

und doch sind die Keimungsgeschichten beider Arten so sehr verschieden von einander.

### Erklärung der Abbildungen.

- Fig. 1—6. Keimlinge von *Anemone apennina* auf verschiedenen Entwicklungsstufen, in natürlicher Grösse. Die Querlinie deutet die Erdoberfläche an.
- „ 7—8. Querschnitt durch den Cotyledonarstiel in verschiedenen Höhen, von oben nach unten fortschreitend, schwach vergrössert.
- „ 10. Ein Theil des Cotyledonarstiels *c* von Fig 6 vergrössert, *s* eine Seitenwurzel, *a* Grenze des wurzelartigen Theiles.
- „ 11. Längsschnitt durch den unteren Theil eines Keimlings. *w* Wurzel, *k* die Knolle, *c* der Cotyledonarstiel, *b* der Stiel des ersten Laubblattes, *p* die Plumula.

## 21. F. Czapek: Zur Biologie der holzbewohnenden Pilze.

Eingegangen am 9. Mai 1899.

Im Verlaufe meiner physiologisch-chemischen Studien über die Zusammensetzung verholzter Zellmembranen<sup>1)</sup> beobachtete ich gelegentlich, dass sich aus Holz, welches von *Merulius lacrymans* zerstört ist, grosse Mengen Hadromal, des von mir isolirten Trägers der „Ligninreactionen“, direct mit Alkohol oder Benzol extrahiren lassen. Da sich aus normalem Holze bekanntlich nur relativ wenig Hadromal direct gewinnen lässt, so liegt es nahe, an eine chemische Wirkung des Pilzes auf das Holz zu denken.

Die schönen und grundlegenden Untersuchungen von ROBERT HARTIG<sup>2)</sup> haben uns nicht nur mit dem Wachsthum der wichtigsten Holz zerstörenden parasitischen und saprophytischen Pilze erschöpfend bekannt gemacht, sondern zeigten auch, dass stets tiefgreifende Veränderungen der verholzten Membran durch den Pilz bewirkt werden, welche im Wesentlichen darin bestehen, dass das Holz zunächst Blaufärbung mit Chlorzinkjodlösung giebt, worauf Auflösung der angegriffenen Membranen erfolgt. HARTIG's Beobachtungen, dass im

1) F. CZAPEK, Ueber die sogenannten Ligninreactionen des Holzes. Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd. XXVII, S. 141 (1899).

2) R. HARTIG, Die Zersetzungserscheinungen des Holzes der Nadelholzbäume und der Eiche. Berlin 1878. Ferner: Lehrbuch der Baumkrankheiten. 2. Aufl., Berlin 1889, S. 161 ff.

Umkreise um die Hyphen, welche eine Wand durchbohren, eine Auflösung der Membran unter Erweiterung der Bohrlöcher erfolgt, deuten bereits an, dass es sich um Ausscheidung lösend wirksamer Stoffe durch die Hyphen handeln wird. In seinem Lehrbuche<sup>1)</sup> spricht unser Autor auch ausdrücklich von Fermentwirkungen durch den holzerstörenden Pilz.

Nicht nur die obligat Holz bewohnenden Pilze können solche Thätigkeit entfalten. Neuere Beobachtungen lassen vielmehr darauf schliessen, dass auch Schimmelpilze, auf Holz cultivirt, bis zu einem gewissen Grade destruirende Wirkung auf ihr Substrat ausüben. So gelang es MIYOSHI<sup>2)</sup>, *Penicillium* und *Botrytis* zum Durchbohren der Tüpfel von Fichtenholztracheiden zu veranlassen, und neuestens berichtet MARSHALL WARD<sup>3)</sup>, dass *Penicillium glaucum* seine Hyphen bei länger dauernder Cultur tief in frisches Holz einbohren könne unter Benutzung der Stärke der Markstrahlzellen zu seiner Ernährung.

Gewiss sind, wie bei allen Fällen von Durchbohrung von Membranen durch Pilze, auch hier chemische und mechanische Wirkungen gleichzeitig vorhanden<sup>4)</sup>. Dass die letzteren in Frage kommen, zeigt schon das Aufsuchen minder dicker Membranstellen als Bohrstellen (Tüpfel) bei den genannten Schimmelpilzen. Dass chemische Wirkungen sehr erheblich in Betracht kommen, ist bereits von HARTIG für zahlreiche Fälle sicher gestellt worden. HARTIG fiel es vielfach auf, dass die Stärkekörner im Holze von den holzbewohnenden Pilzen relativ spät angegriffen werden im Vergleich zu den Zellmembranen. Wir müssen daher annehmen, dass die „Cytase“-Wirkung im Vordergrunde steht und die amylytische Wirkung der Pilze geringer ist. Umgekehrt scheint es nach MARSHALL WARD und nach meinen eigenen gleichzeitig, ohne Kenntniss von WARD's Arbeiten angestellten Beobachtungen, bei *Penicillium* zu sein, in dessen Thätigkeit vor Allem die Wirkung auf die Stärkekörner der Markstrahlzellen hervortritt.

Die Eingangs erwähnte Thatsache, dass von *Merulius* befallenes Holz sehr leicht grosse Mengen von Hadromal an geeignete Lösungsmittel abgibt, steht nicht allein. Ich constatirte denselben Befund an Hölzern, welche durchwuchert waren vom Mycel von *Polyporus adustus* (Willd.) Fries, *Pleurotus pulmonarius* (Fr.), *Pleurotus ornatus* (Fr.) und *Armillaria mellea* (Vahl) QuéL. In allen diesen Fällen giebt das alkoholische Holzextract eine äusserst intensive Rothfärbung mit Phloroglucin-Salzsäure. Ich versuchte wiederholt Schnitte durch

1) l. c. S. 16.

2) M. MIYOSHI, Durchbohrung von Membranen durch Pilzfäden. Jahrbücher für wissensch. Botanik, Bd. 28, S. 277 (1895).

3) MARSHALL WARD, Annals of Botany. Vol. XII, p. 565 (1898).

4) Hierüber besonders MIYOSHI in der citirten Arbeit.

das vom Pilze befallene Holz oder Holzpulver mit Alkohol zu erschöpfen, um zu sehen, ob hierauf eine Abnahme der Hadromalreaction im Holze erfolge. Das Schwächerwerden der Reaction war jedoch stets sehr gering oder gar nicht zu constatiren. Auch im mikroskopischen Bilde war an mit Alkohol längere Zeit ausgekochten Schnitten keine Differenzirung der Stellen um Mycelnester bei Anstellung der Hadromalreaction zu sehen. Die Rothfärbung mit Phloroglucin-Salzsäure schien unvermindert. Das gleiche Resultat giebt auch schon HARTIG bezüglich *Merulius*-kranken Holzes an<sup>1)</sup>.

Eine sehr regelmässige Erscheinung, welche bereits WILLKOMM<sup>2)</sup> aufgefallen war, und deren Vorkommen von HARTIG<sup>3)</sup> an sehr zahlreichen pilzkranken Hölzern eingehend studirt wurde, ist ferner die blaue Reaction des Holzes mit Chlorzinkjodlösung um alle von Hyphen durchwucherte Stellen herum. HARTIG stellte fest, dass diese Veränderung stets der Auflösung der Membranen vorhergeht. Jedenfalls ist die in Rede stehende Veränderung dahin zu deuten, dass die Cellulose der Zellmembranen durch die Einwirkung des Pilzes aus irgend einer Bindung frei gemacht wurde und nun dadurch direct nachweisbar ist. Im Vereine mit der Thatsache, dass viel Hadromal aus dem zerstörten Holze direct extrahirbar ist, liegt der Schluss nahe, dass der im Holze vorliegende Hadromal-Celluloseäther durch die Wirkung des Pilzes gespalten wurde. Freilich ist diese Spaltung gewiss nur partiell, nicht quantitativ, weil wir auch dem hochgradig zersetztem Holze alles Hadromal durch directe Lösung nicht entziehen können. Die Verhältnisse sind sehr ähnlich den experimentellen Erfahrungen, die ich bei der Spaltung des Holzes mittelst Zinnchlorür, behufs Darstellung des Hadromals, zu sammeln Gelegenheit hatte. Auch da gab das unvollständig zersetzte Holz bereits die violette Chlorzinkjodreaction, während die Phloroglucin-Salzsäureprobe noch sehr intensiv zu erzielen war.

Es ist somit sehr wahrscheinlich, dass die holzbewohnenden Pilze zunächst auf die verholzten Zellmembranen derart wirken, dass die ätherartige Verbindung des Hadromals mit der Cellulose gespalten wird. Hierdurch wird einerseits Hadromal frei und extrahirbar, andererseits lässt sich die Cellulose erst direct nachweisen und wird durch ein Pilzferment bald darauf in lösliche Producte verwandelt. Im Gegensatz zur Cellulose scheint das Hadromal nicht in erheblichem Masse von den Pilzen verarbeitet zu werden, nachdem die Intensität der qualitativen Reactionen gar nicht oder nur wenig abnimmt.

1) HARTIG, Der echte Hausschwamm. S. 53, 1885.

2) WILLKOMM, Die mikroskopischen Feinde des Waldes. S. 68 und Tafel I, Fig. 1, 1866.

3) R. HARTIG, Zersetzungserscheinungen des Holzes. 1878.

Auch *Penicillium glaucum* wurde von mir in Hinblick auf diese Wirkung untersucht. Dieser Pilz treibt seine Hyphen nur sehr langsam, am raschesten von Querschnitten aus, durch die Tüpfel der Tracheidenwände frischer Nadelholzstücke. Die Violettfärbung mit Chlorzinkjodlösung wurde dementsprechend an den inficirten Holzstückchen nur sehr local, bei hochgradiger Durchwucherung durch Hyphen aufgefunden. Am häufigsten ist diese Veränderung an der Oberfläche des Holzes, welche vom Pilze bewachsen ist, wahrzunehmen. Jedenfalls ist hier die holzzerstörende Wirkung sehr beträchtlich geringer als bei den bekannten, forstlich schädlichen *Trametes*-, *Polyporus*- und *Agaricus*-Arten.

Weitere Untersuchungen stellten nun die Möglichkeit fest, aus Pilzen eine Substanz zu isoliren, welcher ebenso die Fähigkeit inneohnt, Holz zu zersetzen, wie den Hyphen selbst. Meine Versuche erstreckten sich, aus Mangel an anderweitigem geeigneten Material, auf *Pleurotus pulmonarius* und *Merulius lacrymans*. Es wurden aus dem kranken Holze die aus Hyphen gebildeten Lamellen herauspräparirt, was öfters unter Gewinnung grösserer Fetzen von Pilzgewebe gelingt, und möglichst viel von diesen Hyphenwucherungen isolirt. Das abgewaschene Material wurde nun auf das Sorgfältigste mit Schmirgel zerrieben, sodann abgepresst und der Presssaft filtrirt. Zu Proben von 1—2 ccm Presssaft wurde eine Messerspitze mit Alkohol ausgekochter und getrockneter Holzfeile zugesetzt, die Proben mit Chloroform versetzt und bei 28° im Brutschrank stehen gelassen. Von Zeit zu Zeit wurde eine der Proben herausgenommen, mit Alkohol extrahirt, und mit dem Alkoholextract die Phloroglucin-Salzsäureprobe angestellt. Nach 3 Tagen fiel die Reaction negativ aus, nach 8 Tagen schwach positiv, nach 14 Tagen gab aber das Extract eine ziemlich starke „Ligninreaction“, und das abfiltrirte Holz färbte sich mit Chlorzinkjodlösung sofort und stark violett. Dabei lieferte es aber noch Rothfärbung mit Phloroglucin-Salzsäure. Wie wir sehen, sind dies dieselben Veränderungen, wie sie das Holz durch die Pilzhyphen selbst erleidet.

Das Pilzextract verliert seine holzzeretzende Kraft vollständig, wenn es zuvor einmal aufgeköcht worden ist. Durch Alkohol lässt sich als weisser wasserlöslicher Niederschlag eine Substanz fällen, welcher nach einem angestellten Versuche die beschriebene Wirkung auf verholzte Zellwände zukommt. Es ist somit anzunehmen, dass es sich um ein Enzym handelt, welches von den Hyphen der holzbewohnenden Pilze ausgeschieden wird und das die Eigenschaft hat, die ätherartige Hadromal-Celluloseverbindung zu spalten. Obzwar ich noch keine anderweitigen Esterspaltungen durch dieses Enzym beobachten konnte, so ist doch eine anderweitige spaltende Wirksamkeit sehr gut denkbar, z. B. in Hinblick auf Glycoside etc. Umgekehrt

sah ich durch Emulsin, Invertin, Diastasepräparate keine Wirkung auf verholzte Membranen in Erscheinung treten und muss, vorläufig wenigstens, für das Enzym der Pilzhyphen allein die holzzerstörende Wirksamkeit in Anspruch nehmen. Nach allen bisherigen Erfahrungen wäre aber das neu aufgefundene Enzym in die Gruppe der „fett- und glycosidspaltenden“ Fermente zu stellen.

Ich schlage vor, dieses Enzym „Hadromase“ zu nennen. Durch meine hier mitgetheilten Versuche ist somit klargelegt, dass die holzbewohnenden Pilze mindestens zwei Enzyme aus ihren Hyphen ausscheiden, deren eines den Hadromal-Celluloseäther der verholzten Wände spaltet (Hadromase), während das andere die frei gemachte Cellulose auflöst (Cytase). Die Erfahrungen an *Penicillium* zeigen ferner, dass auch an Pilzen, die sonst wahrscheinlich nicht Hadromase bilden, eine schwache Production dieses Enzyms durch Cultur auf Holz als regulatorischer Vorgang beobachtet werden kann, ähnlich wie wir dies von der Diastase durch die Arbeit von J. KATZ<sup>1)</sup> kennen gelernt haben.

Dass die holzbewohnenden Pilze auch noch amylolytisch wirksames Enzym produciren, wird durch die Zerstörung der Markstrahlenstärke bewiesen. Doch tritt diese Enzymthätigkeit, wie besonders HARTIG's Erfahrungen zeigten, sehr in den Hintergrund gegenüber der Zellhaut lösenden Wirkung des Hyphensecretes.

Prag, Botanisches Institut der deutschen technischen Hochschule.

## 22. C. Steinbrinck: Zum Vorkommen und zur Physik der pflanzlichen Cohäsionsmechanismen.

Eingegangen am 25. Mai 1899.

Aus den bisherigen Veröffentlichungen über Cohäsionsmechanismen geht jedenfalls soviel mit Bestimmtheit hervor, dass die allseitige und gründliche Erforschung ihres Vorkommens und ihrer physikalischen Bedingungen von nicht geringem Interesse sein wird. Zur Förderung dieses Unternehmens kann vielleicht der folgende kurze Nachtrag zu meinen früheren Mittheilungen über dieses Gebiet einiges beitragen. Da ich nämlich z. Z. anderweit zu sehr in An-

1) J. KATZ, Die regulatorische Bildung von Diastase durch Pilze. Jahrb. für wiss. Bot., Bd 31, S. 599, 1898.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft](#)

Jahr/Year: 1899

Band/Volume: [17](#)

Autor(en)/Author(s): Czapek Friedrich

Artikel/Article: [Zur Biologie der holzbewohnenden Pilze. 166-170](#)