Biologische Untersuchungen
über das in Dauerzellen und Hyphen verschiedener Pilze
auftretende Fett.

Von HERBERT KORDES (Würzburg).

I. FETT INNERHALB VON SPOREN, KONIDIEN UND ANDEREN DAUERZELLEN.

EINLEITUNG.

Stark lichtbrechende Tropfen innerhalb von Sporen und Dauerzellen von Pilzen, die mitunter auch lebhaft gefärbt sein können, wurden schon von DE BARY (1884, S. 114, 117) als Fetttropfen erkannt. "Das Fett, welches der Protoplast in vielen Fällen enthält, tritt in Form grosser kugelliger Tropfen auf; bei *Peziza Acetabulum*, *Helvella elastica* z.B. nimmt ein solcher, oft noch von kleineren umgeben, die Mitte der Spore ein. In vielen andern Fällen sind kleinere Öltröpfchen in dem Protoplasten regellos verteilt, oder in ziemlich konstanter Zahl an bestimmte Orte gestellt. Der bekannteste und auffallendste Fall dieser Art findet sich in den elliptischen Sporen von *Peziza vesiculosa*, *P. Sclerotiorum*, *Helvella esculenta* u. ähnlichen, welche in den Brennpunkten in der Regel je einen, seltener zwei Öltröpfchen zeigen". Ferner ist "im Protoplasten der kleinen, runden Schwärmsporen der meisten Chytridien ein (oder mehr) kugelliger, relativ grosser ... Fetttropfen von excentrischer Stellung enthalten". ... "Von den feineren Körnchen, welche in dem Protoplasma oft reichlich enthalten sind, dürfte gleichfalls ein grosser Teil aus emulsionsartig verteiltem Fett bestehen".

Interessant ist die Tatsache, dass DE BARY (1884, S. 122) in Fällen, "wo Reservenernährung in Form von Fetttropfen abgelagert war" feststellen konnte, dass bei der Keimung der Sporen "diese zerfallen und schwinden" ... "Sobald die Austreibung der Keimschläuche beginnt, wandert das Protoplasma in diese ein. In zahlreichen Fällen erfolgt ihr Wachstum ausschliesslich auf Kosten des in der Spore enthaltenen Protoplasmas und der Reservestoffe".

Kurze Angaben über das Fett der Pilzsporen und Dauerzellen findet man auch bei ZOPF (1890, S. 375), nach welchen es "in Form von anfangs kleinen, allmählig grösser werdenden und durch schliessliches Zusammenfliessen mehr oder minder beträchtliche Dimensionen annehmenden, stark lichtbrechenden Tropfen" erkannt werden kann.

Auf Identifizierungsmethoden wie: Alkanna-Tinktur, Osmiumsäure, sowie Lösungsmittel (Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol) wird hier gleichfalls schon hingewiesen.

Ausser diesen Angaben finden sich in der systematischen Spezial-Literatur Mitteilungen über Vorhandensein oder Fehlen der Fetttropfen innerhalb von Sporen, sofern dieselben als Bestimmungs- oder Unterscheidungsmerkmal infrage kommen. Doch sind dieselben nur von rein systematischem Interesse; ich werde daher nicht weiter auf sie eingehen und sie in der Arbeit auch nicht berücksichtigen.

Wenn auch DE BARY und ZOPF aufgrund einiger Beobachtungen die Vermutung ausgesprochen hatten, dass es sich wahrscheinlich um Reservestoffe handle, so war die Frage jedenfalls noch nicht geklärt und auch noch nicht experimentell genauer untersucht.

Die chemische Zusammensetzung einiger Pilzfette ist qualitativ und quantitativ im Laufe der letzten drei Jahrzehnte von einer Reihe von Forschern untersucht worden. Auch die Abhängigkeit der Fettbildung von den jeweils dargebotenen Nährstoffen wurde bereits herangezogen. Die Frage aber, ob das Fett der Pilzsporen, Dauerzellen und Hyphen tatsächlich als Reservestoff aufzufassen sei - ist bis auf

einige kurze Mitteilungen in neuester Zeit (auf Arbeiten von TEICHMANN: über Formenreichtum der *Monilia varians*, Ztschr. f. techn. Biolog. IX, Heft 1-2, sowie von FLIEG: Fette als Material für Bau- und Betriebsstoffwechsel von *Aspergillus niger*, Pringsh. Jahrb. XXI, Heft 1, will ich erst später eingehen) nicht weiter beachtet worden. Daher schien eine Inangriffnahme dieser Frage als zweckmässig und lohnend.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Alfr. KOCH in Göttingen für Überlassung des Themas meinen aufrichtigen Dank auszusprechen. Mit den Untersuchungen wurde im Frühjahr 1921 in Würzburg begonnen. Die ersten beiden Abschnitte der vorliegenden Arbeit sind im botanischen, der letzte im physiologisch-chemischen Institut der Universität ausgeführt worden. Den Herren Professoren Dr. H. KNIEP und ACKERMANN, die mich bei der Ausführung der Untersuchungen in jeder Weise unterstützten, sei an dieser Stelle gleichfalls aufrichtigst gedankt.

EXPERIMENTELLER TEIL.

Objektträgerkulturen.

Als Untersuchungsmaterial dienten mir für diese Versuche folgende Pilze, die mir (bis auf wenige Ausnahmen) von Herrn Prof. KNIEP zur Verfügung gestellt worden sind:

Mucorineae: *Mucor Mucedol.* + und -; *Mucor hiemalis* Wehm. + und -, *Mucor Janseni* Lendner; *Phycomyces nitens*, Agdh. + und -, *Rhizopus nigricans* Ehr. + und -, *Absidia cylindrospora* Hag. + und -.

Plectascineae: *Aspergillus glaucus* L., *Aspergillus albus* Wilh., *Penicillium M* und *Penicillium F* von PALCK, Hann.-Münden; Rotes *Penicillium*.

Saccharomyces: Fetthefer aus Göttingen (Landw. Bact. Inst.).

Pyrenomycetes: *Claviceps purpurea* Tul., *Physalospora Festucae* Lib., *Pleospora herbarum* Per., *Cryptosporella populina* Fuck., *Hypomyces chrysospermus* Tul.

Discomycetes: *Sclerotinia tuberosa* Hedw.

Fungi imperfecti: *Monilia varians* aus Göttingen.

Als Nährlösung für die Objektträgerkulturen diente Malz-Agar in üblicher Konzentration (2% Agar + 3% Malzextrakt). Durch Eintauchen steriler Objektträger in eine heisse Agarlösung und nachheriges kurzes Abtropfen wurden dünne, gleichmässige Agarhäutchen erhalten. Noch heiss in eine sterile Petrischale gebracht blieb der Objektträger mit seiner einen Seite an der Glasschale kleben. Die beimpften Kulturen konnten nun durch Umlegen der Petrischalen mikroskopisch verfolgt werden. - Die Methode verdanke ich Herrn Prof. KNIEP.

Die geeigneten Stadien wurden dann den notwendigen Manipulationen der Färbung etc. unterworfen; es dienten mir zu diesem Zweck folgende Farblösungen: 1. Amylenhydrat-Pyridin-Sudan III-Lösung (Kahlbaum) nach CZAPEK. Rot-Orangefärbung der Fetttropfen. - 2. Nitrosodimethylanilin (MERK) + alkal. Alpha-Naphthollösung (MERK). Blaufärbung der Fetttropfen. - 3. 1% Osmiumsäure (KAHLBAUM). Braun-Schwarzfärbung.

Bei der Färbung mit CZAPEK-Reagens zeigte sich, dass die Sporenmembran nur in jüngeren Stadien für diese Farblösung durchlässig ist. Fetttropfen älterer Sporen blieben meist ungefärbt, färbten sich aber sofort nach Sprengen der Membran (durch Druck auf das Deckglas) leuchtend orange-rot. Die Fetttropfen innerhalb gekeimter Sporen und Hyphen reagierten mit CZAPEK-Reagens gefärbt in allen Fällen positiv.

Anders verhielt sich die in der Arbeit als "Oxydasereaktion" bezeichnete Färbung mit Nitroso-dimethylanilin-Alpha-Naphthollösung. Fetttropfen von Sporen aller Altersstadien färbten sich durch dies Reagens nach mehr oder minder längerer Einwirkungsdauer tief blau. Die einzelnen Fettgranula werden nicht, wie es beim CZAPEK-Reagens der Fall ist, zum Zusammenfliessen veranlasst. Es kann daher die Grösse der Fetttropfen an derartig gefärbtem Material gemessen werden.

Von den hier angeführten Pilzen wurden jeweils eine Reihe gleicher Objektträger-Kulturen angesetzt, die bei Zimmertemperatur (20°), von einer Glasglocke

bedeckt, untergebracht waren. Die Kulturen wurden täglich mikroskopisch untersucht und die entsprechenden Stadien oben genannten Färbungen unterworfen.

Protokoll der Objektträgerkulturen.

Rhizopus nigricans +; 9 - 20. VI. 21. - Innerhalb der unregelmässig rundlicheckigen oder ovalen, 10 - 15 μ grossen Sporen, deren Membran leistenförmige Verdickungen trägt, liegen meist mehrere, im ungefärbten Zustande stark lichtbrechende Tröpfchen von 1,5 - 3 μ Grösse. Ausser diesen aber sind im Plasma der Spore noch fein verteilte Fettröpfchen enthalten, die erst durch Ölimmersion sichtbar gemacht werden können. Sie fallen gleichfalls durch ihr Lichtbrechungsvermögen auf. Mittels der Oxydase-Farbmethode werden die lichtbrechenden Tropfen intensiv blau, mit dem CZAPEKreagens erst nach Sprengen der Membran leuchtend orangerot gefärbt.

In den meisten gequollenen Sporen sind die ursprünglich fein im Plasma verteilten Fettröpfchen verschwunden, die grösseren dagegen scheinen an Grösse zugenommen zu haben. Zählungen ergaben, dass 82% der noch nicht gequollenen, ungekeimten Sporen neben den grösseren Fetttropfen noch eine Menge fein im Plasma suspendierte Tröpfchen enthielten. Von den gequollenen und gekeimten Sporen hingegen enthielten nur annähernd 25% derselben noch fein verteilte Fettgranula.

Mit Beginn der Sporenquellung und der darauf folgenden Keimung lässt sich Vakuolenbildung feststellen. Letzere treten mit der Volumzunahme der Sporen deutlicher hervor, werden grösser oder nehmen an Zahl zu.

Bei zwei Tage alten Kulturen kann man trotz dem gebildeten Keimschlauch, der das drei- bis vierfache der Sporenlänge erreicht hat, innerhalb der Mutterspore noch einige verschieden grosse unverbrauchte Fetttropfen erkennen. Nach etwa 3 Tagen aber verschwinden in den weitaus meisten Fällen auch diese. Die Membranen solcher leerer Muttersporen lassen nun deutlich die Längsleisten erkennen.

Der Keimschlauch selbst enthält zahlreiche 1 - 2 μ grosse Fettröpfchen, Hand in Hand mit der Bildung eines Mycel geht eine Vergrösserung der Einzeltropfen vor sich. In den älteren Hyphen erblickt man nicht selten grosse, unförmige Fettansammlungen, die durch Verschmelzung der Einzeltropfen Grössen von 30 - 40 μ erreichen können! Die Fettmassen füllen dabei das Lumen der Hyphen auf weite Strecken hin aus, deren Plasma als wandständiger Schlauch noch zu erkennen ist. Die Farbreaktionen fielen positiv aus und weisen auf Fett.

Die Verteilung des Fettes innerhalb der alten Hyphen ist keineswegs eine gleichmässige. Grössere Strecken derselben werden häufig dicht mit Fettröpfchen ausgefüllt, die nicht selten zu grossen Massen verschmelzen. Andere Teile der Hyphen aber können auch gänzlich fettfrei sein, oder aber nur vereinzelte Tröpfchen führen. Meist lässt sich mehr oder minder vollkommene Fettlosigkeit der im raschesten Wachstum begriffenen Hyphenspitzen feststellen. Sie erscheinen vollständig homogen und selbst nach Anwendung von Farbagentien können allenfalls nur sehr fein im Plasma suspendierte Einzeltropfen mittels Ölimmersion erkannt werden.

In älteren Kulturen von *Rhizopus nigricans* + treten, neben Sporangienbildung, vom Mycel gebildete Chlamydosporen auf. Dabei liess sich in den meisten Fällen eine Abnahme der Fettsubstanz innerhalb der angrenzenden Hyphenteile zugunsten der gebildeten Chlamydospore feststellen. Meist enthalten diese zwei 1,5 - 2 μ grosse Fetttropfen. Mitunter aber kommt auch nur ein einziger Tropfen vor, der dann die ganze Spore mehr oder weniger vollständig auszufüllen pflegt, eine Grösse von 6 - 7 μ und darüber erreichend. Es sind stark lichtbrechende, mit Fettreagentien sich positiv färbende Tropfen. Im ersten Stadium enthalten die zum Mycel ausgekeimten Chlamydosporen, übereinstimmend mit den gekeimten Sporen, noch Fetteinschlüsse. Nach wenigen Tagen aber sind dieselben verbraucht.

An alten Objektträgerkulturen mit fruktifizierendem *Rhizopus nigricans* konnten zweierlei Sporangien unterschieden werden. Die einen erschienen nur kümmerlich und schwächlich entwickelt, ohne Rhizoidenbildung; die andern dagegen sind kräftig entwickelt, mit in's Substrat eindringenden Rhizoiden versehen. Auffal-

lend war, dass die schwächlich entwickelten Sporangien auch nur ganz geringe Mengen Fetteinschlüsse führten, meist nur in feiner, diffuser Verteilung. Die kräftig ausgebildeten Sporangien aber strotzten geradezu von Fettanhäufungen.

Während der Sporangium-Entwicklung wird das mittels der Rhizoiden aufgenommene Fett erst im Sporangiumträger gespeichert, von hier aber dann in das eigentliche Sporangium weitergeleitet. Die noch jungen Sporangien enthalten nur geringe Mengen eingelagerten Fettes. Gleichzeitig erscheint das Lumen des Sporangiumträgers von unförmigen, miteinander verschmelzenden Fettmassen erfüllt. Bei älteren Stadien dagegen ist das Sporangium selbst mit grossen Mengen von Fett-Einschlüssen versehen, mehr oder weniger fettfrei erscheint jetzt aber der Träger! In den Sporangien aber, in denen die Sporen schon ausgebildet sind, ist fast gar kein Fett mehr feststellbar. Es ist zugunsten der Sporen verbraucht worden und lässt sich nur in ganz unbedeutenden Mengen mittels der Farbreaktionen nachweisen.

Da das Verhalten keimender Sporen und Konidien den eingelagerten Fetttropfen gegenüber bei andern Pilzen im wesentlichen mit den für *Rhizopus nigricans* geschilderten Vorgängen übereinstimmt, so verzichte ich auf ein weiteres Eingehen auf die Keimungsvorgänge bei den übrigen untersuchten Pilzen. Es seien die Ergebnisse nur kurz in einer Tabelle (Seite 286 - 287) zusammengefasst.

Die meisten Mucorineen standen mir in ihrer + und - Form zur Verfügung, doch verhielten sie sich bezüglich der eingelagerten Fette gleich und sind daher in der Tabelle nicht getrennt behandelt worden. Betreffs der Farbreaktionen sei noch bemerkt, dass die oben angeführten Färbemethoden überall durchgeführt worden sind und, soweit Fetteinschlüsse vorhanden gewesen, positiv ausfielen.

Theoretische Auswertung der Ergebnisse mit Objektträgerkulturen.

Die ausgeführten Keimversuche mit Sporen, Konidien und Gemmen zeigen, dass die als Tropfen eingelagerten Fettmassen tatsächlich verschwinden und anscheinend verbraucht werden. Dabei konnte in verschiedenen Fällen vor der Keimung ein Zusammenfliessen des fein im Protoplasten suspendierten oder diffus verteilten Fettes konstatiert werden. Besonders gut liess sich diese Erscheinung an den Sporen von *Rhizopus nigricans* verfolgen. Als Grund dafür ist wohl zweifelsohne die Anschwellung der Sporen verantwortlich zu machen. Durch die Wasseraufnahme werden diese um das Mehrfache ihres ursprünglichen Volumens vergrössert. Dabei finden innerhalb des Protoplasten, der als "disperses System" (HÖBER 1922) aufzufassen ist, physikalisch-chemische Veränderungen statt, die offenbar dazu führen, dass das zuerst im Protoplastensa diffus verteilte Fett zu mikroskopisch sichtbaren Tröpfchen entmischt wird. Dass die Fetttropfen bei der Entmischung nicht alle zusammenfliessen und sich nicht zu einem einzigen grösseren Tropfen vereinigen, ist wohl durch die Zähflüssigkeit, die Gallernatur des Protoplasten bedingt. (A. MEYER 1920).

Die in den Sporen und Konidien, sowie den andern Dauerzellen eingelagerten Fetttropfen als Reservefett anzusprechen liegt nahe, besonders wenn man an die grosse Bedeutung der Reservestoffe bei Samen höherer Pflanzen denkt. Als Glycerinester verschiedener Fettsäuren, aber auch als freie Fettsäuren, sind sie weit verbreitet und können häufig den Hauptanteil der Reservestoffe ausmachen (vergl. JOST 1913, p. 206). Erwähnt seien vor allem die Samen von *Ricinus*, an denen GREEN (1891) seine Versuche der Fettspaltung ausgeführt hatte. Mit Hilfe von *Ricinus*-Lipase gelang es ihm, Fett in seine Komponenten Glycerin und Fettsäure zu spalten. Letztere sind es auch, die bei der Keimung fetthaltiger Samen enzymatisch gebildet werden, um dann nach weiteren chemischen Umbildungen vermutlich als Kohlenhydrate in den Stoffwechsel des jungen Keimlings zu gelangen.

Die Versorgung der Samen mit Reserve-fetten findet nur zum geringen Teil durch direkte Einlagerung von Fetten, Ölen oder deren Komponenten statt. "Wohl findet sich das Fett auch in den Vegetationsorganen, und es wäre zu vermuten, dass es auch in diesen als Fett oder nach vorheriger Spaltung in Glycerin und Fettsäure wandere, dass aber die ganze Masse von Fett eines Samens als solche eingewandert sei, wird niemand annehmen wollen. Vielmehr sieht man zu fetthaltigen Samen dieselben Stoffe wandern, wie zu den fettarmen, also Kohlenhydrate. - Auch finden sich in allen fett-

Namen der Pilze	Grösse der Dauerzellen.	Fetteinschlüsse bei				Fetteinschlüsse gekeimter Sporen.
		Sporen	Chlamydosporen.	Konidien	Gemmen	
<i>Rhizopus nigricans.</i>	10 - 15 μ	1-4 Fetttropfen, 1,5-3 μ gr.	Meist 2 grössere u. zahlreiche kleine Fetttropfen.	-	-	Zum Teil noch nach 2 Tagen vorhanden.
<i>Mucor Mucedo.</i>	8-10 μ	Fein im Plasma suspendiert.	-	-	-	-
<i>Mucor hiemalis.</i>	5-8 μ	Fein im Plasma suspendiert.	Zahlreiche 1 μ grosse Fetttropfen	-	-	Während des Keimens Entmischung des suspen. Fetts
<i>Mucor Janzenii.</i>	8 μ	Fein im Plasma verteilt	Zahlreiche kleine Fettröpfch.	-	-	-
<i>Phycomyces nitens.</i>	15-20 μ	Fein im Plasma verteilt	-	-	-	-
<i>Absidia cylindrospora.</i>	2/4 μ	Fein im Plasma suspend.	-	-	-	-
<i>Aspergillus glaucus.</i>	8-9 μ	-	-	1 - 3 Fetttropf.	-	-
<i>Aspergillus albus.</i>				Fein im Plasma suspend.	Meist als grosser Fetttropf.	
<i>Lenicillium M.</i>	2 μ			Diffus verteilt	Reich an Fett-Einschlüss.	Entmischung des diffusen Fetts zu einem Tropfen
<i>Penicillium F.</i>	2-3 μ			1-2 Fetttropfen		
<i>Penicillium, rotes.</i>	2-3 μ			Diffus im Plasma vert.	Reich an Fett-Einschlüss.	
Fettheife						Junge Hefezellen meist mit 1-2 kl. Fetttropfen
<i>Claviceps purpurea.</i>	5-7 μ				Hefeart. Zellen kl. Fetttr. enth.	Fetttropfen lange erhalten bleibend.

Fett im Keimschlauch	Alte Muttersporen.	Fett in den alten Hyphen.	Fett in Sporangien- und Konidienträgern.
Zahlreich 1-2 μ grosse Fetttropf.	Nach mehreren Tagen fettfrei.	Zu grossen Massen verschmolzen.	In ält. Sporang. starke Fettspeicherung. Bei der Sporenbildung Wiederverbrauch derselben.
Zahlreiche kleine Fettröpfchen.	Fettfrei	Zu grossen Massen verschmolzen.	Wie oben.
Fein im Plasma verteilt einzelne 0,8 μ Fettr.	Fettfrei	Zu Tropfen verschmolzen.	Wie oben.
	Fettfrei	Zu grossen Massen verschmolzen.	Wie oben.
Fein im Plasma verteilt.	Fettfrei	Zu Tropfen verschmolzen.	Wie oben.
Fein im Plasma verteilt.	Fettfrei.	Zu Tropfen verschmolzen.	Wie oben.
Fettfrei	Fettfrei	Zusammengefl. Tropf.	Konidientr. u. Sterigmen neben diff. Fett kl. Einzeltr.
	Fettfrei	Zusammengefl. Tropf. selten.	Wie bei voriger Art.
Fein im Plasma suspend.	Fettfrei	Zu 3-4 μ gr. Tropf. verschmolz.	Konidientr. u. Sterigmen neben diffussem Fett vereinzelt Fettröpfchen führend.
Fein im Plasma suspend.	Fettfrei	Zu grossen Tropf. verschmolz.	Wie bei voriger Art.
Fein im Plasma suspend.	Fettfrei	Zu 2-3 μ gr. Tropf. verschmolz.	Wie bei den vorigen Arten.
		Meist mit 1 gr. Einzeltröpf.	
Fein im Plasma verteilt.		Zahlr. 1,5-2 μ grosse Fettröpfchen.	

Namen der Pilze	Grösse der Dauerzellen:	Fetteinschlüsse bei				Fetteinschlüsse gekeimter Sporen.
		Sporen	Chlamydosporen.	Konidien	Gemmen	
<i>Physalospora Festucae.</i>	1,5-2 μ			1 centr. Fetttropfen	Reich an Fetteinschl.	
<i>Cryptosporella populina.</i>				Fein im Plasma verteilt.		
<i>Pleospora hebrarum.</i>	10/20 μ			Kleine Fettr. vorhanden.		
<i>Hypomyces chrysosperm.</i>	15 μ		Kleine Fetttropf. vorhanden.			
<i>Sclerotinia tuberosa.</i>	sehr klein.			1 kleiner Fetttropf.		

reichen Samen in der Jugend reichliche Mengen von Stärke, und erst im Moment der Reife tritt an deren Stelle das fette Öl". - Die chemischen Umwandlungen im reifenden Samen sind ausserordentlich tiefgreifende. Es müssen wohl zuerst Fettsäuren und Glycerin gebildet werden. "Diese treten dann unterm Einfluss desselben Enzyms, das Fett abbaut, zu Fett zusammen" (JOST 1913, S. 228).

Die bei Pilzsporen und Konidien weit verbreitete Fettspeicherung unterscheidet sich recht erheblich von den eben für Samen höherer Pflanzen beschriebenen Vorgängen. Hier entsteht das Fett der Dauerzellen vorwiegend aus den in den Sporangienträgern oder Konidienträgern schon gespeicherten Fett-Einschlüssen, nicht aber aus Kohlenhydraten oder anderen Reservestoffen, wie es für viele Samen der Phanerogamen nachgewiesen ist.

Ob wir es mit Sporangien der Mucorineen oder den Konidienträgern von Plectascineen zutun haben, in den weitaus meisten Fällen kann man zuerst eine Fettspeicherung innerhalb des Trägers, darauf folgend Fettspeicherung des Sporangiums (rep. der endständigen Blase oder der Sterigmen bei Plectascineen) mit gleichzeitigem Verschwinden der Fett-Einschlüsse im Träger beobachten. Fetttropfen, die häufig als unförmige, grosse Massen im Träger auftreten, können offenbar als solche nicht weiter geleitet werden. Durch fettlösende Enzyme, Lipasen, werden sie vermutlich gespalten, um dann in leichter wandernder Form den Vermehrungszentren zugeführt zu werden. Denkbar wäre es auch, dass die Fettmassen emulgiert werden und als Emulsion, von Zelle zu Zelle weiter geleitet, schliesslich in den Sporen sowie andern Dauerzellen gespeichert werden.

Geklärt ist diese Frage jedoch ebenso wenig wie die Art und Weise der Fettaufnahme durch die Pilzzelle. Versuche von SPIECKERMANN (1912, S. 307, 318) und Andern zeigen, dass vom Pilz ausgeschiedene Lipasen extrazelluläres Fett des Nährbodens zu spalten vermögen. Ob aber die vorhandenen Fettsäuren in Form von Seifen eindringen, die extrazellulär gebildet und erst intrazellulär zu Fett umgesetzt werden, oder aber als freie Säuren oder Fette in feinsten Tröpfchenform, ich nach wie vor Streitfrage. Dass es sich bei den stark lichtbrechenden Tropfen oder diffus verteilten Einschlüssen der Sporangien, Konidienträger und deren Sporen etc. tatsächlich auch um Fett handelt, konnte mikroskopisch durch positiven Ausfall der Fettfarbreaktionen nachgewiesen werden. Die durch Fett reduzier-

Fett im Keimschlauch	Alte Muttersporen.	Fett in den alten Hyphen.	Fett in Sporangien- und Konidienträgern.
Fein im Plasma verteilt.		Zu 6-7 μ grossen Tropf. verschmolzen.	
Zahlreiche 1 μ grosse Tropfen.	Fettfrei	Zu Tropfen verschmolzen.	
Fein im Plasma verteilt.		Zu grossen Massen verschmolz.	
Fein im Plasma verteilt.	Fettfrei.	Zahlreiche 1 - 2 μ gr. Tropf.	
Fettfrei		0,5 μ gr. Tropf. n. 20 Tag.	

te Osmiumsäure verhielt sich gegenüber dem darauf zugeführten Alkohol, nicht in allen Fällen gleich; ein Teil der durch Osmium geschwärzten Fettropfen wurde durch Alkohol gelöst, was nach NOLL (1908, S. 145 ff) für Ölsäure oder deren Glycerinster spricht. FLIEG (1922) hatte an osmierten Fettropfen von *Aspergillus niger* gleiche Resultate erhalten.

Geprüft wurde ferner noch die Einwirkung von Chloroform, Äther, Aceton, Eisessig und Alkohol, sowie Salzsäure, rauchender Salpetersäure und Schwefelsäure (plus 5% Wasser). Die ersten drei Lösungsmittel wirkten binnen kurzer Zeit vollständig lösend. Eisessig + 15% Wasser wirkte auf die Tropfen nicht ein, wohl aber konnte ein Teil derselben durch wasserfreien Eisessig gelöst werden. Ebenso verhielt sich 95% Alkohol. Schwefelsäure, Salzsäure und rauchende Salpetersäure zerstörten zwar das Plasma, brachten die Membranen zum Platzen, wirkten jedoch auf die stark lichtbrechenden Tropfen nicht ein; jedenfalls nicht in mikroskopisch wahrnehmbarem Masse. Diese mikroskopischen Befunde sprechen dafür, dass es sich hier um Fett-Einschlüsse (Fett oder Fettsäuren) handelt. Die leichte Löslichkeit einzelner Tropfen durch Eisessig und Alkohol lässt auf Anwesenheit von Ölsäure oder deren Glycerinster schliessen, wofür auch die Löslichkeit osmierter Fettropfen in Alkohol spricht.

Makrochemische Untersuchungen der Pilzsporen-Einschlüsse liegen von ZELLNER (1910, S. 441) für *Ustilago Maydis* vor. Er zeigte, dass 1 - 4% der lufttrockenen Sporenmasse durch Petroläther extrahierbar sind. Im Extrakte konnte er sodann Glycerin und Ölsäure ermitteln.

Auch die Untersuchungen von MARGEWICZ (1885, I, S. 85) gehören hierher, der in den jungen Hymenialpartien einiger *Boletus*-Arten höheren Fettgehalt als im Stiel und sonstigen Teilen des Hutes feststellte.

Diesen makrochemischen Befunden möchte ich einige mikroskopische Beobachtungen zur Seite stellen, da sie zum gleichen Ergebnis führen. (Siehe Tabelle Seite 290). Aus der Tabelle ist zu ersehen, dass an Schnitt- und Zupfpräparaten von Hut und Stiel ein höherer Fettgehalt der Hymenialpartien schon mikroskopisch erkennbar ist, und zwar an ungefärbten wie auch an gefärbten Präparaten gleich gut.

Um nun zu ermitteln, ob die Fettropfen der Sporen und anderer Dauerzellen als Reservestoffe aufzufassen sind, setzte ich zahlreiche Hängetropfen-Kulturen an.

=====

Mikroskop. Untersuchung an Schnitt- und Zupfpräparaten einiger Basidiomyceten.

Namen des Pilzes.	Zellen der Hymenialpartie.	Zellen des Pseudoparenchym von Hut und Stiel.	Sporen.
<i>Tubiporus rufus</i> Schäff.	Zahlreiche 2-3 μ grosse Fettropfen.	In den 7-10 μ breiten Zellen vereinzelt 3-4 μ grosse Tropfen vorhanden.	In den 4,5/12 μ grossen Sporen meist 4-5 Fettropfen, die in der Längsmediane angeordnet sind. Der mittelste Tropfen 3 μ , die seitlichen 1-2 μ .
<i>Tubiporus scaber</i> Bull.	Grosse 4-5 μ Fettropfen häufig enthalten.	In den 10-14 μ breiten Zellen nur ganz vereinzelt 3-4 μ gr. Fettröpfchen.	In den 6/13-16 μ gr. Sporen meist 4-5 Fettropfen von 1,5-2 μ , die zuweilen miteinander verschmolzen sind.
<i>Daedalea quercina</i> L.	In den 6 μ breiten Hyphen des Fruchtk. zahlreiche 2-3 μ grosse Fettröpfchen.	-	-
<i>Phlegmacium varium</i> Schäff.	In der Subhymenialschicht vereinzelt 2-4 μ grosse Fettr. Hymenium sehr zahlr. kleine Fettröpfchen. enthaltend.	-	In den 6/9 μ grossen Sporen ein centraler 1-2 μ gr. Fettropf.
<i>Clitocybe cyathiformis</i> Bull.	Meist nur ganz vereinzelt kl. Fettropfen. Einzelne Zellen von fein verteilten Tropfen dicht erfüllt.	Nur ganz vereinzelt oder gar keine Fettropfen.	In den 6/7,5 μ gr. Sporen nur fein verteiltes Fett vorhanden.
<i>Tricholoma terreum</i> Schäff.	Zahlreiche kleine Fettröpfchen.	Nur ganz vereinzelt 1-2 μ grosse Fettröpfchen.	In den 3 μ grossen Sporen nur ein einziger 1,5-2,4 μ grosser Fettropfen.
<i>Hebelmoma mesophaeum</i> Fr.	Zahlreiche verschieden grosse Fettröpfchen.	Nur ganz vereinzelt kleine Fettröpfchen.	In den 4/9 μ grossen Sporen ein 4/9 μ gr. Fettropfen.
<i>Leptota naucina</i> Fr.	Zahlreiche kl. Fettröpfchen.	Nur ganz vereinzelt kleine Fettröpfchen.	In den 4/6 μ grossen Sporen meist ein 1,5-3 μ grosser Fettropfen.

=====

Als Nährlösung diente KNOP'sche anorganische Lösung. Die Hängetropfen wurden mit Sporen, Konidien und Dauerzellen einiger oben aufgezählter Pilze beimpft und bei Zimmertemperatur gehalten.

Hängetropfen-Kulturen in anorg. Lösung.

Namen.	Fett in ungekeimten Sporen	Mycel.	Muttersporen 3-4 Tage n. d. Keimung.	Fettropfen i. d. Hyphen d. Mycels	Bemerkungen.
<i>Mucor Mucedo.</i>	Im Plasma fein verteilt	sehr zart u. kümmerl.	fettfrei	Sehr fein i. Plasma verteilt	Neben kleinen, lichtbrechenden, färbbaren Fettropfen grosse Zellsaftvakuolen.
<i>Mucor hiemalis.</i>	Im Plasma fein verteilt	kümmerlich	fettfrei	Sehr fein i. Plasma verteilt.	Grosse, langgestreckte Zellsaftvakuolen das Hyphenlumen ausfüll.
<i>Mucor Jansenii.</i>	Im Plasma fein verteilt	kümmerlich	fettfrei	Fein im Plasma verteilt.	Zahlreiche Chlamydosporen die mit Fett gefüllt sind.
<i>Phycomyces nitens.</i>	Im Plasma fein suspendiert.	kümmerlich.	fettfrei	Fein im Plasma verteilt.	-
<i>Rhizopus nigricans</i>	1-4 Fettropfen von 1,5-3 μ Grösse.	kümmerlich.	fettfrei	Fein im Plasma verteilt.	-
<i>Aspergillus glaucus.</i>	1-3 Fettropfen.	kümmerlich.	fettfrei	Fein im Plasma verteilt.	-
<i>Physalospora Festucae.</i>	Dauerzellen mit grossen zusammengeflossenen Fettmassen.	kümmerlich.	Dauerzellen nach einigen Tagen $\pm$ fettfrei.	als kleine Tröpfchen vorhanden.	Gerinnenbildung mit fein verteilten Fetteinschlüssen.

Die Annahme, dass das bei der Keimung der Sporen verschwindende Fett als Reservestoff verbraucht wird, (was durch die Agar-Objektträgerkulturen schon wahrscheinlich gemacht war), wird durch diesen Versuch noch nicht einwandfrei bewiesen.

Die auf anorganischer Lösung gekeimten Sporen wachsen, was aus vorstehender Tabelle zu sehen ist, zu einem sehr kümmerlichen Mycel heran, zum Teil jedenfalls auf Kosten der in ihnen gespeicherten Fettropfen. Im Laufe meist weniger Tage sind dieselben verbraucht. - Die nur kümmerlich gewachsenen Hyphen stellen ihr Wachstum nun ganz ein.

Dafür, dass die in der anorganischen Lösung gewachsenen Keimschläuche immerhin

noch eine gewisse Länge erreichen konnten, ist meines Erachtens nur das in den Dauerzellen gespeicherte Reservematerial verantwortlich zu machen. Dieses scheint aber, zum grössten Teil jedenfalls, aus Fett zu bestehen.

Auffallend und befremdend ist das in den Hyphen und Chlamydo-sporen wieder in Form von Tropfen auftretende Fett. Auch wenn es nur in sehr feiner Verteilung vorhanden ist und erst nach Färbung bei Anwendung mit Öl-Immersion sichtbar gemacht werden kann, so ist es doch an Masse bei weitem grösser als das ursprünglich in der Spore enthalten gewesene Fett. Diese Erscheinung kann nur so erklärt werden, dass die angeblich chemisch reinen Salze doch organische Verunreinigungen in minimalster Menge enthielten, oder aber die Lösung durch Spuren von Staub und Wattestäbchen, die vom Stopfen herabgefallen waren, verunreinigt worden sind. Diese, in jedem Fall nur äusserst geringen Mengen organischer Bestandteile sind anscheinend vom Pilz mit in den Stoffwechsel gerissen und zum Aufbau verwendet worden.

Entsprechende Beobachtungen liegen auch von andern Autoren vor. So beschreibt HARDER (1914, S. 27 ff) einen auf Normallösung von Ammoniumchlorid (KAHLBAUM) gewachsenen Fungus imperfectus aus der Gattung *Hyalopus*, der in bezug auf Kohlenstoffquellen äusserst genügsam ist.

Ähnliche Beobachtungen hat TEICHMANN (1921) an *Monilia varians* gemacht. In sehr stark verdünnten Nährlösungen gekeimt, benützte der Pilz noch minimale Spuren organische Substanz. Trotz schlechter Ernährung genügte diese letztere, um zu Fetttropfenbildungen innerhalb des Protoplasten zu führen.

Um die Reservestoff-Natur der den Dauerzellen eingelagerten Fetttropfen einwandfrei zu ermitteln, wurden nun eine Anzahl mittels conc. Schwefelsäure und Kaliumbichromat aufs sorgfältigste gereinigter Kölbchen mit destilliertem Wasser beschickt und mit Sporen und Konidien einiger *Mucorineen* und *Plectascineen* beimpft. Um die Verunreinigungen des Wassers durch herabfallende Härchen der Wattestopfen zu vermeiden, sind letztere in dünnes Seidenpapier eingehüllt worden.

Obgleich die Kulturen bei 25° standen, fand ein Auskeimen der Sporen, wie auch der Konidien selbst nach Verstreichen mehrerer Tage nicht statt. Der schädigende Einfluss auf die Keimung des Sporenmaterials konnte nur im destillierten Wasser erblickt werden; daher wurde der Versuch abgeändert. Es wurden die in verdünnter Malzextrakt-Lösung gekeimten Sporen in destill. Wasser übergeführt, wo sie, nun einmal zum Wachstum angeregt, kurze Keimschläuche bildeten.

Um das erste gerade beginnende Keimungsstadium feststellen zu können, waren Objektträgerkulturen erforderlich, die in kurzen Zeitintervallen einer mikroskopischen Prüfung unterzogen werden konnten. Nach beginnender Keimung ersetzte ich die Malzextrakt-Lösung durch destilliertes Wasser. Diese Manipulation musste aufs sorgfältigste ausgeführt werden, damit auch tatsächlich nicht die geringsten organischen Mengen zurückblieben. Beim Absaugen der Flüssigkeiten giengen ein grosser Teil der Sporen mit, doch gelang es immerhin, einige brauchbare Kulturen zu erhalten.

Die zur Keimung "stimulierten" Sporen blieben zwei Tage in destilliertem Wasser. Die an ihnen ausgeführten üblichen Fettfärbungen fielen negativ aus. Gefärbte Tropfen innerhalb der kurzen Keimschläuche konnten selbst bei Anwendung starker Vergrösserungen nicht nachgewiesen werden. Somit bestätigt sich die obige Vermutung, dass das Fett der Dauerzellen Reservefett ist.

Um einen weiteren Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme zu erbringen, versuchte ich die von TEICHMANN (1921) ausgeführte Vitalfärbung. Sie benützte für ihren *Monilia*-Pilz die auch sonst als Fettfarbstoff bewährte "Oxydasefärbung". Trotz zahlreichen von mir ausgeführten Aussaaten verschiedener Pilzsporen und Konidien auf gefärbtem Agar sind nur ganz wenige der auf diese Weise vital gefärbten Sporen aufgegangen. Die besten Resultate konnten auf schwach mit Citronensäure angesäuertem, gefärbtem Agar erzielt werden. Kleine Tröpfchen dieser Nährlösung, in flüssigem Zustande auf Deckgläser gebracht, wurden sofort mit Sporenmaterial beimpft.

Deckglas und hohl geschliffener Objektträger wurden durch Wassertropfen aneinander gekittet und mit Paraffin umrandet. Die Sporen konnten nach Einstellung mittels des Kreuztisches kontinuierlich beobachtet werden.

Für *Mucor Mucedo* und für *Rhizopus nigricans*, die auf dem gefärbten Agar gekeimt waren, stellte ich einen allmählichen Verbrauch der blau gefärbten Fettröpfchen fest. Man sieht deutlich, wie einige der gefärbten Tröpfchen während der Keimung ständig kleiner werden, um schliesslich vollständig zu verschwinden, aufgezehrt zu werden! Vereinzelt treten aber auch blau gefärbte Tröpfchen, mit der Plasmaströmung fortgerissen, in den Keimschlauch über. Was aus diesen letzteren wird, lässt sich nicht feststellen. Die dünne, zarte Membran des wachsenden Keimlings lässt Nährstoffe aus dem Substrat herein diffundieren. Diese werden im Plasma zum Teil wieder als Fettröpfchen ausgeschieden und färben sich natürlich gleichfalls blau. Man kann daher die herübergewanderten Fettropfen von den neu gebildeten nicht unterscheiden. Anzunehmen ist aber, dass diese gleich den in der Spore zurückgebliebenen Fettropfen beim Wachstum des Keimschlauches verbraucht werden.

Diese Beobachtungen an vital gefärbten Sporen von *Mucor Mucedo* und *Rhizopus nigricans* bestätigen das von TEICHMANN (1921) festgestellte "Herübertreten" einiger Fettropfen während der Keimung vital gefärbter *Monilia*-Gemmen. Einzelne blaugefärbte Fettröpfchen der Dauerzellen gelangen von der Plasmaströmung ergriffen in den Keimschlauch.

Mit TEICHMANN (1921) fasse ich, gestützt auf die vorher erwähnten Aqua-dest.-Kulturen, auch diese in den Keimschlauch übergetretenen Fettgranula als Reservefett auf.

II. FETTEINSCHLÜSSE INNERHALB VON HYPHEN.

Nachdem ich die Bedeutung der in den Dauerzellen (Sporen, Konidien etc.) eingelagerten Fetteinschlüsse darzulegen versucht habe, will ich zum zweiten Teil meiner Untersuchung, den Fetteinschlüssen der Hyphen, übergehen.

Fetteinschlüsse in feinsten Verteilung, oder in Form grosser zusammengeflossener Massen innerhalb von Pilzhyphen sind gleichfalls schon von DE BARY (1884) und ZOPF (1890) beobachtet und kurz beschrieben und von NAEGELI (1879) und SCHMIDT (1891), späterhin auch von einer Reihe anderer Autoren untersucht worden.

NAEGELI vertrat aufgrund zahlreicher Kulturreihen die Ansicht, dass die chemische Beschaffenheit der Nährlösung für die Fettbildung der Pilze bedeutungslos sei, da "aus ganz ungleichen Nährstoffen gleiche Mengen von Fett, andererseits aus gleichen Nährstoffen unter ungleichen Verhältnissen ungleiche Mengen davon erzeugt werden. Berücksichtigt man nur die eine Versuchsreihe, so möchte man den Zucker, berücksichtigt man nur die andere Reihe, so möchte man das Eiweiss als vorzugsweise Fett erzeugend betrachten. Vergleicht man aber alle Tatsachen, so kommt man zur Überzeugung, dass physiologische Momente bei der Fettbildung die Hauptrolle spielen und die ungleiche Wirkung der Nährstoffe, wenn dieselben, was nicht unwahrscheinlich, vorhanden ist, verwischen".

Dass bei der Fettbildung tatsächlich die chemischen Beschaffenheiten der Nährböden zurücktreten, werden die später zu besprechenden Kulturreihen zeigen.

Ein leicht angreifbarer Nährboden fördert das Gesamtwachstum (FLIEG 1922), nicht aber in gleichem Masse die Fettbildung.

Die Frage, auf welche Weise Fett, resp. Fettsäure, bei Verfütterung derselben als einzige Kohlenstoff-Quelle, in die Zelle der Organismen gelangt, ist vor allem von Medizinern, aber auch von Botanikern viel behandelt und diskutiert worden. Doch kann auch jetzt noch nicht von einer völligen Klärung dieser ausserordentlich wichtigen Frage gesprochen werden.

Die Resorption von Fetten mittels der Epithelzellen des Darmes erfolgt bei Mensch und Tier vermutlich erst nachdem dieselben durch Lipase der Pankreasdrüse und des Darmes gespalten worden sind. Dass das Fett gleichzeitig auch in Form feinsten Emulsion die Zellwände direkt passiere, ist früher von vielen Forschern angenommen, aber in späteren Jahren aufgrund neuer Untersuchungen abgelehnt worden. Die durch die Ausscheidung der Galle bedingte Emulgierung des Fettes innerhalb des Darmes soll nur insofern zur Fett-Resorption beitragen, als es in dieser feinen Form rascher der Einwirkung lipolytischer Enzyme anheimfällt (vergl. SCHLEU-NERT in Handb. Naturw. X (1915) S. 239). - Nach mündlichen Mitteilungen von Herrn

Prof. LEUPOLDT (Würzburg) zeigen jedoch die letzten Untersuchungen auf diesem Gebiet, dass neben einer Aufnahme von Spaltprodukten des Fettes - Glycerin und Fettsäure - gleichzeitig eine Aufnahme fein emulgierten Fettes durchaus möglich sei, und es finden demnach vermutlich beide Prozesse nebeneinander statt.

Wie mag nun aber die Fettresorption bei Pilzen stattfinden? - Die Tatsache, dass eine Reihe von Pilzen - "Schimmel" - auf Fetten und Ölen animalischen wie auch vegetabilischen Ursprungs zu wachsen vermögen, ist schon lange bekannt gewesen. Genauere, eingehendere Untersuchungen über die Bedeutung derselben als Nährstoffe ohne eine andere organische Kohlenstoff-Quelle sind aber erst von SCHMIDT (1891) ausgeführt worden.

Er weist darauf hin, dass die Fetttropfen des Substrates zugunsten des Pilzes verbraucht werden und entweder in Form von Spaltprodukten die Zellwände passieren - als Fettsäuren und Glycerin - oder aber unter Bildung wasserlöslicher Seifen. Die Bildung letzterer bedingt nach SCHMIDT zugleich eine Emulgierung des Fettes und es vermag nun ein Teil desselben unverändert, in feinsten Tropfenform, in die Zellen zu gelangen.

SPIECKERMANN (1912, S. 327 ff), der die Frage des Fett-Durchtrittes in neuerer Zeit für verschiedene Schimmelpilze untersucht hat, zeigte sodann, dass die Fettsäuren von C_9 an stets in Form von Lösungen, als Säuren oder Seifen, in die Zellen gelangen.

Was die Aufnahme von Fetten anbetrifft, so scheinen die Versuche SPIECKERMANN'S den Beweis erbracht zu haben, dass auch hier, nachdem eine extrazelluläre Spaltung der Glyceride nachgewiesen, der Eintritt in Form gelöster Seifen oder freier Fettsäuren stattfindet, keinesfalls aber als Emulsion. - Endgiltige Klärung haben aber auch die Versuche dieses Autors nicht gebracht.

Auf diese, wenn auch wichtige und interessante Frage der Fett-Aufnahme soll jedoch in der vorliegenden Untersuchung nicht weiter eingegangen werden. Ich möchte die oben für Sporen und Konidien gestellte Frage, ob wir es hier mit Reservefett oder Exkretstoffen zutun haben, auch auf diesen Teil der Arbeit, die Hyphen und deren Fett-Einschlüsse, ausdehnen.

Bei mikroskopischen Untersuchungen von Pilzmycel, vor allem der "Schimmel" wie *Mucor*-, *Penicillium*-, *Aspergillus*-Arten, fallen Fetteinschlüsse auf, die häufig zu grossen, unförmigen, stark lichtbrechenden Tropfen zusammengeflossen sind. DE BARY (1884, S. 7) fasste diese Fett-Anhäufungen als durch "Involution der Zellen" bedingt auf, KRUSE (1910, S. 8, 49, 58) und TEICHMANN stimmten dieser Annahme bei. Demnach wird von den genannten Autoren die Anhäufung von Fett in den Pilzzellen ausschliesslich auf Degeneration des Protoplasten zurückgeführt. Das Fett, welches zuerst fein im Protoplasma verteilt gewesen, scheidet sich in grossen Ansammlungen aus. Mit TEICHMANN (1921, S. 18) gesprochen, scheint "der Nachweis von überaus zahlreichen, winzigen und gleichmässig im Zellinhalt suspendierten Fettkügelchen in jugendlichen Hyphenzellen, die erst mit Hilfe der "Oxydasereaktion" sichtbar werden, diese Annahme, dass es sich nicht um Neubildungen handelt, zu stützen".

Inwiefern diese Anschauung berechtigt ist, ob nicht auch eine Erklärung anderer Art gegeben werden kann, will ich erst später zu erörtern versuchen.

Malz-Agar-Objektträgerkulturen.

Wie die Tabelle der folgenden Seiten zeigt, kann man in den Hyphen verschiedenster Pilze Fetteinschlüsse beobachten. In den meisten Fällen sind die Hyphenspitzen mehr oder weniger fettfrei. In ihrem homogen erscheinenden Protoplasten konnten nur ganz vereinzelt kleine Fetttropfen nachgewiesen werden. Bei einigen andern erscheinen die im Wachstum begriffenen Hyphenspitzen vollkommen homogen, das Plasma lässt in diesen Fällen auch nicht durch Färbungsmethoden und Ölimmersion irgendwelche Fetttropfenbildungen erkennen. So konnte für *Aspergillus*- und *Penicillium*-Arten, aber auch für *Phycomyces nitens*, *Sclerodinia tuberosa*, *Hysterangium australe* ein Fehlen von Fetttropfen innerhalb der Hyphenspitzen einwandfrei festgestellt werden.

Namen der Pilze	wachsende Hyphen- spitzen	junge Hyphen	in alten Hyphen
<i>Mucor Mucedo</i> +	Mehr oder weniger fettfrei.	Fett im Plasma fein verteilt.	Fett häufig zu un- förmigen, verschie- den grossen Massen verschmolzen.
<i>Mucor Mucedo</i> -	Mehr oder weniger fettfrei.	Fett im Plasma fein verteilt.	Wie bei voriger Form.
<i>Mucor hiemalis</i> +	Mehr oder weniger fettfrei	Mit nicht über 0,8 μ grossen Fettropfen.	Fettropfen 3-4 μ gross.
<i>Mucor hiemalis</i> -	Mehr oder weniger fettfrei.	Fettropfen nicht über 0,8 μ gross	Fettropfen 3-4 μ gross.
<i>Mucor Jansenii</i>	Mehr oder weniger fettfrei.	Fett im Plasma fein verteilt.	Fett zu unförmigen. Massen verschmolzen
<i>Phycomyces ni- tens</i> +, -	Erscheint voll- kommen homogen.	Fett im Plasma fein verteilt.	Wie vorige Art.
<i>Rhizopus nigri- cans</i> +, -	Mehr oder weniger fettfrei.	Fettropfen 1-2 μ gross.	Fett zu 30-40 μ grossen Massen verschmolzen.
<i>Absidia cylin- drospora</i> +	Mit fein im Plas- ma suspendiertem Fett.	Mit fein im Plas- ma suspendiertem Fett.	Fettropfen 2-3 μ gross.
<i>Absidia cylin- drospora</i> -	Wie vorige Form.	Wie vorige Form.	Fettropfen 1-2 μ gross.
<i>Aspergillus glaucus</i>	Erscheinen voll- kommen homogen.	Mit fein im Plas- ma verteilten Fettröpfchen.	Mit nicht über 2 μ grossen Fetttropf.
<i>Aspergillus albus</i> .	Erscheinen voll- kommen homogen.	Wie vorige Form.	Mit zusammengeflos- senen Fettropfen, jedoch sehr selten auftretend.
<i>Penicillium M.</i>	Erscheint voll- ständig homogen	Mit fein im Plas- ma suspendierten Fetteinschlüssen	Enthalten 3-4 μ grosse, zusammen- geflossene Fettr.
<i>Penicillium F.</i>	Erscheint voll- kommen homogen	Mit fein im Plas- ma verteilten Fett	Enthalten grosse, zu Tropfen verschmol- zene Fetteinschlüsse.
<i>Penicillium, rotes.</i>	Wie vorige Art.	Meist mit 1-2 Fettropfen in je- der Zelle, die 1-2 μ Grösse er- reichen.	Fett als 2-3 μ grosse Tropfen führend.

Namen der Pilze.	wachsende Hyphen- spitzen.	junge Hyphen.	in alten Hyphen:
<i>Fetthefe.</i>	-	Junge Hefezellen meist 1-2 kleine Fettr. enthaltend	Mit grossen, die Zelle ausfüllen- den Tropfen.
<i>Monilia varians.</i>	-	Zahlreiche 1-2 μ grosse Fettropf. enthaltend.	Fett als grosse, unförmige Massen enthaltend.
<i>Claviceps pur- purea.</i>	Mehr oder weniger diffus.	Mit fein im Plas- ma verteiltem Fett	Die meisten Fettr. 1,5-2 μ gross; selten auch grösse- re vorhanden.
<i>Physalospora Festucae.</i>	Mehr oder weniger fettfrei.	Wie vorige Art.	Fett zu grossen, unförmigen Massen verschmolzen.
<i>Pleospora her- barum.</i>	Wie vorige Art.	Wie vorige Art.	Mit 6-7 μ grossen, zu Fettr. verschmol- zenen Massen.
<i>Cryptosporella populina.</i>	-	Mit nicht über 1 μ grossen Fettropfen.	Mit zu grossen Tro- pfen verschmolz. Fetteinschlüssen.
<i>Dasyscypha Willkommii.</i>	Mehr oder weniger fettfrei.	Mit fein im Plas- ma verteiltem Fett.	Mit 0,5-2 μ gros- sen Fettropfen.
<i>Hypomyces chrysospermus.</i>		Wie vorige Art.	Mit 1-2 μ grossen Fettropfen.
<i>Sclerotinia tuberosa.</i>	Fettfrei.	Enthalten diffus verteiltes Fett.	Enthalten erst nach 20 Tagen 0,5 μ gr. Fettröpfchen.
<i>Polyporus de- structor.</i>	-	Enthalten 1-1,5 μ grossen Fett- tropfen.	Enthalten grosse, unförmig verschmol- zene Fettmassen.
<i>Stereum pur- pureum.</i>	Mehr oder weniger fettfrei.	Enthalten 1 μ grosse Fettr.	Mit 6-10 μ grossen Fettropfen.
<i>Daedalea quer- cina.</i>	-	Wie vorige Art	Mit 10-15 μ grossen Fettropfen.
<i>Cyathus stri- atus.</i>	Mehr oder weniger fettfrei.	Mit fein im Plasma verteil- tem Fett.	Wie vorige Art.
<i>Hysterangium australe.</i>	Wie vorige Art.	Mit fein im Plasma suspen- diertem Fett.	Mit 1,5 μ grossen Fettropfen.

In ganz wenigen Pilzen liess sich Fett in den Hyphenspitzen in feinsten Suspension (*Absidia cylindrospora*), oder aber wie bei *Claviceps purpurea* diffus im Plasma verteilt, nachweisen. Das diffuse Fett konnte erst durch Farbreaktionen sichtbar gemacht werden.

In den meisten Fällen tritt schon in den noch jungen Hyphen eine Entmischung des Protoplasmas ein, doch sind die Fettröpfchen im grossen ganzen fein im Zellinnern verteilt, häufig in Form einer Suspension. Bisweilen aber erreichen die Fettgranula deutlich messbare Grössen, überschreiten aber auch dann nicht 1 - 2 μ . Die fein im Plasma suspendierten Fetteinschlüsse, deren Tropfengrösse nur Bruchteile eines μ betragen, daher auch nur annähernd gemessen werden konnten, sind meist in grosser Zahl vorhanden.

Mit zunehmendem Alter der Pilzkulturen finden innerhalb des Protoplasten Verschmelzungen der kleinen, fein im Plasma suspendierten Fetttropfen statt, deren Grösse sehr verschieden ist und die nicht selten schliesslich das Lumen der Hyphen vollständig ausfüllen. Die Grösse der Fettmassen ist bei verschiedenen Pilzen keineswegs gleich, hängt vor allem vom Alter der Kultur ab; mit zunehmendem Alter nimmt deren Grösse erheblich zu.

Wie die zahlreichen Kulturen gezeigt haben, deren Ergebnisse in der Tabelle kurz zusammengestellt worden ist, trifft dieser Satz durchweg zu. Erst könnte man glauben, dass in einigen Fällen wie *Sclerotinia tuberosa*, *Dasyscypha Willkommii* und wenigen andern das oben Gesagte nicht zutrifft! Von einer Verschmelzung einzelner Tropfen kann hier allerdings kaum geredet werden, doch treten auch hier, wenn auch erst nach sehr viel längerer Zeit als bei den übrigen, kleine Granula auf. Ferner sei darauf hingewiesen, dass die jungen Hyphen dieser Pilze fast vollständig fettfrei sind und das Fett, wenn überhaupt, so nur in feinsten Suspension vorhanden gewesen ist.

Diese Tatsache würde TEICHMANN's Standpunkt, dass keine Neubildung des Fettes erfolgt, stützen und zugunsten einer Degeneration sprechen! In den andern Fällen jedoch, wo die jungen Hyphen nur fein verteiltes Fett, die alten aber häufig grosse, unförmig zusammengeflossene Massen in grosser Zahl führen, genügt meines Erachtens diese Erklärung nicht mehr.

Um zu ermitteln, ob die Fetteinschlüsse der Hyphen bei ungünstiger Nährstoffzufuhr zugunsten des wachsenden Pilzes angegriffen werden und dann als Reservestoff fungieren, setzte ich bei konstanter Temperatur von 29° im elektrischen Thermostaten zwei Kulturreihen mit verschiedenen Nährlösungen an. Im einen Falle diente mir eine 5% Malzextraktlösung, im andern KNOP'sche anorganische Lösung als Kulturmedium. Sorgfältig gereinigte Erlenmeyerkölbchen von 150 - 200 ccm Inhalt wurden mit je 50 ccm der Nährlösung beschickt, sterilisiert und mit aus den folgenden Tabellen zu ersiehenden Pilzsporen beimpft.

Kulturen auf 5% Malzextraktlösung bei 29°.

Die Tabelle auf Seite 298 zeigt, dass bei konstanter Temperatur von 29° C mit Ausnahme von *Hysterangium australe* und *Cyathus striatus* ein sehr rasches und üppiges Wachstum eintritt. Die Hyphenspitzen und jungen Hyphen enthalten nur fein suspendiertes oder diffuses Fett, selten auch in Form kleiner Fettröpfchen. Die älteren 10 - 15-tägigen Kulturen enthalten je nach der Pilzart zahlreiche kleine Einzeltröpfchen, oder aber verschieden grosse, unförmig verschmolzene Fettmassen.

Nach 15 Tagen wurde bei einer Reihe von Kulturen die Malzextraktlösung abgegossen. Durch mehrfaches Unterschichten anorganischer KNOP'scher Lösung wurde die Myceldecke von der ursprünglichen noch anhaftenden organischen Nährlösung befreit und schliesslich durch die KNOP'sche Lösung ersetzt.

Es wäre denkbar, dass die Hyphen, nun sie keine organischen Substanzen mehr der Nährlösung zu entnehmen haben, die in ihren Hyphen eingelagerten Fettstoffe zu verwerten imstande sind. Die konstante Temperatur von 29° müsste den Stoffwechsel und die Wachstumsintensität günstig beeinflussen und einen rascheren Verbrauch der Reservestoffe bedingen. Doch dem ist nicht so! Das Fett der Hyphen ist auch nach 20-tägigem Verweilen auf anorganischer Lösung im Brutschrank in gleicher

Namen des Pilzes.	Pilzdecke	Hyphenspitzen u. junge Hyphen	10-15 Tage alt	Bemerkungen	Malzextr.-Lösung durch Knop'sche Lösung ersetzt.
<i>Mucor Mucedo.</i>	gut	Fettröpfchen nur ganz vereinzelt enth.	Fettropfen in grosser Zahl, Verschmelzung häufig.		
<i>Mucor hiemalis.</i>	gut	Fett diffus verteilt.	Fett zu gr. Massen verschmolzen.	Chlamydosporen mit Fetteinlagerungen vorhanden.	
<i>Mucor Jansenii.</i>	gut	Fett in sehr kleinen fein verteilt. Tr. vorhanden.	Wie vorige Art.	Chlamydosporen vollst. von Fett ausgefüllt.	
<i>Rhizopus nigricans.</i>	gut	Fett nur in feinsten Verteilung vorh.	Zu grossen Massen verschmolz. Fett vorhanden.		Nach 20 Tagen Fett der Hyphen nicht verbraucht.
<i>Aspergillus albus.</i>	gut	Fett in diffuser Form. Ganz vereinz. auch Fettr.	Zahlr. 1,5-2 μ gr. Fettr. die in älteren Hyph. zu gr. Massen verschm.		
<i>Aspergillus glaucus.</i>	gut	Fein verteilt. Fett vorh.	Zahlr. versch. gr. Fettr., die mitunter verschmelzen		Nach 20 Tagen Fett nicht verbraucht.
<i>Penicillium F.</i>	gut	Nur fein verteilt. Fett vorhanden.	Fettr. zu gr. Massen verschmolzen.		
<i>Physalospora Festucae.</i>	gut	Diffus im Pl. verteilt.	Zahlr. 1,5-2 μ gr. Fettr., die häufig zu grösseren Gebilden verschmelzen.		
<i>Pleospora herbarum.</i>	gut	Diffus im Pl. verteilt.	Zahlr. 1 μ gr. Fettr., die häufig zu grösseren verschm.		Fett nach 20 Tagen nicht verbraucht.
<i>Sclerotinia tuberosa.</i>	gut	gar kein Fett	Zahlr. sehr kl. Fettröpfchen vorhanden.		

Namen des Pilzes.	Pilzdecke	Hyphenspitzen und junge Hyphen.	10 - 15 Tage alt.	Bemerkungen.	Malzextrakt-Lösung durch Knop'sch Lösung ersetzt.
<i>Hysterangium australe.</i>	sehr langsam	garkein Fett	Zahlreiche 0,5 μ gr. Tr.		Nach 20 Tagen noch kein Verbrauch der zahlr. 2 μ gr. Fetttropfen.
<i>Cyathus striatus.</i>	sehr langsam	Diffus im Pl. verteilt einzelne Fettr.	Sehr zahlr. kleine Fettr. von 2 μ Grösse.		
<i>Fettheife.</i>	Starke Vermehrg	Fetttropfen vorhanden.	Fett als Tr. versch. Grösse vorhanden		Fett nach 20 Tagen noch erhalten.

Menge enthalten wie zuvor. Eine Abnahme der grossen, unförmigen Fetteinschlüsse, wie auch der kleinen, zahlreich vorhandenen Tröpfchen ist keineswegs eingetreten.

Einige dieser Kulturen wurden nach zwei Monaten wieder untersucht, doch auch bei diesen war von einer Fettabnahme nichts zu bemerken. Dass die alten, fetthaltigen Hyphen nicht tot waren, konnte an ihrer Plasmolysierbarkeit festgestellt werden.

Man könnte vielleicht den Einwand erheben, dass nichtalle organischen Bestandteile der Malzextraktlösung trotz sorgfältigster Auswaschung mit anorganischer Lösung entfernt worden seien. - Geringe Mengen derselben mögen tatsächlich noch kapillar zwischen den Hyphen der Pilzdecken zurückgeblieben sein, vielleicht nur in Spuren. Beobachtungen von TEICHMANN und auch eigene zeigten, dass derartige Verunreinigungen vom Pilz noch nutzbar gemacht werden können. Andererseits aber zeigten die oben beschriebenen Aussaaten von Pilzsporen auf anorganischer Lösung einen raschen Verbrauch der organischen Verunreinigungen. Letzteres konnte zweifellos aus dem bald eintretenden Wachstums-Stillstand und der nur sehr kümmerlichen, dürftigen Ausbildung des Mycels geschlossen werden.

Die als Spuren zurückgebliebenen organischen Nährstoffe müssten demnach mehr oder minder rasch verbraucht und, wenn überhaupt vorhanden gewesen, ohne eine wesentliche Bedeutung für den Ausgang der Versuchsreihe sein.

Kulturen auf KNOP-Lösung bei 29°.

Um jedoch ganz sicher zu gehen, und gleichzeitig die eben ausgeführten Versuche zu kontrollieren, beimpfte ich reine KNOP'sche anorganische Lösung mit Sporen, Konidien und Mycelflocken. Diese Kulturreihe wurde Aussenbedingungen ausgesetzt, die denen der vorigen gleich waren, d.h. einer konstanten Temperatur von 29° im Brutschrank.

Wie schon zu erwarten gewesen, verlief die Keimung bei erhöhter Temperatur an und für sich nicht wesentlich anders als bei Zimmertemperatur, deren Ergebnisse im vorigen Abschnitt bereits dargetan worden sind.

Die Tabelle auf Seite 300 zeigt, dass auch hier im kümmerlich ausgebildeten, 5 Tage alten Mycel Fetttropfen auftreten, die nach 20 weiteren Tagen im Brutschrank nicht abgegriffen worden sind.

Mycelflocken, die zu Beginn zahlreiche, verschieden grosse Fett-Einschlüsse enthielten, sind mehr oder weniger unverändert geblieben, ein Auswachsen zu neu-

Namen.	Material.	5 Tage in Knop- Lösung.	20 Tage in Knop- Lösung.	Mycelflocken 20 Tage in Knop-Lös.
<i>Phycomyces nitens.</i>	Sporen m. fein ver- teilt. Fett	Kümmerl. Mycel, in dem bereinzelt Tr. erkennbar. Hyphen zeigen Involution- sstadien.	Unverändert.	Nicht ausgewach- sen. Grosse Fett- massen auch nach 25 Tagen noch nicht verändert
<i>Mucor Mu- cedo.</i>	Sporen m. zahlr. kl Fettropf.	Kümmerliches My- cel gebildet m. kl. Fettropfen.	Unverändert.	Zu feinen kümmerl. Hyphen ausgew., in den alten H. Fett +
<i>Mucor hi- emalis.</i>	Sporen m. fein ver- teilt. Fett	Kümmerl. Mycel mit kl. Fettr. Grosse nicht lichtbrechende Vakuolen zahl- reich.	Mycel zahlr. Chla- mydosporen geb., in denen Fettr. enthalten.	Nicht ausgewachs., statt dessen zahlr. Clamydosp. geb., die Fett enth. Angren- zende Hyphen fett- frei.
<i>Mucor Jan- senii.</i>	Sporen m. zahlr. kl Fettropf.	Im sehr feinen kümmerl. Mycel zahlr. Fettr. zu erkennen.	Mycel selbst ab- gestorben, küm- merliche Chlams- dosp. gebildet, in d. Fettr. ent- halten.	
<i>Aspergil- lus glau- cus.</i>	Konidien meist m. 1-3 Fett tropfen.	Kümmerl. Mycel in d. zahlr. kl. Fettr. ent- halten.	Mycel gleicht d. 5-tägigen; Ko- nidienbildung hier u. da zu erkennen. Fett- tropfen vereinz.	
<i>Aspergil- lus al- bus.</i>	Konidien m. fein verteilt. Fett,	Kümmerl. Mycel m. geriner Zahl von klein. Fettröpfchen.	Keine Verände- rung.	
<i>Penicil- lium F.</i>	Konidien mit 1-2 Fettropf.	Kümmerl. Mycel m. vereinzelt. Fettröpfchen. Vakuolen zahl- reich.	Keine Verände- rung.	Nicht ausgewachsen. Fettropfen auch hier noch nach 25 Tagen vorhanden.
<i>Physalo- spora Festucacae.</i>	Mycel- flocken m. zahlr. 14 gross. Fettropf.	Mycelfl. küm- merl. Hyphen geb., die ho- mogen erschei- nen. Nur ganz vereinzelt Fettröpfch. vorhanden.	Keine Verände- rung.	

Namen.	Material	5 Tage in Knop- lösung.	20 Tage in Knop- lösung.	Mycelflocken 20 Tage in Knop-Lös.
<i>Hypomyces chrysosp.</i>	Chlamy- dospor. mit 1 Fettr.	Kümmertl. Mycel, in dem kleine Fettr. zu erkennen sind.	Mycel abgestorben.	
<i>Fetthefe.</i>	Hefezel- len m. versch. gr. Fett- tropfen.	Abnahme d. Tropfen- grösse u. Zahl nicht z. beobach- ten; Vermehrung nur unbedeutend.	Fettabnahme nicht eingetreten. Ver- mehrung nur unbe- deutend.	
<i>Scleroti- nia tu- berosa.</i>	Mycelfl. nur ganz vereinz. kl. Fett- tröpfch. enthalt.	Schwach ausgebilde- tes Mycel kleine Konidien abschnü- rend. In den frukt. Hyphen keine Fettr. wohl aber in den nicht Konidien abschnürenden.	Konidien abschnü- rendes Mycel mehr oder weniger fett- frei. Das nicht fruktifizierende Mycel Fetttropfen enthaltend.	

em Mycel konnte nirgends festgestellt werden. Selbst nach 25 Tagen enthielten auch die Hyphen der Mycelflocken, bei mikroskopischer Untersuchung, gleiche Mengen des ursprünglich eingelagerten Fettes.

Aus diesen und den vorangegangenen Versuchen muss geschlossen werden, dass wir es hier mit einem Fett zutun haben, das nicht mehr für den Stoffwechsel des Pilzes nutzbar gemacht werden kann. Im Sinne A. MEYER's sind es also Abfallprodukte, Exkrote.

In vereinzelten Fällen konnte bei ungünstigen Ernährungs-Bedingungen Chlamydo-sporenbildung nachgewiesen werden, so für *Mucor Jansenii*, *M. hiemalis* und einige wenige andere. Die Chlamydo-sporen dieser Hungerkulturen enthalten gleich denen, die bei normalen Bedingungen abgeschmirt worden sind, Fetteinschlüsse! Diese können aber nur auf Kosten der in den Hyphen enthaltenen Fetttropfen gebildet sein, wofür auch die Tatsache spricht, dass die angrenzenden Hyphen fast durchweg fettfrei erscheinen.

Dieses in den Chlamydo-sporen gespeicherte Fett ist insofern von Wichtigkeit, als es indirekt über die Natur der in den Hyphen auftretenden Fettmassen Aufschluss gibt.

Bei der Keimung von Chlamydo-sporen findet, wie bei der Keimung von Dauerzellen, ein Verbrauch der Fetttropfen statt. Da diese aber den Hyphen entstammen, so dürfte rückgeschlossen werden, dass auch das Fett letzterer verwertbar sein müsste.

Die von mir angestellten Versuche zeigen aber alle eindeutig, dass das Gegenteil der Fall ist. Die Hyphen sind nicht imstande, die in ihnen auftretenden Fettmassen für Lebensvorgänge zu verwerten, auch dann nicht, wenn ihnen keine andern organischen Kohlenstoff-Quellen zu Gebote stehen.

Den hier auftretenden Widerspruch zu erklären vermag ich auf Grund bisheriger Versuche nicht. Ob sich diese Erscheinung biologisch erklären lassen wird, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

Zu einem gewissen Ziel müsste man gelangen, wenn den ausgesäten Pilzsporen Pilzfett als alleinige Kohlenstoff-Quelle zur Nahrung dient. Zur Gewinnung des Pilzfettes dürften aber nur Myceldecken herangezogen werden, die noch keine Fruktifikation aufweisen. Denn, da Fetttropfen von Sporen bei der Keimung verbraucht werden, kann man auch einen Verbrauch derselben durch auf diesen wachsende Pilze

Wir würden dann nicht vollständig einwandfreie Resultate erzielen.

Kulturen auf Hefewasser.

Zur Feststellung, ob bei Darbietung eines für Pilze minderwertigen Nährbodens neben kümmerlichem, schwachem Wachstum auch die Bildung von Fetttropfen unterbleibt, setzte ich Kulturen auf einer 5% Aufkochung von Presshefe an.

In allen Fällen entwickelte sich die Myceldecke nur äusserst mangelhaft. Trotzdem zeigten die Hyphen dieser Kulturreihe, bezüglich ihrer Fett-Einschlüsse, keine wesentlichen Unterschiede im Vergleich zu denen, die auf Malzextrakt-Lösung gewachsen waren.

Auch hier enthielten die älteren Hyphen grosse, unregelmässig zusammengeflossene Fettkonglomerate, die jüngeren aber, wie auch sonst, vorwiegend Fett in feinsten Verteilung. Das vorher für Malzextrakt-Lösung-Kulturen gesagte gilt auch hier, sodass auf weiteres Eingehen auf diese Kulturreihe verzichtet werden kann.

Kulturen auf Seifenlösung und Seife + Glycerinlösung.

Schon SCHMIDT (1891) stellte für *Aspergillus niger* und *Phycomyces nitens* ein sehr kümmerliches Wachstum auf Seifenlösungen fest.

Die meinerseits ausgeführten Versuche mit *Aspergillus glaucus*, *Penicillium F.*, *Mucor Jansenii*, *Pleospora herbarum* und *Monilia varians* bestätigten diese Beobachtung. Die Wachstumsergebnisse dieser Pilze auf verschiedenen Konzentrationen von ölsaurem Natrium (KAHLBAUM) sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Knop'sche Nährl. + Seife.	Ohne Glycerinzusatz.				
	<i>Aspergillus glaucus</i> .	<i>Penicillium F.</i>	<i>Mucor Jansenii</i> .	<i>Pleospora herbarum</i> .	<i>Monilia varians</i> .
2,5% Seife	überhaupt nicht gewachsen.	überhaupt nicht gewachsen	überhaupt nicht gewachsen	überhaupt nicht gewachsen	überhaupt nicht gewachsen
1,0% Seife	Myceldecke kümmerlich; Fructifikation vorh.	Myceldecke kümmerlich; Fructifikation schwach	Myceldecke gut; Fructifikation schwächer als mit Glycerin.	Myceldecke schwächer als bei entsprech. Versuch mit Glycerin.	Häutchen sehr kümmerlich. Bodensatz in geringen Mengen
0,5% Seife	Myceldecke wie vorher, kümmerlich fruktifiz.	Myceldecke schwächer als bei 1% Seife mit Glycerin.	Myceldecke gut; Fruct. schwächer als bei entsprech. Versuch mit Glycerin	Myceldecke schwächer als bei entsprech. Versuch mit Glycerin.	Häutchen sehr kümmerlich; Bodensatz in geringen Mengen.
0,25% Seife	Wie oben.	Wie oben.	-	-	-
0,1% Seife	Wie oben.	Myceldecke schwach ausgebildet, gar nicht fruct.	Myceldecke etwas schwächer als 0,5% Seife mit Glyc. Fruct. 0	Mycel nur ganz kümmerlich ausgeb.	Kümmerlich gebildetes Häutchen; Bodensatz fast 0

Mikroskopische Untersuchungen ergaben, dass die zwar sehr kümmerlich und schwächlich entwickelten Mycelien innerhalb der Hyphen verschieden grosse Fettröpfchen enthielten. Die Grösse derselben erreichte jedoch höchstens 1 μ . Zusammengefloessene, grössere Massen waren selbst bei ganz alten Kulturen äusserst selten festzustellen.

Parallelkulturen, die ausser den verschieden starken Seifenlösungen noch 2,5 % Glycerin enthielten, fielen durch ihr üppiges, kräftiges Wachstum auf (vergl. die folgende Tabelle). Mikroskopisch liess sich feststellen, dass die jungen Hyphen, wie es auch sonst bei normalen Bedingungen zu sein pflegt, nur fein verteiltes Fett enthielten. Die älteren dagegen enthielten häufig grosse Massen zusam-

Knop'sche Nährl. + Seife.	Mit Zusatz von 2,5% Glycerin				
	Aspergillus glaucus.	Penicillium F.	Mucor Jansenii.	Pleospora herbarum.	Monilia varians.
2,5% Seife	Am Rande des Kölbchens e. kümmerl. Mycel gebild.	Am Rande des Kölbchens e. kümmerl. Mycel geb.	überhaupt nicht gewachsen.	überhaupt nicht gewachsen.	überhaupt nicht gewachsen.
1,0% Seife	Myceldecke gut ausgebildet, fructifiziert.	Myceldecke gut ausgebild., fructif., stark.	Myceldecke gut ausgeb. fructifizierend.	Mycel untergetaucht stark gewachsen; Luft-Mycel fruct.	Häutchen an d. Kulturoberfl. gut ausgeb.; Bodensatz reichlich.
0,5% Seife	Myceldecke vollständig ausgeb., gut fruct.	Wie oben	Myceldecke gut, aber schwächer als bei 1 % Seife.	Wie oben.	Wie oben.
0,25% Seife.	Myceldecke vollständig ausgeb., mit beginnender Fruct.	Myceldecke gut, wenn auch schwächer als 0,5. schwach fruktific.	Myceldecke gut, wenn auch schwächer als 0,5. Schwach fruktific.	Unterget. Mycel schwächer ausgeb., Luftmycel üppig, schwach fruct.	Wie oben.
0,1% Seife	Wie oben.	Wie oben.	Kümmerlich gewachsen; Fruct. kaum vorhanden.	Wie oben.	Kümmerliches Häutchen geb. Bodensatz spärlich.
Nur Knop Lösg.	Sporen dürftiges Myc. gebildet.	Sporen dürftiges Myc. gebildet.	Kärgliches Mycel vorhanden.	Garnicht gewachsen.	Kaum gewachsen.
Knop +2,5 %Glyc. ohne Seife	Mycel gut ausgebild. fruktific.	Mycel gut ausgeb., fruktific.	Nur sehr kümmerlich gewachsen.	Unterget. Mycel kaum ausgebild., Luftmyc. fehlt.	Untergetaucht. Pilzmasse reichlich vorhanden., Häutchen fehlt.

mengeflossener Fetttropfen, wodurch sie sich von den nur auf Seifenlösung gewachsenen Mycelien scharf unterscheiden.

Diese beiden Kulturreihen sind insofern von Wichtigkeit, als sie einen Beweis dafür liefern, dass Seifen, in diesem Fall Natronseife, vom Pilz angegriffen werden und innerhalb der Hyphen zu Fetttropfen synthetisiert werden können, ohne dass Glycerin zugegen zu sein braucht. Um aber Fett synthetisch aufzubauen ist ausser Fettsäure als zweite Komponente auch Glycerin erforderlich. Letzteres ist, wie schon erwähnt, der ersten Kulturreihe nicht zugefügt gewesen; es muss daher durch Umsetzung der Fettsäuren durch den Pilz gebildet worden sein!

Ein Analogon zu diesen Pilzversuchen finden wir in den von NOLL (1908, S. 145 ff) am Frosch ausgeführten Fütterungsversuchen. Bei Verfütterung von ölsaurem Natron als alleiniger Kohlenstoff-Quelle konnte NOLL in den Zellen des Darmepithels des Frosches Fetttropfenbildung nachweisen. Auch hier muss das Glycerin von den Zellen gebildet sein, da die Nahrung keines enthielt.

Als Ursache dafür, dass Pilze auf Seifenlösungen nur schlecht zu gedeihen vermögen, wird wohl der geringe Gehalt an Fettsäuren verantwortlich zu machen sein.

Das Verhalten der Pilze auf Nährlösungen von Seife + Glycerin ist, wie die Tabelle zeigt, kein einheitliches. *Penicillium F.* und *Aspergillus glaucus* die, wie die Kontrollkulturen klarlegten, auf Glycerin gut zu wachsen vermögen, scheinen der Fettsäure, die in der Seife vorhanden ist, nicht zu benötigen. Sie gedeihen daher auch bei geringen Seifenzugaben gleich gut wie bei stärkeren. Nur bei ganz starken Konzentrationen, wie 2,5% Seife, zeigen sie unverkennbare Wachstums-hermungen.

Mucor Jansenii, *Pleospora herbarum* und *Monilia*, die auf Glycerinlösung allein ebenso schlecht gedeihen wie auf Seifenlösungen ohne Glycerin, wachsen auf kombinierten Nährmedien mehr oder weniger gut. Eine 2,5% Seifenlösung vertragen sie allerdings auch bei Gegenwart von Glycerin nicht. Es trat überhaupt kein Wachstum auf. Seifenzugaben von 0,5 - 1% hingegen wirkten auf das Wachstum günstig ein; geringere Konzentrationen wurden zu rasch verbraucht, weshalb das Wachstum ein nur kümmerliches war und sich kaum von den Kontrollkulturen auf Glycerin allein unterschied.

Wie oben erwähnt worden, zeigten Kulturen von *Mucor* und einigen andern Pilzen auf Glycerin-Lösung ohne Seifenzugabe ein nur schlechtes, kümmerliches Gedeihen. Wurde nun aber diesen Kulturen 0,5 - 1% Seife zugegeben, so entwickelten sie sich zu normalen, dichten Decken.

Gleiche Resultate erhielt ich, wenn den schlecht entwickelten Seifenkulturen geringe Mengen Glycerin noch nachträglich zugeführt wurden.

Seife, sowie Glycerin allein sind demnach für verschiedene Pilze nur schlecht verwertbare Kohlenstoff-Quellen. Werden diese beiden Nährlösungen zusammen geboten, so erhält man üppig gewachsene, gleichmässig und schön ausgebildete Myceldecken.

Durch Versuche von FLIEG (1922) ist einwandfrei nachgewiesen, dass eine Verarbeitung freier Fettsäuren durch Glycerin begünstigt wurde. Hier dürfte es ähnlich sein. Das ölsaure Natron wird, aller Wahrscheinlichkeit nach, zunächst durch den Pilz gespalten und freie Fettsäure gewonnen. Die Verarbeitung letzterer kann nun durch Glycerin-Zufuhr gefördert werden.

Kulturen auf Oleinsäure und Triolein (Kahlbaum).

Um jegliche andere unerwünschte Kohlenstoff-Quelle gleich von vornherein auszuschalten, um andererseits aber eine möglichst feine Verteilung der Nährstoffe zu erzielen, stellte ich Kieselgallertplatten her, welche die dargebotenen Fette in feinsten Suspension enthielten.

Beimpft wurden die Platten mit *Mucor Jansenii*, *Aspergillus glaucus*, *Penicillium F.*, *Pleospora herbarum*.

Da die von mir erhaltenen Ergebnisse mit denen von SPIEKERMANN (1912) und FLIEG (1922) übereinstimmen, so sei auf dieselben nur in aller Kürze eingegangen.

Zunächst werden die Triolein-Tröpfchen peripher von einem zarten Pilzmycel

umsponnen. Die kleineren Fettröpfchen sieht man nach kurzer Zeit vollständig verschwinden, die grossen hingegen, die zuerst gleichfalls nur von feinen Hyphen umgeben sind, erscheinen nach wenigen Tagen vom Pilz durchwuchert. Trübungen der Trioleintropfen durch Ausscheidung von Kristallen, wie sie auch SPIEKERMANN schon beschrieben hat, konnten in den meisten Fällen erkannt werden. Häufig liess sich ein Schwinden der kleinen, von den Hyphen des Pilzes noch gar nicht berührten Fettröpfchen beobachten. Zuerst veränderte sich deren ursprünglich kreisrunde Gestalt, indem vom Rande aus "Abschmelzungserscheinungen" auftraten; schliesslich aber verschwanden sie gänzlich.

Diese Erscheinung lässt sich nur durch die Tatsache erklären, dass vom Pilz extrazellulär Lipasen ausgeschieden werden, welche die Fettröpfchen zu spalten vermögen.

Ganz ähnlich den eben beschriebenen Wachstumsbildern waren die der auf Oleinsäure-Platten kultivierten Pilze. Auch hier fand eine Umwucherung der Fettröpfchen statt. Kristallnadel-Ausscheidung verwandelte die Tröpfchen zu Drusen um. Erst nach Verlauf dieser Umbildung wurden die Fettröpfchen von den Hyphen des Pilzes durchsetzt.

Die mikroskopischen Untersuchungen der einen Monat alten Kulturen ergaben, für Triolein als Kohlenstoff-Quelle, innerhalb der Hyphen verschieden grosse Fetteinschlüsse. Sehr häufig erschienen die Zellen fast vollständig von Fett ausgefüllt. Bei *Mucor Jansenii* füllten sie das Lumen auf lange Strecken hin aus, zusammengeflossene Massen von 10 - 25 μ Länge bildend. Die Färbemethoden fielen positiv aus. Die Löslichkeit dieser Fetteinschlüsse in kaltem absol. Alkohol, Eisessig, Äther, Aceton, Petroläther und Chloroform ist derjenigen des Trioleins gleich.

1. Zusammenfliessen der einzelnen Fettröpfchen durch kalten absol. Alkohol und kalten Eisessig, die sich nach einer Einwirkungsdauer von einer Stunde nicht gelöst hatten.

2. Äther, Aceton, Petroläther und Chloroform wirken binnen kurzer Zeit vollständig lösend.

3. Die Mehrzahl der durch Osmium gefärbten Tropfen waren gegen 96% Alkohol resistent.

4. Durch Kollabieren der Hyphen mittels eines Plasmolytikums konnte ölige Konsistenz der Fetttropfen ermittelt werden.

Das durch den Pilz gespaltene Triolein der Kieselgallert-Platten scheint demnach intrazellulär wieder zu Triolein oder einem ähnlichen Fett synthetisiert zu werden.

Die Löslichkeitsverhältnisse der Hyphen-Fetteinschlüsse oleinsaurer Platten zeigten kein ganz einheitliches Bild. Ein grosser Teil der Fette löste sich in kaltem Eisessig und kaltem absol. Alkohol binnen kurzer Zeit vollständig auf; es entspricht dies Verhalten dem der Ölsäure. Eine Anzahl der in den Hyphen eingelagerten Fettröpfchen verhielt sich anders, indem sie von diesen beiden Lösungsmitteln nicht gelöst wurden, wohl aber von Äther etc.

Die Löslichkeit eines Teiles der osmierten Fetttropfen in 96% Alkohol weist gleichfalls auf Vorhandensein von Fettsäuretropfen neben Fetttropfen hin.

Das Auftreten von Fettröpfchen in diesen Kulturreihen bestätigt die an Seifenkulturen gemachten Beobachtungen, dass trotz Abwesenheit von Glycerin durch den Pilz Fettsäure zu Fetten synthetisiert werden kann, indem ein Teil derselben intrazellulär zu Glycerin umgesetzt wird.

Auf die Herstellung meiner Kieselgallerte will ich an dieser Stelle kurz eingehen, da sie von der üblichen Bereitung abweicht:

Herstellung der Kieselgallerte. - 1. Wasserglas, vom spez. Gewicht 1,05 - 1,06; 2. HCl-Lösung, vom spez. Gew. 1,01 - 1,02. - Die Konzentration der beiden Lösungen muss auf's genaueste eingehalten werden, da man andernfalls keine Gallerte erhält. - Einem ccm HCl-Lösung muss das gleiche Volumen Wasserglas entsprechen, was durch Phenolphthalein als Indikator titrimetrisch ermittelt wird. Die beiden Lösungen müssen sodann einzeln sterilisiert werden.

Zur Bereitung der Suspensionen verteilte ich mittels einer graduierten Pipet-

te 0,4 ccm des Trioleins und der Oleinsäure in Reagensgläschen, setzte einige Tropfen KNOP'scher anorganischer Salzlösung sowie je 10 ccm der beiden hergestellten Lösungen hinzu. Auf diese Weise wurde ein Nährboden mit 2% organischen Bestandteilen erhalten. Durch kräftiges Schütteln der Reagensgläser wurde das Fett auf's feinste emulgiert und die so erhaltene Suspension sofort in sterile Petrischalen gegossen. Rasches Arbeiten ist bei der Ausführung der Suspensionen unbedingt erforderlich, andernfalls es sonst zur Gerinnung innerhalb des Reagensgläschens kommen kann.

III. THEORETISCHE AUSWERTUNG DER ANGESETZTEN KULTURREIHEN.

Die auf verschiedenen Nährböden kultivierten Pilze zeigen durchweg eine allmähliche Anhäufung von Fett-Einschlüssen in den Hyphen. Diese Erscheinung kommt im ersten Augenblick garnicht so seltsam vor, sind doch Fette in Form von Reservestoffen nicht nur in den Samen, sondern auch den vegetativen Organen vieler höherer Pflanzen enthalten.

Durch Hungerkulturen liess es sich einwandfrei ermitteln, dass das Hyphenfett nicht für den Stoffwechsel nutzbar gemacht wird! Aus diesem Grunde muss man diese Fette als Abfallstoffe, als Exkrete, auffassen.

Wie schon vorher erwähnt worden ist, nehmen TEICHMANN und KRUSE mit DE BARY eine Degeneration der Hyphenzellen an. Durch den Zerfall des Protoplasten werden die fein suspendierten Fette zu Tropfen entmischt. Eine Neu-Aufnahme von Fetten glaubt TEICHMANN durch die Tatsache, dass schon im Plasma junger Hyphen feine Fettsuspensionen vorhanden sind, ablehnen zu dürfen.

Gestützt auf zahlreiche mikroskopische Untersuchungen glaube ich eine Fettanhäufung ausschliesslich im Sinne TEICHMANN's ablehnen zu müssen. Dass ein Teil der in den Hyphen auftretenden Fetttropfen durch Entmischung degenerierter Protoplasten entstanden sein mag, erscheint mir als durchaus wahrscheinlich, doch genügt das auf diese Weise gebildete Fett nicht, um ganze Zellen, wie es so häufig der Fall ist, auszufüllen. Fast, meine ich, liegt es näher, die Fähigkeit der jungen Zellen, Fett von aussen aufzunehmen, auch den älteren und alten Zellen, soweit sie noch leben, zuzusprechen. Ob es direkt in Form von Spaltprodukten oder indirekt durch Umsetzung anderer organischer Verbindungen, wie Kohlenhydrate, geschieht, bleibt schliesslich mehr oder weniger gleichgiltig. Beide Prozesse finden beim Pilz statt, dafür sprechen die Beobachtungen früher genannter Autoren, sowie die eigenen hier wiedergegebenen Versuche.

Es ist anzunehmen, dass die Membranen junger, wachsender Hyphen, gleich den älteren, Nährstoffe durchzulassen imstande sind. Man müsste dann fast annehmen, auch in den jungen Hyphen schon Fetteinschlüsse vorfinden zu können. Doch zeigten mikroskopische Untersuchungen, dass dem nicht so ist, dass das Fett hier allenfalls in feinsten Suspension dem Protoplasten eingelagert ist, keineswegs aber in Tropfenform auftritt. Nun schint mir die Tatsache selbstverständlich, denn wir haben es ja hier mit jungen wachsenden Hyphenspitzen zutun, die die aufgenommenen Nährstoffe sofort zur Neubildung von Zellen oder Zellen-Bestandteilen verbrauchen. Zu einer Ansammlung von Fetten kann es hier aus diesem Grunde garnicht kommen. Anders ist es aber bei älteren Hyphen. Solange diese nicht abgestorben sind, ist eine Aufnahme von organischen Nährstoffen für den Lebensprozess erforderlich. Durch die in der Zelle enthaltenen und in die Lösung austretenden Fermente wird für Spaltung und Umsetzung der gebotenen Nährstoffe nach wie vor gesorgt. Die alternden Zellen ihrerseits aber verbrauchen nur einen geringen Teil derselben, da Neubildungen von Zellelementen nummehr unterbleiben. Die eintretenden und umgesetzten Spaltprodukte des Fettes werden durch Enzyme zu Fett synthetisiert und treten schliesslich mit zunehmendem Alter der Hyphen zu grossen, verschmolzenen Fettmassen zusammen.

Eigenartig ist, meines Erachtens, nicht die Tatsache des Auftretens grösser Fettmassen, sondern deren Nicht-Verwertbarkeit! Dass das Hyphenfett als solches durchaus verwertbar ist, zeigen die keimenden Chlamydosporen, deren Fetteinschlüsse den Hyphen entstammen.

Das Zusammentreten der Fetttropfen innerhalb von Pilzhyphen erinnert sehr an

die fettreichen Zellen beim Tier und Menschen. Die Möglichkeit, experimentell, auf künstlichem Wege, durch Verfütterung farblosen Phosphores eine fettige Degeneration der tierischen Zelle herbeizuführen (ASCHOFF 1919, S. 325) veranlasste mich, ähnliche Versuche mit den Pilzen auszuführen. Wenn es sich bei den Pilzen tatsächlich um eine Degenerationserscheinung handeln sollte, wäre es nicht ausgeschlossen, durch Phosphor-Zusatz die Fetttropfenbildung zu beschleunigen oder zu verstärken.

Den Tieren wird der Phosphor in gelöster Form mit der Nahrung eingeführt. Bei Pilzen ist diese Methode selbstverständlich ausgeschlossen; doch ist es möglich, Phosphor in gelöster Form den Nährböden zuzusetzen. Da Alkohol weissen Phosphor in Spuren löst, anerseits in geringen Konzentrationen dem Pilz als Nahrung zu dienen vermag, schien mir dieser als geeignetes Lösungsmittel. Zu diesem Zweck übergoss ich farblosen Phosphor mit Alkohol und liess diesen Aufguss zwei Tage stehen. Einer 3% Zuckerlösung, der die üblichen anorganischen Salze zugefügt waren, setzte ich 2% dieses Phosphor-Alkohols zu. Den Parallelkulturen wurde reiner Alkohol in gleicher Menge gegeben.

Aspergillus glaucus. - Myceldecke auf beiden Nährlösungen gleich gut ausgebildet und normal fruktifizierend. In den Hyphen beider Kulturreihen zahlreiche Fetttropfchen eingelagert. Stärkere Verfettung der Phosphor-Alkohol-Kulturen konnte nicht festgestellt werden.

Pleospora herbarum. - Myceldecke auf beiden Nährböden schwach ausgebildet. In beiden Fällen zeigten die untersuchten Hyphenzellen Neigung zur Involution. Ein Unterschied bezüglich der Fettbildung war nicht feststellbar.

Sclerotinia tuberosa. - Auf der Phosphor-Kulturreihe nur ein ganz kümmerliches Mycel gebildet. Die Parallelkulturen normal gewachsen. Innerhalb der Hyphen beider Kulturreihen kein merklicher Unterschied in der Fettbildung.

Den Versuchen zufolge wird bei Pilzen eine "fettige Degeneration" der Zellen durch farblosen Phosphor nicht hervorgerufen. Die Hyphen der Parallelkulturen, denen Phosphor fehlte, Alkohol dagegen in gleicher Menge zugegeben war, zeigten keinen Unterschied in der Grösse und Quantität eingelagerter Fetttropfen gegenüber den Phosphor-Kulturen.

Der sichtbar schädigende Einfluss auf das Wachstum von *Sclerotinia tuberosa* durch farblosen Phosphor weist darauf hin, dass nicht alle Pilze letzterem gegenüber sich gleich verhalten. Aber auch in den Hyphen dieses Pilzes konnte keine Fettanhäufung durch Phosphor hervorgerufen werden.

IV. CHEMISCHER TEIL.

Eine Zusammenfassung aller bisher erhaltenen Ergebnisse auf dem Gebiet der Pilzfette ist in ZELLNER's "Chemie der höheren Pilze" (1907) zu finden. Dieselbe lässt erkennen, wie gering die Zahl der bisher auf Fett geprüften Pilze ist.

Obgleich die von mir ausgeführte Arbeit vorwiegend mikrobiologischer Natur ist, möchte ich doch einige auf makrochemischem Wege ermittelte Daten für Fettgehalt und Fettkonstanten im vorliegenden Abschnitt wiedergeben.

Das der Extraktion dienende Pilzmaterial ist im Herbst 1921 gesammelt worden. Es wurde zunächst sorgfältig gereinigt, bei 30 - 40° vorgetrocknet, zermahlen und sodann im Thermostaten bei 60° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Extrahiert wurde im SOXHLET-Apparat mittels Äther. Das auf diese Weise gewonnene Rohfett ist nach GLIKIN (1903) durch Aceton von Lecithin gereinigt worden. Durch Aceton wird letzteres ausgefällt und kann dann durch Filtration vom acetonlöslichen Anteil getrennt werden.

Die ermittelten Werte sind in % der Pilz-Trockensubstanz berechnet, in der vorletzten Spalte der Tabelle auf Seite 308 eingetragen.

Zur Untersuchung der Fettkonstanten benützte ich die Polyporacee *Daedalea quercina* L., die trotz der ungünstigen Jahreszeit in grösseren Mengen erhalten werden konnte.

Das im Februar 1922 auf den Eichen-Windbrüchen bei Brückenau in der Rhön gesammelte Pilzmaterial wog im feuchten Zustand 25 kgr. Gereinigt und in Stücke

zerschnitten wurde das Pilzmaterial bei 30 - 40° getrocknet und sodann gemahlen. Obgleich nicht sämtliches Wasser entfernt worden war, da nicht bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurde, verlor die Pilzsubstanz 82% ihres ursprünglichen Feuchtgewichts und wog nur noch 4,5 kgr. Der hohe Wassergehalt ist auf die sehr ungünstige Jahreszeit zurückzuführen.

Namen des Pilzes.	Angew. Substanz in mgr	Äther-Extrakt in mgr	Äther-Extr. in Aceton.		Menge d. Äth.-Extr. in % der Pilz-Trockensubstanz.	
			löslich	unlösl.	löslich in Acet.	unlösl. in Aceton.
<i>Tubiporus rufus.</i>	5010,04	219,33	196,16	23,17	4,38%	0,46%
<i>Tubiporus scaber.</i>	7829,9	232,7	232,7	Spuren	2,96%	-
<i>Daedalea quercina.</i>	2615,16	520,0	381,9	138,1	14,62%	5,28%
<i>Phlegmac. varium</i>	4702,5	150,6	150,6	Spuren	3,2%	-
<i>Clitocybe cyathif.</i>	583,9	23,0	6,57	17,33	0,96%	2,53%
<i>Trichol. terreum.</i>	2492,2	153,86	129,8	24,06	5,2%	0,96%
<i>Hebel. mesophaeum</i>	683,9	87,93	11,9	76,03	1,74%	11,11%

Eine Extraktion des Fettes mittels des SOXHLET-Apparates konnte wegen der grossen Substanzmenge nicht ausgeführt werden; statt dessen benützte ich zu diesem Zwecke drei grosse 10 - 15-Literflaschen. Diese beschickte ich zur Hälfte mit Pilzsubstanz, gab darauf Äther hinzu bis 3/4 der Flasche gefüllt war. In Abständen von einer Stunde wurden die Flaschen durch Rollen kräftig geschüttelt und der Äther wurde nach 24 Stunden durch neuen ersetzt. Diese Manipulation wurde mehrfach wiederholt, um nach Möglichkeit das gesamte in den Pilzen enthaltene Fett zu extrahieren.

Durch Destillation mittels eines elektrischen Ofens liess sich der Äther vom Rückstand des filtrierten Auszuges trennen. Die grau-braune Masse wog 420 gr und besass eine zähe, klebrige Konsistenz. In Prozenten ausgedrückt waren es 9,3% der in obiger Weise getrockneten Pilzsubstanz, die durch Äther extrahiert werden konnten.

Die Substanz löste sich beim Erwärmen rasch in Äther, Chloroform, Aceton und Alkohol absol., fast garnicht jedoch in Petroläther! Letzteres deutete darauf hin, dass die Hauptmenge dieses Extrakts jedenfalls nicht aus Fett bestand. Untersuchungen in dieser Richtung bestätigten diese Annahme und sollen im folgenden eingehender behandelt werden.

Der in Petroläther lösliche Teil.

Zu seiner Identifizierung wurde das gesamte aus dem Ätherauszug mit Petroläther extrahierbare Material in ein gewogenes Kölbchen filtriert und durch Abdunsten von seinem Lösungsmittel befreit. Es konnten so 4,365 gr im Vacuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknetes Fett von vaseline-artiger Konsistenz und zarter, gelbgrüner Farbe erhalten werden.

Die ermittelten Konstanten dieses Fettes sind aus der folgenden Tabelle ersichtlich:

Schmelzpunkt	40,02°
Refraktometerzahl.....	40 (bei 40°).
Jodzahl nach HÜBL.	4,87
KÖTTSDORFER-Verseif.-Zahl	260,57
Säurezahl	49,52
Esterzahl	211,05

Von einer Bestimmung der übrigen Fettkonstanten musste leider, wegen Mangels an weiterem Material, abgesehen werden.

Beachtenswert ist die niedrige Jodzahl, die im Gegensatz zu *Claviceps purpurea* (71,08; vergl. ZELLNER 1907, S. 14) und *Amanita muscaria* (82,7; vergl. ZELLNER 1907, S. 23) mit 4,87 ermittelt worden ist. Die niedrige Jodzahl des *Daedalea*-Fettes deutet auf einen geringen Gehalt an Ölsäure hin.

Ferner sei auf eine gewisse Übereinstimmung der für *Daedalea quercina* erhaltenen Werte mit denen des Kokosöls, Myricawachses und Japanwachses aufmerksam gemacht.

Nach BENEDIKT-ULZER (1908, S. 843, 873, 883) ist das sogenannte Japan- und Myricawachs kein Wachs im chemischen Sinne, sondern Fett. Ersteres kommt als Glycerid der Palmetin- und Japansäure in den Früchten von *Rhus succedanea* vor. Das *Myrica*-Wachs hingegen kommt bei den Myricaceen als Triglycerid der Palmetin-, Stearin- und Myristinsäure vor.

Die Ähnlichkeit dieser Konstanten soll die nachfolgende Zusammenstellung veranschaulichen:

	Fett von Daedalea.	Myrica- Wachs.	Japan- Wachs.	Kokos- oel.
Schmelzpunkt	40,02°	40,5°	50,5°	20 - 28°
Refraktometerzahl (bei 40°)	40	-	-	33,5-35,5
Jodzahl nach HÜBL.	4,87	10,7	4,2	8 - 10
KÖTTSD. Vers.-Zahl	260,57	205,7-211,5	222,4	246 - 268
Säurezahl	49,52	-	-	83,75

Daraus, dass sich die Ähnlichkeit der Fett-Konstanten von *Daedalea quercina* mit denen der drei hier angeführten Fette konstatieren liess, kann natürlich noch nicht auf eine gleiche chemische Konstitution derselben geschlossen werden. Im grossen und ganzen dürfte vielleicht aber doch eine gewisse Übereinstimmung der Zusammensetzung bestehen.

Zur näheren Identifizierung wurden für das Fett von *Daedalea quercina* auch dessen Kohlen-Wasserstoffwerte festgestellt, und zwar auf mikro-analytischem Wege nach der Methode von PREGL. Die Mikroanalysen sind freundlicher Weise von Herrn cand. med. et chem. FR. HOLTZ ausgeführt worden, wofür an dieser Stelle mein aufrichtiger Dank ausgesprochen sei.

Die Substanz war vorher im Vacuum, bei Zimmertemperatur, bis zur Gewichtskonstanz getrocknet worden. Es ergaben sich hierbei Werte, die eine auffallende Übereinstimmung mit den von KAISER (1862) im Fett von *Amanita muscaria* gefundenen zeigten.

7,39 mgr. Substanz ergaben:	16,055 CO ₂ und 5,95 H ₂ O
Gefunden für Fett von Daedalea	63,47% C und 9,00% H
Von KAISER gefunden für Fett von Amanita	63,78% C und 8,5% H.

Ausser diesen bei "Zimmertemperatur" ermittelten Werten wurde noch eine weitere Mikroanalyse ausgeführt, und zwar an einem Material, das bei 100° getrocknet worden war. Der Vollständigkeit halber seien auch diese letzteren Befunde hier angeführt. Sie weichen von den obigen nicht unerheblich ab und nähern sich denen der drei verbreitetsten Triglyceride (Tristearin, Triolein, Trpalmetin):

4,160 mgr Substanz ergaben:	11,25	CO ₂	und	4,185	H ₂ O
Gefunden für Fett von <i>Daedalea</i> :.....	73,67%	C	und	11,24%	H
Errechnet für Tristearin:	76,78%	C	und	12,44%	H
" " Triolein:	77,3%	C	und	11,85%	H
" " Tripalmetin:.....	75,86%	C	und	12,24%	H

Es wäre denkbar, dass durch das Trocknen bei 100° flüchtige Fettsäuren beseitigt worden sind, die jedoch näher zu ermitteln leider wegen der zu geringen Menge der zur Verfügung stehenden Substanz nicht möglich war.

Der in Petroläther unlösliche Anteil.

Die zähe, klebrige Konsistenz des voluminösen Rückstandes liess auf ein Vorhandensein von Harzen schliessen. Zur Ermittlung derselben unterzog ich die Substanz einer qualitativen Prüfung nach TWIESCHEL (angegeben in BENEDIKT-ULZER; 1903), die vollständig positiv ausfiel.

Die Hauptmasse des Ätherextraktes bestand demnach nicht aus Fetten, sondern aus Harzen. Das Vorhandensein letzterer im Pilzreiche ist schon lange bekannt und von einigen Autoren einer genauen Analyse unterworfen worden, von Interesse ist hier nur die Tatsache, dass fast 10% der Pilz-Trockensubstanz aus Harzen besteht. Käme diese Polyporacee auf Kiefern vor, so wäre diese Erscheinung nicht überraschend, doch trifft man *Daedalea quercina* nur auf Eichen- und allenfalls noch auf Buchenstümpfen an, die kaum Harze enthalten, nie aber auf Nadelhölzern!

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Die in den Dauerzellen enthaltenen Fett-Einschlüsse werden während der Keimung verbraucht und dürfen daher als Reservefette angesprochen werden.
2. Die Fett-Einschlüsse der Pilzhyphen können in gewissen Fällen für den Stoffwechsel derselben nutzbar gemacht werden und zwar durch Überführung in Dauerzellen und nachherigen Verbrauch während der Keimung. In den weitaus meisten Fällen aber findet keine Verwertung der in den Hyphen angesammelten Fettmassen statt (auch nicht bei Hungerkulturen). Im Sinne ARTH. MEYER's wären die Hyphenfette also als Exkrete aufzufassen.
3. Die Fett-Anhäufung alter Pilzzellen braucht nicht unbedingt auf Degeneration des Protoplasten zu beruhen, sondern könnte auch durch Enzym-Tätigkeit bedingt sein.
4. "Fettige Degeneration" der Pflanzenzellen durch farblosen Phosphor ist nicht erzielt worden; es scheinen demnach keine diesbezüglichen Analogien mit dem Tierreich zu bestehen.
5. Durch Extraktion ist der Fettgehalt einiger Pilze (*Tubiporus rufus* Schöff., *Tubiporus scaber* Bull., *Daedalea quercina* L., *Phlegmacium varium* Schaeff., *Clitocybe cyathiformis* Bull., *Tricholoma terreum* Schöff., *Hebeloma mesophaeum* Fr.) ermittelt worden.
6. Die für *Daedalea quercina* ermittelten Fett-Konstanten zeigen gewisse Übereinstimmung mit denen von Kokosöl, Myrica- und Japanwachs. Ihnen allen ist eine niedrige Jodzahl gemeinsam.
7. Durch eine Mikroanalyse nach PREGL ist der Kohlen- und Wasserstoffgehalt des *Daedalea quercina*-Fettes quantitativ ermittelt worden.
8. Der Hauptbestandteil der durch Äther extrahierten Substanz von *Daedalea quercina* ist Harz, und zwar annähernd 10% der Pilz-Trockensubstanz.

BENÜTZTE LITERATUR.

ASCHOFF, Pathol. Anatomie d. Zelle. 1919, S. 325. - DE BARY, Vergl. Morphologie und Biologie d. Pilze. 1884. S. 7, 114, 117, 122. - BENEDIKT und ULZER, Analyse d. Fette und Wachsarten. 1908, S. 843, 873. 883. - FLIEG, Fette und Fettsäuren als Material für Bau- und Betriebsstoffwechsel von *Aspergillus niger*. Pringsh. Jahrb. LXL (1922), Heft 1. - GREEN, in Proc. R. Soc. III (1890) S. 370, zitiert nach

JOST, Pflanzenphysiol. 1913, S. 206. - GLIKIN, Untersuchungen zur Methode der Fettbestimmung im tierischen Material. Pflüger's Archiv 1903, S. 95. - HARDER, Morphologie und Physiologie von *Nyalopus heterosporus*, in Bakt. Zentralbl. 2. Abt. XLII (1914) S. 42 ff. - HÖBER, Physikal. Chemie d. Zelle I (1922) S. 208 ff. - JOST, Pflanzenphysiologie, 1913, S. 206, 228. - Kaiser, Chem. Unters. d. *Agaricus muscarius*, Diss. Göttingen 1862. - KRUSE, Mikrobiologie, 1910, S. 8, 49, 58. - MARGLWICZ, zit. in Just, Jahresber. 1885, I, S. 85. - MEYER, A. Analyse der Zelle I. (1920) S. 17, 21. - NAEGELI und LOEW, Fettbildung bei niederen Pilzen. Kgl. Lays. Akad. Mai 1879. - NOLL, Fettsynthese im Darmepithel d. Frosches, Engelmann-Archiv d. Physiol. 1908, II, S. 145 ff. - SCHMIDT, R., Über Aufnahme und Verbreitung von Fetten und Ölen durch Pflanzen. Flora XLVII (1891) S. 300 ff. - SCHEUNERT, Artikel "Verdauung" im Handwörterb. d. Naturw. X (1915) S. 239. - SPIEKERMANN, Die Zersetzung der Fette durch höhere Pilze, in Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- und Genussmittel 1912, S. 307 ff, 318, 327. - TEICHMANN, Über Formenreichtum der *Monilia varians*. Zeitschr. f. techn. Biolog. IX (1921) Heft 1-2, S. 18, 48. - TWITSCHELL: Methode zum Harznachweis in BENEDIKT-ULZER, Analyse d. Fette und Wachsorten, 1908, S. 274. - ZELLNER, Chemie der höheren Pilze. 1907. - ZELLNER, Über Maisbrand. Sitzungsber. Math.-naturw. Klasse Akad. Wien CXIX (1910) S. 441. - ZOPT, Die Pilze in Schenck's Handbuch 1890, IV, S. 375.

Ueber das regionale Auftreten roter Organismen in Süßwasserseen.

Von A. PASCHER (Prag).

Bei der Untersuchung der Algenflora der tieferen Bodenzonen einiger Alpenseen in früheren Jahren sowie der einiger holsteinischer Seen im Jahre 1922 fielen mir einige wenig bekannte Erscheinungen auf, von denen ich eine hier kurz behandeln möchte.

Vergleicht man in Stufen zunehmender Tiefe die Uferalgen im weitesten Sinn des Wortes in quantitativer wie qualitativer Hinsicht, so ergibt sich, dass sich die Algenflora in den verschiedenen Tiefen-Regionen nicht gleichbleibend zusammensetzt, sich auch nicht in der gleichen Weise aus denselben Algengruppen zusammenschliesst, wie in den oberflächlichen Schichten, sondern dass eine ausgesprochene systematische Umgruppierung stattfindet, die sich kurz in die Formel fassen lässt, dass die Chlorophyceen qualitativ wie quantitativ abnehmen, bis schliesslich in einer Zone von 7 - 12 m die Diatomeen und die Blaualgen neben Flagellaten (im weitesten Sinne des Wortes) immer mehr charakterisierend wirken.

Das wurde ja auch bereits von anderen Autoren bemerkt.

Von Bedeutung aber scheint mir der Umstand zu sein, dass in dieser Zone, die auch einen charakteristischen Moosgürtel einschliesst, förmlich reciprok zur Abnahme der Chlorophyceen ein auffallendes Zunehmen roter Formen stattfindet. Rötliche Organismen, deren Farbenton von einem ausgesprochenen rotstichigen Olivgrün über zart rosa, pfirsichfarben, lila sich bis zu einem kräftigen Rosarot, Bordeauxrot bis Tiefrot steigert.

Es sind dies vor allem die Blaualgen, unter denen neben den blaugrünen, olivgrünen und blauen Formen sich die roten Formen an Arten wie Individuenzahl steigern. Rötliche bis rote Blaualgen aller Familien finden sich hier; eine rötliche bis rote *Aphanocapsa*-artige Chroococcoacee (die vielleicht mehrere Arten enthält), lila bis rote *Gloeotheca*-Arten (?), rotstichige bis braunrot und rötliche Oscillarien (eine ausgesprochen rot), eine sehr auffallende fast rote Tafelchen bildende Cyanophycee (*Merismopedia*), andere systematisch unsichere Chroococcoaceen, speziell aus der grossen Menge der kleinzelligen, unbestimmte Gallertlager bildenden Formen, vielleicht auch Entwicklungsstadien anderer Blaualgen rotviolette Chamaesiphonten und noch andere Typen, die bei der so künstlichen und sub-

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Botanisches Archiv. Zeitschrift für die gesamte Botanik](#)

Jahr/Year: 1923

Band/Volume: [3](#)

Autor(en)/Author(s): Kordes Herbert

Artikel/Article: [Biologische Untersuchungen über das in Dauerzellen und Hyphen verschiedener Pilze auftretende Fett. 282-311](#)