöst von den Fliegen im Untersuchungsmedium herumschwammen und meist etwas kleiner waren als die sonst genau so aussehenden Cellulosepilze. Ich glaubte auch Pilze beobachtet zu haben, die zuerst die Chitin- später die Cellulosereaktion gezeigt hatten. Doch ließ sich das zunächst noch nicht mit Sicherheit aussagen.

Für diese verwirrenden, sich widersprechenden Ergebnisse, daß in einem einzigen Pilz ein bisher nie beobachtetes Nebeneinander von Chitin- oder Cellulosemembranen vorhanden sein sollte, gab es verschiedene Erklärungsmöglichkeiten. Die einfachste war die, daß es sich bei dem untersuchten Material gar nicht um eine einzige Art handelte, sondern daß zwei, obwohl äußerlich sehr ähnliche, aber doch verschiedene Formen vorhanden waren, von denen die eine mit Cellulosemembranen ausgerüstet ist, während die andere — bei der ersten Untersuchung übersehene Art — Chitinmembranen besitzt. Eine solche von vornherein vorhandene Mischkultur konnte durch die erwähnte Übertragung von

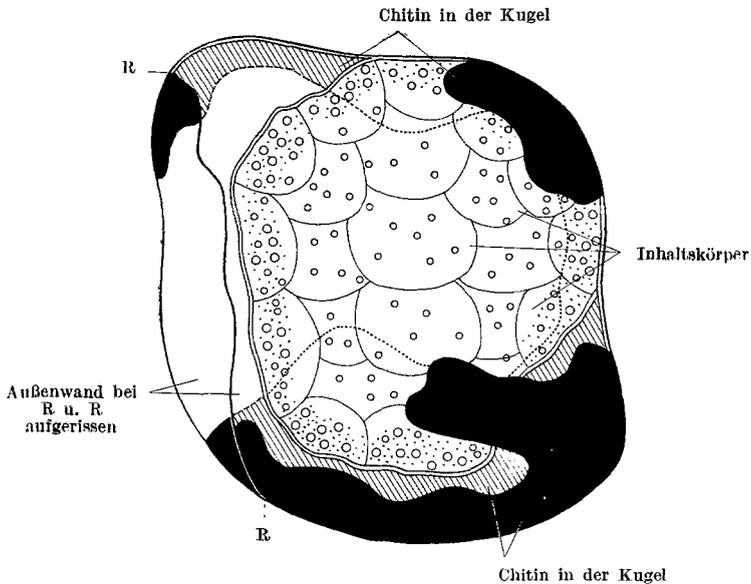


Abb. 3. *Rhizidiomyces bivellatus*. Pilzkugel mit zwei Membranen; unter der Außenmembran aus Cellulose (weiß gehalten) liegt eine nur noch teilweise vorhandene Chitinmembran. (Vorderlage: schwarz, Rücklage: schraffiert).

Die gepunktete Linie zeigt die Grenze des Chitins an. Im Innern der Pilzkugel befindet sich der zusammengeschrumpfte Inhaltkörper. (Schematisch). Vergr. etwa 650 mal.

ganz mit Pilzen besetzten Fliegenteilen in die Untersuchungskulturen ja leicht bestehen bleiben. Deshalb wurden nun durch Einsporaufzuchten absolute Reinkulturen hergestellt. Das gelang durch die in riesiger Zahl sich bildenden Zoosporen verhältnismäßig leicht. Es wurden mehrere Einsporkulturen aufgezogen, wobei bewußt Stämme verwendet wurden, die aus verschiedenen Erdproben stammten. Mit diesen nunmehr bestimmt absolut reinen Stämmen wurde aufs neue an die Membranuntersuchungen herangegangen.

Dabei zeigten sich die gleichen Erscheinungen wie bisher. Handelte es sich um junge Kulturen, so wurden nebeneinander Chitin- und

Cellulosereaktion gefunden, in alten Kulturen hatten die Pilze dagegen ausschließlich Cellulosemembranen. Außerdem konnte ich jetzt in jungen Kulturen zahlreiche Individuen beobachten, die zuerst Chitinreaktion zeigten, worauf nach Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure die Chitinfärbung verschwand und gleichzeitig eine Blaufärbung des Pilzes eintrat. Außerdem fand ich Individuen, bei denen sich die Chitosanfärbung nicht in der gesamten Pilzkugel zeigte, sondern nur in einem mehr oder weniger großen Teil davon. Dabei hatte man ganz den Eindruck, daß die violett gefärbten Teile unter einer in Jodjodkalium und verdünnter Schwefelsäure ungefärbten Außenmembran liegen, der sie sich anschmiegen (Abb. 3); die Außenmembran ergab später Cellulosereaktion. Schließlich waren auch noch Pilze vorhanden, die beim Kochen zerplatzt waren und deren Inhaltkörper aus

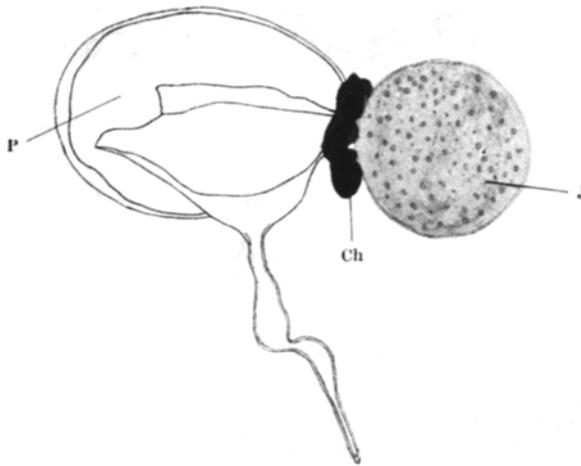


Abb. 4 *Rhizidiomyces bivellatus*. Zerplatzter Pilz (P) mit herausgedrückter Inhaltsmasse (J). Diese ist mit dem Thallus durch ein restliches Stück der Chitin-Innen-Membran (Ch) verbunden. Vergr. etwa 350 mal.

der Membran herausgedrückt worden war; er war aber noch mit der Außenmembran durch einen besonderen Partikel verbunden, der Chitinreaktion zeigte (Abb. 4 und 5).

Auf Grund aller dieser Befunde läßt sich schließen, daß der Pilz in jungen Stadien zwei Membranen besitzt, von denen die innere aus Chitin besteht, während die Außenmembran sich aus Cellulose zusammensetzt. Die innere Membran scheint vom Pilz im Laufe seiner Entwicklung aufgelöst zu werden und zu verschwinden, jedenfalls ist in alten Kulturen nur noch die Cellulosemembran vorhanden.

Die verhältnismäßig selten aufgefundenen Individuen, die nur Chitinreaktion zeigten, ohne von einer Cellulosemembran überlagert zu

sein, lassen sich wohl so erklären, daß bei ihnen beim Erhitzen die Cellulosemembranen aufgeplatzt waren und sich vollständig abgelöst hatten. Darauf weisen auch die Fälle hin, bei denen der beim Kochen herausgepreßte Inhaltkörper mit der Außenmembran noch durch ein restliches Stück der Innenmembran zusammenhängt.

Wie unten noch genauer zu schildern sein wird, treten bei der Entleerung der Schwärmer zarte *Entleerungshälse* an den kugeligen Thalli auf; sie gaben stets *Cellulosereaktion*.



Abb. 5. Derselbe Pilz wie in Abb. 4 in Jodjodkalium und konzentrierter H_2SO_4 . Das Chitin hat sich aufgelöst, und die Cellulosereaktion der Außenmembran tritt ein. Vergr. etwa 350 mal.

In Rhizidiomyces bivellatus ist also zum ersten Male ein Pilz gefunden, der Cellulose und Chitin nebeneinander im selben Organismus besitzt. Daher und aus den oben geschilderten Tatsachen sei er auch *Rhizidiomyces bivellatus* genannt.

Das Ergebnis unserer Membranuntersuchungen an *Phycomycetes* ist in Tabelle II zusammengefaßt.

Tabelle II. Vorkommen von Chitin und Cellulose bei *Phycomycetes*.

<i>Zygomycetes</i>		Chitin
<i>Mucor indicus</i>		
„ <i>hiemalis</i> + und -		„
„ <i>racemosus</i>		„
„ <i>subtilissimus</i>		„
„ <i>Rouxianus</i>		„
<i>Rhizopus nigricans</i> + und -		„
„ <i>arrhizus</i>		„
<i>Endogone malleola</i>		„
<i>Empusa muscae</i>		„
<i>Basidiobolus ranarum</i>		„

Tabelle II (Fortsetzung).

<i>Oomycetes</i>	<i>Pythium de Baryanum</i>	Cellulose
	„ <i>gracile</i>	„
	„ <i>proliferum</i>	„
	<i>Saprolegnia spez.</i>	„
	<i>Thraustotheca spez.</i>	„
	<i>Achlya spez.</i>	„
	<i>Dictyuchus spez.</i>	„
	<i>Apodachlya spez.</i>	„
	<i>Sapromyces spez.</i>	„
	<i>Lagenidium giganteum</i>	„
<i>Blastocladiaceae</i>	<i>Allomyces Kniepii</i>	Chitin
	Andere <i>Allomyces</i> -Arten	„
	<i>Blastocladiella variabilis</i>	„
	<i>Sphaerocladia variabilis</i>	„
<i>Chytridiaceae</i>	<i>Cladochytria spez.</i>	Chitin
	<i>Rozella allomyces</i>	Chitin?, keine Cellulose
	<i>Synchytrium endobioticum</i>	Chitin
	<i>Plasmodiophora brassicae</i>	„
	<i>Rhizidiomyces bivellatus</i>	Chitin und Cellulose

III. Beschreibung von *Rhizidiomyces bivellatus* nov. spez.

Der Pilz erschien, wie schon erwähnt, als saprophytischer, einzelliger und kugelliger Organismus auf toten, sterilisierten Fliegen in Rohkulturen mit Erdproben aus Haiti, Venezuela, Mexiko und Jugoslavien. Er vermehrte sich durch Zoosporenbildung sehr schnell und besiedelte in wenigen Tagen in großer, dichtgedrängter Anzahl gewisse bevorzugte Teile der Fliegen, wie die Beine, den Kopf und das Abdomen.

Bei der Beobachtung des Schicksals einer zur Ruhe gekommenen, keimenden Zoospore läßt sich der ganze Entwicklungszyklus des Pilzes verfolgen. Nachdem sich die Zoospore am Nährmedium festgesetzt hat, verankert sie sich darin mit einem langen, reichverzweigten Rhizoid, dem mitunter noch weitere Rhizoiden nachgeschickt werden können; die Rhizoiden wachsen alle an derjenigen Seite der keimenden Zoospore hervor, die dem Nährmedium zugekehrt ist. Dabei gehen manche von ihnen nicht sofort — andere gar nicht — in das Nährmedium hinein, sondern wachsen und verzweigen sich im umgebenden Wasser.

Der Keimling wächst dann zu einer leicht bräunlich gefärbten Pilzkugel heran, die mitunter eine doppelte Membranschicht deutlich erkennen läßt; sie ist völlig von dichtem Plasma erfüllt, das kleine

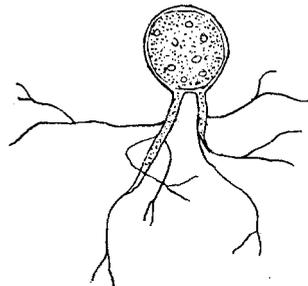


Abb. 6. *Rhizidiomyces bivellatus* mit zwei verzweigten Rhizoiden. Vergr. 150 mal.

Vakuolen in sich birgt (Abb. 6). Nach 2 Tagen sind die Pflänzchen bei Zimmertemperatur 80 bis 100 μ groß und schwärmreif; d. h. unter günstigen Außenbedingungen, über die wir weiter unten noch Näheres erfahren, beginnen sich an den Pilzen Entleerungshäule zu bilden.

An der dem Nährmedium abgekehrten Seite der Pilzkugel wächst langsam eine schlauchförmige Ausstülpung hervor, die an ihrer Spitze ein klares, lichtbrechendes Medium enthält, sonst aber von körnigem Plasma erfüllt ist. Sie schwillt an ihrer Basis nahe ihrer Ursprungsstelle

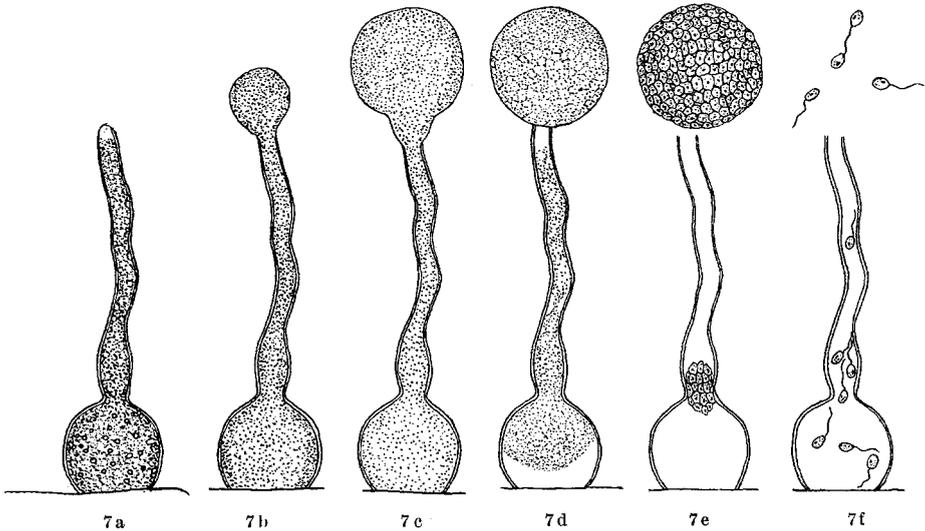


Abb. 7. *Rhizidiomyces bivellatus*. a) Bildung des Entleerungshalses. Vergr. 150 mal. b), c), d). Das Plasma des Pilzes fließt durch den Entleerungshals in das umgebende Wasser und rundet sich hier zu einer Kugel ab. e) Differenzierung des Plasmas zu einzelnen Teilen, den späteren Zoosporen. f) Zoosporen in der entleerten Pilzkugel und im Wasser.

leicht bauchig an, um nach der abgerundeten Spitze zu wieder schmaler, schlauchförmig zu werden (Abb. 7a). Bei Zimmertemperatur entspricht nach etwa 20 Minuten die Länge des Halses dem Durchmesser der Pilzkugel. In weiteren 15 bis 20 Minuten wächst der Entleerungshals ungefähr zur doppelten Länge des Pilzdurchmessers heran. Dabei läßt sich in dem eigentlichen Vegetationskörper des Pilzes deutlich eine Plasmaströmung in den Hals hinein beobachten. In seltenen Fällen konnte ich bei einzelnen Individuen die Ausbildung von zwei oder drei Entleerungshäulen beobachten, wobei sich entweder aus sämtlichen Häulen Schwärmer entleerten, oder aber die Häule bis auf einen einzigen wieder plasmafrei wurden, und nur an diesem einen die Ausbildung von Schwärmern erfolgte.

Das Plasma des Pilzes wird gleichmäßig körnig und läßt keine weiteren Strukturen mehr erkennen. Es quillt etwa 40 Minuten nach

dem Beginn der Bildung des Halses an dessen Ende plötzlich zu einer Kugel hervor, in die sich das gesamte nachdringende Plasma des Pilzes in zähfließendem Strome ergießt (Abb. 7b bis 7d). Mitunter bleiben in der nun sonst leeren Pilzzelle und im Hals geringe Plasmareste zurück, die sich bald in einzelne Portionen zusammenziehen. Auch bei der Strömung des Plasmas durch den Hals, die übrigens manchmal für kurze Zeitspannen abreißen kann, bis ein neuer Plasmaschub nachfließt, kann man vor allem gegen Ende der Strömung schon eine deutliche Differenzierung des Plasmas in einzelne Portionen feststellen. Die ausgetretene Plasmakugel hat etwa die Größe der vegetativen Pilzzelle: sie grenzt sich durch eine feine Haut vom Wasser ab, bleibt aber mit dem entleerten Pilzkörper weiterhin verbunden, obwohl sie durch ihr größeres spezifisches Gewicht im Wasser etwas absinkt. Diese Vorgänge nehmen vom Beginn der Plasmaentleerung an nur 1 bis 2 Minuten in Anspruch.

An der Stelle, wo der Hals sich zur Entlassung der Plasmakugel geöffnet hat, kommt aus seinem Innern ein feines Häutchen hervor, mit dem die ausgetretene Plasmakugel umgeben ist und mit dem sie am Entleerungshals befestigt ist. Die im Substrat versteckten Rhizoiden werden anscheinend auch entleert, soweit sie Plasma enthalten.

Zu Anfang macht das ausgetretene Plasma einen durchaus einheitlichen, körnigen Eindruck, auch die schon deutlich zusammengezogen gewesenen Plasmateile lassen sich in der ausgetretenen Kugel nicht mehr erkennen; sie werden gleichsam „eingeschmolzen“. Doch schon nach wenigen Minuten werden im gesamten Plasma der Kugel Abgrenzungen in einzelne Portionen sichtbar (Abb. 7e). Nach weiteren 5 bis 10 Minuten geraten die Zoosporen, die sich inzwischen aus den einzelnen Plasmateilen gebildet haben, in eine immer heftiger werdende wimmelnde Bewegung, die schließlich dazu führt, daß die feine, elastische Membran der Kugel an vielen Stellen zerreißt. Die Zoosporen schwimmen nun mit schneller, gleichmäßiger Bewegung nach allen Seiten davon (Abb. 7f).

Waren in der basalen Kugel oder im Hals Plasmareste zurückgeblieben, so bildeten sich auch daraus Zoosporen. Auch sie gerieten — und zwar oft schon vor dem „Wimmeln“ in der ausgetretenen Plasmakugel — in heftige Bewegung und schwammen sehr rasch in der nun ganz durchsichtigen Mutterkugel hin und her und hatten durch ihre fast geradlinige Bewegung große Mühe, das Ausgangsloch in den Hals und ins Freie zu finden; manchen glückte es nie, und ich konnte in solch einem Falle beobachten, daß die Schwärmdauer eingeschlossener Zoosporen sich über 3 Stunden erstreckte. Schließlich setzten die zurückgebliebenen Zoosporen sich in der Mutterzelle fest und wuchsen dort zu neuen Pflänzchen heran.

Die Zoosporen sind länglich, ellipsoid, etwa 8 μ lang und 6 μ breit, und besitzen eine zwei- bis dreimal so lange, verhältnismäßig dicke

Geißel, die in der Bewegungsrichtung vorangetragen wird. Die Schwärmer blieben im hängenden Tropfen mehrere Stunden hindurch beweglich, dann setzten sie sich nach und nach am Rande des Wassertropfens fest, wobei sie sich abrundeten und die Geißeln nicht mehr zu sehen waren. Nach kurzer Zeit trieben sie einen zarten Keimschlauch hervor, der bei allen Schwärmern zentrifugal, also vom Tropfen fort, wuchs.

Echte Kopulationen konnten nie beobachtet werden, auch keinerlei „Gruppenbildung“ oder sonstige Anzeichen von Sexualität. Dagegen kam es gelegentlich vor, daß sich zwei Zoosporen mit ihren Geißeln verwickelten. Meist lösten sie sich später — offenbar mit Gewalt von beiden Seiten — wieder voneinander los; es gab aber auch einige, denen es trotz heftiger Bemühungen nicht gelang, sich voneinander frei zu machen. Nach stundenlanger Bewegung setzten sich diese „Doppelzoosporen“ dann am Rande des Tropfens fest. Dabei verschmolzen beide Schwärmer zu einem einzigen, runden Gebilde und keimten auch nur mit einem einzigen Keimschlauch. Das weitere Schicksal solcher „Zwangskopulationen“, die wohl nichts mit einem normalen Sexualakt zu tun haben, konnte ich trotz verschiedener Versuche nicht verfolgen, weil alle Keimlinge in den hängenden Tropfen immer zugrunde gingen. Man darf daher wohl als feststehend annehmen, daß *Rhizidiomyces bivellatus* unter den angewandten Kulturbedingungen keine Sexualität zeigt und sich nur durch Zoosporen vermehrt.

Die Kulturen setzten sich aus morphologisch völlig gleichartigen, auch gleich gefärbten Individuen zusammen. Sie schwärmten aber nicht alle gleichzeitig aus, sondern auf den Fliegen mehrere Monate alter Kulturen waren immer noch zahlreiche nicht geschwärmte Pilze vorhanden. Es bestand daher die Frage, ob diese vielleicht Dauerstadien sein konnten, die durch einen nicht beobachteten Sexualakt entstanden waren. Sie unterschieden sich allerdings sonst durch nichts von den übrigen Individuen, die unter besseren Bedingungen schon im Verlauf zweier Tage ihr Leben durch die Bildung von Zoosporen abgeschlossen hatten. Es zeigte sich dann auch, daß diese restlichen Pilze offenbar nur durch ungünstige Außenbedingungen nicht zum Schwärmen gekommen waren. Läßt man nämlich eine Kultur über längere Zeit stehen, so stellt man fest, daß im Verlauf einiger Tage aus den wenigen Zoosporen, die in die Kultur gebracht wurden, durch immer neue Zoosporenbildung aus den heranwachsenden Pilzen das ganze Nährmedium dicht besiedelt wird. Auch dann schreiten noch zahlreiche Pflanzen zur Zoosporenbildung, so daß in einer etwa 12 Tage alten Kultur überall an der Wasseroberfläche, im Wasser selbst und vor allem auf dem Boden der *Petri*-Schale zahllose, zur Ruhe gekommene Zoosporen zu finden sind. Inzwischen müssen sich in der Kultur Be-

dingungen eingestellt haben, die einen großen Teil der Pilze auf den Fliegen dazu veranlassen, nicht mehr zur Schwärmerbildung zu schreiten. Eine Erschöpfung des Nährmediums kommt dafür wohl aus folgendem Grunde nicht in Frage: Fügt man der alten Kultur neue Fliegen hinzu, so werden diese zwar von den im Wasser schwimmenden und auf die neuen Fliegen treffenden Zoosporen besiedelt, und die Keimlinge wachsen auch zu normalen Pilzen heran, Zoosporen bilden sie aber nicht. Auch auf den frischen Fliegen kommt also keine Zoosporenbildung zustande, und ebensowenig lassen sich die nicht geschwärmten, auf den alten Fliegen sitzenden Pilze, durch das frische, kaum besiedelte Nährmedium dazu verleiten, Zoosporen auszubilden. Überträgt man aber eine solche dichtbesetzte, „alte“ Fliege in eine Petri-Schale mit frischem, sterilem Leitungswasser, so kann man schon nach 1 bis 2 Stunden sehen, wie alle bisher nicht geschwärmten Pilze ihre Entleerungshäule ausbilden und das neue Medium mit ihren Schwärmern erfüllen. Man muß also für die Verhinderung oder Hervorrufung der Zoosporenbildung an Gründe wie Sauerstoffmangel, Vorhandensein von „Giftstoffen“, ungünstiges p_H u. a. denken.

Die nicht geschwärmten Individuen in alten Kulturen warten also nur auf günstige Bedingungen, um sich genau so zu verhalten wie solche Exemplare, die von vornherein unter guten Außenumständen aufgewachsen waren und innerhalb der „normalen“ Zeit von 48 Stunden ihr individuelles Dasein mit der Produktion der Zoosporen abschlossen. Der Pilz scheint also keine morphologisch differenzierten Dauerstadien auszubilden, sondern mit seiner gewöhnlichen Form in der Lage zu sein, ungünstige Außenbedingungen zu überdauern. Das zeigte sich vor allem auch dann, wenn alte Kulturen völlig eingetrocknet und die trockensten, aber besiedelten Fliegen in frische Kulturmedien gebracht wurden. Dann fand auch hier bald eine reiche Zoosporenbildung statt.

Schließlich wäre noch zu berichten, daß sich der Pilz auch auf Agarnährböden kultivieren läßt. Er schreitet aber hier niemals zur Ausbildung von Zoosporen.

Kurz zusammengefaßt ergibt sich folgende Diagnose des Pilzes:

Rhizidiomyces bivellatus nov. spez.

Die keimende Schwärmspore wächst innerhalb von 48 Stunden zu einem einzelligen, dem Nährmedium mit einem oder mehreren reichverzweigten Rhizoiden ansitzenden, kugeligen Vegetationskörper von 80 bis 100 μ Durchmesser heran. Bei der Vermehrung wächst auf der vom Substrat abgekehrten Seite ein bis zu 300 μ langer und 10 μ dicker Schlauch hervor, durch den das Plasma des Pilzes ausfließt; es bleibt vor der Mündung dieses Entleerungshalses als große Kugel liegen, die von einer zarten Haut umgeben ist und durch letztere auch noch mit

dem Entleerungshals verbunden bleibt. In dieser Kugel differenziert sich das Plasma zu Zoosporen, die in heftige, wimmelnde Bewegung geraten, die zusammenhaltende Haut zerreißen und mit gleichförmigen Bewegungen fortschwärmen. Die Zoosporen sind länglich, ellipsoid, etwa 8 μ lang und 6 μ breit und haben eine etwa 20 μ lange, nach vorn gerichtete Geißel. Sexualität ist nicht beobachtet worden. Nicht zur Schwärmerbildung gelangte Pflänzchen stellen anscheinend Dauerformen dar. Der Pilz ist befähigt, in jungen Stadien zwei Membranen auszubilden, daher der Artnamen *bivellatus*. Die innere, im Laufe der Entwicklung vergehende Membran besteht aus Chitin, die äußere, bleibende Membran — sowie der Entleerungshals — aus Cellulose. Der Pilz wurde aus Erdproben aus dem tropischen Süd- und Mittelamerika und aus Jugoslawien isoliert und wächst sehr gut als Saprophyt auf Fliegenleichen. Auf Agarnährböden läßt er sich ebenfalls kultivieren, schreitet hier aber nicht zur Ausbildung von Zoosporen.

Von dem von Zopf (1884) entdeckten und von Coker (1923) wieder gefundenen *Rhizidiorhynchus apophysatus* unterscheidet sich unser Pilz in der Hauptsache durch die fehlende Ausbildung einer Apophyse; außerdem sind auch die natürlichen Standorte der beiden Arten verschieden: *apophysatus* auf Oogonien von *Saprolegniaceae*, *bivellatus* in Erde.

IV. Allgemeiner Teil.

Auf Grund seiner Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung der Pilzmembran ist F. von Wettstein (1921), wie schon oben in der Einleitung erwähnt, zu dem Schluß gekommen, daß Chitin und Cellulose sich in ihrem Vorkommen gegenseitig ausschließen. Da von Wettstein die Pilze durch Chlorophyllverlust aus Algen entstanden denkt, betrachtet er die cellulosehaltigen Vertreter als phylogenetisch jung, die chitinhaltigen dagegen als stärker abgeleitete, schon vor längerer Zeit entstandene und sekundär veränderte Formen.

Die *Oomycetes* mit ihren Cellulosemembranen könnten demnach nicht auf Vorfahren mit Chitinmembranen zurückgehen. Durch die neueren entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen an den *Blastocladiaceae* (Kniep, 1929/30, Harder und Sörgel, 1938) ist nun aber sehr wahrscheinlich geworden, daß Pilze wie *Allomyces* und *Blastocladia* die phylogenetischen Vorläufer der *Monoblepharidaceae* und somit der *Oomycetes* sind. Die morphologischen Beziehungen sind dabei so eng, daß von Wettstein (1933) beide Familien sogar in einer einzigen Ordnung, den *Monoblepharidales*, vereinigt hat. Von Wettstein nahm dabei offenbar an, daß auch die *Blastocladiaceae* Cellulosemembranen wie die *Monoblepharidaceae* besäßen. Tatsächlich haben sie aber, wie schon aus amerikanischen Literaturangaben geschlossen werden durfte, und wie durch die oben geschilderten Untersuchungen einwandfrei erwiesen

worden ist, Chitinmembranen. Deshalb hat auch *Harder* (1936) die beiden Familien getrennt voneinander gelassen.

Diese Schwierigkeit läßt sich nun aber leicht überbrücken durch unsere oben dargelegten Befunde an *Rhizidiomyces bivellatus*, bei dem sowohl Chitin wie Cellulose nebeneinander vorkommen¹. Bei ihm liegt somit hinsichtlich der Ausbildung der Wandstoffe eine „Omnipotenz“ vor. Im allgemeinen haben die Pilze nun aber nur einen einzigen Membranstoff. Das läßt sich durch die Annahme erklären, daß von bestimmten Formen im Laufe der Entwicklungsgeschichte nur die eine Fähigkeit ausgenutzt wurde, Cellulose auszubilden, während andere Pilze nur die zweite Möglichkeit, Chitin aufzubauen, in Anwendung brachten². So lassen sich auch die bisher getrennt eingeordneten Cellulosepilze mit sonst ähnlichen Chitinpilzen ohne Schwierigkeiten in eine Entwicklungsreihe bringen. Das gilt vor allem für die *Blastocladiaceae* und die *Monoblepharidaceae*. Endlich läßt sich auch die Annahme, daß Chitin und Cellulose nicht nebeneinander vorkommen, sondern sich gegenseitig ausschließen, nun nicht mehr länger aufrecht erhalten.

Damit kann dem Chemismus der Zellmembran nicht mehr die bisherige Stellung als ausschlaggebendes systematisches Kriterium eingeräumt werden. Doch soll hiermit natürlich in keiner Weise gesagt sein, daß die chemische Verschiedenheit der Membranen völlig aus den Merkmalen zur Einordnung im Pilzsystem verschwinden müßte.

¹ Ähnliche Fälle wie bei *Rhizidiomyces bivellatus*, bei denen sich die Wände eines Organismus aus mehreren Membranen aufbauen, die aus verschiedenen Stoffen bestehen, sind auch sonst bei Thallophyten bekannt. So berichtet beispielsweise von *Wettstein* (1921), daß bei gewissen *Cyanophyceae* die Innenschicht der Hüllgallerte aus Cellulose bestehen kann, während sich die restliche Hüllgallerte aus den bei den *Cyanophyceae* üblichen Pectinstoffen zusammensetzt. Nach *Palik* (1936) gibt es *Algen*, bei denen zwei Zellwandschichten vorhanden sind, von denen die äußere Schicht aus Cellulose, die innere aus Pectin besteht. *Savulesku* (1935) schreibt, daß sich die Membran von *Nigrospora* um ein Skelett aus Chitin aus Kallose aufbaut, der eine äußere Schicht von Fettsäuren aufliegt. Und *Thomas* (1930) berichtet für *Sclerotinia*, daß außen auf der Chitinmembran des Pilzes ein Mantel aus einem kalloseähnlichen Kohlehydrat aufgelagert ist; bei diesem Pilz herrschen also in der chemischen Beschaffenheit der beiden Membrankomponenten ganz ähnliche Verhältnisse wie bei *Rhizidiomyces bivellatus*, nur daß es sich bei diesem letzten Pilz nicht um Chitin und Kallose, sondern um Chitin und Cellulose handelt. — ² Mit einer „Omnipotenz“ des Organismus“ hinsichtlich der Wandbildung ließe sich z. B. auch im Tierreich das unvermittelte Auftreten der „pflanzlichen“ Cellulose als Gerüstsubstanz bei den Tunicaten erklären, das sonst ohne jede Parallele in der Zoologie dasteht. Und gleichzeitig läge auch darin ein Hinweis dafür, wie das im Tierreich weit verbreitete Chitin plötzlich in ausgedehntem Maße bei den Pilzen auftritt.

Andererseits ist nun aber auch die Schwierigkeit beseitigt, eine zusammenhängende Entwicklungsreihe von den *Chytridiaceae* über die *Blastocladiaceae* zu den *Monoblepharidaceae* anzunehmen.

Eine entsprechende oder ähnliche Entwicklungsreihe wird von manchen Autoren [Atkinson (1915), Guilliermond (1928) u. a.] auch für den Übergang von den *Phycomycetes* zu den *Ascomycetes* angenommen. Auch hier haben aber unsere Membranuntersuchungen an Hefen und niederen *Ascomycetes* gezeigt, daß an dieser Übergangszone von den niederen zu den höheren Pilzen durchaus keine Einheit in der Zusammensetzung der Membranen vorhanden ist¹. Auf Grund unseres Befundes an *Rhizidiomyces bivellatus* kann in dieser verschiedenen Membranreaktion nun aber auch kein störendes Element mehr für die Annahme einer Entwicklungsreihe von den *Phycomycetes* zu den *Ascomycetes* erblickt werden. Doch ist die von Schmidt (1936) ausgesprochene Vermutung hinfällig, daß alle *Sproßhefen* kein Chitin besäßen, während die *Mycelhefen* mit Chitinmembranen ausgerüstet wären. Der Chemismus der Membran ist also auch für die Hefensystematik kein Kriterium.

Im ganzen betrachtet kann man unsere Ergebnisse als Stütze für die Auffassung werten, daß *größere* zusammenhängende Entwicklungsreihen unter den Pilzen vorhanden sind als die Vertreter der Lehre von der polyphyletischen Abstammung der Pilze aus Algen sie annehmen.

Zusammenfassung.

Als Beitrag zur Klärung der verwandtschaftlichen Beziehungen unter den Pilzen wurden Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung der Pilzmembranen gemacht; dabei wurden solche Pilzgruppen bevorzugt, deren systematische Stellung verhältnismäßig unsicher ist.

Bei *Chytridiaceae* und *Blastocladiaceae* besteht die Membran aus Chitin, bei den *Oomycetes* aus Cellulose. Trotzdem braucht eine entwicklungsgeschichtliche Reihe von den *Chytridiaceae* über die *Blastocladiaceae* zu den *Oomycetes* nicht ausgeschlossen zu sein, denn in der neuen Art der *Chytridiaceae* *Rhizidiomyces bivellatus* (die näher beschrieben wird) kommen Chitin und Cellulose nebeneinander vor.

Dadurch wird die bisherige Anschauung, daß der Chemismus der Pilzmembran für die Einordnung im Pilzsystem von ausschlaggebender Wichtigkeit ist und die damit verbundene Bewertung der Cellulose- und Chitinpilze, in Frage gestellt. Infolgedessen läßt sich auch die bisherige scharfe Trennung von Chitin- und Cellulosepilzen nicht mehr aufrechterhalten.

¹ Auch die zur Ausbildung von Sproßformen befähigten Pilze haben keine einheitlichen Membranen.

Die *Ascomycetes* zeigten mit Ausnahme mehrerer *Saccharomycetes* und einiger damit verwandter niederer *Ascomycetes* Chitinmembranen. In gewissen *Saccharomycetes*, die normalerweise nur zum Sprossungswachstum befähigt sind, wurde zum ersten Male Chitin als Wandsubstanz nachgewiesen. Dasselbe gilt für Hefen, die zu den *Endomycetes* gehören. Für die *Hefen* ist somit der Chemismus der Zellmembran kein systematisches Merkmal.

Eine Übersicht über die Mehrzahl der Untersuchungen ist in den Tabellen auf S. 524 und 532f. gegeben.

Literatur.

- Ashby, S. F.*, u. *W. Nowell*, Ann. of Bot. **40**, 69, 1926. — *Atkinson, G. F.*, Ann. Miss. Bot. Gard. **2**, 315, 1915. — *Coker, W. C.*, Univ. of North Carolina Press, 1923. — *Guilliermond, A.*, Rev. Gén. Bot. **40**, 1928. — *Derselbe*, C. r. Acad. Sci. **200**, 1935. — *Derselbe*, Rev. de Mycologie **1** (N. S.), 115, 1936. — *Gwynne-Vaughan, H. C. I.*, u. *B. Barnes*, The Structure and Development of the Fungi. Cambridge, 1937. At the University Press. *Harder, R.*, Lehrbuch der Botanik für Hochschulen, bearbeitet von *Fitting, Sierp, Harder* u. *Karsten*, 19. Aufl. Jena, Fischer, 1936. — *Derselbe*, Nachr. v. d. Ges. d. Wiss. zu Göttingen, Math.-phys. Kl., Fachgr. VI (Biol.), N. F., **3**, Nr. 9, 1937. — *Derselbe*, Lehrbuch der Botanik für Hochschulen, bearbeitet von *Fitting, Sierp, Harder* u. *Firbas*, 20. Aufl. Jena, Fischer, 1939. — *Harder, R.*, u. *G. Sörgel*, Nachr. v. d. Ges. d. Wiss. zu Göttingen, Math.-phys. Kl., Fachgr. VI, (Biol.) N. F. **3**, Nr. 5, 1938. — *Hopkins*, Transact. of the Wisc. Acad. **24**, 187, 1929. — *Kanouse, B. B.*, Amer. J. of Bot. **14**, 287, 1927. — *Kniep, H.*, Ber. d. Deutsch. bot. Ges. **47**, 199, 1929/30. — *Palik, P.*, B. B. C. IV. A., 423, 1936. — *Petersen, H. E.*, Ann. mycol. **8**, 494, 1910. — *Savulescu, Tr.*, Bot. Zentralbl. **26**, 206, 1935. — *Schmidt, M.*, diese Zeitschr. **7**, 241, 1936. — *Sörgel, G.*, Zeitschr. f. Bot. **31**, 401, 1937. — *Stüben, H.*, Über Entwicklungsgeschichte und Ernährungsphysiologie eines neuen niederen Phycomyceten. Dissert. Göttingen, 1939. — *Thomas, R. C.*, Amer. J. of Bot. **17**, 779, 1930. — *Wettstein, F. von*, Sitzungsber. Akad. d. Wiss. Wien, Math.-naturw. Kl., Abt. 1, **130**, 1, 1921. — *Wettstein, R. von*, Handbuch der systematischen Botanik, 4. Aufl. Leipzig u. Wien, Franz Deuticke, 1933. — *Wisselingh, G. van*, Jahrb. f. wiss. Bot. **31**, 619, 1897. — *Derselbe*, Handb. d. Pflanzenanatomie **3/2**, 1925; Die Zellmembran. Berlin, Gebr. Bornträger, 1925. — *Zopf, W.*, Nova Acta Acad. C. Leop. Car. G. Nat. Cur. **47**, 143, 1884. — *Zycha, H.*, Mucorineae, Kryptogamenflora der Mark Brandenburg, VIa. Leipzig, Gebr. Bornträger, 1935.