Untersuchungen über das Verhalten einiger Pilze gegen Hemizellulosen.

Von **H. C. Schellenberg**, Zürich.

Bereits ältere Untersuchungen über parasitische Pilze haben das Resultat ergeben, daß einzelne unter ihnen vermögen die pflanzliche Zellmembran zu durchbohren und einzelne Schichten der Zellmembranen herauszulösen. Ich brauche nur an die Untersuchungen Kühns[1]) über die Brandpilze zu erinnern, oder an die Studien der Gebrüder Tulasne[2]) über die Rostpilze und de Barys[3]) über die Peronosporeen. In allen diesen Fällen wurde der Nachweis geleistet, daß der Pilz die Oberhaut zu durchbohren vermag, um in den Pflanzenkörper einzudringen.

Von vielen Pilzen ist bekannt, daß sie besonders die Membranen der Pflanzenkörper zerstören. Durch die klassischen Untersuchungen von R. Hartig[4]) wurde über die Zersetzungserscheinungen der Hölzer durch Pilze Aufschluß gegeben. In einer Reihe von Arbeiten über die pathologisch-anatomischen Veränderungen der erkrankten Pflanzenteile finden sich zahlreiche zerstreute Angaben über die Auflösung von Membranen durch Pilze. Dagegen findet man sehr wenige Angaben, die über die Qualität der von den Pilzen aufgelösten Membranen etwas näheres enthalten.

Die neuere Forschung über die Zusammensetzung der Zellmembranen hat aber ergeben, daß im Pflanzenkörper verschiedene Zelluloseformen sich vorfinden. Man kann diese Celluloseformen mit E. Schulze[5]) nach zwei verschiedenen Richtungen gruppieren:

1. Nach den Abbauprodukten. Es hat sich gezeigt, daß einzelne Membranen verschiedene Zuckerarten bei deren Abbau liefern. So sind neben Dextrose und Laevulose noch Mannose, Galaktose, Arabinose, Xylose als Abbauprodukte von Membranen aufgefunden worden.

---

1) J. Kühn, Die Krankheiten der Kulturgewächse und ihre Verhütung, 1858.

2) Tulasne, Mémoire sur les Uredinées, I et II. Ann. d. sc. nat., 4 S., Tome II.

3) De Bary, Recherches sur les champignons parasites. Ann. d. sc. natur., 4 S., Tome XX, 1863.

4) R. Hartig, Die Zersetzungserscheinungen des Holzes der Nadelholzbäume und der Eiche. Berlin 1878.

5) E. Schulze, Zur Chemie der pflanzlichen Zellmembranen, I, II u. III. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIV, XVI, XIX.

2. Nach der Löslichkeit in Säuren. Die einen Formen werden erst durch kochende konzentrierte Säuren angegriffen, während andere bereits durch ganz verdünnte Säuren gelöst werden. Demgemäß unterscheidet E. Schulze echte Zellulosen von den Hemizellulosen.

Von vornherein ist es unwahrscheinlich, daß gegen diese verschiedenen Zelluloseformen die Pilze sich gleich verhalten. Vielmehr muß man nach Analogie des Verhaltens der Pilze gegenüber anderen Stoffen annehmen, daß auch hier von den einzelnen Pilzen eine strenge Auswahl getroffen wird und nur bestimmte Zellulosearten von ihnen angegriffen werden.

Freilich steht diese Auffassung, wonach die Pilze sich gegen die verschiedenen Zelluloseformen auch verschieden verhalten sollen, im Widerspruch mit der heute herrschenden Anschauung über die Auflösung der Zellmembranen durch Fermente. Ganz allgemein werden die zellwandlösenden Fermente als Zytasen bezeichnet. Ganz allgemein wird aber angenommen, daß die Zytasen alle Zelluloseformen zu lösen vermögen. Ich brauche hier nur an die Arbeiten von Brown und Morris[1]), Grüß[2]), Reinitzer[3]), M. Ward[4]) und anderen zu erinnern. Nur Bourquelot und Hérissey[5]) nehmen ein besonderes Ferment, die Seminase an, das die leicht löslichen Zellwände der Leguminosensamen zu lösen vermag und verschieden von der Zytase sein soll.

Wenn nun ein Pilz Zytase ausscheidet und dieses Ferment alle Zellulosen gleicht löst, so müßten auch alle Zellwände und Zellwandschichten gleichmäßig aufgelöst werden. Das findet aber nicht statt, wie das Studium der Wachstumsweise der parasitischen Pilze zur Genüge zeigt.

Ich stellte mir deshalb die Aufgabe, diese Auflösung der Zellmembranen durch die Pilze einem erneuten Studium zu unterziehen, und zwar in der Absicht, Anhaltspunkte für das verschieden Verhalten der parasitischen Formen in den Wirtpflanzen zu gewinnen. Die strengen Parasiten, wie die Peronosporeen, Uredineen, Erysipheen

1) Brown and Morris, Researches on the Germination of some of the Gramineae. Journ. of the Chemical Society 1890, Vol. LVII.

2) J. Grüß, Über die Einwirkung der Diastasefermente auf Reservezellulose. Ber. d. Deutschen bot. Gesellsch. 1894, Bd. XII.

3) F. Reinitzer, Über das zellwandlösende Enzym der Gerste. Zeitschr. f. physiol. Chemie 1887, Bd. XXIII, Heft 2.

4) M. Ward, On a lily disease. Ann. of Botany 1888, Vol. II.

5) Bourquelot et Hérrissey, Sur les ferments solubles produits pendant la germination par les graines a albumen corné. Comptes rendus 1900, pag. 40; ferner: Sur l'individualité de la seminase etc. Comptes rendus 1900, pag. 340.

bieten die große Schwierigkeit, daß sie sich nicht auf toten Substraten von bekannter Zusammensetzung kultivieren lassen. Solange das nicht möglich wird, ist man zum Studium dieser Formen nur auf Vergleiche mit weniger strengen Parasiten angewiesen, die auch auf toten Substraten von bekannter Zusammensetzung noch gedeihen. Die zu untersuchenden Pilze mußten immer in Reinkultur verwendet werden, wollte man vor Trugschlüssen sicher sein.

Die verwendeten Pilze.

Diese habe ich alle von Orten ihres natürlichen Vorkommens übergeimpft und sie auf geeigneten Gelatineplatten rein kultiviert. Absichtlich habe ich keine Kulturen von anderen Orten bezogen, wo diese Pilze in Reinkulturen auf Gelatine oder anderen künstlichen Nährböden zum Teil schon ansehnliche Zeiten immer übergeimpft werden. Würden die Pilze im Laufe der Generationen sich allmählich an das Nährsubstrat anpassen, so wäre hier zu erwarten, das auch ihr Lösungsvermögen für verschiedene Zellulosearten sich mit der Zeit ändern müßte. Es müßten die Resultate mit solchen seit langer Zeit künstlich kultivierten Pilze andere sein als von solchen, die erst seit kurzem von ihrem natürlichen Substrate abgeimpft worden sind. Da eine solche Einwendung nicht als unberechtigt von der Hand gewiesen werden kann, habe ich vorgezogen, den mühevolleren Weg für die Untersuchung einzuschlagen und die Pilze selbst rein zu züchten.

Die Zahl der untersuchten Pilze ist leider nur eine kleine. Auf der einen Seite, ist es mir mit meinen bescheidenen Hilfsmitteln nicht gelungen, von allen gewünschten Formen wirklich Reinkulturen herzustellen, indem immer wieder Verunreinigungen sich in meinen Kulturen zeigten. Auf der andern Seite boten viele Pilze die Schwierigkeit, daß sie auf den verwendeten Nährböden entweder gar nicht keimten oder aber nur zu äußerst spärlicher Entwicklung zu bringen waren. Und schließlich habe ich einige gesuchte Sachen in meiner näheren Umgebung nicht finden können.

Ich konnte zu meinen Versuchen leider nicht jeden beliebigen Nährboden für die Pilzkulturen verwenden. Am besten eigneten sich Flüssigkeiten oder wenig konzentrierte Gelatine. Das Myzel konnte von solchen Nährsubstraten leicht in größeren Flocken auf die Schnitte gebracht werden, ohne daß dadurch die Strukturen des Schnittes so verdeckt worden wären, daß man ihre Veränderungen während der weiteren Entwicklung des Pilzes nicht hätte verfolgen können. Andere

Substrate wie Kartoffeln, Brot, Holz konnte ich nicht gebrauchen, denn in diese Substrate dringt das Myzel ein; seine Übertragung gelingt nicht, ohne daß man Teile des Substrates mit überträgt. Diese aber stören das Bild der Wirkung des Pilzes in der Enzymabsonderung und auch das mikroskopische Bild in einer Objektträgerkultur.

Nun haben aber Pfeffer und Katz[1]) nachgewiesen, daß die Absonderung der diastatischen Enzyme durch Gegenwart größerer Zuckermengen stark gehemmt wird. Auf unseren Fall übertragen, würde zu erwarten sein, daß durch Gegenwart von Zuckerarten (Hexosen oder Pentosen) die Absonderung von Zellulose lösenden Enzymen stark gehemmt wird.

Andererseits kennt man aber von der Hefe die Erscheinung, daß manche Stoffe wie die Maltose, bei schwachem Wachstum und geringen Pilzmengen nicht angegriffen werden, dagegen bei üppigem Wachstum und größeren Pilzmengen in den Stoffwechsel hineingerissen und gespalten werden. Wenn man in den Kulturen den Abbau einer Zellulose studiert, so muß ein lebhaftes Wachstum der Pilze vertreten sein, so wie eine größere Anzahl kräftiger Myzelien. Man erreicht dieses Ziel durch Zusatz von geringen Zuckermengen zu den Nährlösungen. 1—2% Traubenzucker genügen und bei dieser Konzentration ist nach den Pfefferschen Untersuchungen noch keine erhebliche Hemmung der Fermentabscheidung zu beobachten.

Ich habe deshalb bei den Kulturen mit Baumwoll- und Flachsfasern einen geringen Zuckerzusatz von 1—3% zu den Lösungen gemacht, um ein besseres Wachstum der Pilzfäden zu erzielen. Von ruhenden Sporen, eingekapselten Protoplasmen ist keine Auflösung der Zellmembranen zu erwarten. Sie bleibt auch regelmäßig aus und deswegen müssen wir annehmen, daß die Ausscheidung von zellhautlösenden Fermenten nicht eintritt. Die mikroskopische Kontrolle der Versuche ist deswegen unerläßlich, nicht allein um die Auflösung von Membranteilen festzustellen, sondern auch um das Wachstum der Pilze zu prüfen. Die günstigsten Bedingungen gewährte die Kultur im hohlgeschliffenen Objektträger. Von den zu prüfenden Materialien wurden Schnitte angefertigt und im hängenden Tropfen mit der Pilzkultur zusammengebracht. Täglich wurden die Kulturen kontrolliert und am Schlusse wurde das Pilzmaterial auf Reinheit geprüft. Die Schnitte wurden nachher herausgenommen um mit ihnen einige Reaktionen auszuführen. Bei ganz wenigen Kulturen wurde an Stelle von reinem

---

1) Pfeffer und Katz, Sitzungsber. d. sächs. Ges. d. Wissensch. 1896.

Wasser, zuckerhaltiges Wasser für die Kulturen verwendet, um ein besseres Wachstum der Pilze zu veranlassen.

Die Materialien für die Untersuchung.

Für die Untersuchung von reiner Zellulose wurden Baumwoll- und Flachsfasern verwendet. Einige Versuche wurden mit schwedischem Fließpapier angestellt, das aus Holzschliff bestand. Für alle diese Materialien ist von E. Schulze[1]) gezeigt worden, daß sie nur durch konzentrierte Säuren angegriffen werden und bei der Hydrolyse Traubenzucker liefern. Es sind also Objekte, die zu den reinsten Zellulosen gehören, die man kennt. Um geringe Mengen Hemizellulosen zu entfernen, die allfällig vertreten sein konnten, wurden die Baumwoll- und Flachsfasern noch vorher mit verdünnter 3 %iger Schwefelsäure 2 Stunden lang ausgekocht und nachdem sie gut ausgewaschen waren erst für die Versuche weiter verwendet.

Für die Untersuchung der Hemizellulosen verwendete ich Objekte, die in chemischer Beziehung möglichst gut bekannt waren. Im weiteren mußten die Objekte große Mengen Hemizellulosen enthalten und zwar in möglichst gut gekennzeichneten Schichten der Zellwände, denn wenn neben der Hemizellulose noch ansehnliche Mengen echter Zellulose in der gleichen Schicht enthalten waren, ist die Beobachtung der Auflösungserscheinungen erschwert.

Als Vertreter der Gramineen-Hemizellulose wählte ich Molinia coerulea Mönch. In dem basalen angeschwollenen Speicherinternodium ist die Hemizellulose reichlich in den ausgeprägten Verdickungsschichten der Zellen vertreten. Durch Behandlung mit verdünnten Säuren läßt sich diese Verdickungsschicht weglösen, so daß nur die derbe primäre Membran übrig bleibt. Gegenüber Säuren ist sie wenig widerstandsfähig, indem sie bereits durch Kochen in 2 %iger Schwefelsäure gelöst wird. Bei der Hydrolyse liefert sie Dextrose und Xylose nebst wenig Lävulose, wie durch E. Schulze und N. Castoro[1]) gezeigt wurde. Die morphologischen Verhältnisse der Zellen sind einer Untersuchung sehr günstig, indem die Verdickungsschichten gleichartig sind und sich scharf von der derberen Mittellamelle abheben. Diese besteht aus einer echten Zellulose, denn sie wird erst durch Kochen in konzentrierter Schwefelsäure gelöst.

Von den Lupinen, die nach E. Schulze in der Beschaffenheit der in den Samen enthaltenen Hemizellulose nicht voneinder abweichen,

---

1) E. Schulze, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIX.

1) E. Schulze und N. Castoro, Beiträge zur Kenntnis der Hemizellulosen. Zeitschr. f. physiol. Chemie 1903, Bd. XXXIX.

wählte ich Lupinus hirsutus[1]). Bei ihr sind die Wandverdickungen am schönsten ausgebildet und die etwas derbere Mittellamelle hebt sich scharf und deutlich ab. Die Hemizellulose gab bei der Inversion durch Säuren nach Schulzes Untersuchungen Galaktose und Arabinose. Sie geht beim Kochen mit $1^1/_2$ %iger Schwefelsäure leicht in Lösung, wird aber selbst durch 0,1 %ige Schwefelsäure beim Kochen nach längerer Zeit angegriffen. Sie erweist sich demnach gegen die Säuren weniger widerstandsfähig als Kartoffelstärke.

Von den Palmen wählte ich die Dattelkerne. Sie liefern bei der Hydrolyse Galaktose und Mannose[2]). Das Objekt zeigt im anatomischen Bau einfache Verhältnisse und das Studium der Keimung lehrt, daß diese stark verdickten Wände während dieses Prozesses fast völlig gelöst werden. Das Material dieser Zellwände ist somit eine fast reine Hemizellulose, wenngleich zu betonen ist, daß sie gegen Säure sich etwas widerstandsfähiger erweist als die Hemizellulose der Lupine und Molinia. Die bis jetzt untersuchten Palmensamen verhalten sich übereinstimmend wie die Dattelkerne und es kann darum dieses Beispiel für die Gruppe der Palmen als typisch gelten.

Als Beispiele amyloidhaltiger Samen wählte ich Impatiens balsamina und Cyclamen europaeum. Beide enthalten Amyloid in den Endosperm- resp. Cotyledonarwänden. Sie werden bei der Keimung fast ganz weggelöst. Das Amyloid läßt sich durch kochendes Wasser in Lösung bringen und wird durch Alkohol aus den Lösungen gefällt. Mit kochenden verdünnten Säuren wird es sehr leicht in Galaktose und Xylose gespalten, wie E. Winterstein[3]) dargetan hat. Obwohl die Analyse nur für Tropaeolum majus völlig durchgeführt wurde und teilweise für Impatiens, so ist wahrscheinlich, daß das Amyloid aus Cyklamen und Impatiens sich gleich verhält, indem es sich in den mikrochemischen Reaktionen nicht von jenem unterscheidet. Tropaeolum majus konnte ich in den meisten Fällen nicht gebrauchen. Die Sporen mancher Pilze keimen auf solchen Schnitten nicht und das übertragene Mycel zeigt kein Wachstum, eine Erscheinung, die auf Giftwirkung anderer Stoffe im Samen, wahrscheinlich der Senföle, zurückzuführen ist.

---

1) E. Schulze und N. Castoro, Zeitschr. f. physiol. Chemie 1902, Bd. XXXVII.

2) E. Schulze, Beiträge zur Kenntnis der pflanzlichen Zellmembranen. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIV.

3) E. Winterstein, Über das pflanzliche Amyloid. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XVII.

Für eine Anzahl Versuche verwendete ich ferner Samen von Ruscus aculeatus. Das Endosperm besitzt außerordentlich stark verdickte Membranen und an Härte steht es der Steinnuß Phytelephas nicht nach. Da die Pflanze zu den Liliaceen gehört, vermutete ich auch eine andere Zusammensetzung der Hemizellulose als bei den Palmen. Auf meine Veranlassung wurde diese Hemizellulose von Dr. N. Castoro[1]) im Laboratorium von Prof. Dr. E. Schulze untersucht. Sie lieferte bei der Inversion fast ausschließlich Mannose neben wenig Arabinose. Gegen Säuren erweist sich diese Hemizellulose etwas widerstandsfähiger wie die der Palmensamen. Sie geht beim Kochen mit 5 %iger Schwefelsäure in Lösung mit Chlorzinkjod nimmt sie einen ziegelroten Farbenton an. Bei der Keimung der Samen wird sie ganz gelöst. Die Mittellamelle ist wenig ausgeprägt und wird bei der Keimung ebenfalls gelöst.

Das Verhalten der Pilze.

1. Mucor racemosus Fr.

Auf Pferdemistkulturen wurde dieser Vertreter der Mucorineen erhalten. Er wurde auf Gelatineplatten übergeimpft und erst von diesem wurde das reine Material in die Objektträgerkulturen mit den Zellulosen übertragen. Der Erfolg der Kulturen ist in nachstehender Übersicht enthalten:

Baumwollfasern . . .	—	Mit wenig Zuckerwasser gut gewachsen
Leinfasern	—	„ „ „ „ „
Molinia coerulea . . .	+	Ohne Zucker kräftige Entwicklung
Phoenix dactylifera . .	—	„ „ „ „
Ruscus aculeatus . . .	—	„ „ gute „
Lupinus hirsutus . . .	—	„ „ „ „
Impatiens balsamina . .	—	„ „ „ „
Cyclamen europaeum .	—	„ „ „ „
Tropaeolum majus . .	—	„ „ schlechte „

Wie zu ersehen ist vermochte der Pilz die Hemizellulose von Molinia coerulea Mönch aufzulösen; dagegen löste er reine Zellulosen nicht und ebenfalls wurden Hemizellulosen der anderen Versuchsobjekte intakt gelassen. In allen Kulturen mit Ausnahme von Tropaeolum entwickelte sich der Pilz gut und erzeugte reichlich Chlamydosporen und Sporangien. Es kann somit unmöglich das Fehlen der Auflösung auf ungenügendes Wachstum des Pilzes zurückgeführt werden.

1) N. Castoro, Beiträge zur Kenntnis der Hemizellulosen. Zeitschr. f. physik. Chemie 1906, Bd. XLIX, pag. 100.

Die Kulturen mit Tropaeolum majus zeigten ein eigenartiges Verhalten. Auf frischen Schnitten, die mit gewöhnlichem Wasser oder mit Zuckerwasser angesetzt worden waren, keimten die Sporen erst nach 3—4 Tagen und entwickelten sich schlecht, eine Erscheinung, die auch bei der Kultur mit anderen Pilzen sich zeigte. Wurden die Schnitte hingegen mit kaltem Wasser vorher, während 3—4 Stunden ausgelaugt, so erfolgte die Keimung der Sporen viel früher und der Pilz entwickelte seine Mycelien besser. Ich muß annehmen, daß die Keimung der Pilzsporen durch eine Substanz verhindert wird, welche durch das Wasser extrahiert werden kann.

Alle Versuche zeigten, daß auch bei ordentlicher Entwicklung des Pilzes die Zellwand durch Mucor racemosus nicht gelöst wird. Die Blaufärbung der Membran durch Jod war bei Tropaeolum, Impatiens und Cyclamen immer noch gleich deutlich wie vor der Behandlung durch die Pilze zu beobachten.

Die Auflösung der Verdickungsschichten in der Molinia durch Mucor racemosus ist etwas verschieden von der Auflösung dieser Schichten bei normalen Entleerung des Organes. Es fehlen die Korrosionsfiguren, hingegen tritt die Lösung in zwei verschiedenen Zonen auf. Zuerst bildet sich außen eine weniger dichte Zone, die sich nach innen allmählich vergrößert und dann erst wird diese äußere Zone auch gelöst. Die Substanz der Verdickungsschicht wird vollständig weggelöst, dagegen bleibt die Mittelamelle immer ungelöst zurück. Auch gegen Säuren ist diese Mittellamelle recht resistenzfähig; sie löst sich nur in konzentrierten Säuren und besteht somit aus einer echten Zellulose. Der Pilz macht somit den feinen Unterschied zwischen der Hemizellulose und der echten Zellulose. Nach der Wirkung des Pilzes bleibt das gleiche Netz der Mittellamellen zurück, wie nach dem Auskochen mit verdünnten Säuren. Demnach vermag der Pilz auch die echte Zellulose der Gräser nicht anzugreifen. In günstigen Kulturen kann bereits 2 Tage nach der Sporenaussaat der Beginn der Lösung beobachtet werden; sie war in den Objektträgerkulturen mit den dünnen Schnitten am 6. und 7. Tage vollendet.

Bei Lupinus hirsutus zeigten die Kulturen nur ein Aufquellen der Membranen; eine eigentliche Lösung trat selbst nach 8 Tagen nicht ein, trotzdem der Pilz sich üppig entwickelte.

Aus der Versuchsserie geht somit hervor, daß Mucor racemosus besonders auf die Lösung der Hemizellulose der Gräser eingerichtet ist. Das erklärt auch sein Vorkommen in der freien Natur auf faulendem Stroh, Mist usw.

2. Mucor globosus A. F.

Von einer faulenden Erbse isolierte ich einen Mucor, der mit der Fischerschen Diagnose für Mucor globosus übereinstimmte[1]). In der Kultur auf der Gelatine bildet er ein schmutziggelbes Myzel mit lang gestielten Sporangien, die racemös verzweigt sind. Die Sporangien sind kugelig, grau und messen 70 μ, die Columella ist glatt, schwach birnförmig, 40—50 μ lang, die Sporen oval, farblos, 10—12 μ lang. Chlamydosporen fehlen in den üppigen Gelatinekulturen. Auf die verschiedenen hemizellulosehaltigen Materialien verbracht zeigt er folgendes Verhalten:

Leinfaser	—	Mit Zuckerwasser gut gewachsen
Baumwollfaser	—	„ „ „ „
Molinia	++	Ohne Zucker üppige Entwicklung
Lupinus hirsutus . . .	+	„ „ „ „
Phoenix dactylifera . .	—	„ „ mittlere „
Ruscus aculeatus . . .	—	„ „ „ „
Impatiens balsamina .	(+)	„ „ gute „

Der Pilz vermag keine Zellulose zu lösen; dagegen löst er verschiedene Hemizellulosen gut auf. Bei Molinia geht die Abschmelzung der Verdickungsschicht rasch vor sich. Es bleibt die Mittellamelle zurück, völlig intakt; ein Befund, der nur die Unfähigkeit des Pilzes, echte Zellulose zu lösen, besser demonstriert.

Bei Lupinus geht die Lösung sehr langsam vor sich. Der Pilz löst zuerst die Mittellamellen, die einzelnen Zellen werden frei und dann erst geht langsam die Lösung der Verdickungsschichten unter verquellen vor sich, bis zuletzt alle Teile der Membran in Lösung getreten sind.

Bei Impatiens Balsamina zeigt die Lösung eine merkwürdige Erscheinung. Es werden am Rande die einzelnen Zellen langsam isoliert, indem die Mittellamelle sich löst, dann bemerkt man aber, daß auch die Verdickungsschichten der Wandung langsam zerfallen. Macht man nun mit Jod die Amyloidreaktion, so zeigt sich, daß in der Nähe der Schnitte eine außerordentlich große Menge sehr kleiner Körnchen sich befinden, die mit Jod die bekannte, für das Amyloid charakteristische Blaufärbung geben, genau wie die intakten Verdickungsschichten der Impatienszellen. Daraus läßt sich nur ein einziger Schluß ziehen: Der Pilz löst die Grundsubstanz, aus welcher die Mittellamelle hauptsächlich besteht und in den Verdickungsschichten gewissermaßen die Grundmasse bildet, in welche das Amyloid eingelagert ist, auf. Dadurch werden die zahlreichen Amyloidpartikelchen frei und können in der umgebenden

1) A. Fischer, Phycomyceten in Rabenhorsts Kryptogamenflora, pag. 202.

Flüssigkeit sich zerstreuen. Dieses Amyloid wird von dem Pilz entweder nur sehr schwer oder gar nicht gelöst, deswegen bleiben die Körnchen intakt und sind selbst in alten Kulturen nach drei Wochen noch zu finden. Daß die Substanz der Körnchen wirklich aus Amyloid besteht, zeigt die Jodreaktion. In den zum Versuche angewendeten Impatienszellen war keine Stärke vorhanden; es konnten somit diese Körnchen nicht aus Stärkesubstanz hervorgegangen sein.

Es müssen somit deutlich zwei verschiedene Wirkungen von einander unterschieden werden bei der Lösung der Zellwand von Impatiens. 1. Die Lösung der mit wässeriger Jodlösung nicht reagierenden Grundsubstanz und der Mittellamelle, die sich gleich verhält, und 2. die Lösung des Amyloides, das in diese Grundsubstanz eingelagert ist. Mucor globosus Fischer löst die Grundsubstanz, während er das Amyloid zurück läßt.

3. Mucor neglectus Vuill.

Von einer angefaulten Bohne impfte ich diesen Pilz auf Gelatineplatten, wo er sich üppig entwickelte und reichlich Sporangien bildete. Es ist offenbar eine Mucorart, die sich an der Zersetzung allerlei organischer Substanz betätigt. In den Kulturen auf Hemizellulose gab er folgendes Resultat:

Baumwollfaser	—	Mit Zuckerzusatz Wachstum gut
Leinfasern	—	
Molinia	—	Wachstum gering
Lupinus hirsutus . .	+++	Wachstum sehr gut
„ albus . . .	++	
Phoenix dactylifera . .	—	Wachstum gut
Ruscus aculeatus . . .	—	
Impatiens balsamina .	+	
Cyclamen europaeum .	+	

Der Pilz löst, wie die andern untersuchten Mucorineen, keine echte Zellulose auf, dagegen löst er energisch die Hemizellulosen der Lupine und der amyloidhaltigen Samen. Bei den Lupinen löst er alles bis an die Samenschale, die Mittellamelle geht fast so rasch wie die Verdickungsschichten in Lösung. Auch in der Samenschale werden die Verdickungsleisten der Trägerzellen und Stabzellen teilweise gelöst.

Bei Impatiens und Cyclamen wird die Grundsubstanz wie das Amyloid gelöst. Die Lösung geht rasch vorwärts; in 3—4 Tagen ist alles bis auf die Samenhaut bereits gelöst. Die Lösung beider Teile geht ziemlich parallel. Die Membranen schmelzen unter leichter Aufquellung von außen ab.

Beachtenswert ist, daß die Hemizellulose der Molinia völlig intakt gelassen wird wie diejenige von Phönix und Ruscus.

Das Verhalten zu den Samenschalen zeigt ferner mit aller Deutlichkeit, wie die Kulturen auf Baumwolle und Leinfasern, daß der Pilz echte Zellulosen nicht zu lösen vermag.

4. Mucor piriforme A. F.

Dieser Mucor wurde von einem faulen Apfel abgeimpft und in Gelatine rein kultiviert. Er zeigt gutes Wachstum, verflüssigte die Gelatine und bildete reichlich Sporangien und später auch Chlamydosporen. Wenn er auf die hemizellulosehaltigen Materialien verbracht wurde, gab er folgendes Resultat:

Baumwollfasern . . .	—	Mit Zuckerwasser gutes Wachstum
Leinfasern	—	
Molinia	—	Wachstum gut
Lupinus hirsutus . . .	+++	Wachstum sehr üppig
Phoenix dactylifera . .	—	Wachstum gut
Ruscus aculeatus . . .	—	
Impatiens balsamina . .	+	

Der Pilz zeigt somit ein ähnliches Verhalten wie Mucor neglectus. Er löst nur die Lupinen- und Impatienshemizellulose, während die reine Zellulose sowie die Hemizellulose von Molinia, Phönix und Ruscus unverändert bleibt.

Immerhin zeigen sich im Verhalten beider Pilze kleine Differenzen. Die in Frage stehende Spezies löst bei Lupinus die Verdickungsschichten schneller als die Mittellamellen. Desgleichen werden die derberen Formen der Hemizellulosen in der Samenschale speziell in Stab- und Trägerzellen weniger leicht angegriffen. In dem sechs Tage dauernden Versuch waren sie noch intakt geblieben.

Bei Impatiens wird die Mittellamelle früher gelöst, indem die einzelnen Zellen aus dem Verband fallen. In den Verdickungsschichten findet ein Abschmelzen der Wandsubstanz statt, wobei die mit Jod sich nicht blau färbende Substanz früher gelöst wird. In der Umgebung der Membran färbt sich auf Jodzusatz auch die Flüssigkeit blau. Die mit Jod sich bläuende Substanz wird darum weniger leicht in Lösung gebracht, wenn sie schließlich doch auch aufgebraucht wird.

5. Rhizopus nigricans Ehrenberg.

Diese weit verbreitete Mucorine impfte ich von einem Stück stark verschimmelten Brotes ab. Er läßt sich auf Mostgelatine sehr leicht kultivieren und schreitet sehr bald wieder zur Bildung neuer Sporangien. Er verflüssigt die Gelatine. In der Natur findet er sich häufig auf faulenden krautigen Stengeln und bewirkt dort eine ganz charakteristische Fäulnis. Auf Hemizellulosen verbracht zeigt er ein verschiedenes Verhalten. In nachstehender Übersicht ist das Resultat der Kulturversuche zusammengestellt.

Fließpapier	—	Mit Zuckerwasser Wachstum gut
Leinfasern	—	
Baumwollfasern . . .	—	
Molinia	—	Wachstum gut
Lupinus hirsutus . . .	++	Wachstum sehr üppig
„ albus . . .	++	
Phoenix dactylifera . .	—	Wachstum gut
Ruscus aculeatus . . .	—	
Impatiens balsamina .	+	
Cyclamen europaeum .	+	

Hier zeigt sich auch wieder, daß dieser Pilz nur Hemizellulosen löst, die echten Zellulosen aber intakt läßt. Auch das Lösungsvermögen für Hemizellulosen ist nicht allgemein, sondern nur bestimmte Formen werden von dem Pilz ergriffen. Besonders leicht wird die Lupinenhemizellulose ergriffen. Innerhalb 24 Stunden sind deutliche Lösungsfiguren zu sehen und nach 40 Stunden war der größte Teil der Substanz der Schnitte gelöst. Die Lösung geht unter Anquellen der Substanz vor sich; weder Korrosionsfiguren noch partielle Lösungserscheinungen sind sichtbar. Die innere derbere Schicht widersteht der Lösung etwas länger, ebenso die äußerste Zellschicht der Cotyledonen, beide werden aber nach längerer Einwirkung vom Pilz in Lösung gebracht. Ebenso löst der Pilz in den Träger- und Stabzellen die Hemizellulose heraus.

Auch bei Cyclamen und Impatiens löst der Pilz energisch die Verdickungsschichten auf. Sowohl das Amyloid als auch die Grundsubstanz, in welche dasselbe eingelagert ist, werden gelöst, so daß am Ende des Lösnngsprozesses nur noch die gebräunten Zellwände der Samenhaut übrig bleiben.

Weder Moliniahemizellulose noch diejenige der Dattel werden von Rhizopus nigricans gelöst. Der Pilz zeigt eine Spezialisation auf Lupinen und Impatiens in seinem Lösungsvermögen.

6. Thamnidium elegans Link.

Der Pilz wurde von Pferdemist auf Gelatineplatten übergeimpft. Er verflüssigt die Gelatine nicht und bildet reichlich Sporangienträger. Auf den verschiedenen Materialien zeigt er folgendes Verhalten:

Fließpapier	—	Mit Zuckerzusatz Wachstum mittel
Leinfasern	—	
Baumwollfasern . . .	—	
Molinia	—	Wachstum gut
Lupinus hirsutus . . .	++	Wachstum sehr gut
„ albus	++	„ „ „
Phoenix dactylifera . .	—	Wachstum mittel
Ruscus aculeatus . . .	—	
Impatiens balsamina .	+	Wachstum gut
Cyclamen europaeum .	+	

Der Pilz zeigt ein gutes Lösungsvermögen für die Hemizellulosen der Lupine. Bereits nach 3 Tagen war in den Schnitten die größte Masse der Verdickungsschichten gelöst. Die Mittellamellen widerstehen der Lösung etwas länger, werden aber ebenfalls nach längerer Zeit gelöst. Ebenso werden die Verdickungsschichten der Stab- und Kurzzellen der Samenschale nach längerer Zeit in Lösung gebracht. Bei Molinia, Phoenix, Ruscus war selbst nach 10 Tagen keine Spur von Lösung der Hemizellulose zu beobachten.

Bei Impatiens balsamina und Cyclamen europaeum löst der Pilz des Amyloid und die Grundsubstanz, in der es eingebettet ist, auf. Die Membran wird langsam abgeschmolzen. Selten lösen sich einzelne Zellen aus dem Verbande los und in der Kulturflüssigkeit läßt sich auch keine Substanz nachweisen, die mit Jod allein blau wird. Die Lösung der Grundsubstanz und des Amyloides geht darum annähernd gleich rasch vor.

7. Penicillium glaucum I.

Der Pilz wurde von einem faulen Apfel auf Mostgelatineplatten übergeimpft, wo er sich üppig und rasch entwickelte. Die Gelatine wurde durch diesen Pilz nicht verflüssigt. Der Erfolg der Kulturen mit Bezug auf die Auflösung der Membranen war folgender:

Baumwollfasern . . .	—	Mit Zuckerwasser Entwicklang üppig
Leinfasern	—	
Fließpapier	—	
Molinia coerulea . . .	—	Ohne Zuckerwasser Entwicklung gut
Phoenix dactylifera . .	—	
Phytelephas macrocarpa	—	
Ruscus aculeatus . . .	—	
Lupinus hirsutus . . .	—	
,, albus	—	
Impatiens balsamina .	—	
Cyclamen europaeum .	+	

Von Grüß[1]) wurde für Penicillium glaucum angegeben, daß es die Hemizellulose der Dattel zu lösen vermag. Ich kann dieses Resultat in seiner allgemeinen Fassung nicht bestätigen Schon früher hatte ich bei Gelegenheit der Kultur von Primulaceen die Wahrnehmung gemacht, daß die jungen Pflanzen sehr gern von diesem Pilz befallen werden und er auch einzelne Zellwände auflöst. Dieses Verhalten brachte mich auf die Vermutung, daß dieser Pilz die Hemizellulose der Primulaceen auflösen könnte. Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, vermag der Pilz weder die echten Zellulosen noch die meisten Hemi-

1) J. Grüß, Beiträge zur Enzymologie. Festschrift für Schwendener, 1898.

zellulosen aufzulösen. Eine Ausnahme bilden nur die amyloidhaltigen Membranen der Endosperme von Impatiens, Cyclamen und Tropaeolum. Hier vermag der Pilz das Amyloid aus den Membranen herauszulösen, während die Grundmasse der Membran ungelöst zurück bleibt.

Man sieht in den betreffenden Kulturen, daß die Membranen nach einiger Zeit weniger dicht werden. Nimmt man nun einen solcheu Schnitt aus der Kultur heraus und macht die Jodprobe, so bemerkt man, daß diese Membranen entweder nicht mehr blau werden, oder weniger intensiv an den Innenwänden blau werden. In günstigen Stadien kann man sehen, daß z. B. der innere Teil der Verdickung sich noch intensiv mit Jod blau färbt, der äußere Teil der Membran nicht mehr blau wird und bedeutend weniger dicht geworden ist. Im Endstadium der Einwirkung des Pilzes sieht man die Membranen mit ihren normalen Konturen aber weniger dicht als normal und mit Jod sich nicht mehr bläuend. Es ist die derbere Grundsubstanz der Membran, die zurück geblieben ist, während das mit Jod sich bläuende Amyloid herausgelöst wurde.

Die sonst so leicht angreifbare Hemizellulose der Lupinen zeigte bei der Einwirkung von diesem Penicillium nur eine Quellung; eine eigentliche Lösung war nach sechs Tagen noch nicht eingetreten.

8. Penicillium glaucum II.

Aus echtem Roquefortkäse isolierte ich ein Penizillium, das mit Penicillium glaucum übereinstimmt. Dieser Pilz stimmt in seinem Lösungsvermögen für Hemizellulose mit dem vorhergehenden überein. Er vermag das Amyloid zu lösen, läßt aber die übrigen Materialien intakt. Ich führe diesen Befund an um zu zeigen, daß der Nährboden, auf welchem der Pilz gewachsen war, jedenfalls für das Lösungsvermögen des Pilzes für Hemizellulose nicht ausschlaggebend ist. Während dieser Pilz auf Käse sich entwickelte, hätte er gewiß Zeit gefunden, sich dem neuen Nährmedium anzupassen und allfällig andere Eigenschaften zu erlangen als das Penicillum, das auf dem Apfel sich entwickelt hat. Das ist wenigstens für das Lösungsvermögen für Hemizellulosen nicht eingetreten, denn sie stimmen in allen Versuchen mit einander überein.

9. Penicillium glaucum III.

Nachdem Grüß für ein Penicillium gefunden, daß dasselbe auch die Wandverdickungen von Dattelkernen zu lösen vermag, hielt ich es für notwendig, weitere Untersuchungen an Penicillium anzustellen, in-

dem meine ersten Befunde diese Resultate nicht bestätigten. Ich isolierte ein Penizillium von einer Traubenbeere und fand nun in der Tat ein abweichendes Verhalten in dem Lösungsvermögen für Hemizellulosen. Die Kulturen gaben folgendes Resultat:

Baumwolle	—	Mit Zuckerwasser gute Entwicklung
Fließpapier	—	
Molinia	—	Ohne Zucker gute Entwicklung
Lupinus hirsutus . . .	+	„ „ sehr gute Entwicklung
Dattel	+	„ „ „ „ „
Ruscus aculeatus . . .	++	„ „ „ „ „
Impatiens	++	„ „ „ „ „
Cyclamen	+	„ „ „ „ „

Neben dem Lösungsvermögen für Amyloid besitzt dieses Penicillium weiter die Fähigkeit, auch die Hemizellulose der Lupine, der Dattel und von Ruscus aculeatus zu lösen. Es stimmt in seinem Verhalten gegenüber Dattel mit der von Grüß gemachten Angabe über die Auflösung überein. Dagegen ist dieses Penicillium sicher eine andere Spezies als das vorher erwähnte Penicillinm glaucum, trotzdem es im allgemeinen Aussehen mit den vorhergehenden Penizillium übereinstimmt.

Die Lösung der Hemizellulose von Lupinus geht unter schwachem Aufquellen vor und schreitet nur langsam vorwärts. Es werden dabei die derberen inneren Schichten wie die Hemizellulose in den Zellen der Samenschale aufgelöst.

Bei der Dattel findet eine Abschmelzung der Schichten ohne Aufquellung statt. Auch zeigt sich keine besonders differenzierte Lösungszone. Der gleiche Vorgang zeigt sich auch bei der Lösung der Hemizellulose von Ruscus aculeatus. Die derberen äußeren Schichten werden in gleicher Weise wie die Verdickungsschichten gelöst und eine Trennung der einzelnen Zellen findet nicht statt.

Bei Impatiens und Cyclamen wird das Amyloid aus der Grundsubstanz der Membran herausgelöst und später erst wird auch die Grundsubstanz noch angegriffen.

Die echte Zellulose der Samenschalen wie von Baumwolle und Fließpapier wird intakt gelassen.

10. Sklerotinia fructigena und cinerea Schroeter.

Diese beiden nahe verwandten Pilze verhalten sich in ihrem Auflösungsvermögen für Hemizellulosen gleich. Sklerotinia fructigena wurde von einem faulen Apfel, Sklerotinia cinerea von einer erkrankten Pflaume auf Mostgelatine übergeimpft und die Reinkulturen wurden zu den Versuchen verwendet. Beide verflüssigen die Gelatine nicht.

Das Ergebnis ist in folgender Übersicht enthalten:

Leinfasern	—	Mit Zuckerwasser gutes Wachtum und ohne Zuckerwasser sehr geringes Wachstum
Baumwollfasern . . .	—	Ohne Zucker Wachstum gut
Molinia coerulea . . .	—	„ „ „ „
Lupinus hirsutus . . .	+	„ „ „ sehr üppig
„ albus	+	„ „ „ „ „
Phoenix dactylifera . .	—	„ „ „ gut
Ruscus aculeatus . . .	—	„ „ „ „
Impatiens balsamina .	—	„ „ „ „
Cyclamen europaeum .	—	„ „ „ „
Tropaeolum majus . .	—	„ „ „ null, erst nach Entwässerung ist das Wachstum gut.

Das Verhalten der Pilze in den Kulturen ist sehr charakteristisch. In den Lupinen erfolgte die Auflösung der starken Wandverdickungen sehr rasch. Am zweiten Tage, nachdem kräftiges Myzel auf die Lupinenschnitte gebracht wurde, war bereits der größte Teil der Verdickungsschichten gelöst. Die Auflösung ist hier als Abschmelzungsprozeß sichtbar; eine hyaline Randzone tritt nicht hervor. Es quillt die Membransubstanz etwas auf und gleichzeitig werden die einzelnen Lamellen deutlicher und unter weiterer Quellung geht das Ganze in Lösung. Nur an wenigen Punkten sieht man, daß die inneren Partien vor den äußeren Schichten gelöst werden.

Die Mittellamelle setzt der Lösung nur wenig größeren Widerstand entgegen. Man beobachtet nur kurze Zeit das Netz der Mittellamellen von den Verdickungsschichten befreit, das dann ebenfalls gelöst wird. Die äußerste Zellage der Cotyledonen besitzt etwas derbere Membranen und widersteht der Lösung etwas länger, wird aber ebenfalls in Lösung gebracht. Ebenso wird in der Samenschale die Hemizellulose aus den Membranen der Träger- und Stabzellen in Lösung gebracht.

Die Geschwindigkeit des Lösungprozesses ist bei beiden Pilzen S. fructigena und cinerea ungefähr gleich. Am vierten Tage waren nach dem Ansetzen der Kulturen die Lösung der Membranen an Rasiermesserschnitten beendet.

Während bei den Lupinen die Hemizellulose rasch gelöst wird, bleiben die Membranen der übrigen untersuchten Objekte völlig intakt, selbst nach acht und zehn Tagen. Auch das Amyloid in den Samen von Impatiens und Cyklamen wird nicht angegriffen. Ebenso bleibt die reine Zellulose intakt, sowohl im Filtrierpapier als bei den Fasern.

Die beiden Sklerotiniaarten müssen darum als spezialisierte Formen bezüglich ihres Lösungsvermögens von Hemizellulosen angesehen werden.

11. Botrytis cinerea — Sklerotinia Fuckeliana de By.

Dieser Pilz, der die Edelfäule der Trauben verursacht, ist leicht auf Mostgelatine oder zuckerhaltigen Flüssigkeiten zu kultivieren. Ich habe ihn von edelfaulen Trauben abgeimpft und auf Mostgelatine weiter kultiviert. Die Gelatine wird von dem Pilz verflüssigt. Das Ergebnis der Kulturen ist in folgender Tabelle enthalten:

Leinfasern	—	Mit Zucker gutes Wachstum ohne Zucker geringes Wachstum
Baumwollfasern . . .	—	
Filtrierpapier	—	
Molinia coerulea . . .	—	Wachstum gut
Lupinus hirsutus . . .	+	„ sehr üppig
„ albus	+	„ „ „
Phoenix dactylifera . .	—	„ gut
Ruscus aculeatus . . .	—	„ „
Impatiens balsamina .	+	„ „
Cyclamen europaeum .	+	
Tropaeolum majus . .	+	Auf gewässerten Schnitten zeigte der Pilz gutes Wachstum

Der Pilz vermag wie die Sklerotinia fructigena und cinerea sehr energisch die Hemizellulose der Lupinen aufzulösen. Bereits nach zwei Tagen ist die Lösung vielfach beendet. Die Verdickungsschichten quellen auf und gehen unter allgemeiner Quellung in Lösung, ohne daß besondere hyaline Zonen oder Corrosionsstacheln auftreten. Die Verdickungsschichten werden zuerst gelöst und das Netz der Mittellamellen bleibt kurze Zeit erhalten und wird dann aber ebenfalls aufgelöst.

Viel weniger rasch werden von dem Pilz amyloidhaltige Membranen angegriffen. Bei Impatiens balsamina wird das Amyloid zuerst herausgelöst. Mit der Jodprobe bemerkt man, daß solche Membranstellen sich nicht mehr blau färben. Dann wird aber darauf der übrige Teil der Membran bald nachher unter Quellung aufgelöst. Die Mittellamelle bleibt etwas länger widerstandsfähig, wird aber bei diesem Objekte ebenfalls gelöst. Der Lösungsprozeß schreitet indes nur langsam fort. Bei Cyclamen treten die gleichen Verhältnisse, nur noch etwas langsamer als bei Impatiens, auf.

Die echte Zellulose bleibt intakt, ebenso die Hemizellulose bei Molinia, Phoenix und Ruscus.

12. Botrytis vulgaris Fr.

Diese Botrytisform wurde von einem faulen Geraniumstengel auf die Mostgelatineplatten übergeimpft, wo sie sich üppig entwickelte und bald neue Botrytis erzeugte. Trotzdem, daß die Conidienträger und Conidien der vorhergehenden sehr ähnlich sind, halte ich den Pilz für verschieden von der Botrytis cinerea, die auf den Traubenbeeren vorkommt,

und habe aus diesem Grunde die alte Bezeichnung von Fries für ihn gewählt. In dieser Auffassung werde ich durch die Resultate meiner Versuche bestärkt. Der Pilz zeigt gegenüber den verschiedenen Substanzen folgendes Verhalten:

Baumwollfasern . . .	—	Mit Zuckerwasser gutes Wachstum
Leinfasern	—	
Molinia coerulea . . .	+	Wachtum gut
Lupinus hirsutus . . .	+++	Wachstum sehr üppig
„ albus . . .	+++	
Phoenix dactylifera . .	—	Wachstum gut
Ruscus aculeatus . . .	—	
Cyclamen europaeum .	+	
Impatiens balsamina .	+	

Der Pilz vermag wie Botrytis cinerea sehr energisch die Hemizellulose der Lupinen aufzulösen; ebenso bringt er das Amyloid von Cyclamen und Impatiens in Lösung, wenngleich betont werden muß, daß der Lösungsprozeß erst am zweiten oder dritten Tage beobachtet wurde, also unter gleichen Bedingungen weniger rasch eintritt, als bei Botrytis cinerea, wo die Lösung nach dem ersten Tage beobachtet wurde. Daneben vermag der Pilz auch die Molinia-Reservezellulose zu lösen, was der Botrytis cinerea der Trauben nicht zukommt. Sie löst bei der Molinia die ganzen Verdickungsschichten bis auf die Mittellamelle durch Abschmelzung. Es bleibt nur diese derbe Schicht ungelöst zurück.

Bei den Lupinen werden die Verdickungsschichten und die Mittellamellen gelöst. In den fortgeschrittenen Stadien bleiben nur die Samenschalen übrig und in diesen wird die Hemizellulose der Verdickungsschicht der Stabzellen und Trägerzellen gelöst. Die harten inneren Zellschichten der Samenschale widerstehen am besten der Lösung.

Auch bei Impatiens balsamina wird sowohl das Amyloid als die Grundsubstanz, in welche dieses eingelagert ist, gelöst. Die Auflösung des Amyloides erfolgt etwas rascher als die Auflösung der Grundsubstanz.

Der Pilz zeigt nach allem ein besseres Auflösungsvermögen als Botrytis cinerea. Er ist weniger streng spezialisiert in der Auflösung der Hemizellulosen als sein nächster Verwandter auf den Traubenbeeren.

13. Nectria cinnabarina. Tode.

Diesen Pilz habe ich von einem erkrankten Ast von Carpinus betulus auf Gelatine abgeimpft und weiter gezüchtet. Er bildete in

den Kulturen sehr schöne, reichliche Mycelien und schreitet rasch zur Konidienbildung. Die Gelatine wird durch ihn verflüssigt. Auf den verschiedenen Materialien mit Hemizellulosen zeigt er folgendes Verhalten:

Baumwolle	—	Mit Zuckerwasser gut gewaschen
Filtrierpapier	—	
Molinia	+	Ohne Zucker Wachstum gut
Lupinus hirsutus . . .	+++	Wachstum sehr üppig
„ albus	+++	
Dattel	—	Wachstum gut
Ruscus aculeatus . . .	—	
Impatiens balsamina .	—	
Cyclamen europaeum .	—	
Stärke	+	

Wie die vorhergehenden Untersuchungen zeigen, lösen die Pilzfäden der untersuchten Vertreter echte Zellulosen nicht auf. Bei Nectria cinnabarina ist das gleiche der Fall. Das ist insoweit auffällig, als gerade Nectria cinnabarina auch den Holzkörper der befallenen Pflanzen verändert. Dieser Pilz erscheint in seinem Lösungsvermögen für Hemizellulosen stark spezialisiert. Er läßt die Hemizellulose bei der Dattel, Ruscus, Impatiens, Cyclamen völlig intakt, trotzdem daß er sich in diesen Kulturen recht gut weiter entwickelte. Dagegen löst er sehr energisch die Hemizellulosen der Lupine. Bereits nach 24 Stunden sind schon Lösungserscheinungen zu beobachten. Die Substanz quillt, die Schichten werden deutlicher und sie gehen in Lösung, ohne daß es zur Bildung von Corrosionsfiguren kommt. An einzelnen Stellen ist sogar zu sehen, daß die inneren Schichten vor den äußeren gelöst werden. Auch die Mittellamelle wird von dem Pilz in Lösung gebracht.

Bei Molinia wurde dann nur eine sehr schwache Lösung beobachtet. Sie trat erst nach 8 Tagen ein und setzte auch nur sehr dürftig ein. Die Verdickungsschichten gehen daher nicht vollständig in Lösung, sondern es wird nur ein Teil der Substanz herausgelöst und eine andere Partie bleibt ungelöst zurück. Was bei Mucor racemosus zu beobachten ist, tritt auch hier ein, nur mit dem Unterschied, daß die Substanz, die den hyalinen Saum bei jener Lösungsfigur bildet, hier ungelöst zurückbleibt.

Auch die Stärke wird von Nectria cinnabarina angegriffen und in Lösung gebracht.

14. Cladosporium herbarum Pers.

Von einem Roggenhalm, der nach der Getreideernte auf einem Felde liegen geblieben war, impfte ich diesen Pilz auf Gelatineplatten,

wo er sich üppig entwickelte und reichlich Conidien bildete. Er bildete auf der Gelatine schwarze schleimige Krusten, wobei die Gelatine gelöst wird. Auf Hemizellulosen übertragen entwickelt er sich gut und gab bezüglich seines Lösungsvermögens folgende Resultate:

Leinfasern	—	Mit Zuckerwasser Wachstum gut
Baumwolle	—	
Molinia	+	Ohne Zucker Wachstum sehr gut
Lupinus hirsutus . . .	+	
„ albus	+	
Phoenix dactylifera . .	—	Ohne Zucker Wachstum gut
Ruscus aculeatus . . .	—	
Impatiens	+	
Cyclamen	+	

Der Pilz löst keine echten Zellulosen auf, dagegen löst er energisch Hemizellulosen. Auf Lupinen und Molinia löste er die Verdickungsschichten bereits nach 2 Tagen, während bei Impatiens und Cyclamen die Lösung nur langsam vor sich ging. Die Abschmelzung der Schichten geht bei Molinia mit einer kleinen hyalinen Zone vor sich. Die Mittellamellen werden bei Molinia nicht gelöst, selbst in 14tägigen Kulturen war das Netz dieser Zellwände völlig intakt. Das ist zugleich ein guter Beweis für die Unfähigkeit des Pilzes, Zellulose in Lösung zu bringen.

Bei Lupinen bleibt die Mittellamelle längere Zeit intakt, während die Verdickungsschichten bereits gelöst sind. Nachträglich werden dann auch die Mittellamellen in Lösung gebracht.

Die Membranen von Impatiens und Cyclamen verhalten sich übereinstimmend. Das Amyloid wird aus den Membranen früher herausgelöst als die Grundsubstanz. Es bildet sich während der Lösung eine Randzone, die auf Jodzusatz keine Blaufärbung mehr zeigt. Später wird diese hyaline Grundsubstanz ebenfalls in Lösung gebracht. Der ganze Lösungsprozeß geht bei Cyclamen und Impatiens langsam vor sich.

15. Trichothecium roseum. Sacc.

Bei der Isolierung des Cladosporium herbarum bekam ich gleichzeitig auf meinen Kulturen einen Pilz, der schön rosa gefärbte Watten bildete und später zur Bildung der sichelförmig gekrümmten Conidien schritt. Mycel und Conidien stimmen gut mit den Angaben über Trichothecium roseum überein und der rosarote Farbstoff, den das Mycel bildet, bestätigt diese Bestimmung.

In den Kulturen auf verschiedenen Hemizellulosen gab er folgende Resultate:

Leinfasern	—	Mit Zucker Entwicklung gut
Baumwolle	—	
Molinia	+++	Ohne Zucker Entwicklung sehr üppig
Lupinus hirsutus . . .	+++	
„ albus	++	
Phoenix dactylifera . .	++	
Ruscus aculeatus . . .	+	Ohne Zucker Entwicklung gut
Impatiens balsamina .	+	
Cyclamen europaeum .	+	

Der Pilz zerstört die echten Zellulosen nicht. Dagegen werden die Hemizellulosen recht intensiv durch den Pilz in Lösung gebracht. Alle von den gewählten Materialien werden mehr oder weniger gelöst. Am besten und raschesten ging die Lösung bei Molinia und Lupinus, während bei Impatiens und Cyclamen dieser Prozeß nur sehr langsam verläuft. Bei Molinia schmilzt die Verdickungsschicht ab bis auf die Mittellamelle, die selbst nicht von dem Pilz angegriffen wird. In den Lupinen werden alle Zellwände unter Verquellung gelöst. Die Mittellamellen widerstehen der Lösung etwas länger; sie werden aber in späteren Stadien ebenfalls gelöst. Phönix- und Ruscus-Endosperm zeigen reine Abschmelzungsfiguren. Es bilden sich Corrosionsstacheln; die Mittellamellen werden mit den Verdickungsschichten gleichzeitig gelöst. Nur selten findet man Stellen, wo sie etwas früher als die Verdickungsschichten in Lösung gehen.

Bei Impatiens werden durch den Pilz die Mittellamellen zuerst gelöst; die einzelnen Zellen trennen sich und dann schmelzen die Verdickungsschichten der Wandungen ab. Macht man in solchen Stadien die Jodreaktion auf Amyloid, so findet man in der Flüssigkeit eine Unmasse sehr kleiner Körnchen, die sich mit Jod blau färben, wie das Amyloid der Membran. Bei Bewegungen der Flüssigkeit kann man auch sehen, daß einzelne dieser Körnchen sich von der Membran loslösen. Das Trichothecium zeigt hier die gleiche Lösungserscheinung wie Mucor globosus F.

Ich muß annehmen, daß diese Pilze die Grundsubstanz, die mit Jod nicht blau wird, leicht lösen, während das Amyloid nicht oder viel schwerer von diesen Pilzen in Lösung gebracht wird.

16. Colletotrichum Lindemuthianum (Sacc). P. Magnus.

Dieser Pilz bildet auf Bohnen eine bekannte und weit verbreitete Zersetzungserscheinung in den halbgewachsenen Hülsen und Samen. Auch auf abgestorbenen Stengeln und Hülsen wuchert er bei genügender Feuchtigkeit lebhaft. Er läßt sich leicht auf Gelatineplatten kultivieren und bildet dort eine schwach gelbliche schleimige Kruste. Die Gelatine

wird durch ihn verflüssigt. Auf den verschiedenen Materialien zeigt er folgende Lösungserscheinungen:

Leinfasern	—	Mit Zucker Entwicklung gut
Baumwolle	—	
Molinia	+	Ohne Zucker Entwicklung gut
Lupinus hirsutus . . .	+++	Ohne Zucker Entwicklung üppig
„ albus	+++	
Phoenix dactylifera . .	—	Ohne Zucker Entwicklung gut
Ruscus aculeatus . . .	—	
Impatiens balsamina .	+	
Cyclamen europaeum .	+	

Der Pilz zeigt ein auffallend starkes Lösungsvermögen für die Lupinenhemizellulose. Bereits nach 2 Tagen war das gesamte Material aus dem Cotyledonargewebe gelöst. Die Mittellamellen widerstehen der Lösung am längsten; sie werden aber ebenfalls in Lösung gebracht. Demgegenüber ist die Lösung bei Molinia und Impatiens langsam. Bei Molinia findet ein langsames Abschmelzen der Verdickungsleisten statt ohne Quellen. Die Mittellamelle bleibt nur ungelöst zurück.

In dem Gewebe der Cotyledonen von Impatiens geht die Lösung nur langsam vor. Sowohl das Amyloid wie die Grundsubstanz wird vom Pilz gelöst. Es findet ein Abschmelzen der Membranen statt.

Das Verhalten der Pilze auf lebenden und toten Pflanzenteilen.

Die untersuchten Pilze sind in der Natur teils auf lebenden, teils auf toten Pflanzenteilen zu finden. Ihre Lebensweise und ihre Ernährung auf solchen Substraten ist in hohem Maße abhängig von der Fähigkeit, die festen Bestandteile des Pflanzengerüstes zu lösen und die Abbauprodukte für die eigene Ernährung zu verwerten. Es treten deshalb zwei verschiedene Kategorien von Erscheinungen in Wechselwirkung: die Lösungsfähigkeit der Pilze für die einzelnen festen Bestandteile und der Nährwert der Abbauprodukte. Freilich muß betont werden. daß damit die Analyse der Erscheinungen an parasitären und saprophytisch lebenden Pilzen keineswegs erschöpft ist, sondern daß noch eine große Reihe weiterer Lebensbedingungen damit verknüpft ist. Ich erinnere nur an die Ablenkung der Pilzfäden durch Sauerstoff, Wasser oder andere Substanzen; an die Abtötungserscheinungen der Zellen des Wirtes, an die Reaktionserscheinungen der Wirtpflanze usw.

Für unsere Untersuchung handelt es sich lediglich um die Frage, ob die Lösungserscheinungen der Pflanzenmembranen, die bei dem Wachstum dieser Pilze beobachtet wurden, sich aus den beobachteten Erscheinungen des Lösungsvermögens für bestimmte Hemizellulosen erklären

lassen, oder ob das Verhalten dieser Pilze in den lebenden und toten Pflanzenteilen erlaubt andere Schlüsse zu ziehen, bezüglich der Zusammensetzung der Pflanzenmembranen.

Diese Fragestellung bringt uns auf das schwierige Gebiet der Zusammensetzung der Pflanzenmembranen. Während man früher eine einheitliche Zusammensetzung der Membransubstanz aus Zellulosen annahm, ist man durch die Ergebnisse der chemischen Untersuchungen gezwungen anzunehmen, daß in den selteneren Fällen reine Zellulose vorliegt, sondern in den weitaus meisten Fällen neben den echten Zellulosen auch noch Hemizellulosen vorkommen. In den einen Membranen sind mehr, in den andern weniger Hemizellulosen vertreten. Je nach ihrer Zusammensetzung wird sich eine Membran gegen einen Pilz verschieden verhalten und von ihm verschieden angegriffen werden. Es ist von vornherein zu erwarten, daß auch die Lamellen, die von andern durch stoffliche Verschiedenheit sich auszeichnen, auch gegen die Pilze sich ungleich verhalten werden. In dieser Beziehung ist die „Mittellamelle" besonders interessant; denn, wie bereits erwähnt, wird sie von vielen Pilzen zerstört. Nach ihrer chemischen Zusammensetzung soll sie aus Pektin oder verwandten Körpern des Pektins zusammengesetzt sein, wie besonders Magnin und seine Schüler hervorheben. Was ist nun aber dieses Pektin der Mittellamellen in chemischer Beziehung? Die Magninschen Untersuchungen geben uns darüber keine befriedigende Antwort.

Nach zahlreichen Untersuchungen komme ich zu der Überzeugung, daß diese Mittellamellen sich zwar verschieden verhalten, in den meisten Fällen aber aus Hemizellulosen oder ihnen sehr nahestehenden Substanzen bestehen; d. h. daß die Hemizellulosen den größten Teil ihrer Substanz ausmachen[1]). Es ist hier nicht der Ort, alle die Beweise, die für diese Auffassung der Mittellamellen sprechen, näher zu erörtern, dagegen will ich hervorheben, daß besonders das Lösungsvermögen der Pilze für Hemizellulosen zugunsten dieser Ansicht spricht und das Verständnis für die Lebensweise der parasitären Pilze dadurch wesentlich besser wird.

Da aber die Pilze in ihrem Lösungsvermögen für Hemizellulosen spezialisiert sind, so steht zu erwarten, daß nur in denjenigen Pflanzen, wo die entsprechende Hemizellulose sich vorfindet, der Pilz eindringen kann. Darauf beruht gewiß ein Teil der Auswahl, der von den Parasiten unter den Pflanzen getroffen wird.

---

1) F. Reinitzer, Über das zellwandlösende Enzym der Gerste. Zeitschr. f. physiol. Chemie 1897, Bd. XXIII, pag. 194, zählt die Substanz der Mittellamellen der Kartoffel und anderer Pflanzen zu den Hemizellulosen.

Botrytis vulgaris und cinerea.

Diese Pilze sind wiederholt Gegenstand eingehender Studien bezüglich ihrer pathologisch-anatomischen Veränderungen der Wirtpflanzen gewesen und gehören zu den am besten bekannten Parasiten nach ihrem biologischen Verhalten. Freilich muß betont werden, daß die Artabgrenzung in dieser Pilzgruppe noch unsicher ist. Die beiden von mir untersuchten Botrytisformen gehören sicher zwei verschiedenen Spezies an, trotzdem sie von einzelnen Autoren als zusammengehörig betrachtet werden. Ihre Fähigkeit, verschiedene Hemizellulosen aufzulösen, spricht auch für diese Auffassung. Ebenso ist es wahrscheinlich, daß die Botrytis, die Marshall Ward[1]) untersuchte, verschieden ist von den beiden von mir geprüften Arten. Dagegen halte ich die von Nordhausen[2]) und Myioshi[3]) untersuchte Botrytis, von Fuchsien und Bohne herstammend, für die gleiche Spezies, wie die meine von Geranien isolierte Art.

Trotz verschiedener Artzugehörigkeit kennzeichnen eine Reihe gemeinsamer Züge das pathologische Bild der Botrytiserkrankungen. Neben dem Abtöten der Zellen der Wirtpflanze durch Giftausscheidung bevor der Pilzfaden in das Gewebe eindringt, ist besonders die Durchbohrung der Oberhaut in bestimmtem Alter der Pflanze und an bestimmten Orten charakteristisch. Büsgen[4]), J. Behrens[5]) M. Ward[1]), Myioshi[3]) und Nordhausen[2]) heben die Tatsache hervor, daß der Keimschlauch der Botrytissporen dort in das Gewebe des Wirtes eindringt, wo eine Querwand an die äußere Epidermiswand stößt. Als Ursache dieser Erscheinung vermutet Büsgen, daß an dieser Stelle irgend ein Stoff aus dem Inneren des Wirtes diffundiert und die Keimschläuche an diese Stelle lenke. Auch Myioshi neigt zu dieser Ansicht, während Nordhausen noch andere Momente, wie Oberflächenspannungen vermutet. Die richtige Erklärung wird durch das Verhalten des Pilzes gegen Hemizellulosen gegeben. Unsere Versuchsreihe zeigt, daß der Pilz nicht vermag, echte Zellulose zu lösen, wohl hingegen

---

1) M. Ward, A lily disease. Ann. of Bot. 1888, Vol. II.

2) M. Nordhausen, Beiträge zur Biologie parasitärer Pilze. Jahrb. f. wiss. Botanik 1899, Bd. XXXIII.

3) M. Myioshi, Die Durchbohrung von Membranen durch Pilzfäden. Jahrb. f. wiss. Botanik 1895, Bd. XXVIII.

4) Büsgen, Über einige Eigenschaften der Keimlinge parasitischer Pilze. Bot. Ztg. 1893.

5) J. Behrens, Phytopathologische Notizen I. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten 1895.

die Hemizellulosen vom Typus der Molinia, Lupinus und Impatiens. Besteht nun die Mittellamelle in der Hauptsache aus Hemizellulosen, wie ich bereits hervorhob, die Verdickungsschichten ihrer Zellmembran aber aus Zellulose, so wird der Pilz nur dort anzugreifen vermögen, wo er mit seinen Fermenten die Hemizellulosen auflösen kann. In der Epidermis der Pflanzen ist im jugendlichen Alter die Cuticula schwach, die Mittellamelle stößt an der Zellgrenze nach außen. Es ist damit die Zellgrenze auf der Oberfläche eines Blattes oder Stengels der einzige Ort, wo der Pilz Hemizellulosen vorfindet und somit durch Lösung der Substanz sich Eintritt in die Pflanze verschaffen kann. Hat der Pilz durch Lösung der Mittellamelle sich auch nur eine kleine Öffnung gemacht. so genügt der Druck der Pilzhyphe, um diese Bahn zu erweitern und die angrenzenden Wände beiseite zu stoßen. Es hat ja Myioshi[1]) gezeigt, daß bei Botrytis dieser Druck gar nicht so gering ist und daß auch Körper wie Goldblättchen, die jedenfalls vom Pilz nicht angegriffen werden, von den Pilzfäden bei geeigneter Versuchsanstellung einfach durchstoßen werden. In der Tat zeigt denn das mikroskopische Bild einer solchen Stelle, wo ein Botrytisfaden die Oberhaut durchbohrt, nur das Verschwinden der Mittellamelle, die Verdickungsschichten der angrenzenden Zellen sind an dieser Stelle gleich dick geblieben und somit rein passiv beiseite geschoben worden.

Nun verhält sich weiter die junge noch wachsende Epidermis verschieden von älteren Stadien. Botrytis cinerea dringt in junge Epidermis leicht ein, während sie vielfach alte Epidermispartien der gleichen Pflanze nicht mehr zu durchbohren vermag. Die Ursache dieser Erscheinung liegt, wie de Bary, Nordhausen und andere hervorgehoben haben, in der stärkeren Cuticularisierung der Außenwand der Epidermis, die mit dem Alter eintritt. Nicht allein die Cellulosemembran unterliegt diesem Prozeß, sondern auch in die Mittellamellen werden, wo diese an die Oberfläche grenzen, die der Cuticularisierung eigenen Stoffe eingelagert. So lange die Cuticularisierung nur schwach und wenig entwickelt ist, so vermag der Pilz einzudringen; die Fermente vermögen durch die schwache Cuticula hindurchzutreten und so dem Pilzfaden die Bahn zu brechen. Ist die Cuticularisierung stark und die Schicht mächtig, so hindert diese Schicht entschieden das Vordringen des Fermentes und die mechanische Durchbrechung durch den Pilzfaden. Ich halte wie Myioshi und Nordhausen das mechanische Hindernis für das größere.

---

1) Myioshi, l. c. pag. 282.

Neben dem Eindringen der Pilzfäden an den Suturlinien der Epidermis kommt es allerdings nur an jungen Pflanzenteilen verhältnismäßig selten vor, daß auch die Epidermis an andern Stellen durchbrochen wird. Zwei Fälle sind hier denkbar. Entweder ist diese Eingangspforte eine kleine Pore, die ja auch in der Epidermis verschiedener Pflanzen beobachtet wurden, oder aber die junge Wand besteht aus einer Zellulose, die noch ansehnliche Mengen Hemizellulose eingelagert enthält. Meine Versuche haben denn auch dargetan, daß Botrytis cinerea die Hemizellulose auch aus einer Membran herauszulösen vermag, wo noch echte Zellulose neben der Hemizellulose vertreten ist. Was aber in dem Kulturversuch auf toten Membranen sich zeigt, kann gewiß auch eintreten bei der Infektion einer lebenden Pflanze. Daß aber häufig bei den Pflanzen die jungen Membranen fast aller Gewebe noch Hemizellulosen enthalten, habe ich für einzelne Fälle anderorts dargetan. Kommt ein Botrytiskeimschlauch auf eine solche Membran, so löst er die Hemizellulose heraus, die Membran wird an dieser Stelle locker und der Druck des Keimschlauches genügt, um sie zu durchbrechen.

Dünne Korkpartien werden von der Botrytis ebenfalls durchbrochen. Hier zeigte mir die Beobachtung, daß der Pilz immer den Mittellamellen entlang sich den Weg bahnt und die übrigen Partien der Zellmenbran auf die Seite drückt. Der Vorgang ist ganz analog dem Durchbrechen der Epidermis an den Suturlinien. Auch hier im Korkgewebe beruht diese Eigenschaft des Pilzes auf dem Lösungsvermögen für Hemizellulosen, die ja auch in der Mittellamelle enthalten sind.

Noch auffälliger als bei dem Durchbrechen von Epidermis und Kork tritt dieses Lösungsvermögen der Botrytis für die Mittellamellen bei der Wucherung in parenchymatischen Geweben hervor. De Bary, Marshall Ward, Nordhausen heben besonders hervor, daß durch die Wirkung der Botrytis die einzelnen Zellen der Gewebe getrennt werden, indem die Mittellamellen in Lösung gehen. De Bary hat das Ferment vom Pilz getrennt untersucht und die gleiche Wirkung erhalten. Diese Lösung der Mittellamellen ist aber nichts anderes als die Auflösung einer Hemizellulose, aus welcher die Mittellamelle zur Hauptsache besteht. Die Verdickungsschichten der Zellmembranen bleiben ungelöst zurück.

Neben dem Wachstum der Botrytismycelien zwischen den Zellen findet man aber zahlreiche Fäden, die in die abgestorbenen Zellen hineingewachsen sind und von Zelle zu Zelle gehen. Sind die betreffenden Zellen mit ansehnlich verdickten Wänden versehen, so be-

merkt man stets, daß die Mycelien die Poren als Durchgangspforten benutzen. Auch Myioshi[1]) ist diese Tatsache in seinem Kulturversuch mit injizierten Koniferenholz aufgefallen. Ich fand das gleiche Verhalten im verdickten Parenchym eines Geraniumstengels, ferner bei einer Botrytis auf einem Bohnenstengel. Die Erklärung für dieses Verhalten ist leicht zu geben. In der Pore besteht die trennende Membran fast ganz nur aus der Mittellamelle. Der Pilz vermag diese Schicht entweder völlig zu lösen oder den größten Teil der Substanz herauszunehmen, so daß nur ein sehr kleiner Druck notwendig ist, um dieses stark gelockerte Häutchen dann zu durchbrechen. In dem dünnwandigen Parenchym, wo Poren nicht zu sehen sind, dürfte dieser letztere Prozeß genügen, um den Pilzfaden den Durchtritt von Zelle zu Zelle zu ermöglichen und man ist keineswegs gezwungen anzunehmen, daß der Pilz die echte Zellulose auflöst. Es hat Myioshi und besonders G. v. Istvanffy[2]) darauf aufmerksam gemacht, daß dort, wo der Pilzfaden gezwungen wird einen Druck auszuüben, um die Membran des Wirtes zu durchbrechen, es zur Bildung einer kleinen Verbreiterung des Fadens oder gar zur Bildung eines Haftorganes schreitet, während dieses unterbleibt, wenn der Pilz einzig durch Lösung der Membran ohne besondere Druckleistung durchtritt. In diesen Durchbrechungen dünner Parenchymwände wie außen an der Epidermis sind nun solche Mycelverbreiterung oder Haftorgane fast regelmäßig zu finden. Ich schließe daraus, daß der vom Pilzfaden ausgeübte Druck auf die durch das Enzym gelockerte Membran immerhin noch eine nicht zu unterschätzende Rolle spielt.

Wenn der Pilz erstarkt ist und zur Bildung der Conidienträger schreitet, so wird an einer Stelle die Mittellamelle der Querwände in der Epidermis gelöst und es durchbricht der Pilzfaden dann die Oberhaut des Wirtes.

Während der ganzen Entwicklung der Botrytis konnte ich in dem Verhalten der Wirtspflanzen nirgends Anhaltspunkte dafür finden, daß der Pilz echte Zellulosen aufzulösen vermag. Dagegen beweist gerade die Lösung der Mittellamelle das Lösungsvermögen des Pilzes für die Hemizellulosen, die in den Pflanzengeweben enthalten sind. Umgekehrt zeigt die verbreitete Erscheinung, daß die sekundären Verdickungsschichten der Zellen des Parenchyms, des Bastes, Holzteiles und der

---

1) M. Myioshi, l. c. pag. 277.

2) G. v. Istvanffy, Etudes microbiologiques et mycologiques sur le Rotgris de la vigne. Annals de l'Institut central ampelologique Hongrois 1905, Tome III.

Gefäßbündel nicht angegriffen werden, schon die Unfähigkeit des Pilzes echte Zellulosen in Lösung zu bringen.

Von Sklerotinia Libertiana hat Kissling[1]) ein Übertragungsversuch unternommen. Sein Resultat, daß diese Botrytis sich auf eine große Anzahl von Pflanzen übertragen läßt, kann ich bestätigen. In meinem Versuche ließ sich diese Botrytis von dem Geraniumstengel übertragen auf Pelargonium (Stengel), Fuchsia (Stengel), Vicia Faba (Stengel), Phaseolus vulgaris (Stengel und Same), Daucus Carota (Wurzel), Beta vulgaris (Wurzel), Brassica Napus (Kohlrüben), Brasica rapa (Wasserrüben), Helianthus annuus (Blütenköpfe), Linnum (Stengel).

Im Gegensatz dazu zeigt die Botrytis cinerea, die zu Sklerotinia Fuckeliana de By gehört, ein anderes Verhalten. Sie ist weit mehr auf bestimmte Nährpflanzen beschränkt. Von den Traubenbeeren ließ sie sich übertragen auf Quittenfrüchte. Auf Stengeln von Fuchsia und Pelargonium vermochte sie nicht in die lebende Pflanze einzudringen, dagegen zeigt sie auf vorher getöteten und verletzten Stengeln ein schwaches Wachstum. Diese Eigenschaften stehen im Einklang mit den Befunden über die Lösung von Hemizellulosen.

Botrytis cinerea erweist sich als ein Vertreter mit weiter gehender Spezialisierung in der Lösung von Hemizellulosen als Botrytis vulgaris. Dementsprechend ist Botrytis cinerea auf eine geringere Anzahl von Wirtpflanzen angewiesen als Botrytis vulgaris, welche die verschiedensten Hemizellulosen zu lösen vermag.

Sklerotinia fructigena und cinerea.

Auf unserem Kern- und Steinobst sind diese beiden Vertreter außerordentlich häufig und verursachen die häufigste Form der Obstfäulnis. Wie Zschokke[2]) gezeigt hat, dringt der Pilz nicht durch die intakte Obsthaut der Früchte ein, sondern benutzt dazu immer kleine Verwundungen. Ihre Mycelien wachsen immer zwischen den Zellen. Nach J. Behrens[3]) sollen diese Pilze die Mittellamelle nur spalten, sie nicht lösen. Damit hänge es zusammen, daß das faule Fruchtfleisch der Äpfel und Birnen nicht weich wird, sondern eine derbe Konsistenz annehme und beim Sieden nicht zerfalle, wie ein gesunder Apfel. Dieser Ansicht kann ich nicht folgen. Nimmt man als Untersuchungsobjekt

---

1) Kißling, Zur Biologie der Botrytis cinerea. Hedwigia 1889.

2) A. Zschokke, Über den Bau der Haut und die Ursachen der verschiedenen Haltbarkeit unserer Kernobstfrüchte. Landw. Jahrbuch d. Schweiz 1897.

3) J. Behrens, Beiträge zur Kenntnis der Obstfäulnis. Zentralblatt für Bakteriologie usw. 1898, II. Teil.

eine Mostbirne, deren Zellwände etwas dicker sind als bei einer Butterbirne, so läßt sich auch unschwer konstatieren, daß die Hyphenspitze die Mittelamelle nicht allein spaltet, sondern daß diese Schicht durch den Pilz gelöst wird. Freilich geschieht diese Lösung nur in unmittelbarer Nähe der Fadenspitze und schon in einiger Entfernung von der Hyphe bleiben die Zellen im Zusammenhang. Kocht man ein solches Gewebe, das im ersten Stadium der Myceldurchwucherung sich befindet, so wird das Fruchtfleisch weder derber noch weniger fest als das gesunde Gewebe der gleichen Frucht. Unter der Oberhaut bildet sich aber bald ein dichtes Hyphengeflecht, dieses wird dann aber zum Bindemittel, das die einzelnen Zellen zusammenhält und beim Kochen der Frucht wird diese Schicht hart.

Die gleichen Obstsorten verhalten sich übrigens etwas verschieden. Bei nicht ganz ausgewachsenen Früchten, besonders von zarten Birnen- und Äpfelsorten kommt es im Inneren manchmal zur völligen Trennung der einzelnen Zellen. Besonders in der Umgebung des Kernhauses findet sich ein breiiger Zerfall der Gewebe. Auch bei der Aprikose fand ich den breiigen Zerfall der Gewebe bei jugendlicher Erkrankung der Frucht durch Sklerotinia fructigena. Bei Pflaumen und Zwetschen hingegen habe ich diesen Gewebezerfall nicht gefunden. Die derben kleinfrüchtigen Mostbirnen zeigen bei der Sklerotiniaerkrankung keinen Zerfall der Gewebe in die einzelnen Zellen. Die Hyphen lösen bei diesen etwas dickeren Zellwandungen des Grundparenchyms nur in ihrer unmittelbaren Nähe die Wandsubstanz auf, während die übrigen Partien intakt bleiben.

Neben diesen Befunden an Früchten ist aber nicht zu vergessen, daß diese Pilze auch gelegentlich die Stiele der Früchte und Blätter und selbst junge Zweige abtöten und in diesen die Conidienlager erzeugen. Es ist hier nicht nur das besonders heftige Auftreten dieser Erscheinung bei Sauerkirschen zu erwähnen, sondern auch bei Apfel, Birnen, Pflaumen und Aprikosen kann man sie, wenn auch in schwächerem Maße öfters beobachten. Die Pilzfäden verbreiten sich in diesen Organen vorzugsweise im Parenchym der Rinde. Sie dringen auch längs der Markstrahlen bis zum Cambium vor, verbreiten sich aber dort wie im Siebteil des Gefäßbündels wenig. In den meisten Fällen lösen die Hyphen die Interzellularsubstanz und verbreiten sich in den Interzellularen. Häufig bemerkt man, daß die Pilzfäden an den Poren in die Zellen eindringen und so auch von Zelle zu Zelle vordringen. Das ist besonders im Markstrahl und im Siebteil des Gefäßbündels der Fall. Dieses Verhalten zeigt nur, daß die Pilze die Hemizellulosen

aus den verschiedenen Partien der Zellwand herauslösen, die derberen Wandungen mit echter Zellulose aber intakt lassen.

Behrens führt weiter als Beweis für seine Ansicht einen Kulturversuch an, wonach der Pilz nicht fähig wäre, auf Pektin der roten Rübe zu wachsen und dieses zu lösen, während Penicillium glaucum und Mucor stolonifer diese Eigenschaft zukomme. Diese Angabe beweist nur die Spezialisation des Pilzes in seinem Lösungsvermögen für Hemizellulosen, was auch aus meinen Versuchen ersichtlich ist. Dieser engen Spezialisation auf nur wenige Körper ist jedenfalls das Vorkommen der Pilze auf verhältnismäßig wenig Pflanzenarten zuzuschreiben.

Außer auf Äpfeln und Birnen sind sie auf Quitten, Sorbus, Crataegus, Aronia, Cotoneasterfrüchten, Mispeln, Zwetschgen, Pflaumen, Süß- und Sauerkirschen, Pfirsich, also nur Vertreter der Pomaceen und Amygdalaceen, anzutreffen, seltener auf den Trauben, während ich ihn auf anderen süßen Früchten wie Stachelbeeren, Johannisbeeren, Heidelbeeren, Preisselbeeren, Hagebutten, Erdbeeren, Himbeeren nicht beobachten konnte. Ganz besonders auffallend ist, daß die Zerstörung der Triebe nur auf den Vertretern des Stein- und Kernobstes gefunden wurde. Es zeigt die Auswahl der Wirtpflanzen durch diese Pilze doch nur die Spezialisierung auf gemeinsame Merkmale in der Zusammensetzung dieser Pflanzengruppe, unter denen die Konstitution der Membranen eine wichtige Rolle spielen dürfte.

Die Lösung der Membranen durch Sklerotinia fructigena und cinerea ist ferner aus verschiedenen Figuren der Woroninschen Arbeit[1]) ersichtlich. Ich verweise auf Fig. 46 Taf. III und Fig. 75—80 Taf. V.

Penicillium glaucum.

Dieser allgemein verbreitete Pilz findet sich besonders auf zucker- und stärkehaltigen Materialien, wie verschimmeltem Brot, Ölkuchen, Obst usw. In den lebenden Pflanzen findet er sich hauptsächlich auf den süßen Früchten, wie Trauben, Birnen, Äpfel usw. und bewirkt die sogen. Grünfäule. Auch auf faulenden Stengeln, Blättern ist er bisweilen zu treffen. Wie Myioshi[2]) gezeigt hat, wird er hauptsächlich durch Zuckerarten angelockt. Er dringt in den weitaus meisten Fällen durch eine Wunde in den lebenden Pflanzenteil ein, so besonders am

---

1) M. Woronin, Über Sklerotinia cinerea und Sklerotinia fructigena. Memoires de l'acad. des sciences de St. Petersburg 1900, S. VIII, Bd. X, Nr. 5.

2) M. Myioshi, Über den Chemotropismus der Pilze. Botan. Zeitung 1894, pag. 23.

Obst, wie die Untersuchungen Zschokkes[1]) dargetan haben. Nur in ganz jungen Pflanzenteilen vermag er die Membran zu durchbohren und sich Eintritt in die Pflanzen zu verschaffen. Einen solchen Fall beobachtete ich an verschiedenen Primulaceenkeimlingen, die als junge Pflänzchen sehr leicht vom Penicillium befallen und von ihm abgetötet werden. In dem Gewebe dringt das Mycel hauptsächlich interzellular vor. Die Mittellamellen werden gelöst und die Zellen werden dadurch isoliert. Hier löst er nur diese Schicht, die zur Hauptsache aus Hemizellulosen besteht, die mehr aus echten Zellulosen zusammengesetzten Verdickungsschichten werden von dem Pilz völlig intakt gelassen.

In die Zellen dringt er wenig ein und wenn er es tut, so benutzt er dazu regelmäßig die Poren. Hier in der Pore braucht er nur die Mittellamelle zu durchbrechen, die ja aus einem Materiale sich zusammensetzt, das er zu lösen vermag. Myioshi hatte für seine Zwecke Holz mit Zucker injiziert und das Penicillium im Wachstum verfolgt. Es dringt nach seinen Angaben durch die Poren im Holz vorwärts und löst die Membranen nicht auf.

Aus den Ergebnissen der Untersuchung pathologischer Erscheinungen ergeben sich keine Anhaltspunkte für die Auflösung von echten Zellulosen, wie das früher angeführt wurde. J. Behrens[2]) ist durch einen Kulturversuch auf Fließpapier auch zum gleichen Resultate gelangt, wie ich durch meine Kulturversuche. Auch das angeführte Beispiel, wo das Penicillium bei Primulakeimlingen die Oberhaut durchbohrt, spricht keineswegs für die Lösung der Zellulose durch diesen Pilz. In diesem Jugendzustand ist die Oberhaut sehr zart und zur Hauptsache aus Hemizellulosen bestehend. Sie kann vom Pilz gelöst werden, besonders auch deshalb, weil die Primulaceen zu den amyloidhaltigen Pflanzen gehören. Sobald die Membranen derber sind vermag das Penicillium auch nicht mehr in die Keimpflanze einzudringen.

Penicillium glaucum vermag, wie Behrens gezeigt hat, Pektin das nach Magninscher Vorschrift aus Möhren dargestellt wurde, zu lösen. Diese Tatsache stimmt mit dem Lösungsvermögen für Hemizellulosen überein, denn durch Behandlung mit Säuren und nachheriger Extraktion mit verdünntem Ammoniak werden nur verwandte Körper der Hemizellulosen ausgezogen. Wenn die Zuckerarten, die bei der Hydrolyse aus dieser Substanz entstehen, bestimmt worden wären, so würde

---

1) A. Zschokke l. c. pag. 177.

2) J. Behrens, Beiträge zur Kenntnis der Obstfäulnis. Zentralblatt für Bakteriologie usw. 1896, II. Teil.

man sehen, daß sie mit den Abbauprodukten einer der erwähnten Hemizellulose übereinstimmen würde, die auch vom Penicillium gelöst werden.

Im weiteren hat J. Grüß[1]) gezeigt, daß Penicillium glaucum die Wandverdickungen des Dattelendospermes zu lösen vermag. Diese Angabe stimmt durchaus mit meinen Versuchen für das eine Penizillium überein und ich kann auch die Art des Abschmelzens der Wand verdickungen nur bestätigen.

In der Gattung Penicillium sind eine Reihe nahe verwandter Arten, die zum Typus der P. glaucum gehören und in den äußeren Erscheinungen der Conidienbildung diesem Pilz ähnlich sind. Mit Bezug auf das Lösungsvermögen für Hemizellulosen verhalten sie sich etwas verschieden, wie meine Versuche dargetan haben.

Auf solche Differenzen dürfte die Angabe von M. Ward[2]) zurückzuführen sein, wo er angibt, daß Penicillium glaucum ein holzzerstörender Pilz sei.

Rhizopus nigricans Ehrenbg.

Dieser Pilz verursacht auf Äpfeln, Birnen, Zwetschgen, Aprikosen, Tomaten meistens die Mucorfäulnis wie J. Behrens[3]) mit Recht hervorhebt. Außerdem ist er häufig auf faulenden toten Stengeln, auf verschimmeltem Brot zu finden. In der Sommertauröte des Leins spielt er die wichtigste Rolle für die Zersetzung des Parenchyms, in welches die Bastfasern eingelagert sind. Der Pilz wurde von Behrens auf seine Wirkungsweise genauer untersucht. In den Früchten dringt er durch die Wunden ins Innere der Gewebe. Dort löst er die Mittellamellen auf, nur in seltenen Fällen beobachtet man das Eindringen des Rhizopusmycels in die Zellumina. Es geschieht immer durch Poren. Es erweist sich der Pilz auch in den Geweben nur fähig die Hemizellulosen der Mittellamelle zu lösen; die echten Zellulosen werden intakt zurückgelassen.

Auch die Untersuchungen, die Behrens[4]) an Leinstengeln vorgenommen hat, geben ein gleiches Resultat. Der Pilz dringt durch die Spaltöffnungen sowie durch Verletzungen in das Parenchym des Stengels ein. Dort löst er die Mittellamellen der Parenchymzellen und trennt

---

1) J. Grüß, Beiträge zur Enzymologie. Festschrift f. Schwendener, 1899.

2) M. Ward, Penicillium as a Wood destroying fungus. Annals of Botany 1898, pag. 565.

3) J. Behrens l. c.

4) J. Behrens, Untersuchungen über die Gewinnung der Hanffasern durch natürliche Röstmethoden. Zentralbl. f. Bakteriologie 1902, II. Teil.

so die zarten Zellen des Parenchyms vom Bast und vom Holzkörper. Ganz zarte Wände des Parenchyms gehen auch fast vollständig in Lösung. Der Holzkörper des Leinstengels wird intakt gelassen.

Die Bastfasern werden durch die Auflösung der Mittellamellen getrennt in die einzelnen Bündel. Ebenso sieht man, daß auch einzelne Fasern isoliert werden. In den Fasern selbst konnte ich keine Lösung der Wandsubstanz nachweisen.

Versuche durch Infektion von Birnen und Tomaten mit Rhizopus nigricans bestätigten das von Behrens erhaltene Resultat. Das Mycel dringt hauptsächlich in den Interzellularen vor. Es löst die Interzellularsubstanz auf und dringt ganz selten in die Zellen ein.

Nectria cinnabarina Tode.

Dieser Pilz gehört zu den ausgesprochenen Wundparasiten unserer Laubbäume. Er bewirkt eine Holzzersetzung, die aber nur in fortgeschrittenen Entwicklungsstadien des Holzes sich bemerkbar macht und auch nicht bei allen Holzarten sich zeigt. Bei Ulmen, Birken, Johannisbeeren ist die Holzzersetzung besonders hervortretend; die befallenen Zweige werden brüchig, wenn der Pilz in fortgeschrittener Entwicklung sich befindet. Bei Birnbaum, Buche tritt diese Erscheinung weniger hervor. Die Hauptmasse des Pilzmycels befindet sich aber immer in der Rinde und bewirkt dort eine Zerstörung der Membranen. Wie aus der Untersuchung von Mayr[1]) hervorgeht, wachsen die Pilzfäden hauptsächlich im Siebteil und im Cambium. Sie zerstören die Stärke in den Zellen, durchbrechen an den Poren die Membranen und lösen die Mittellamellen auf kürzere Strecken auf. Ein Zerfall des Gewebes in die einzelnen Zellen findet nicht statt. Dagegen kann man sehr wohl beobachten, daß einzelne Fäden in den Mittellamellen oft weiter wachsen und auf ihrem Wege die mit dem Pilzfaden in Berührung stehende Substanz gelöst haben. Auch bemerkt man, daß einzelne Fäden auch zwischen Bastgruppen in den Mittellamellen sich durchwinden. Die Bastfasern werden nicht gelöst. Die Mycelfäden dringen aber auch in den Holzkörper ein. Es ist auch unverkennbar, daß das Holz durch längere Einwirkung des Pilzes brüchig wird. An dünneren Zweigen der Birke und Hainbuche ist diese Erscheinung besonders auffallend. Während Mayr die Veränderung des Holzkörpers durch Nectria cinnabarina verneint, nimmt Brick[2]) eine solche Ver-

1) H. Mayr, Über den Parasitismus von Nectria cinnabarina Tode. Untersuchungen aus dem forstbotanischen Institut zu München 1883, Bd. III.

2) W. Brick, Über Nectria cinnabarina Tode. Arbeiten aus dem botan. Museum zu Hamburg 1892.

änderung an. Meine eigenen Untersuchungen haben ergeben, daß das Mycel unzweifelhaft aus dem Holzkörper Substanzen herausnimmt. Es ist vorab die Stärke und das Holzgummi, das vom Pilz gelöst wird. Dann beobachtet man, daß die Pilzfäden die unverholzte Innenlamelle der Libriformfasern angreifen. Diese besteht aber, wie ich anderorts gezeigt habe, zum größten Teil aus Hemizellulosen. Die Pilzfasern dringen durch die Poren von einer Zelle zur andern. Man beobachtet, daß die Mittellamelle bei dem Durchtritt von Zelle zu Zelle jedenfalls nur wenig von Pilzfäden angegriffen wird, denn die Pilzfäden folgen dieser Schicht nicht. Die verholzende Substanz wird nicht aus den Membranen herausgelöst. Auch bei sehr intensiver Einwirkung des Pilzes gab die Phloroglucinreaktion die gleichen Resultate wie im gesunden Holz.

Cladosporium herbarum Fr.

Auf Grashalmen, die am Boden in Zersetzung übergehen, ist dieser Pilz häufig zu treffen. Außerdem ist er besonders in nassen Jahren auf den Spelzen und oberen Halmteilen des Getreides zu finden, er geht auch auf das heranreifende Korn über und bewirkt die Schwärze des Getreides. In der Tauröte der Leinstengel spielt er eine bedeutende Rolle. Neben Rhizopus nigricans soll er nach Behrens[1]) den Röteprozeß der Leinstengel in der Sommertauröte hauptsächlich ausführen.

Seine Wachstumsverhältnisse habe ich am Weizen etwas genauer studiert. Die Hauptmasse des Mycels ist bei diesem Pilz außen zu finden. Durch Spaltöffnungen, kleine Verletzungen dringen die Mycelfäden in Halm und Spelzen ein. Er löst in diesen Organen die Mittellamellen auf. Das Mycel entwickelt sich interzellular und trennt die einzelnen Zellen aus dem Gewebeverband. Nur wenige Hyphen dringen in die Zellen ein und das geschieht immer durch die Poren. Bei starker Mycelentwicklung werden die getrennten Zellen zusammengedrückt und man kann dann die nichtgelösten Reste der Membranen wie Inseln zwischen den Fäden beobachten.

Die Bastfasern werden nicht gelöst, ebenso bleiben steinzellenartig verdickte Zellen intakt und zeigen noch die Holzreaktion mit Phloroglucin-Salzsäure. Aber auch in den schwach verholzten Partien findet eine Lösung der Mittellamellen, wenn auch viel weniger leicht, statt. In den stark verholzten Geweben hingegen unterbleibt diese Lösung.

---

1) J. Behrens, Über die Thauröte von Hanf und Flachs. Zentralbl. für Bakteriologie 1903, II. Teil.

Colletotrichum Lindemuthianum (Sacc.) P. Magnus.

Dieser Pilz ist ein schlimmer Parasit der Bohnen, der sich besonders auf den grünen Hülsen ansiedelt. Er erzeugt ovale eingesunkene Flecken von rostbrauner Farbe. Ist die Hülse noch saftig, so schreitet die Zerstörung rasch vorwärts. Der Pilz durchbohrt dabei die junge Epidermis, indem zuerst ein Appressorium gebildet wird, wie Frank[1]) feststellte. Zum Eindringen benutzt er die Suturlinien der Epidermis und löst die Mittellamelle auf. Im Innern verbreitet er sich vorwiegend in den Interzellularen und löst die Mittellamellen auf. Zahlreiche Hyphen dringen in die Zellen ein, wobei die Porenstellen an dickwandigen Zellen aufgesucht werden. Im ersten Stadium des Angriffes durch den Pilz wird das Gewebe locker und bekommt infolge der Isolierung der Zellen einen breiigen Charakter. Später wird es infolge des Wasserverlustes wieder derber. An den Stellen, wo sich die Conidienlager bilden, treten stärkere Mycelansammlungen auf. Die Cuticula und Epidermis wird zerrissen und teilweise beiseite geschoben; ferner werden die Epidermiszellen von der Cuticula getrennt. Das sind alles Erscheinungen, die mit der Lösung der Hemizellulosen zusammenhängen. Auch die Lostrennung der Cuticula, die bei zahlreichen Parasiten vorkommt, beruht auf der Lösung von Lamellen, die reich an leicht löslichen Zellulosen sind, indem die derbe Cuticula, aber auch die derbe Innenlamelle ungelöst bleiben.

Tritt der Pilz in den jungen Samen ein, so wiederholen sich die gleichen Erscheinungen. Längs der Suturlinien findet das Eindringen durch die Samenepidermis statt. Das Mycel wächst zuerst interzellular und trennt die einzelnen Zellen und später werden ihre Inhaltsstoffe aufgezehrt. Die echte Zellulose bleibt als ungelöster Rest zurück. Der Pilz zeigt sich nach dem pathologischen Bild nur befähigt, die Hemizellulose zu lösen.

Die Fermentfrage.

Die beobachteten Lösungserscheinungen der Pilze an den Hemizellulose haltigen Materialien führen notwendigerweise zu einer Betrachtung der Fermente, die diese Lösungen ausführen. Mit der Lösung der Substanz geht immer eine hydrolytische Spaltung Hand in Hand, die Hemizellulosen verschwinden und es entstehen daraus wohl Zuckerarten, die von den Pilzen aufgenommen und im eigenen Stoffwechsel verwendet werden. Man beobachtet dann auch regelmäßig in diesen

1) B. Frank, Über einige neue und weniger bekannte Pflanzenkrankheiten. Ber. d. D. Bot. Ges. 1883.

Kulturen, wo die Hemizellulosen gelöst werden, daß die Pilze gut wachsen und ihre Fäden mit Reservestoffen wie Glykogen und Eett füllen.

Die Enzyme müssen den Pilzen ausgeschieden werden, bevor sie auf die festen Hemizellulosen einwirken können. Mit der Guajacwasserstoffsuperoxydreaktion läßt sich dann auch leicht zeigen, daß Enzymausscheidungen stattfinden. Es ist besonders die Umgebung der Hyphenspitzen und der jüngeren Hyphen die eine intensive Blaufärbung geben.

Die Abbauprodukte von der Spaltung der Hemizellulosen konnte ich leider nicht nachweisen. Wenn man z. B. gemahlenes Lupinusmaterial, das man durch Extrahieren mit Wasser und Äther von Zucker und Fett befreit hat, nun mit einem Pilz versetzt, der energisch die Hemizellulose löst, so treten während des Wachstums des Pilzes keine reduzierenden Zucker auf, die man isolieren könnte. Die Kulturflüssigkeit, auch wenn sie erneuert wird, zeigt mit Fehlingscher Lösung immer nur Spuren reduzierender Zucker. Daraus schließe ich, daß der Pilz in diesem Falle, Botrytis vulgaris, das aus der Hemizellulose entstandene Material sofort aufgenommen und im eigenen Stoffwechsel verwertet hat. Ich habe den gleichen Versuch mit Sklerotinia fructigena und Rhizopus nigricans wiederholt, immer mit dem gleichen negativen Erfolg. Auch könnte man vermuten, daß der Abbau der Hemizellulosen nicht bis C_6 Zuckerarten erfolgt. Kocht man aber die von Hemizellulosen befreite Kulturflüssigkeit mit Säure, so zeigt sich nachher keine Vermehrung der Reaktion mit Fehlingsscher Lösung. Ich muß somit annehmen, daß auch keine komplizierteren Zucker sich während des Abbaues ansammeln.

Um diese Fragen der Fermentausscheidungen der Pilze und der Abbauprodukte bei ihrer Wirkung auf Hemizellulosen zu prüfen, müßte man mit Preßsäften, die aus fein zerriebenen Pilzen hergestellt werden, operieren. Dazu fehlen mir die Einrichtungen vollständig. Ich kann diese Fragen nur diskutieren, so weit sie aus den Pilzkulturen erschlossen werden können.

Die Frage der Lösung von Zellulosen durch Pilze ist wohl von R. Hartig[1]) zuerst eingehender geprüft worden. In seinen prächtigen Untersuchungen über „Die Zersetzungserscheinungen des Holzes“ zeigt er, daß die Lösungserscheinungen die bei diesen Prozessen streng an

---

1) R. Hartig, Die Zersetzungserscheinungen des Holzes der Nadelholzbäume und der Eiche. Berlin 1878.

die Gegenwart von Pilzfäden gebunden sind. Im weiteren zeigt Hartig[1]), daß diese Prozesse der Auflösung der Holzzellen keineswegs einfacher Natur sind, sondern daß stufenweise verschiedene Substanzen aus dem Holz gelöst werden, bis schließlich die ganzen Membranen durch die Pilze aufgezehrt sind. Die Fermentfrage selbst ist von Hartig nicht angeschnitten worden. Diese Frage ist zuerst von de Bary[2]) an Hand der Botrytis vulgaris genauer untersucht worden. Er kommt zu dem Resultate, daß der Pilz ein besonderes Zellulose lösendes Ferment ausscheidet, das auch ohne die Gegenwart von Pilzhyphen die Wirkung ausübt. De Bary hat das Ferment durch Ausfällen mit Alkohol aus Lösungen in einer Form gewonnen und die Bedingungen seiner Wirksamkeit festgestellt. Ganz ähnlicher Natur sind die Untersuchungen von Marshall Ward[3]) an einer Botrytis, die auf Liliumarten vorkommt. Dieser Autor isolierte ebenfalls das Ferment und zeigte, daß seine Wirkung unabhängig von den Pilzhyphen eintritt. Es vermag die Zellwände ebenfalls aufzulösen.

Bei den Studien über die Thauröthe von Hanf und Flachs, ferner bei den Untersuchungen über die Obstfäulnis hat J. Behrens[4]) die Frage der Zelluloselösung durch Pilze ebenfalls experimentell geprüft. Er kommt dabei zum Resultate, daß Botrytis cinerea echte Zellulosen auflösen könne. während Mucor stolonifer, Penicillium glaucum das nicht tun.

Hingegen vermögen die beiden letzteren Pilze das Pektin, das aus roten Rüben und Leinpflanzen nach der Vorschrift von Magnin isoliert wurde, in Lösung zu bringen. Diese Eigenschaft soll der Sclerotinia fructigena abgehen.

Das sukzessive Herauslösen der verschiedenen Substanzen aus den Holzkörpern während der Zersetzungserscheinungen durch Pilze, hat Anlaß zum Aufsuchen von verschiedenen Fermenten gegeben. F. Czapek[5]) konnte vom Preßsaft von Merulius lacrymans feststellen, daß diese zuerst die inkrustierenden Substanzen des Holzes in Lösung

---

1) R. Hartig, Die Zersetzungserscheinungen des Holzes der Nadelholzbäume und der Eiche. Berlin 1878.

2) A. de Bary, Über einige Sklerotien und Sklerotinienkrankheiten. Bot. Zeitung 1886.

3) M. Ward, On a lily disease. Ann. of Bot. 1888.

4) J. Behrens, Beiträge zur Kenntnis der Obstfäulnis. Zentralblatt für Bakteriologie 1898, II. Teil.

5) F. Czapek, Zur Biologie der holzbewohnenden Pilze. Ber. d. D. Bot. Ges. 1899.

bringt. Er zeigt, daß diese Wirkung des Preßsaftes durch Erwärmen auf 100° verloren geht und schließt daraus auf ein Ferment, das er als „Hadromase“ bezeichnet. Eine Zellulose lösende Wirkung des Preßsaftes von Merulius konnte Czapek nicht auffinden, trotzdem aus dem Verhalten des Pilzes während der Zersetzungserscheinungen des Holzes eine solche Wirkung bereits von Hartig[1]) festgestellt ist. Später hat A. H. R. Buller[2]) die Enzyme von Polyporus squamosus und Bourquelot und Hérissey[3]) diejenigen von Polyporus sulfureus untersucht. Im Preßsaft, der aus den Hüten dieser Pilze dargestellt wurde, gelang es beiden Forschern nicht, die Hadromase nachzuweisen und ebenso gelang die Lösung echter Zellulosen nicht. Aus den Zersetzungserscheinungen, die diese beiden Pilze in den Holzkörpern hervorrufen, geht aber mit Sicherheit hervor, daß sowohl die Herauslösung der inkrustierenden Substanzen und dann die Lösung der Zellulose stattfindet, wie beide Forscher mit Recht hervorheben. Auch Kohnstamm[4]) konnte im Preßsaft aus dem Fruchtkörper von Polyporus squamosus keine Zellulose lösendes und kein Lignin lösendes Enzym darstellen. Dagegen konnte Kohnstamm das Ergebnis von Czapek mit Meruliuspreßsaft, daß er die inkrustierende Substanz zu lösen vermag, bestätigen. Dieser Meruliuspreßsaft löst die Membranen der Blättchen von Elodea canadensis und zeigte somit das Lösen von Zellulose. R. Buller[5]) fand im Preßsaft von Polyporus squamosus ein Ferment, das Pektin, nach Magninscher Vorschrift dargestellt, zu lösen vermag.

Die Lösung der Membranen des Gerstenendospermes durch diesen Preßsaft tritt ebenfalls ein. Er schließt daraus auf das Vorkommen von Pektose und Cytose. Bourquelot und Hérissey[6]) stellten fest, daß der Preßsaft von Polyporus sulfureus, auch die Substanz der Hornendosperme der Leguminosen löst. Das gleiche hat Hérissey[7]) früher für verschiedene Aspergillusarten gezeigt. Sie bezeichnen das Ferment

---

1) R. Hartig, Der echte Hausschwamm. 4. Aufl., 1902.

2) A. H. R. Buller, The enzymes of Polyporus squammosus. Annals of Bot. 1906.

3) Bourquelot et Hérissey, Les ferments solubles du Polyporus sulfureus. Bull. de la Soc. mycologique 1906.

4) Th. Kohnstamm, Amylolytische, glykosidspaltende, proteolytische und Zellulose lösende Fermente bei holzbewohnenden Pilzen. Beihefte zum Botan. Zentralbl. 1901.

5) R. Buller l. c.

6) Bourquelot et Hérissey l. c.

7) Hérissey, Recherches chimiques et physiologiques sur la digestion des Mannanes et des Galaktanes par la seminase. Revue générale de bot. 1903.

nach ihren früheren Untersuchungen an keimenden Leguminosensamen als Seminase.

J. Grüß[1]) hat das Verhalten von Penicillium glaucum zu der Reservezellulose von Phoenix dactylifera und Dracaena draco geprüft und eine Lösung gefunden. Diese Eigenschaft schreibt er einem diastatischen Ferment zu, das vom Pilz abgesondert wird. In seinen Studien über Ustilago Maydis findet Grüß[2]), daß dieser Pilz die verquollenen Wände des Traganth zu lösen vermag, dagegen erscheint die Lösung der Dattelreservezellulose durch Ustilago Maydis nicht einzutreten.

E. Schulze[3]) hat bei seiner Untersuchung über die Hemizellulose von Lupinus hirsutus gefunden, daß Taka-Diastase, die bekanntlich von Aspergillus oryzae herstammt, diese Hemizellulose zu lösen vermag. Das gleiche Resultat hat auch Newcombe[4]) mit Taka-Diastase bei Einwirkung auf andere Lupinensamen erhalten.

Um eine echte Zelluloselösung dürfte es sich in den Versuchen von O. Appel[5]) mit Fusarien handeln. Dasselbe zeigt, daß von Filtrirpapier nach sieben Wochen 48,25 % der Trockensubstanz von Fusarium vasinfectum aufgezehrt worden sind. Hier sind so große Quantitäten der Stoffe des Filtrierpapiers durch den Pilz in Lösung gebracht worden, daß es sich wohl nicht bloß um Lösung der oberflächlich veränderten Faserschichten handelt. Der gleiche Autor betont gleichzeitig, daß durchaus nicht alle Fusarien die Eigenschaft der Zelluloselösung besitzen, sondern andere Fusarien die Zellulose nicht anzugreifen vermögen.

Gelegentliche Beobachtungen über die Auflösung einzelner Membranteile durch Pilze finden sich in den meisten wichtigen Arbeiten pflanzenpathologischer Natur. Es kann aber nicht meine Aufgabe sein, auf diese näher einzutreten.

Die Frage der Zelluloselösung ist dann von den Bakteriologen an Hand der Bakterien genauer studiert worden[6]). Man unterscheidet

---

1) J. Grüß, Beiträge zur Enxymologie. Festschrift f. Schwendener, 1900.

2) J. Grüß, Biologische Erscheinungen bei der Kultivierung von Ustilago Maydis. Ber. d. D. Bot. Ges. 1902.

3) E. Schulze und N. Castoro, Beiträge zur Kenntnis der Hemizellulosen. Zeitschr. f. physiol. Chemie 1902, Bd. XXXVII.

4) Newcombe, Cellulose-Enzymes. Ann. of Botany 1899.

5) O. Appel, Beiträge zur Kenntnis der Fusarien und der von ihnen hervorgerufenen Pflanzenkrankheiten. Arbeit. a. d. kais. biol. Anstalt f. Land- u. Forstwirtschaft 1906, Bd. V, Heft 4.

6) Die weitschichtige Literatur in der Bakteriologie über die Frage der Zelluloselösung kann hier nicht diskutiert werden, indem an anderen Orten, so in Lafar, Technische Mykologie, sich darüber Literaturzusammenstellungen vorfinden.

dort zwei verschiedene Lösungserscheinungen: 1. die Pektinvergährer und 2. die Zellulosevergährer. Zu den Pektinvergährern rechnet man diejenigen Bakterien, welche die Mittellamelle auflösen, die Zellulose aber intakt lassen. Dahin gehören z. B. Bacillus amylobacter von Tieghem, der eine Kartoffelfäulnis verursacht und bei den Zersetzungserscheinungen toter Stengel häufig zu treffen ist; der Bacillus asterosporus Arthur Meyer, der auch in toten Stengeln die Mittellamellen lösen soll und sicher ist das Plectridium pectinovorum von Störmer ein Hemizellulosevergährer. Auch die Urheber der Schwarzbeinigkeit der Kartoffel, Bacillus caulivorus und verwandte, zeigen eine ausgesprochene Fähigkeit, die Mittellamellen zu lösen, die Zellwände selbst aber intakt zu lassen[1]). Es handelt sich hier sicher um Hemizellulose lösende Bakterien. Bei genauer Durchprüfung dürften die sogen. Pektinvergährer unter den Bakterien sich wohl sämtlich als Hemizellulose lösende Bakterien entpuppen. Die Eigenschaft, nur die Mittellamellen in Lösung zu bringen, ist eben nur ein spezieller Fall von der viel allgemeiner verbreiteten Eigenschaft der Lösung der Hemizellulosen. In der Lösung der Hemizellulosen werden die Bakterien wie die Pilze spezialisiert sein.

Als echte Zellulosevergährer sind bis jetzt unter den Bakterien nur die von Omeliansky[2]) beschriebenen Stäbchen erkannt. Es ist aber wahrscheinlich, daß auch weitere Bakterien diese Eigenschaft bebesitzen. Jedenfalls dürfte es sich empfehlen, strenger als bisher die Verhältnisse bei verschiedenen Zellulosen zu unterscheiden.

Bei der Keimung der Hemizellulose haltigen Samen werden die Wandverdickungen gelöst. Die Lösung selbst geschieht durch Ausscheidung von Fermenten, wie die Abschmelzungsfiguren während der Lösung deutlich zeigen und wie durch Grüß[3]) besonders mit der Guajacwasserstoffsuperoxydreaktion dargetan wurde. Es haben Brown und Morris[4]) für das Enzym, das bei der keimenden Gerste die Membranen löst, die Bezeichnung „Cytase“ vorgeschlagen, weil diese Forscher glauben gezeigt zu haben, daß die Cytase verschieden sei von

---

1) O. Appel, Schwarzbeinigkeit und Knollenfäule der Kartoffel. Arb. a. d. kais. biol. Anstalt f. Land- u. Forstwirtschaft, Bd. III, Heft 4.

2) W. Omeliansky, Zentralbl. f. Bakteriol. 1902 u. 1903.

3) J. Grüß, Über die Einwirkung der Diastase-Fermente auf Reservezellulose. Ber. d. D. Bot. Ges. 1894.

4) Brown und Morris, Researches on the germination of some of the Gramineae. Journal of the Chemical Society 1890.

der Diastase, die Stärke in Lösung bringt. Dem hat besonders Reinitzer[1]) widersprochen, der glaubt, daß bei der Lösung von Hemizellulosen nur Diastase wirke. Grüß[2]) nimmt insofern eine etwas abweichende Stellung ein, als er annimmt, daß zwar nur Diastase die Hemizellulosen löse, daß es sich aber bei verschiedenen Pflanzen um verschieden wirksame Diastasen handle. Dagegen nehmen Bourquelot und Hérissey[4]) bei den keimenden Leguminosensamen mit Schleimendospermen ein von der Diastase verschiedenes Ferment an, das die Hemizellulosen in Lösung bringt, und bezeichnen es als Seminase. Auch Newcombe[3]) kommt zum Resultat, daß das Zellwand lösende Ferment der Cytase verschieden von der Diastase ist, bei Lupinen, Datteln und Gerste aber identisch sein soll.

Für das Ferment, das bei Ceratonia siliqua die Wände des Schleimendosperms löst, nimmt Effront[4]) ein besonderes Ferment an und bezeichnet es als „Caroubinase".

Wie aus dieser kurzen Zusammenstellung der verschiedenen Ansichten ersichtlich ist, herrscht keineswegs eine einheitliche Vorstellung von den Fermenten, welche Zellulose, Hemizellulose und Stärke lösen. Die Schwierigkeiten in der Darstellung der Fermente, besonders aber die Tatsache, daß eine Reihe verschiedener Fermente stets neben einander vorkommen, bewirken, daß bei den verschiedenen Experimentatoren ungleiche Resultate erhalten werden. Je nach den Versuchsbedingungen kommt in einem Gemenge von verschiedenen Fermenten das eine oder andere besser zur Wirkung und vorläufig besitzen wir noch keine Mittel, um verschiedene Fermente aus Gemengen zu trennen. Czapek[5]) bringt darum in seiner „Biochemie der Pflanzen" diese Fermente in folgende Gruppen:

1. Zellulase, echte Zellulose spaltend;
2. Cytase oder Seminase, Reservezelllulose spaltend;
3. Pektase, Pektin spaltend;

---

1) Reinitzer, Über das Zellwand lösende Enzym der Gerste. Zeitschr. f. physiol. Chemie 1897, Bd. XXXIII.

2) Bourquelot et Hérissey, Sur les ferments solubles produits pendant la germination par les graines a albumen corné. Comptes Rendus de l'acad. Paris 1900; ferner Bourquelot et Hérissey, Sur l'individualité de la séminase. Compt. Rendus 1900 und Hérissey, Recherches chimiques et physiologiques sur la digestion des Mannanes et des Galaktanes par la séminase. Revue génér. de botanique 1903.

3) Newcombe, Cellulose Enzymes. Annales of Botany 1899.

4) J. Effront, Sur un nouvel enzyme hydrolitique la caroubinase. Compt. Rendus 1897.

5) F. Czapek, Biochemie der Pflanzen 1905, Bd. I, pag. 68.

4. Diastase oder Amylase, Stärke spaltend;
5. Glykogenase, Glykogen spaltend;
6. Hadromase, Lignin lösend.

Diese Fermente sind untereinander verschieden und üben nur die speziellen Wirkungen aus.

Unsere Versuche geben für die Fermentfrage auch einige Anhaltspunkte. Man kann allerdings gegen sie den Einwurf erheben, daß nur unter den gegebenen Bedingungen die Pilze dieses besondere Lösungsvermögen zeigen, daß vielleicht unter anderen Bedingungen die Pilze auch sich anders verhalten würden. Dieser Einwurf ist jedoch nicht berechtigt. Zum Teil sind die Resultate der experimentellen Untersuchung durch das pathologisch-anatomische Verhalten der Pilze bestätigt worden. Andererseits sind die Versuche unter genau den gleichen Bedingungen ausgeführt worden und es wäre nicht einzusehen, warum der eine Pilz unter diesen Verhältnissen die Substanz löst und ein nahe verwandter Pilz sie nicht lösen würde. Gewiß werden, wie Pfeffer und Katz gezeigt haben, auch die Zellulose lösenden Enzyme wie die Diastase durch Ansammlung der Spaltungsprodukte in der Bildung gehemmt. Wenn aber durch die Versuchsbedingungen dem Pilz keine oder nur ganz geringe Mengen löslicher Kohlenhydrate zur Verfügung stehen, so ist der Pilz gezwungen aus dem anderen Materiale den Zellulosen sich die Kohlenhydrate anzueignen. Kann er dieses nicht, so zeigt dieses Verhalten nur, daß ihm die Fähigkeit abgeht, die zur Ver-Verfügung stehende Zellulose zu lösen. Aus der Unfähigkeit eines Pilzes eine bestimmte Zellulose zu lösen, schließe ich deshalb, daß der Pilz, das zur Lösung notwendige Enzym nicht absondern kann und daß dieses Enzym verschieden sein muß von dem Enzym, das eine andere Hemizellulose in Lösung bringt. In einer Zusammenstellung bekommen wir folgendes Bild für das Lösungsvermögen der verschiedenen untersuchten Pilze:

(Tabelle siehe nächste Seite oben.)

Aus dieser Tabelle ist zunächst ersichtlich, daß keiner von den angeführten Pilzen vermochte, echte Zellulosen, wie sie in den Flachsfasern und der Baumwolle vorkommt, zu lösen. Da aber diese Eigenschaften sicher den Holz zerstörenden Pilzen, wie Trametes radiciperda, Polyporus borealis, sulfureus usw. zukommt und wahrscheinlich auch bei Humus bewohnenden Arten noch getroffen wird, so ist man berechtigt, ein besonderes Ferment anzunehmen, das echte Zellulose in Lösung bringt. Wahrscheinlich ist es identisch mit dem bei Bakterien von Omeliansky angenommenen Fermente. Nach der allgemein an-

	Echte Zellulose	Hemizellulosen von				
		Molinia	Lupinus	Ruscus	Phoenix	Impatiens
Mucor racemosus	—	+	—	—	—	—
„ neglectus	—	—	+	—	—	+
„ piriforme	—	—	+	—	—	+
„ globosus	—	+	+	—	—	+
Thamneidium elegans	—	—	+	—	—	+
Rhizopus nigricans	—	—	+	—	—	+
Penicillium glaucum I	—	—	—	—	—	+
„ „ II	—	—	+	—	+	+
Sclerotinia fructigena	—	—	+	—	—	—
„ cinerea	—	—	+	—	—	—
Botrytis cinerea	—	—	+	—	—	+
„ vulgaris	—	+	+	—	—	+
Nectria cinnabarina	—	+	+	—	—	—
Cladosporium herbarum	—	+	+	—	—	+
Colletotrichum Lindemuthianum	—	+	+	—	—	+
Trichothecium roseum	—	+	+	+	+	+

genommenen Nomenklatur muß es als eine Zellulase bezeichnet werden.

Die Pilze sind gegen die Hemizellulosen mit Bezug auf das Lösungsvermögen spezialisiert. Man kann die erzielten Resultate nur erklären, wenn man mindestens vier voneinander verschiedene Hemizellulose lösende Fermente annimmt. Da man bis jetzt sich immer der Ausdrücke Cystase oder Seminase für die Reservezellulose lösenden Fermente gebraucht hat, so will ich die Fermente folgendermaßen bezeichnen.

1. Moliniacytase. Sie löst die aus Hemizellulose bestehende Wandverdickung des Speicherinternodiums von Molinia coerulea Mönch., oder eine Hemizellulose, die aus Dextrose, Xylose und wenig Laevulose besteht.
2. Lupinuscytase. Sie löst die aus Hemizellulosen bestehenden Membranen der Lupinuskotyledonen, die bei der Hydrolyse Galaktose und Arabinose liefern.
3. Phönixcytase. Sie löst die Hemizellulosen im Phönixendosperm, die Mannose und Galaktose beim Abbau liefert.
4. Impatienscytase. Sie löst die Hemizellulose in den Kotyledonen von Impatiens balsamina, die wahrscheinlich Galaktose und Xylose bei der Hydrolyse gibt.

Diese vier aufgefundenen Fermente sind sicher in ihrer Wirkungsweise voneinander verschieden, denn sie lösen je Hemizellulosen von

verschiedener Zusammensetzung. Es ist aber wahrscheinlich, daß bei weiterer Untersuchung noch neue von diesen verschiedene Hemizellulose lösende Fermente gefunden werden, denn meine Untersuchung mußte sich auf eine kleine Zahl von Objekten beschränken. Aber auch da finden sich Differenzen, z. B. bei Impatiens. Die einen Pilze, wie Penicillium lösen das Amyloid heraus aus der Membran und lassen Mittellamellen und Grundsubstanz fast ganz intakt; andere hingegen, wie Trichothecium roseum lösen die Mittellamelle und die Grundsubstanz, lassen das Amyloid zurück. Auch bei Lupinen habe ich etwas ähnliches beobachtet. Sclerotinia fructigena löst zuerst die Verdickungsschicht und nachher die Mittellamelle, während Mucor globosus zuerst die Mittellamelle und nachher die Verdickungsschicht löst. Sehr wahrscheinlich beruhen solche Differenzen auf der Wirkungsweise verschiedener Enzyme, die noch genauer zu studieren sind.

Die alte Cytase ist demnach kein einheitliches Ferment sondern setzt sich aus einer Reihe verschiedener Fermente zusammmen. Die Pektase, die das nach Magnin'scher Vorschrift dargestellte Pektin enthalten soll, dürfte mit den Hemizellulose lösenden Enzymen nahe verwandt sein. Meine Untersuchungen ergeben, daß die Fähigkeit eines Pilzes, Mittellamellen zu lösen, die ja aus Pektin bestehen sollen, nur der Eigenschaft der Organismen, Hemizellulosen in Lösung zu bringen, zuzuschreiben ist. Auch die von Bourquelot und Hérissey aufgestellte Seminase ist ein Hemizellulose lösendes Enzym. Aus den Untersuchungen von Hérissey geht hervor, daß sie von Aspergillusformen abgesondert wird und verschieden von der Diastase ist. Ich halte diese Seminase aber auch für verschieden von den von mir angeführten Fermenten. Sie wäre zu charakterisieren als ein Ferment, das Hemizellulose, bestehend aus Mannose und Galaktose, löst und würde der Phönixcytase am nächsten stehen. Da sie aber nach Hérissey die Phönixhemizellulose nicht anzugreifen vermag, so ist damit auch die Verschiedenheit von diesem Ferment sehr wahrscheinlich gemacht. Die Hemizellulose der Palmen ist, trotzdem sie gleiche Abbauprodukte liefert wie die Schleimendosperme der Leguminosen von diesen stark verschieden, wie nur wenige Reaktionen schon darzutun vermögen. Einmal ist die Palmenhemizellulose gegen alle Quellungsmittel viel resistenter als das Hornendosperm der Leguminosen. Gegenüber Chlorzinkjod zeigt die Reservezellulose der Palmen zuerst einen gelblichen

---

1) Hérissey, Recherches chimiques et physiologiques sur la digestion des Mannanes et des Galaktanes par la seminase. Revue générale de botanique 1903.

Ton, der dann ins violette übergeht, während beiden Schleimendospermen fast keine Färbung zu bemerken ist.

In den Phanerogamenkeimlingen sind gewiß die Fermente, welche die verschiedenen Hemizellulosen bei der Keimung der Samen in Lösung bringen, nicht identisch. Die Mittel, aber, um verschiedene Fermente zu trennen, haben wir nicht. Das ist der Grund, warum in den Diastasepräparaten stets verschiedene Fermente sind. So z. B. enthält die käufliche Gerstendiastase und Malzextrakt neben dem Stärke lösenden Ferment auch das Hemizellulose lösende Ferment. Darauf ist sicher ein großer Teil der Widersprüche zurückzuführen, die sich in der Literatur vorfinden.

Gewiß werden beim Studium anderer Pilze in ihrer Wirkung auf verschiedene Zellulosen noch andere Fermente nachgewiesen werden. Die Untersuchungen R. Hartigs über die Zersetzungserscheinungen der Hölzer fordern gerade zu solchen Untersuchungen auf. Versuche die ich mit Trametes radiciperda und Polyporus igniarius anstellte, scheiterten an dem Umstande, daß es mir nicht möglich war, die betreffenden Pilze auf künstlichen Nährboden rein zu kultivieren. Aus der Untersuchung R. Hartigs muß aber gefolgert werden, daß Trametes wenigstens zwei verschiedene Fermente absondert: eines, das die verholzende Substanz zuerst herauslöst, und eines, das nachher die echte Zellulose in Lösung bringt. Die Hartigsche Angabe habe ich nachgeprüft und kann sie nur bestätigen. In Fig. 9, Tafel IV finden sich bei Hartigs Zersetzungserscheinung die succesiven Lösungserscheinungen gut wiedergegeben.

Auch für andere Holz zerstörende Pilze muß die Lösung der echten Zellulose aus den Bildern der Holzzerstörung gefolgert werden; so für Merulius lacrymans, Lenzites saepiaria, Daedalea quercina, Polyporus fulvus, borealis, igniarius, fomentarius, sulphureus, dryadeus, hirsutus, betulinus und gewiß noch andere.

Aber auch bei gewissen Ascomyceten tritt eine Lösung der echten Zellulose ein. So ist dieser Vorgang von Appel[1]) für einzelne Fusarien festgestellt, nach Biffen[2]) tritt das auch bei Bulgaria polymorpha ein, ferner ist es der Fall bei Clithris quercina.

Ich habe die feste Überzeugung, daß die Zelluloselösung durch die Pilze bei der Zersetzung der Pflanzenkörper im Boden eine viel größere Rolle spielt als man bis dahin angenommen hat.

---

1) O. Appel, l. c.

2) Biffen, On the Biology of Bulgaria polymorpha. Annales of Botany 1902, Vol. XV.

Die Beziehungen der Lösungserscheinungen zur chemischen Konstitution der Membranen.

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen mit aller Deutlichkeit, daß den Auflösungserscheinungen der Membranen durch die Pilze keineswegs einfache Verhältnisse zugrunde liegen. Es ist in erster Linie zu bemerken, daß die Vorgänge der Lösung immer mit einer hydrolytischen Spaltung der Zellulosen in verschiedene Zuckerarten verbunden sind. Im Laboratorium wird diese Spaltung immer mittelst Säuren durchgeführt; die Geschwindigkeit der Spaltung wird durch die Säurekonzentration und die Temperatur in der Hauptsache bestimmt. In diesem Prozeß spielt die Säure die Rolle des Katalysators, sie wird nicht verbraucht, sondern geht unverändert aus dem Prozeß wieder hervor. Der Verlauf der Spaltung der Zellulose in der Pflanze hat große Ähnlichkeit mit dem Gang der hydrolytischen Spaltung durch Säuren. Es entstehen wahrscheinlich die gleichen Abbauprodukte, aber als Katalysatoren funktionieren keine Säuren, sondern Fermente, deren Zusammensetzung wir nicht kennen.

Durch eine und dieselbe Säure gelingt es, alle bekannten Zelluloseformen zu spalten, ebenso Stärke, Glykogen, Rohrzucker usw., nur ist die Konzentration, die angewendet werden muß, verschieden. Während durch $^1/_2$ %ige Schwefelsäure Stärkekleister, Rohrzucker, Glykogen bei Zimmertemperatur hydrolysiert werden, ist zur Spaltung der Hemizellulosen bei gleicher Temperatur eine höhere Säurekonzentration erforderlich und die echten Zellulosen werden erst durch konzentrierte Säuren angegriffen. Man könnte nun glauben, daß die Stoffe, die bei gleicher Säurekonzentration und gleicher Temperatur gleich rasch hydrolysiert werden, auch in der Pflanze von dem gleichen Fermente in Lösung gebracht werden. Das ist aber nicht der Fall. Ein schönes Beispiel dafür sind die Hemizellulosen. Sie sind in kochenden verdünnten Säuren (3 %ige Schwefelsäure) leicht löslich und werden hydrolysiert. Zwischen den verschiedenen Hemizellulosen bestehen in dieser Richtung nur geringe Unterschiede, wie die Untersuchungen E. Schulzes deutlich zeigen. Unsere Untersuchung hat aber dargetan, daß verschiedene Fermente vorhanden sind, von denen jedes nur eine bestimmte Hemizellulose löst und eine andere Hemizellulose nicht zu lösen vermag. Es müssen somit die Verschiedenheiten in der Konstitution der Hemizellulose diese Unterschiede bedingen und nicht ihre ungleiche Löslichkeit in den Säuren. Für sie paßt der Vergleich E. Fischers, daß das Enzym zur Konstitution der Substanz passen muß, wie der Schlüssel zum Schlüsselloch, in ausgezeichneter

Weise. Wir besitzen leider über die Konstitution der Zellulosen sehr wenig Anhaltspunkte, ja man darf ruhig sagen, daß die Hemizellulosen noch nie im reinen Zustand gewonnen worden sind. Es sind nur Körper, die wir auf Grund der verschiedenen Abbauprodukte trennen. Eine nähere Aussprache über die Wirkungsweise der Zellulose lösenden Enzyme würde darum ins Gebiet unfruchtbarer Spekulationen gehören.

Andere Fragen hingegen lassen sich mittelst der Wirkungsweise der Pilze auf Zellulosen prüfen. Die Zellmembranen bestehen aus verschiedenen Schichten. In den meisten Fällen sind die Unterschiede durch verschiedenen Wassergehalt der gleichen Substanz bedingt. Andererseits kennen wir Schichtungen von Membranen, die durch verschiedene Substanzen erzeugt werden, so die Mittellamellen, die ungleich verholzten Schichten der Libriform und Bastfasern. Von besonderem Interesse sind aber die Fälle, wo in die echten Zellulosen noch Hemizellulosen in der Membransubstanz eingelagert oder chemisch gebunden sind. Wie meine Untersuchungen[1]) zeigen, sind solche Fälle viel häufiger, als man früher annahm. Ich habe durch meine Untersuchungen den Eindruck bekommen, daß fast in allen Pflanzenmembranen neben echten Zellulosen auch noch Hemizellulosen eingelagert sind, freilich in wechselnden Quantitäten, je nach den Pflanzenorganen und nach dem Alter des Pflanzenteiles. Es entsteht für unsere Untersuchungen somit die Frage, ob durch die Einwirkung der Pilzenzymen auf solche Membranen die Hemizellulosen herausgelöst werden können. Die Untersuchungen von Pflanzengeweben, die durch Pilze zersetzt werden, bestätigen durchaus diese Vermutung.

Schon die Tatsache, daß die Mittellamelle von vielen Pilzen gelöst wird, zeigt, daß der Unterschied in der stofflichen Zusammensetzung dieser Lamelle gegenüber den anderen für die Lösung von maßgebendem Einfluß ist. Die übrigen Schichten der Membranen bleiben nun durchaus nicht unverändert. Schon de Bary[2]) ist es bei der Untersuchung des Enzymes von Peziza sclerotiorum aufgefallen, daß „bei gleichnamigen Parenchymmembranen, die keinen Unterschied weder in der Dicke noch in ihrer exquisiten Zellulosefärbung erkennen lassen," aber von jungen und älteren Partien der gleichen Petunia stammen, ein großer Unterschied im Verhalten gegen das Enzym hervortritt. Bei den jungen Geweben trat die Lösung der Mittellamelle rasch ein, beim alten Gewebe wurde

1) Über das Vorkommen von Hemizellulose bei unseren Waldbäumen. Ber. d. D. bot. Ges. 1905.

2) A. de Bary, Über Sklerotien und Sklerotienkrankheiten. Bot. Ztg. 1888, pag. 451.

diese Membran selbst nach langer Einwirkung des Fermentes nicht gelöst. Dieser Unterschied beruht nur darauf, daß in der alten Membran viel mehr echte Zellulosen enthalten sind und die Hemizellulosen zurücktreten, während in jungen Membranen mehr Hemizellulosen sich vorfinden. Kocht man diese Gewebe während zwei Stunden in 5 %iger Salzsäure, so treten die gleichen Veränderungen wie nach der Einwirkung der Botrytis auf.

An einer anderen Stelle bemerkt de Bary pag. 415: „Bei den Daucusrüben, den Internodien von Faba und anderen Stengeln sind die Membranen der getrennten Zellen äußerst schlaff und zart; es hat den Anschein, als hätten sie selbst starken Verlust erlitten". „Bei Betarüben bleiben die Membranen fester und man erhält durch Zerdrücken oder Verzupfen vergifteter Gewebestücke die saubersten Mazerationspräparate." Auch bei diesen Präparaten hat man nur die Unterschiede zwischen Membranen mit viel oder weniger Hemizellulosen vor sich. Kocht man die Gewebe der Daucusrübe vom Fabastengel und Betarübe in 5 %iger Salzsäure während zwei Stunden, so treten analoge Veränderungen ein. Bei der Daucusrübe lassen die Gewebe sich leicht trennen oder sie sind bereits getrennt, die Membransubstanz erscheint weniger dicht, jedenfalls mehr als die Hälfte ist gelöst worden und die Reste der Membranen sind vielfach zu Klumpen vereinigt. Fast genau gleiche Änderungen zeigt das Parenchym des jungen Fabastengels. Dieser Versuch zeigt somit, daß bei den Objekten in den Membranen ansehnliche Quantitäten Hemizellulosen enthalten sind; ich schätze, daß etwas mehr als die Hälfte bei der Daucusrübe aus Hemizellulosen besteht. Wenn der Pilz neben den Mittellamellen auch die Substanz der Membran hier teilweise gelöst hat, so hat er somit nur die Hemizellulose herausgelöst und die echten Zellulosen zurückgelassen. Bei der Betarübe sind auch die Zellwände nach dem Kochen in verdünnter Säure viel derber als bei Daucus und Vicia faba und das Gewebe trennt sich nicht so leicht in die einzelnen Zellen. Sie enthalten somit viel weniger Hemizellulosen als die Parenchymwände von Daucus und Vicia faba. Damit stimmt das Verhalten des Pilzes überein. Die Wand, die viel echte Zellulose enthält, wird nicht angegriffen.

Für diese Botrytis vulgaris komme ich zum Resultat, daß sie auch die Hemizellulosen aus Membranschichten herauszulösen vermag, wenn sie mit echter Zellulose vermengt oder chemisch gebunden ist. Die Einwirkung des Pilzenzymes muß als ein vorzügliches Mittel bezeichnet werden, um in einer Membran Zellulosen und Hemizellulosen zu trennen, wenigstens in unverholzten Membranen.

Auch für andere Pilze habe ich ganz ähnliche Erfahrungen gesammelt. Interessant ist in dieser Beziehung die Lösung des Flachsstengelparenchyms durch Rhizopus nigricans. Neben der Mittellamelle löst der Pilz auch Substanz aus den übrigen Schichten des Rindenparenchyms. Die Membranen werden weniger dicht, schrumpfen zusammen. Kocht man das gleiche Gewebe längere Zeit mit verdünnter 3%iger Salzsäure, so zeigen die Membranen die gleichen Veränderungen. Es wird etwa ein Drittel bis die Hälfte der Substanz gelöst, der andere Teil quillt etwas und die Membranen lassen sich beim zerzupfen ziemlich leicht trennen. Der Pilz hat somit nur die Hemizellulose aus der Membran herausgelöst, die auch bei dem Kochen mit verdünnten Säuren nach und nach gelöst wird.

Correns[1]) macht darauf aufmerksam, daß durch die Behandlung der Gewebe mit Schulzeschem Mazerationsgemisch nicht allein die Mittellamellen der Membranen gelöst werden, sondern auch aus Bastfasern und anderen verdickten Parenchymmembranen noch in einzelnen Schichten Substanz herausgelöst wird. Diese Substanz ist nach Correns einer der Typen der Zellulose. Heute wissen wir, daß es Hemizellulosen sind, die aus dem Verbande der echten Zellulose gelöst werden. Ich fragte mich, ob eine solche Differenzierung der Schichten mit Pilzenzymen resp. in Pilzkulturen erzielbar ist. So weit es sich um unverholzte Membranen handelte, gaben mir meine Versuche immer positive Resultate.

Bei den Versuchen mit Mucor racemosus die zu Flachsstengelschnitten gebracht wurden, war entschieden in der Flachsfaser die Schichtung viel deutlicher geworden, ohne daß aber nachher durch Zerdrücken der Präparate eine Trennung der Schichten erfolgt wäre. Es mag in der dunklen Schicht etwas von der Substanz in Lösung gegangen sein. Deutlicher als an der Leinfaser trat dieses Verhalten an den collenchymatisch verdickten Partien des Parenchyms von Begonia hervor. Es treten die Schichtungen der Membran deutlich hervor; im Innern ist die Substanz in einzelnen Schichten bedeutend weniger dicht geworden.

Bei Botrytis vulgaris läßt sich das gleiche leicht im Collenchym verschiedener Stengel verfolgen. So bei Begonia, Petunia, Vicia Faba (in älteren Stengelpartien).

Durch die Einwirkung der Pilzenzyme werden aus verschiedenen Schichten, besonders der inneren, Substanzen herausgelöst, ja manchmal

---

1) C. Correns, Zur Kenntnis der inneren Struktur der vegetabilischen Zellmembran. Jahrb. f. wiss. Bot. 1892, pag. 326.

kann die Sache in jüngerem Collenchym so weit kommen, daß die einzelnen Schichten sich unter leichtem Druck trennen und zerfallen.

Durch Einwirkung von Malzenzymen auf das Collenchym von Begoniastengel hat J. Grüß[1]) dasselbe gefunden. Es handelt sich in beiden Fällen um die Herauslösung der Hemizellulosen aus der Membransubstanz; die echte Zellulose bleibt ungelöst zurück.

Brown und Morris[2]) und Reinitzer[3]) haben gefunden, daß durch Einwirkung von Malzauszug die Zellen des Parenchyms der Möhre und der Kartoffelknolle aus dem Gewebeverband getrennt werden. Mit Recht hebt Reinitzer hervor, daß nur die Hemizellulose der Mittellamellen, nicht aber die echte Zellulose angegriffen werde. Die gleiche Trennung gelingt bei der Möhre durch Kultur verschiedener Pilze wie Botrytis, Mucor globosus, Penicillium glaucum sehr leicht.

Diese Fälle zeigen nur, daß es durch Einwirkung von Pilzkulturen gelingt, eine Trennung von Hemizellulosen und echten Zellulosen herbeizuführen.

Es bleibt uns nun noch die Frage zu erörtern, ob solche echte Zellulosen, die durch Einwirkung von konzentrierten Säuren oder Alkalien in einen gequollenen Zustand versetzt wurden, dann auch noch durch Pilze angegriffen werden. Besonders die Einwirkung von Alkalien auf Zellulosen versetzt diese in einen Zustand, daß nachher von Säuren sehr leicht angegriffen werden. So hat E. Kern[4]) gefunden, daß Zellulose aus Papier durch Kochen mit $1\,^1/_4\,\%$ iger Schwefelsäure fast nicht angegriffen wird, wohl aber sehr erheblich, wenn sie zuvor mit $1\,^1/_4\,\%$ iger Kalilauge gekocht wurde. Ebenso stellt Winterstein[5]) fest, daß Zellulose aus Tannenholz nach dem Stehen in $5\,\%$ iger Natronlauge und nachherigem Auskochen mit $1\,^1/_4\,\%$ iger Schwefelsäure weit mehr Substanz verlor, als ohne Behandlung mit Natronlauge.

Um die Frage der Einwirkung der Pilze auf gequollene Zellulose zu prüfen, habe ich Botrytis vulgaris zu diesem Zwecke auf feuchtem Pergamentpapier kultviert. Man bemerkt, daß die stark gequollenen Fasern durch den Pilz angegriffen und teilweise gelöst werden und die Mycelfäden bahnen sich leicht einen Weg durch das Papier. Ebenso zeigen Kollodiumhäutchen einen Angriff durch den Pilz. In der Lite-

1) J. Grüß, Über das Verhalten des diastatischen Enzymes in der Keimpflanze. Jahrb. f. wiss. Botanik 1894.

2) Brown und Morris, l. c., pag. 501 u. f.

3) F. Reinitzer, Über das zellwandlösende Enzym der Gerste. Zeitschr. f. physiol. Chemie 1897, Bd. XXIII, pag. 19 u. f.

4) E. Kern, Journal f. Landwirtschaft 1876, pag. 19.

5) E. Winterstein, Zeitschr. f. physiolog. Chemie 1893, pag. 393.

ratur finden sich einige Angaben, was nach dieser Richtung Myioshi[1]) beobachtete, daß die Mycelfäden seiner Botrytis durch Pergamentpapier hindurch wachsen; ferner daß durch sie ansehnlich dicke Kollodiumhäutchen hindurch gewachsen waren. Nach meinen Beobachtungen löst Botrytis vulgaris nur den stark gequollenen Teil der Fasern auf, während der nicht gequollene Teil der Fasern (Baumwolle) auch vom Pilz nicht gelöst wurde. In diesem Falle handelt es sich nur um Lösung des durch die Papierfabrikation veränderten Teils der Zellulosefasern. Bei Kollodiumhäutchen geht die Lösung nur sehr langsam vor, immerhin findet man ein deutliches Abschmelzen an den Randpartien der Stücke.

Diese Beobachtungen zeigen deutlich, daß auch die durch chemische Prozesse veränderte Zellulose sich anders gegen Pilze verhält. Freilich wissen wir über die Konstitution dieser, durch konzentrierte Säuren oder Alkalien gequollenen Zellulosen, nichts bestimmtes. Sie werden als Oxy- und Hydroformen der Zellulose aufgefaßt. Ihre Beziehungen zu den Hemizellulosen sind noch wenig klar und man kann zurzeit nicht auf das Vorhandensein anderer Fermente als den Hemizellulosen lösenden schließen.

Dieses Verhalten der Botrytis vulgaris erklärt uns aber das Resultat, das J. Behrens[2]) bei seinem Kulturversuch des Pilzes auf Fließpapier erhalten hat. Wenn nach 50 Tagen nur ca. $^1/_{10}$ der Trockensubstanz in Lösung ging, so glaube ich, daß damit gerade die Unfähigkeit des Pilzes, reine Zellulose zu lösen, demonstriert wird. Die Partie, die vom Filtrierpapier nach dieser langen Versuchsdauer gelöst wurde, war wahrscheinlich solche veränderte Zellulose, wie sie bei der Fabrikation des Filtrierpapieres durch Behandlung mit Säuren und Alkalien immer in geringer Menge entstehen. Untersucht man mit den Jodreagenzien schwedisches Filtrierpapier, so bemerkt man, daß diese Zellulose viel intensiver reagiert als z. B. unverholzte Fasern oder Parenchymwände. Das beweist nur, daß die Zellulosefasern während des Prozesses der Papierfabrikation an der Oberfläche eine Veränderung erlitten haben.

Zusammenfassung der Resultate.

Die vorliegenden Untersuchungen haben als wichtigstes Resultat ergeben, daß die Pilze mit Bezug auf die Lösung von Zellulosen spezialisiert sind. Streng ist die Lösung der echten Zellulose von den

1) M. Myioshi, l. c., pag. 277.

2) S. Behrens, Beiträge zur Kenntnis der Obstfäulnis. Zentralbl. f. Bakteriologie 1898, II. Teil.

Hemizellulosen getrennt. In vielen Fällen, wo man von der Lösung echter Zellulosen gesprochen hat, handelt es sich nur um die Lösung von Hemizellulosen. Aber auch gegen diese Körper zeigen die Pilze im Lösungsvermögen große Differenzen. Man ist gezwungen, wenigstens vier verschiedene Fermente für die Lösung der verschiedenen Hemizellulosen anzunehmen, die ich nach den typischen Materialien als das Moliniaferment, das Dattelferment, das Lupinusferment und das Amyloidferment bezeichnen will. Nicht die Löslichkeit der verschiedenen Zellulosen in Säuren ist entscheidend für das Lösungsvermögen der Pilze für diese Stoffe, sondern es ist allein die chemische Konstitution der Substanz, die den Ausschlag gibt. Gestützt werden diese Ergebnisse durch die Untersuchung der Zersetzungserscheinungen der Pilze in den toten und lebenden Pflanzenkörpern. Es gelingt durch Einwirkung von Pilzen, die Hemizellulosen von den Zellulosen in den unverholzten Geweben zu trennen. Sicherlich werden die Pilze bei der Zersetzung der Pflanzensubstanzen im Boden eine viel größere Rolle spielen als man bisher angenommen hat.

Archegoniatenstudien.

Von **K. Goebel.**

XII. Über die Brutknospenbildung und über die systematische Stellung von Riella.

(Mit 11 Abbildungen im Text.)

1. Die Brutknospenbildung[1]).

Brutknospen wurden für Riella americana zuerst beschrieben von Howe und Underwood[2]). Porsild[3]) fand sie bei R. Paulsenii, alle drei genannten Autoren sprechen die Vermutung aus, daß auch bei R. Cossoniana Brutknospen vorkommen, und daß sich auf diese eine Abbildung von Trabut beziehe.

Diese Vermutung ist richtig. Die von Dr. Kupper in den hiesigen Kulturen von R. Cossoniana, R. Battandieri und R. helicophylla bemerkten Brutknospen sind so merkwürdige Gebilde, daß es

---

1) Die hier mitgeteilte Untersuchung wurde ebenso wie der XI. Abschnitt dieser Studien in Gemeinschaft mit Herrn Dr. W. Kupper, Assistent am hiesigen pflanzenphysiol. Institut ausgeführt.

2) M. A. Howe und L. M. Underwood, The genus Riella. Bull. of the Torrey botanical club 1903, Vol. XXX, pag. 214—224.

3) M. Porsild, Zur Entwicklungsgeschichte der Gattung Riella. Flora 1903, Bd. XCII, pag. 431 ff.