# Ueber den Einfluss äusserer Bedingungen auf die Wachsthumsweise des Basidiobolus ranarum.

Von

**M. Raciborski.**

(Mit 11 Figuren.)

In letzter Zeit habe ich eine Reihe von Versuchen angestellt, um die Beziehungen näher kennen zu lernen, welche zwischen den äusseren Lebensbedingungen und der Gestaltung der Pilze bestehen. Zu diesen Versuchen wurden verschiedene Arten aus verschiedenen Pilzgruppen benutzt, doch gebe ich hier zunächst nur die mit Basidiobolus ranarum erhaltenen Resultate wieder.

Ueber Basidiobolus besitzen wir eine vortreffliche Schilderung seines Entdeckers Dr. E. Eidam (Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen IV pag. 181), wo der Bau und die Entwickelungsgeschichte unseres Pilzes ausführlich beschrieben sind; desswegen brauche ich auf diese hier nicht näher einzugehen. Dagegen muss ich die systematische Einreihung des Pilzes, welchen Eidam und später Thaxter, Tavel und Schröter zu den Entomophtoreen gerechnet haben, als eine unrichtige bezeichnen.

In der grossen Gruppe der sog. „niederen" Pilze, Phycomyceten, unterscheide ich zunächst zwei, so weit bis jetzt bekannt, scharf getrennte Reihen. Eine von diesen, die Siphomyceten, ist ähnlich den Siphoneen und verwandten Algen gebaut, ihr Körper besteht in dem vegetativen Stadium aus vielkernigen Schläuchen. Hierher gehören die Mucorineen, Peronosporeen, Entomophtoreen und Verwandte. Von den Entomophtoreen habe ich die Arten der Gattung Empusa, Lamia, Entomophtora und Tarichium [1]) untersucht und die einzige Aehnlichkeit derselben mit Basidiobolus besteht in dem Abschleudern der Conidien, sonst sind diese Organismen im Baue des vegetativen Körpers, in dem Baue des Zellkernes, wie endlich in der Bildung der Zygoten total verschieden. Basidiobolus gehört in die andere Gruppe der Phycomyceten, in die Gruppe der Archimyceten, deren vegetativer Körper aus normalen, einkernigen Zellen gebildet wird, ähnlich den Conjugaten unter den Algen. Zu dieser Archimycetenreihe, welche in dem Kernbau viel Gemeinsames haben, gehören

1) Unter diesem Gattungsnamen fasse ich diejenigen Entomophtoreen zusammen, deren Dauersporen von den braunen Hyphen umsponnen werden, z. B. das bei München häufige T. rhizospermum Thaxter (als Entomophtora).

Universitätsbibliothek Regensburg

urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0115-2

nach meinen bisherigen Untersuchungen die meisten der Chytridiaceen und die bestbekannte Art derselben, Polyphagus Euglenae, zeigt in der Grösse und dem Bau der Kerne und nach der Beschreibung Nowakowski's in der Bildung der Zygoten eine sehr grosse Aehnlichkeit mit Basidiobolus.

Es besteht noch vielfach die alte Gewohnheit, die Zygomyceten als eine den Conjugaten analoge Gruppe zu betrachten. Ein Blick unter dem Mikroskop auf eine Mucor- oder Saprolegniahyphe einerseits, einen Spirogyrafaden anderseits beweist die Unhaltbarkeit dieser Ansicht zur Genüge, ebenso wie er die nahe Beziehung des Basidiobolus und Spirogyra klar macht.

Der Basidiobolus gehört zu den einfachen einzelligen Organismen, die zwar Kolonien bilden können, wo jedoch zwischen den vielen Zellen einer Kolonie keine Arbeitstheilung vorhanden ist. Jede Zelle verhält sich wie die andere, und jede stellt von dem Kolonienverbande isolirt ein vollständiges, einzelliges Individuum dar. Eine durch Theilung der Mutterzelle gebildete Tochterzelle kann je nach den durch die Hand des Experimentators modificirten Lebensbedingungen mit ihrer Schwesterzelle verbunden bleiben, wobei bei wiederholten Theilungen lange, verzweigte Fäden entstehen oder sich vollständig isoliren, von der Membran der Mutterzelle befreien, um als lose, kugelige Palmellazelle weiter zu leben oder ihr Plasma als Conidie wegschleudern oder endlich mit dem Plasma einer anderen Zelle verschmelzen, um eine Zygote zu bilden.

Da der Basidiobolus sehr schnell wächst, äusserst prompt auf die äusseren Einflüsse reagirt, leicht zu bekommen und aus je einer einzelnen Conidie oder einer vegetativen Zelle fortzupflanzen ist, so bietet er ein dankbares Object für physiologische und auch für Demonstrationszwecke.

Die reinen Culturen von Basidiobolus sind äusserst leicht zu machen. Ueber einem conidienbildenden Basidiobolusrasen braucht man nur in der Entfernung von 1—2 mm einen mit Agar oder Gelatine bedeckten Objectträger kurze Zeit zu halten. Je nach der Zahl der sich bildenden Conidien hat man nach ein paar Minuten oder einer halben Stunde mehrere, manchmal Hunderte der abgeschleuderten Conidien an der klebrigen Schicht haften, welche gleich keimen und neue bacterienreine Rasen bilden. Diese Sporen kann man unter mikroskopischer Controlle mit einem feinen Messerchen aus der Gelatine einzeln herausschneiden und damit neue Nährlösung inficiren. Diese Isolirmethode, die für gewöhnliche Zwecke ihrer Bequemlichkeit

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0116-7

halber sehr angenehm ist, muss modificirt werden, wenn es sich um Culturen in chemisch genau bestimmten Flüssigkeiten handelt, wo also das Einführen wenn auch sehr kleiner Agar- oder Gelatinestückchen die chemische Zusammensetzung des Nährbodens in unerwünschter Weise ändert. Dann muss man die Conidien auf dem Wasser fangen, indem man die conidienbildenden Basidiobolusrasen in umgekehrter Lage über die mit Wasser gefüllten Uhrgläser hält. Mit einer Platinöse kann man die an der Oberfläche des Wassers schwimmenden Conidien herausnehmen und mit denselben frische Culturgefässe impfen. Für viele Zwecke genügt auch ein einfaches Abimpfen eines Stückchen eines reinen Rasens auf einen neuen Nährboden.

Bei der Leichtigkeit, mit welcher Basidiobolus zu cultiviren ist, ist es nicht nöthig, näher die Culturanstellung zu beschreiben. Soweit nicht anders bemerkt ist, waren meine Versuche im Erlenmeyer'schen Kolben angestellt und zwar entweder im ganz kleinen (von 75 ccm Inhalt), die dann mit etwa 25 ccm Nährlösung beschickt waren, oder in etwas grösseren von 250 ccm Inhalt und etwa 75 ccm Nährlösung. Ebenso gut und rein kann man unseren Pilz in den Petrischalen, ja bei einiger Vorsicht auf dem Objectträger oder in Uhrgläsern ziehen. Die Culturen auf festem Nährboden gedeihen ganz gut auf Pepton-Agar oder Pepton-Gelatine und es ist rathsam, solche immer vorräthig zu haben, um von ihnen, welche leichter die vollständige Reinheit der Cultur zeigen, neue Culturen zu machen. In solchen Culturen auf festem Nährboden treten im Gegensatz zu solchen in einer Flüssigkeit nach längerer Zeit ganz kurze Lufthyphen, die nur aus einer oder zwei Zellen bestehen, hervor, auf welchen nie Zygosporen bilden, eine Erscheinung, die uns an reinen Gelatineculturen der Saprolegnieen begegnet und die ich hier erwähnen möchte. An Gelatine cultivirte Saprolegnieen wachsen sehr schnell und während viele Hyphen unterhalb der Oberfläche in dem festen Substrat weiterwachsen, wachsen andere an der Oberfläche, ein äusserst üppiges Luftmycel bildend. An diesem Luftmycel habe ich nie die Oosporen- oder Sporangienbildung beobachtet, aber auch nicht an den in der 10proc. Gelatine wachsenden Hyphen; die beiden treten jedoch gleich hervor, wenn man kleine herausgeschnittene Stücke solchen Saprolegniarasens in Wasser wirft, wo dann zunächst die Oogonien und etwas später die Sporangien sich bilden. Es wäre festzustellen, was ich jedoch nicht gethan habe, bei welcher Concentration der Gelatine die Zoosporen- und Oosporenbildung aufhört. Basidiobolus macht im

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0117-3

Gegensatz zu den Saprolegnieen in der 2‰-Agar oder 10 proc. Gelatine bei geeigneten anderen Bedingungen reichlich Zygosporen und sendet an die Oberfläche die conidienbildenden Hyphen.

Wie bekannt, sind die Excremente und Gedärme der Frösche die einzige Stelle, wo wir den Basidiobolus ranarum in der Natur finden. Ich glaube jedoch, dass er als Saprophyt bei genauerem Suchen an faulenden Pflanzen- und Thiertheilen zu finden wäre. In einem Glase, wo grosse Rasen von Zygnema cultivirt waren, habe ich Basidiobolusconidien ausgesät; bald waren viele absterbende Zygnemafäden von den Pilzzellen umsponnen, welche an den gallertigen Algenmembranen ganz vorzüglich zu wachsen scheinen.

## A. Ueber den Einfluss der Concentration der Nährlösung auf das Wachsthum.

Im Gegensatz zu manchen anderen Pilzen ist der Basidiobolus ziemlich empfindlich gegen die Concentration der Nährlösung. Während nach Eschenhagen (Ueber den Einfluss von Lösungen verschiedener Concentration etc. Stolp. 1889) Aspergillus niger noch bei 17% NaCl, Penicillium glaucum bei 18% NaCl wächst, Cladosporium, Hormodendron und Dematium nach Schostakowitsch (Flora Bd. 81 1895) noch in 100% Rohrzucker wachsen, sind die Grenzconcentrationen, bei welchen Basidioboluszellen noch wachsen und sich zu theilen vermögen, viel niedriger.

Bei den diesbezüglichen Versuchen diente eine Nährlösung von folgender Zusammensetzung: 10 g Pepton (Witte), 10 g Glucose, 0,5 g $K_2PO_4H$, 0,25 g $MgSO_4$, 0,25 g $CaCl_2$, 1000 g $H_2O$. Aus dieser Nährlösung, in welcher Basidiobolus sehr üppig wächst, wurden durch Zusatz von Natriumchlorat, Natriumnitrat, Glycerin oder Glucose Lösungen von verschiedener Concentration dargestellt und mit Basidiobolusconidien inficirt. Die Maximalconcentration, bei welcher Basidiobolus noch wachsen kann, beträgt für

| | | |
|---|---|---|
| NaCl | — | 6% |
| $KNO_3$ | — | 11 |
| $NaNO_3$ | — | 10 |
| $C_3H_8O_2$ | — | 20 |
| Glucose | — | 25 |

Mit erhöhter Concentration der Nährlösung steigt auch der Turgor der Pilzzellen, und zwar in ähnlicher Weise, wie es Eschenhagen (l. c.) bei dem Aspergillus niger gefunden hat. Während die in normaler (1% Pepton, 1% Glucose) Nährlösung wachsenden

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0118-9

Pilze in 5proc. $NaNO_3$-Lösung plasmolysirt werden, braucht man, um die Plasmolyse der vegetativen, wachsenden Zellen zu Stande zu bringen,

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| bei 1 % | NaCl | in der | Nährlösung | — | 8 % | $NaNO_3$; |
| „ 2 | „ | „ | „ | — | 14 | „ |
| „ 3 | „ | „ | „ | — | 18 | „ |
| „ 4 | „ | „ | „ | — | 20 | „ |
| „ 5 | „ | „ | „ | — | 21 | „ |

Die steigende Concentration der Nährlösung wirkt ausserdem auf das Wachsthum des Basidiobolus ein, indem sie denselben zwingt, immer kürzere Zellen zu bilden, die sich je nach der Concentration mehr und mehr der Kugelform nähern, beeinflusst die Anlage neu entstehender Querwände zwischen den einzelnen Zellen, die mit der steigenden Concentration immer häufiger in einer schiefen, ja longitudinalen Richtung sich bilden, statt wie gewöhnlich transversal zur Längsrichtung des Fadens angelegt zu werden, sie wirkt weiter hemmend auf die Bildung der Zygosporen und Conidien, und endlich ruft sie in gewissen Fällen eine bedeutende Wandverdickung hervor.

In der gewöhnlichen Peptonlösung wachsen die Zellen des Basidiobolus sehr bedeutend in die Länge, bleiben cylindrisch, theilen sich durch Querwände, die genau senkrecht zur Längsrichtung der Zelle stehen, bilden durch wiederholte Theilungen lange schmale Fäden, die reichlich verzweigt sind, indem manche Intercalarzellen an dem apicalen Ende seitlich auswachsen.

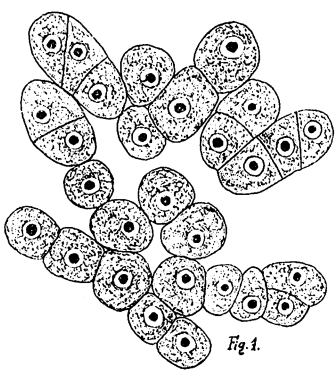
Fig. 1.

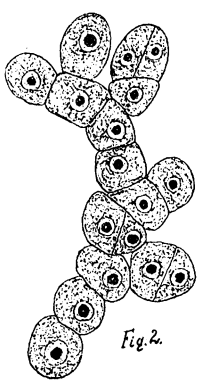
Fig. 2.

Von ganz anderer Gestaltung sind die Zellen und Kolonien, die in einer mehr concentrirten Nährlösung gewachsen sind. Als Erläuterung mögen die Fig. 1 (aus 6proc. Kochsalzlösung) und Fig. 2 (aus 20proc. Glucoselösung) dienen.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0119-7

Von cylindrischen normalen Zellen sehen wir nichts mehr, alle Zellen sind mehr oder weniger rundlich, isodiametrisch. Das ausgesprochene Längswachsthum der Zellen, welches für die Culturen in nichtconcentrirten Peptonlösungen charakteristisch ist, verschwindet mit steigender Concentration immer deutlicher, und im Zusammenhang damit treten immer häufiger die schiefen und longitudinalen Theilungen der Zellen auf, die uns in 1 proc. Peptonlösung nie begegnen. Die schiefen Querwände sind in diesem Falle nur eine Folge der schief angelegten Karyokinesen, ja schon vor dem Eintritt der Kerntheilung verrathen die starken Ansammlungen des strahligen Archoplasma an den zwei Polen der noch runden und anscheinend ruhenden Kerne die schiefe Anlage der karyokinetischen Längsaxe, die später durch eine neu entstehende Querwand halbirt wird.

In einer Peptonlösung bildet Basidiobolus je nach dem Verbrauch des Peptons früher oder später die Zygosporen. Deren Bildung, ebenso wie die Bildung der Conidien, wird durch eine schon geringe Concentration der Nährlösung verhindert. In einer 6 proc. Glycerinlösung fand sich nach zwei Wochen keine Zygosporenbildung, ebenso wenig in einer 5 proc. $KNO_3$-Lösung. In einer 1,84 proc. Glycerinlösung (0,2 M.-L.) bilden sich die Zygosporen noch in normaler Zahl, ihre Zahl ist schon viel kleiner bei der Glycerinconcentration 2,76 % (0,3 M.-L.), 3,68 % (0,4 M.-L.) oder 4,6 % (0,5 M.-L.). Ebensowenig wie Zygosporen bilden die in concentrirten Nährlösungen cultivirten Kolonien die Conidien. Durch das Uebertragen dieser Kolonien aus der concentrirten Nährlösung in eine wenig concentrirte oder z. B. in das destillirte Wasser bekommt man gleich die Zygosporen und an der nicht untergetauchten Oberfläche die Conidien.

Normale Zellen des Basidiobolus sind, wie bekannt, immer einkernig. In alten Culturen findet man jedoch hie und da manche Zellen, deren Kerne sich getheilt haben, in welchen jedoch die Bildung der Querwand unterblieben ist. Man kann durch Uebertragen einer Cultur in 10 proc. Glycerinlösung (+ 1 % Pepton, 1 % Glucose) und durch gleichzeitige Erhöhung der Temperatur auf 30° C. sonderbare Riesenzellen zu Stande bringen, deren Kerne in zahlreiche Tochterkerne sich getheilt haben, ohne dass die Querwände zwischen den Tochterzellen sich gebildet haben. Basidiobolus wächst sonst bei 30° C. schneller als bei der Zimmertemperatur. Die Zellen einer Cultur, die aus der normalen Peptonlösung in die 10 proc. Glycerinlösung gebracht und bei dieser Temperatur sich weiter entwickeln, zeigen manche Differenzen zwischen einander. Manche theilen sich

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0120-8

wie gewöhnlich und liefern rundliche Zellen von normaler Grösse, andere wachsen gewaltig, erreichen vielfach eine Breite von 60 μ, ihre Kerne theilen sich und zwischen den Kernen treten äusserst dünne Querwände auf. Doch runden sich die Tochterzellen nicht ab, erscheinen aber als Segmente einer Kugel zu runden Zellkörpern vereinigt, die die Gestalt der Mutterzelle behalten. Solche Zellkörper zeigt die Fig. 3.

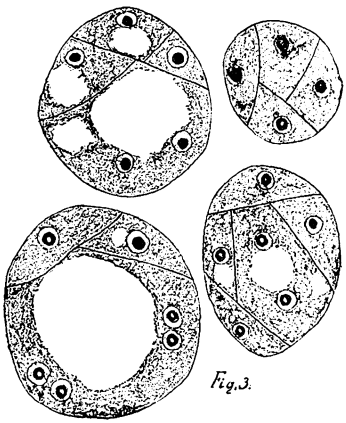
Fig. 3.

In dem weiteren Verlaufe der Cultur treten immer häufiger alte Zellen auf, die viel grösser als die übrigen sind, deren Kerne sich mehrfach theilen, in welchen jedoch keine Querwände mehr auftreten. Die Kerne, zwei bis über 20 an der Zahl, liegen entweder zerstreut in dem wandständigen Plasma, ähnlich wie in jungen Endospermbelegen oder manchen Secretschläuchen der Phanerogamen oder liegen auch haufenweise dicht bei einander. Einige solche Riesenzellen zeigt die Fig. 4. Bei der Aehnlichkeit, welche diese pathologischen Riesenzellen mit den Riesenzellen der thierischen pathologischen Anatomie aufweisen, habe ich mit besonderer Mühe nach den Kerntheilungen in denselben gesucht, doch nie eine directe Fragmentation gefunden. Diese zahlreichen Kerne entstehen immer auf dem Wege der karyokinetischen Theilung, die genau so verläuft, wie in den gewöhnlichen vegetativen Zellen des Pilzes. Trotzdem sind diese Zellen nicht entwickelungsfähig, sie gehen immer nach kurzer Zeit zu Grunde. Dabei häufen sich bei den Kernen verschiedene Vacuolen, in manchen der Kerne selbst treten auch Vacuolen hervor, wodurch diese sich stark vergrössern, manchmal bis 15 μ breit werden und so eine für Pilzkerne ansehnliche Grösse erreichen. Später jedoch verblassen diese Kerne immer mehr und mehr, die Nucleolen werden eckig und kleiner, die Kernvacuole rings um die Nucleolen kleiner und undeutlicher, bis sie endlich verschwinden. Obwohl also Lebensbedingungen vorhanden sind, welche

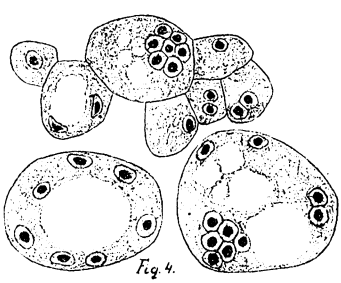
Fig. 4.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0121-4

einen einzelligen und einkernigen Organismus wie Basidiobolus in einen vielkernigen, einem Siphomyceten ähnlichen verwandeln können, so wirken doch diese Eingriffe zugleich entwickelungsstörend, pathologisch ein.

Nicht alle Zellen einer so behandelten Cultur verwandeln sich zu Riesenzellen, manche wachsen, wie schon erwähnt, normal, theilen sich und liefern rundliche junge Zellen. Doch nach längerer Zeit verdicken sich die Wände derselben sehr stark und die Theilungen hören vollständig auf. Die sonst sehr dünnen Membranen werden bis 5 μ dick und geschichtet. Die Verdickung der Wände ist nicht immer gleichmässig ausgebildet, gewöhnlich treten hie nnd da in das Innere der Zelle besonders starke Papillen und Zapfen hervor, die manchmal den Urticaceencystolithen ähnlich sind und vielfach so gewaltsam nach innen wachsen, dass sie den grössten Theil des Zelllumens ausfüllen und für das Plasma nur wenig Raum übrig lassen. Dieselbe Erscheinung der enormen Wandverdickung habe ich auch in 10 proc. Glycerinculturen beobachtet, die zwar in gewöhnlicher Zimmertemperatur cultivirt, aber durch Bacterien verunreinigt waren. Die Fig. 5 stellt einige solcher Zellen dar. Dieselben Wandverdickungen traten auch auf bei gewöhnlicher Temperatur, wenn zur Concentration statt Glycerin 8 % Ammoniumsulfat benutzt war.

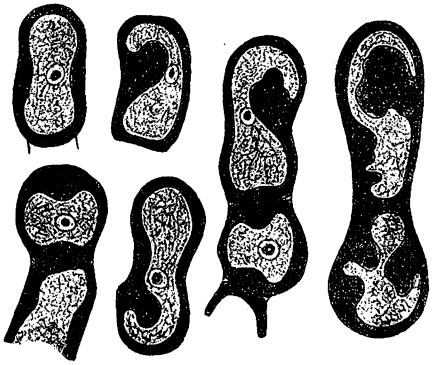

Fig. 5. Die Zellen des Basidiobolus mit stark und unregelmässig verdickten Wänden.

Es ist jedoch sehr zweifelhaft, ob in allen den erwähnten Fällen die verstärkte Wandbildung als durch die gesteigerte Concentration der Nährlösung inducirt betrachtet werden darf. Wie weiter unten besprochen wird, kann man in einer sehr wenig concentrirten Nährlösung dieselben Wandverdickungen induciren, wenn als Stickstoffquelle manche Ammoniumsalze, als Kohlenstoffquelle manche Kohlenhydrate dargeboten werden. Es ist möglich, dass in den erwähnten alten peptonenthaltenden Culturen entweder durch Wachsthum des Basidiobolus bei erhöhter Temperatur oder in den anderen Fällen durch Anwesenheit der Bacterien Ammoniaksalze, eventuell substituirte organische Ammoniake sich gebildet und die Membranverdickung verursacht haben. Während jedoch die

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0122-0

unten besprochenen ammoniakalischen Nährlösungen nur vorübergehend so starke Wandverdickungen zu Stande bringen, als Einleitung zu einer weiteren Entwickelung des Pilzes im Palmellastadium, unterbleibt diese weitere Entwickelung bei erhöhter Concentration; die Zellen mit verdickter Wand bleiben hier in einem Ruhezustande liegen, ohne sich zu vermehren.

## B. Ueber den Einfluss der chemischen Zusammensetzung der Nährlösung auf das Wachsthum.

Auf einer Peptonlösung wächst Basidiobolus sehr üppig. Dabei ergaben gleich die ersten Vorversuche, dass die Bildung der Zygosporen mit der Erschöpfung der Nährlösung eintritt. Die Culturen waren in Uhrgläsern angestellt, die mit etwa 5 ccm Nährlösung beschickt waren. Als Nährlösung war benutzt: 0,25 g KCl, 0,25 g $CaCl_2$, 0,25 g $NaNO_3$, 0,25 g $MgSO_4$, 999 g $H_2O$ mit wechselnder Menge Pepton und Glucose.

In der folgenden Tabelle zeigt die zweite Reihe die in Procenten ausgedrückte Menge des dargebotenen Peptons (p) und Glucose (g) an, die letzte die Maximal-Breite der Kolonien an dem dritten Tage nach der Aussaat, während der Buchstabe **z** das Auftreten der ersten Zygosporen bezeichnet. Mit jeder Nährlösung waren drei Uhrgläser beschickt und diese am 13. August mit ganz kleinen Gelatinestückchen, die je eine oder nur sehr wenige Conidien enthalten, inficirt. Die Culturen, welche am 18. August noch keine Zygoten gebildet haben (also 1—6), waren an diesem Tage in das oben erwähnte Mineralwasser übertragen und da noch einen Tag belassen.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2 p<br>4 g | 2 p<br>2 g | 2 p<br>1 g | 2 p<br>0,5 g | 2 p<br>0 g | 1 p<br>2 g | 0,5 p<br>2 g | 0 p<br>2 g | 1 p<br>1 g | 0,5 p<br>0,5 g | 0,25 p<br>0,25 g | 0,12 p<br>0,12 g | 0 p<br>0 g |
| 16. August | | | | | | | | z | | z | z | z | z |
| 17. August | | | | | | | | | | | | | |
| 18. August | | | | | | | z | | z | | | | |
| 19. August | z | z | z | z | z | z | | | | | | | |
| Die Breite der Rasen am 16. August | 17mm | 21 | 21 | 25 | 19 | 18 | 18 | 0 | 17 | 17 | 15 | 10 | 0 |

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0123-6

Die schwachen, 0—4proc. Glucoselösungen sind also als Zusatz zu den Peptonlösungen ohne Wirkung anf die Bildung der Zygosporen oder auf das Wachsthum der Rasen, dagegen verhalten sich die Culturen mit wechselnder Peptonmenge sehr verschieden. Die Basidioboluskolonien, denen nur wenig Pepton zu Gebote stand (0,1—0,5 % in einem Uhrglas), haben zwar am dritten Tage nach der Aussaat eine Breite von 10—17 mm erreicht, aber auch massenhaft Zygosporen gebildet, während in den Culturen mit 2 % Pepton noch am fünften Tage keine Zygosporen vorhanden waren. Von den letzten Culturen waren jetzt je zwei in eine peptonfreie Nährlösung gebracht, während je einer dritten die frühere, 2 % Pepton enthaltende Nährlösung erneuert war. Die in Mineralwasser übertragenen Culturen haben nach 24 Stunden sämmtlich Zygosporen gebildet, während bei den in frische Peptonlösung übertragenen auch nach mehreren Tagen noch keine Zygosporen vorhanden waren.

Während diese und die zahlreichen späteren Versuche immer zu dem Resultate führten, dass die schlecht ernährten Culturen gleich zur Zygosporenbildung schreiten, waren an verschiedenen Kolonien derselben Nährlösung die Conidien bald vorhanden, bald nicht und zwar haben sich die Conidienträger nie entwickelt, wenn der Rasen zu Boden sank oder von der Oberfläche der Flüssigkeit auch nur 1 mm entfernt war. Nur diejenigen Rasen, welche an der Oberfläche schwimmen, fangen bald an, die Conidien zu bilden und zwar gewöhnlich noch früher als die Zygoten. Desswegen liefern die Objectträgerculturen stets in 2—3 Tagen Conidien, während solche in den Uhrgläsern oder Erlenmeyer'schen Kolben manchmal ganz conidienlos bleiben.

Es wurden auch Versuche angestellt, um zu sehen, ob nicht andere entwickelungsstörende Eingriffe die Zygosporenbildung hervorrufen. Es wurde eine grosse Zahl der Kolonien in Petrischalen bei einer Temperatur von 17° C. in 2proc. Pepton-, 1proc. Glucoselösung gezogen und je fünf von diesen 36 Stunden nach dem Auskeimen in verschiedene Lebensbedingungen versetzt.

Das Uebertragen der Kolonien in einen Thermostaten mit constanter Temperatur 30° verursacht ein stärkeres Wachsthum und in der Folge ein schnelleres Erschöpfen der Nährlösung, welches wieder das frühere Erscheinen der ersten Zygoten zur Folge hat. In Petrischalen sind in dem Thermostat in vier weiteren Tagen die ersten Zygoten erschienen.

Das Uebertragen der Kolonien in ein Zimmer mit fast constanter Temperatur von 6—7° C. hat eine sehr starke Retardation des

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0124-2

Wachsthums zur Folge, die Zellen wachsen sehr langsam, schwellen sehr häufig an der Spitze keulenförmig an, bilden jedoch noch nach einer Woche keine Zygosporen oder Conidien.

Das Uebertragen der Culturen in einen dunklen Raum bleibt ohne Einfluss auf die Bildung der Zygosporen oder Conidieen. Dieselben werden bei den belichteten und verdunkelten Culturen in derselben Zeit und auf dieselbe Weise angelegt.

Das Uebertragen der Culturen in destillirtes Wasser, sowie auch in eine 1 proc. $KNO_3$-Lösung verursacht in 24 Stunden die Bildung unzähliger Zygoten und Conidien. Die Bildung der Zygoten und Conidien kann man beschleunigen durch eine Erhöhung der Temperatur auf 30° C., wobei schon nach 6—8 Stunden die ersten Zygoten sich bilden.

Aehnliche Resultate bekommt man durch Ausgiessen der Nährlösung, so dass die Culturen nur an nasser Schale liegen bleiben. Doch ist jetzt die Zahl der Zygoten bedeutend geringer.

Durch Uebertragen der Culturen auf den Boden grosser, mit einer 2proc. Peptonlösung bis zu einer Höhe von 9 cm vom Boden erfüllten Erlenmeyer'scher Kolben erzielt man anfangs ein starkes Wachsthum der Kolonien, die jedoch bei dieser Tiefe natürlich keine Conidien und bei der Menge der Nährlösung auch keine Zygoten bilden. Nach mehreren Tagen sehen wir in solchen Culturen viele sonst normale cylindrische Zellen sich von den anderen loslösen und nach dem Boden sinken und sich zwar weiter, aber sehr langsam entwickeln.

Ein Zusatz von 0,1 % salzsaurem Chinin, 0,1 % schwefelsaurem Atropin, 0,1 % Akonitin bleibt ohne irgendwelche sichtbare Veränderung in der Cultur hervorzurufen, 0,4 % essigsaures oder salzsaures Chinin wirkt tödtend, 0,5 % Coffein wirkt sehr stark retardirend auf das Wachstum, die Bildung der Zygoten und Conidien bleibt aus. 0,5 % Phloroglucin wirkt etwas retardirend auf das Wachsthum, die Zellen bleiben kurz und dick, während dieselben in 0,5proc. Orcein sehr unregelmässig gestaltet sind, mit Auswüchsen versehen, häufig keulenförmig angeschwollen. In 0,25 proc. Indigocarmin wachsen die Zellen sehr stark, doch trotz der sehr starken Imprägnirung der Wände mit dem Farbstoff bleibt das Wachsthum ganz normal und intensiv, ebenfalls in 0,1 proc. Congoroth. In beiden letzten Fällen bringen die Culturen ganz normale Zygoten und Conidien. Ein Zusatz von 1 ‰ und 2 ‰ arseniksaurem Kali wirkt nur auf einen Theil der Zellen tödtlich, andere wachsen langsam fort; dagegen tödtet eine 0,4 ‰-



Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0125-7

Lösung dieser Salze alle Zellen. Doch auch an diese hohe Concentration des Giftes kann man die Pilzzellen angewöhnen durch Uebertragen der mehrtägigen Culturen aus 1 ‰-Lösung zuerst in 2 ‰ und zuletzt in 4 ‰. Jedoch wachsen in dieser Lösung die Pilzzellen nur langsam.

Alle diese Versuche, und auch manche von den unten besprochenen, liefern den Beweis, dass man die Bildung der Zygoten bei Basidiobolus durch sehr verschiedene Eingriffe verhindern oder zurückschieben, ihr Erscheinen aber durch den eintretenden Nahrungsmangel zu Stande bringen kann.

In den bis jetzt erwähnten Culturen deckte der Pilz seinen Stickstoff- und Kohlenstoffgebrauch aus dem Pepton. Wenn auch Glucose in der Nährlösung zugesetzt war, so geschah es nur desswegen, weil ich gleichzeitig unter denselben Bedingungen einige Siphomyceten und Ascomyceten cultivirt habe, zu deren Entwickelung ein Glucosezusatz vortheilhaft war. Für den Basidiobolus ist derselbe, wie schon oben erwähnt, nicht nöthig. In den späteren Versuchen wurde angestrebt, die Differenzen kennen zu lernen, welche der Basidiobolus zeigt, wenn ihm Stickstoff und Kohlenstoff in anderer Gestalt dargeboten wird. Alle Versuche waren in kleinen Erlenmeyer'schen Kolben angestellt, wobei als Flüssigkeit eine Lösung von 0,5 g $KPO_4H_2$, 0,25 g $CaCl_2$, 0,25 g $MgSO_4$, 1000 g $H_2O$ diente. Nie habe ich etwas Eisen zugesetzt, trotzdem entwickelten sich die Culturen ganz normal, wenn ihr Stickstoff- und Kohlenstoffbedarf in genügender Masse und richtiger Form dargeboten war.

Je nachdem der Stickstoff- und Kohlenstoffbedarf durch zwei verschiedene Stoffe gedeckt war oder die beiden nöthigen Elemente in einer chemischen Verbindung dargeboten waren, kann man diese Versuche in drei Gruppen theilen. In der zunächst besprochenen diente als Stickstoff- und Kohlenstoffquelle nur eine einzige, zugleich Stickstoff und Kohlenstoff enthaltende Verbindung.

1 proc. salzsaures Methylamin. Wachsthum sehr schwach. Die Zellen äusserst dünn, bis 2 μ breit, sehr lang, unverzweigt. Die Zygosporen normal. Vollständig dieselben Resultate liefert 1 proc. salzsaures Trimethylamin, 1 proc. salzsaures Aethylamin, 1 proc. salzsaures Diaethylamin, 1 proc. salzsaures Propylamin. Diese Amine decken zwar den Stickstoffbedarf der Pflanze vollständig (durch Zusatz von 1 proc. Ammoniumsulfat bekommt man keine Steigerung des Wachsthums), doch leiden die Pflanzen an Kohlenstoffmangel, und dieser Mangel hat zur Folge die Bildung äusserst dünner, sehr langer (bis

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0126-3

100 μ) Zellen, die vielfach gekrümmt wachsen, manchmal verzweigt sind. Die Zellkerne sind in solchen Zellen sehr schmal und lang, der Nucleolus ist stäbchenförmig ausgezogen, die Grösse der Zellkerne ist kleiner als die der Peptonculturen. Durch Zusatz einer Kohlenstoffquelle, z. B. 1 % methylschwefelsaures Kali oder 1 % Glucose zu einer dieser Culturen, erzielt man gleich eine enorme Steigerung des Wachsthums.

In 1 proc. kohlensaurem Guanidin, in 1 proc. Hexamethylentetramin war kein Wachsthum vorhanden.

1 proc. Taurin wirkt ganz so wie die oben erwähnten Amine, viel stärker wächst der Basidiobolus in einer 1 proc. Glycocolllösung, wo zwar auch schmale Zellen gebildet werden, aber die Kolonien dicht erscheinen; ähnlich verhält sich der Basidiobolus in 1 proc. Methylglycin(Sarcosin)lösung, wo die Zellen bis 4 μ dick werden, oder in 1 proc. Methylguanidinessigsäure (Kreatin), dagegen war in 1 proc. salzsaurem Glycocoll, wie in 1 proc. salzsaurem Betain kein Wachsthum vorhanden, und zwar ebensowenig bei Basidiobolus wie bei manchen anderen Pilzen (Absidia robusta n. sp., Mucor n. sp.).

1 proc. Alanin (α-Amidopropionsäure) liefert eine sehr gute Nahrung. Die Kolonien wachsen sehr stark, die Zygosporen und Conidien bilden sich normal. Ebenso stark wächst auf dieser Nährlösung Absidia, dagegen sehr schwach das Penicillium Poiraultii n. sp.

1 proc. Leucin (α-Amidocapronsäure) ernährt noch etwas besser als Alanin, obwohl nicht so gut wie Pepton allein.

1 proc. amidobernsteinsaures Natron liefert ganz ähnliche Resultate wie Alanin.

1 proc. Acetamid liefert eine gute Nährlösung. Die Zellen sind cylindrisch, kurz und dick, Zygosporen und Conidien normal, die Kolonien breit und dick; dagegen konnte ich in 1 proc. Formamid kein Wachsthum beobachten.

In 1 proc. Urethan wächst Basidiobolus gar nicht, ebensowenig das erwähnte Penicillium, dagegen zeigt Absidia schwaches Wachsthum; kein Wachsthum zeigt auch Basidiobolus in 1 proc. cyansaurem Kali, wo Absidia doch ein wenig wächst, dagegen war in 0,5 proc. cyanursaurem Natron bei Basidiobolus ein schwaches Wachsthum zu sehen. Die Zellen waren sehr schmal, gekrümmt, lang. Ebenso in 1 proc. Harnstoff. Dagegen zeigte Basidiobolus in 1 proc. Thioharnstoff wie in 1 proc. Hydantoin kein Wachsthum. In letzter Lösung wächst dagegen Absidia und Penicillium Poiraultii.



Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0127-9

Sehr schlechte Nährlösung stellt 1 proc. Asparagin dar. Die Zellen bleiben sehr schmal und lang, gewunden, die Zygosporen erscheinen normal, die Conidien habe ich nicht bekommen.

Kein Wachsthum war zu sehen auf 0,5 proc. Cyankali, 1 proc. Ammoniumcarbonat, auf 1 proc. Acetonitril wie auf 1 proc. hippursaurem Kali. Doch haben sich in der Acetonitrilcultur, welche nicht sterilisirt war, spontan einige Pilze stark entwickelt und 1 proc. hippursaures Kali dient dem Penicillium Poiraultii als Stickstoff- und Kohlenquelle zugleich.

Die eben besprochenen Versuche zeigen, dass sehr verschiedene stickstoffenthaltende Kohlenstoffverbindungen den Stickstoff- und Kohlenstoffbedarf des Basidiobolus decken können, obwohl nur sehr wenige wie Leucin, Alanin, Asparaginsäure, Acetamid, ein intensives Wachsthum zu Stande bringen. In allen anderen Fällen war an den wachsenden Pflanzen der Kohlenstoffmangel sichtbar und äusserte sich in den äusserst dünnen, langen Zellen des so ernährten Pilzes, in der geringen Grösse seiner Zellkerne und endlich in der Lockerheit der gebildeten Rasen. Es wurde auch gezeigt, dass verschiedene Pilze sich sehr verschieden in denselben Nährlösungen verhalten. Während z. B. die Hippursäure den Basidiobolus gar nicht ernährt, fördert sie das Wachsthum des Penicillium Poiraultii; dagegen kann Asparagin allein den letzten Pilz nicht ernähren, es genügt jedoch der Absidia.

In den folgenden Versuchen war Kohlenstoff als 1 proc. Glucose in der Nährlösung vorhanden. Mineralische Ernährung war dieselbe wie in den vorigen Versuchen. Der Stickstoff war dagegen in verschiedenster Form dargeboten.

Die Salpetersäure, als Stickstoffquelle gegeben, liefert eine kümmerliche Vegetation. In 1 proc. $KNO_3$ wachsen die Zellen in dünne, lange Schläuche aus, bilden nach ein paar Tagen die Zygoten und schliessen so ihr Wachsthum ab. In 3 proc. $KNO_3$ wächst Basidiobolus noch kümmerlicher. Die Zygoten sind normal.

Die salpetrige Säure (1 proc. $KNO_2$) wirkt ähnlich wie die Salpetersäure, doch werden die Zellen noch dünner, z. Th. korkzieherartig gekrümmt.

Hydroxylaminchlorhydrat wirkt schon in 0,25 proc. Lösung tödtend auf das Basidiobolus.

In 1 proc. Ammoniumsulfat oder 1 proc. Chlorammonium wächst Basidiobolus sehr üppig, die Zellen sind dick, theilen sich lebhaft. Schon nach 2—3 Tagen zeigen solche Culturen manche Eigenthümlichkeiten, welche sie von allen früher beschriebenen unterscheiden. Die Rasen bleiben trotz der lebhaften Zelltheilung ganz klein, rund-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0128-5

lich, zerreissen jedoch sehr leicht, im Gegensatz zu den compacten Kolonien auf Pepton. Die kurzen dicken Zellen theilen sich immer mehr durch z. Th. transversale, z. Th. schiefe, z. Th. longitudinale Wände. Die Membranen der Zelle wachsen sehr stark in die Dicke und zwar wird unterhalb der äusseren Membranlamelle eine mehr oder weniger dicke, vielfach ganz unregelmässig verdickte, sehr deutlich geschichtete Lamelle abgeschieden. Solche Stadien erinnern lebhaft an die oben besprochenen (Fig. 5) in concentrirter Glycerinlösung gezogenen Culturen. Andererseits erinnern sie vollständig an diese Entwickelungsstadien verschiedener grüner Algen, die wir allgemein als Palmellastadien bezeichnen. Dass eine aus Ammoniaksulfat und Glucose zusammengesetzte Nährlösung bei dem Basidiobolus thatsächlich ein Palmellastadium zu Stande bringt, zeigen die nächstfolgenden Entwickelungsstadien. Während die dickwandigen, unregelmässigen Zellen eine Zeit lang von der Membran der Mutterzelle eventuell Urmutterzelle umschlossen sind, bricht die letztere dann auf und die in derselben enthaltenen Zellen

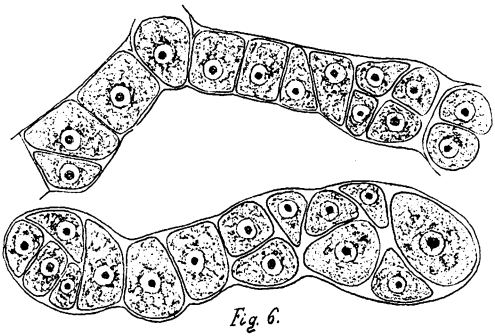

Fig. 6.

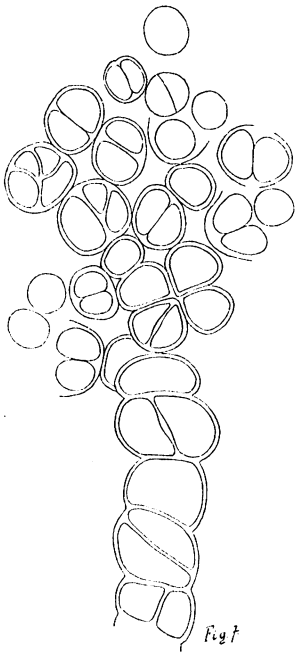

Fig. 7

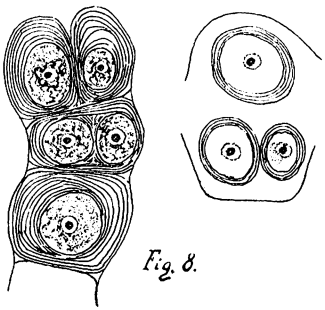

Fig. 8.

gelangen jetzt ins Freie, runden sich vollständig ab und die jungen Palmellazellen theilen sich weiter durch Querwände in zwei halb-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0129-3

kugelförmige Zellen, die wieder durch das Abwerfen der Membran der Mutterzelle frei werden und sich abrunden. Einige beigefügte Abbildungen illustriren dieses Palmellastadium (Fig. 6, 7, 8).

Wird durch Erneuerung der ammoniakalischen Nährlösung für Nahrung gesorgt, so bilden sich in dem Culturglase die kugligen, gehäuften Palmellazellen immer reichlicher, während die eigentlichen langen Basidioboluszellen nicht mehr oder nur sparsam gebildet werden. Dabei schliesst dieses Palmellastadium die Bildung der Conidien oder Zygosporen vollständig aus. Ich habe eine Monate alte Cultur in der betreffenden Nährlösung behalten, ohne eine andere Vermehrungsweise als durch Palmellatheilungen gesehen zu haben. Auch durch Uebertragen solcher Palmellen in reines Wasser kann man sie nicht mehr zwingen, die Zygosporen zu bilden. Dazu genügt jedoch, wenn man Stickstoff und Kohlenstoff der Pflanze in einer anderen Form gibt, sie ganz kurze Zeit in Pepton, in Nitraten etc. wachsen lässt; die Zygosporen und Conidien erscheinen dann wieder normal.

Ganz dieselbe Wirkung wie Ammoniaksulfat oder Chlorat mit Glucose haben auf die Entwickelung der Basidiobolus die substituirten organischen Ammoniake, die Amine. Ich habe salzsaure Salze des Methylamins, Trimethylamins, Aethylamins, Propylamins in 1proc. Lösung mit 1 % Glucose angewandt, und dabei immer dasselbe starke Wachsthum, die Bildung der Palmellazellen bei Mangel an Conidien und Zygoten erzielt. Dagegen liefern 1 % Acetamin, 1 % Asparagin oder 0,5 % Atropinsulfat mit 1 % Glucose normale, in die Länge wachsende, dünnwandige Zellen nnd schliesslich Conidien und Zygosporen.

Bei den weiteren Versuchen war Stickstoff immer als 1proc. Ammoniumsulfatlösung gegeben, dagegen variirte die Kohlenstoff enthaltende Verbindung. Als solche kamen zur Anwendung die Säuren der Fettreihe, Alkohole und Kohlenhydrate. Die durch Verwendung verschiedener von diesen Kohlenstoffquellen erzielten Resultate im Wachsthum des Basidiobolus waren sehr verschieden und zwar waren einerseits quantitative Wachsthumsdifferenzen zu sehen, sehr deutlich besonders bei der Anwendung verschiedener Säuren, aber auch qualitative, indem z. B. verschiedene Kohlenhydrate den Basidiobolus zwingen, auf ganz verschiedene Weise zu wachsen.

Die Säuren der Fettreihe wurden in den meisten Fällen als 1proc. Kalisalze angewandt und haben im Allgemeinen ähnliche Resultate ergeben. Nach einem mehr oder weniger intensiven Wachsthum, indem die Zellen mehr dünn und lang, oder dick und kürzer waren, trat mit der Erschöpfung der Nährlösung die Bildung der Zygosporen

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0130-4

und noch früher der Conidien (an den oberflächlich schwimmenden Rasen) auf. Das Palmellastadium war nie gebildet. Je nach der Grösse der gebildeten Rasen konnte ich die angewandten Säuren zu vier Reihen anordnen, indem ich in der ersten die Culturen mit stärkstem Wachsthum, in der zweiten und dritten die schwächer entwickelten, in der vierten dagegen solche zusammengestellt habe, die kein Wachsthum gezeigt haben. Diese Reihen sind für Basidiolus:

1. Essigsäure, Crotonsäure, Brenztraubensäure, Sebacylsäure;
2. methylschwefelsaures Kali, Oxalsäure, Bernsteinsäure, Aepfelsäure, Milchsäure, Schleimsäure;
3. Chinasäure, Weinsäure, Korksäure, Brenzschleimsäure, Glycerinsäure, Citronensäure;
4. oxymethylsulfonsaures Natron und Ammonium, Ameisensäure, Zuckersäure (saures zuckersaures Kali), Sorbinsäure, Citrakonsäure;

wobei ich gleich bemerken will, dass diese Reihenfolge nur für Basidiobolus giltig ist. Es wurden nämlich in den meisten dieser Nährlösungen gleichzeitig Absidia robusta und Mucor sp. cultivirt, und diese zeigten z. Th. sehr verschiedene Resultate. Jedoch keiner dieser Pilze war auf dem 1proc. oder 0,5proc. oxymethylsulfonsauren Natron zum Wachsthum zu bringen, was ich hier deswegen nicht unerwähnt lassen möchte, weil das letztgenannte Salz nach den Angaben Bokorny's (Landwirthschaftl. Jahrbücher XXI, 1892, p. 445) den grünen Pflanzen als Kohlenstoffquelle zu dienen vermag. Jedenfalls verdienen die Untersuchungen Bokorny's, deren Resultate in der chemischen Litteratur vielfach verwendet werden, eine erneute Nachuntersuchung.

Mit den Alkoholen der Methanreihe habe ich einige Versuche angestellt, um ihre Giftwirkung zu ermitteln. Zu einer Nährlösung, in welcher ausser den Mineralsalzen noch 1 % Pepton und 1 % Glucose vorhanden war, waren die Alkohole zugesetzt, um die Grenzprocente, bei welchen eben noch Basidioboluswachsthum möglich war, zu ermitteln. Diese Vorversuche haben ergeben, dass die Giftwirkung der Alkohole $C_nH_{2n+2}O$ mit ihrem Kohlengehalt steigt und zwar betragen die Maximaldosen derselben für

| | |
|---|---|
| Methylalkohol | 7,0 % |
| Aethylalkohol | 3,0 |
| Propylalkohol | 1,5 |
| Isobutylalkohol | 1,0 |

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0131-0

Als Kohlenstoffquelle liefern die Alkohole keine üppigen Basidiobolusrasen. In 2proc. Methylalkohol (+ 1 % $NH_2SO_4$) ist das Wachsthum sehr schwach, die Zellen dünn und lang, korkzieherartig gekrümmt, die Zygoten bilden sich sehr rasch. Noch schlechter wächst Basidiobolus in 2proc. Aethylalkohol, während in 1proc. Propyl-, Butyl- und Isobutylalkohol kein Wachsthum stattgefunden hat, obwohl diese Alkoholmengen, als Zugabe zu einer guten Nährlösung, das Wachsthum noch nicht sistiren.

In 1proc. und 3proc. Glycerin-, 1proc. Erythrit, 1proc. Dulcyt- und 1proc. Mannitlösung ist das Wachsthum auch schwach, die Zellen bleiben dünn und lang, die Zygosporen erscheinen bald und schliesslich zerfällt die ganze Cultur in die Zygoten.

Von den Kohlenhydraten konnte ich nur wenige versuchen. Die für Glucose sehr charakteristische Wirkung, nämlich die Bildung der Palmellen, wurde schon oben beschrieben. Aehnlich wie die Glucose wirkt 1—5proc. Maltose, 1—5proc. Rohrzucker und 1—5proc. Dextrinlösung. Die Laevulose ruft auch, obwohl nur spärlich, Palmellengruppen hervor, dabei werden jedoch die meisten Zellen des Basidiobolus dick und ziemlich lang. Die Zygosporenbildung unterbleibt. Keine Palmellen-, dagegen Zygosporenbildung tritt in 1—5proc. Galactose-, 1proc. Milchzucker-, 1proc. Inulin-, 1proc. Glykogen-, 1—5proc. Stärkekleisterlösung. Dass jedoch die wenigen versuchten Kohlen-

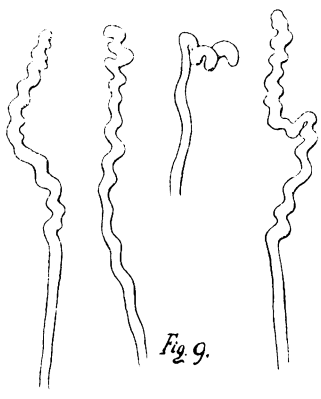

Fig. 9.

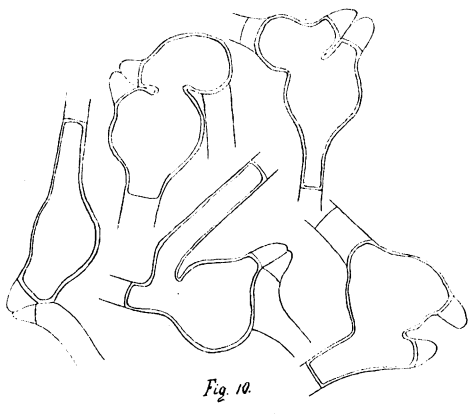

Fig. 10.

hydrate uns ein nicht vollständiges Bild der Wachsthumsverhältnisse geliefert haben, hat ein Versuch bewiesen, wo als Kohlenstoffquelle eine 1proc. Lösung einer rohen Sorte von Gummi arabicum benutzt war. Die Zellen des Basidiobolus wachsen in lange, dünne Schläuche

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0132-6

aus, die, ähnlich wie die der Aethylalkoholculturen, korkzieherartig gewunden waren (Fig. 9). Es waren trotzdem wenige Palmellazellen gebildet, in wenigen Tagen kam dann die Zygosporenbildung zu Stande. Doch war die wachsthumstörende Wirkung der Nährlösung immer deutlicher. Viele lange Zellen waren verzweigt, und bei der Zygosporenbildung kam es nur in wenigen Fällen zum normalen Uebertritt des Plasmas der männlichen Zelle in die weibliche. In bei weitem den meisten Fällen war dieser Uebertritt nur spärlich, und die beiden Zellen, die durch eine entstandene Oeffnung mit einander kommuniciren, umgeben sich mit einer dicken Membran, auf diese Weise sehr sonderbar gestaltete Zygoten, z. Th. Doppelzellzygoten bildend (Fig. 10). In sehr seltenen Fällen kam es überhaupt nicht mehr zu einer Durchbohrung der Zwischenmembran der copulirenden Zellen, die beiden Zellen haben sich jede für sich zu einer Halbzygote verwandelt (Fig. 11). Leider gelang es mir in diesem Falle nicht, das zur Wirkung kommenden störenden Agens kennen zu lernen. Mit verschiedenen anderen Sorten von Gummi arabicum wie auch von Tragantgummi habe ich nur lange, schlauchförmige Zellen und normale Zygosporen erzielt, es waren also jedenfalls in den anormal wachsenden Culturen chemische Agentien massgebend, nicht aber die physikalische Beschaffenheit der schleimigen Flüssigkeit. Vielleicht wäre es möglich, durch Anwendung der chemisch reinen Pentosen und Pentosanen in dieser Richtung eine Klarheit zu erzielen, mir fehlten jedoch dieselben vollständig.

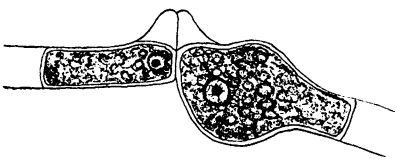

Fig. 11.

Jedenfalls zeigen meine wenigen Versuche mit den Kohlenhydraten als einer Kohlenstoffquelle, dass einzelne Glieder dieser Gruppe, die einander der chemischen Zusammensetzung nach so nahestehen, doch keine ähnlichen Resultate in dem Wachsthum des durch sie ernährten Organismus zu Stande bringen. Trotz der geringen Zahl der von mir angewandten Kohlenhydrate erinnern doch unsere Culturversuche einigermassen an die, welche E. Fischer mit der Gährfähigkeit der Hefe bei Anwesenheit verschiedener Kohlenhydrate erhalten hat und zugleich an seine interessanten, an diese Eigenschaften der Organismen geknüpften Auseinandersetzungen. Es meinte E. Fischer nämlich (Die Chemie der Kohlenhydrate 1894 p. 25): „Wir stehen hier vor der ganz neuen und ich darf wohl sagen überraschenden Thatsache, dass die gewöhnlichste Function eines Lebewesens mehr von der

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0133-1

molekularen Geometrie als von der Zusammensetzung des Nährmaterials abhängt. Die Erklärung derselben ist eine biologische Aufgabe von principieller Bedeutung, denn was für die alkoholische Gährung zutrifft, das wird sich m. m. ohne Zweifel bei anderen Gährprocessen oder, noch allgemeiner gesprochen, beim Stoffwechsel des lebenden Organismus wiederholen.“ Meine Untersuchungen haben ergeben, dass die Kohlenhydrate von geometrisch verschiedenem Bau der Moleküle verschieden morphogenetisch wirken. So z. B. ist die Wirkung der beiden Hexosen Glucose und Galactose ganz verschieden, wieder anders ist die Einwirkung einer Ketose wie des Fruchtzuckers. Ebenso haben wir die Differenzen in der Wirkung gesehen zwischen den einzelnen angewandten Di-saccharide, wie Rohrzucker und Maltose einerseits, Milchzucker andererseits, und dieselbe Differenz weiter noch bei der Wirkung der Polysaccharide, wie Dextrin, Inulin, Glykogen und Stärke. Ich muss mich beschränken auf das Constatiren dieser auch für die experimentelle Morphologie interessanten Thatsache, aber hinweisen will ich doch auf das breite, in dieser Hinsicht fast unbekannte und doch so lockende Gebiet, welches von der chemischen Physiologie in Anspruch genommen werden soll. Uebrigens führen die oben erwähnten Resultate mit dem Wechseln der Stickstoffquelle der Pflanze die Differenzen der Culturen, in welchen Stickstoff als Salpetersäure, Ammoniak, Amine oder Amide vorhanden war, zu ähnlichen Erwägungen, wie die oben citirten E. Fischer's.

## Zusammenfassung.

I. Die beste Nahrung ist für Basidiobolus eine Peptonlösung. In derselben vermehrt er sich sehr üppig vegetativ, dicke, cylindrische Zellen bildend, und schreitet erst mit dem Erschöpfen der Nährlösung zur Zygosporenbildung. Durch Zusatz neuer Nährlösung zu der erschöpften kann man die Bildung der Zygosporen verhindern, theoretisch eine unbegrenzte Zeit, praktisch ist das aber schwer auszuführen, ohne die Kolonien in kleine Stücke zu zerreissen. Es wachsen nämlich in diesen Bedingungen die Zellen des Pilzes sehr dicht neben einander, so dass nach wenigen Tagen in der Mitte eines Rasens eine dicke Schicht gedrängter Zellen sich findet, welche durch die oberflächlichen von der Nährlösung abgegrenzt sind und desswegen bald zur Befruchtung schreiten, wenn wir nicht die dichten Rasen künstlich zerreissen und so für eine gleichmässige Ernährung der einzelnen Zellen sorgen.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0134-7

II. Bei entsprechender chemischer Zusammensetzung der Nährlösung geht Basidiobolus in ein typisches Palmellastadium über, wie wir ein solches bisher nur bei den grünen Algen kannten. Die dazu erforderliche Zusammensetzung ist die Gegenwart des Stickstoffs in der Gestalt des Ammoniaks oder eines organischen substituirten Ammoniaks (Amins), andererseits in der Gegenwart des Kohlenstoffs als Glucose, Rohrzucker, Maltose, Dextrin oder auch Fruchtzucker, bei der normalen, mineralischen Nährlösung. Dass jedoch diese Bedingungen die Ursachen noch nicht erschöpfen, welche ein Palmellastadium bedingen, haben einige, früher nicht citirte Versuche erwiesen, welche uns erst deutlich die Complicirtheit der hier in die Thätigkeit kommenden Factoren beweisen. Bei mangelnder Phosphorernährung tritt nämlich kein Palmellastadium hervor, aber ebenso kommt ein solches zunächst gar nicht, wenn Ammoniak als Phosphorsäuresalz dargeboten wird. In letzterem Fall, ebenso bei der Ernährung mit Ammoniaksulfit, tritt eine sehr spärliche Palmellabildung, und dazu erst sehr verspätet, ein. Desswegen waren bei den Palmellaversuchen Ammoniak und Amine immer als chlorsaure, schwefelsaure oder salpetersaure Salze angewandt.

III. Das Palmellastadium führt zur Bildung von vollständig freien, in keinem Verbande mit den anderen stehenden Zellen, zur Bildung ganz freier, einzelliger Individuen. Andere Pilze kommen zu demselben Resultate auf eine andere Weise, nämlich durch die Bildung der Hefezellen bei einen, der Oidien bei anderen Arten. Die Hefezellen, die Oidien- oder Palmellazellen bilden trotz der Differenzen in ihrer Entstehung eine grosse, biologische Gruppe von analogen Entwickelungsstadien, und es wäre zu untersuchen, ob es auch analoge äussere Einwirkungen sind, die solche einfache, einzellige, jeder Beziehung zu den Schwesterzellen entbehrende Entwickelungsformen induciren. Es sind das nämlich die denkbar einfachsten Entwickelungsformen, die bei den höheren Pilzen nur durch besondere Eingriffe in das Leben derselben hervorgerufen werden, bei den niederen Organismen dagegen, wie bei den Bacterieen oder Saccharomyceten[1]), als alleinige Vegetationsform existiren.

1) Mit den Saccharomyceten möchte ich die Exoascoen als eine parasitische und deswegen „höher“ organisirte Gruppe vereinigen, weil die beiden Gruppen, besonders durch solche Formen wie Schizosaccharomyces, mit einander ganz verbunden sind. Es besteht vielfach die Ansicht, dass die parasitischen Organismen einfacher gebaut sein müssen, als ihre nichtparasitischen nächsten Verwandten. Diese Ansicht kann ich nicht als eine allgemein giltige betrachten. Höchst wahrscheinlich ist, dass die parasitischen Organismen nur dann eine Vereinfachung

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0135-3

IV. Mit der erhöhten Concentration der Nährlösung werden die Basidioboluszellen immer kürzer, ihre Theilungen treten immer seltener senkrecht zur Längsrichtung der Zelle, werden schief, vielfach longitudinal. Durch Uebertragung eines Rasens in entsprechend concentrirte Nährlösung bei erhöhter Temperatur treten sonderbare, sehr grosse, vielkernige Riesenzellen hervor, die jedoch nicht mehr entwickelungsfähig sind. Eine schon unbedeutende Concentration der Nährlösung verhindert die Bildung der Zygosporen; nach beendetem Wachsthum in solchen Flüssigkeiten verdicken viele Zellen etwas ihre Wände und treten so in ein latentes Leben ein, die Function der sonst durch Zygosporen repräsentirten Dauersporen übernehmend. In manchen Bedingungen verdicken solche Zellen ihre Membranen sehr stark (Fig. 5). Ihre Lebensfähigkeit ist jedenfalls von einer kurzen Dauer, nach zwei Monaten keimten viele von ihnen nicht mehr. Solche Zellen könnte man vielleicht mit den Gemmen der Mucorineen vergleichen, die jedoch natürlich vielkernig sind, oder mit den Chlamydosporen mancher anderen Pilze. Wenn ich das nicht thue, so geschieht es zum Theil desswegen, weil unter dem letzten Namen die heterogensten Sachen zusammengefasst sind. So z. B. die Gemmen der Mucorineen, die Dauersporen der Ustilagineen, die Aecidio-, Uredo-, Teleutosporen der Uredineen, die Stylosporen der Agaricineen und viele andere Gebilde. Es liegt mir ferne, eine Reform in dieser Beziehung durchführen zu wollen, doch erwähnen möchte ich schon hier, dass diejenigen Sporenarten, in welchen eine Kernverschmelzung stattfindet, also die Dauersporen der Ustilagineen, die Teleutosporen der Uredineen und wahrscheinlich die Dauersporen der Protomycesarten unbedingt als eine besondere Sporenformation betrachtet werden müssen. Dass eine intercalare Bildung mancher von diesen als Chlamydosporen bezeichneten Sporen gar nicht für eine Homologie mit den Chlamydomucorgemmen spricht, das beweist eine Mucorart, welche ich vor mehreren Jahren in Krakau gezogen habe, und welche neben den normalen Gemmen reichliche grosse Azygosporen (dagegen keine Zygosporen),

---

ihres Baues zeigen, wenn ihre Lebensweise einfacher wird, als die der nichtparasitären Verwandten. Sollte dagegen ein an das Leben in einer genügende Menge Nährstoffe enthaltenden Flüssigkeit angepasster Saccharomycet parasitisch im Blattgewebe einer Pflanze leben, so findet er da — im Vergleich zu seinen früheren — so complicirt gestaltete Lebens- und Ernährungsbedingungen, dass diese auch in seiner morphologischen Gestaltung eine Complicirtheit hervorbringen müssen, wenn er als Parasit thatsächlich gedeihen soll. Dieser Gedankengang macht mir plausibel, dass die Exoasceen eine Gruppe — infolge ihrer biologischen Lebensverhältnisse — complicirt gebauter Saccharomyceten sind.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0136-9

und zwar immer intercalar, in dem Verlaufe der Hyphen bildete. In einem Vortrage, den ich im November vorigen Jahres in dem Münchener botanischen Vereine über die Vermehrung und systematische Eintheilung der Pilze gehalten habe, habe ich für alle solche Pilzsporen, in welchen eine Verschmelzung zweier Kerne stattfindet und die doch nicht wie die Oosporen oder Zygosporen einem normalen Befruchtungsvorgange ihren Ursprung verdanken, den Namen Zeugite (Ζευγίτης) proponirt, und ebenso glaube ich heute, dass die Einführung eines neuen Termins hier unbedingt nöthig ist, um solche Sporen, wie die Teleutosporen oder Dauersporen der Ustilagineen, einerseits von den Chlamydosporen, andererseits von den Zygosporen (wie bei dem Basidiobolus) oder Oosporen der Peronosporeen und Saprolegnieen, mit welchen sie nicht homolog sind, zu unterscheiden. Warum die Zeugitsporen mit den befruchteten Eizellen der letzten nicht homolog sind, war schon in einer Arbeit, die G. Poirault und ich vor kurzem veröffentlicht haben, angedeutet, und ich werde darauf noch am Schlusse dieser Zusammenfassung zurückkommen, dagegen sind sie mit den Basidien der Basidiomyceten und jungen Ascen der Ascomyceten homolog, die jedoch nicht als Dauersporen functioniren.

V. Die Bildung der Zygosporen tritt bei Basidiobolus unter sonst geeigneten Umständen mit dem eintretenden Nährstoffmangel ein. Dieselben Bedingungen also, welche bei den Bacterien nach Buchner die Dauersporenbildung hervorrufen, welche bei Mucor racemosus und den verwandten Arten die Gemmenbildung verursachen, induciren bei dem Basidiobolus den geschlechtlichen Process, die Bildung der Zygosporen, welche hier zugleich Dauersporen sind.

Dabei kommen bei Basidiobolus Umstände zum Vorscheine, die zwar schon früher erkannt waren, aber meines Erachtens nicht die ihnen gebührende Würdigung erfahren haben. Eidam, welcher den Vorgängen der Befruchtung bei Basidiobolus eine besondere Aufmerksamkeit geschenkt hat, beobachtete, dass die Bildung der Zygosporen geschehe durch Copulation des ganzen plasmatischen Inhalts zweier benachbarten Zellen eines Fadens, deren Kerne zuvor eine Reductionstheilung erfahren haben. Er konnte nicht feststellen, ob die beiden jetzt in der weiblichen Zelle sich befindenden Kerne mit einander verschmelzen oder nicht, dagegen hat schon er beobachtet, dass die jungen Zygoten äusserst leicht keimen, und zwar treten dann in den Keimschlauch immer zwei Kerne ein, die sich endlich durch eine Querwand in dem Keimschlauch abgrenzen. Weitere Beobachtungen über diesen Gegenstand verdanken wir V. Chmielevsky (Matériaux

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0137-5

pour servir à la morphologie des procès sexuels chez les plantes inferieurs. Charkow 1890). Chmielevsky zeigte, dass die beiden Zellkerne eine Zeit lang in der Zygote neben einander liegen und erst spät mit einander verschmelzen. Ich habe diese Frage näher untersucht und gesehen, dass noch 12 Tage alte Zygoten, die diese Zeit in der alten Nährlösung lagen, noch zwei mehr oder weniger dicht an einander angeschmiegte, aber doch deutlich getrennte Kerne besassen. In manchen waren dieselben schon zu einem einzigen verschmolzen. Durch Austrocknen kann man den Process der Copulation der Zellkerne etwas beschleunigen; schon in drei Tagen haben manche Zygoten nur einen Kern. Wechselt man die erschöpfte alte Nährlösung, in welcher junge, dünnwandige Zygoten sind, die noch zwei separate Kerne besitzen, und ersetzt sie durch eine frische, so keimen viele der Zygoten gleich, bilden die zweikernigen Schläuche, wo ein Kern der der männlichen Geschlechtszelle, der andere der der weiblichen ist.

Wir müssen also bei dem Basidiobolus, ebenso wie bei den von Klebahn untersuchten Conjugaten, in dem Befruchtungsprocesse wenigstens zwei zeitlich weit von einander getrennte Phasen unterscheiden: erstens die Copulation des plasmatischen Inhalts zweier Zellen, zweitens die Copulation der beiden auf diese Weise in einer Zelle zusammen sich befindenden Geschlechtskerne. Und dabei haben wir zugleich gesehen, dass der zweite Vorgang, also die Copulation der Kerne, je nach äusseren Bedingungen beschleunigt oder sogar verhindert werden kann.

In dieser Beziehung steht Basidiobolus keineswegs in dem Pflanzenreiche vereinzelt da. So hat z. B. Nowakowski in seiner Monographie des Polyphagus (Denkschriften der polnischen Akademie Bd. IV, Tab. X, Fig. 93) einen Fall beobachtet und abgebildet, wo das Plasma der beiden copulirenden Zellen gleich die noch unverdickte und unfertige Zygospore verliess um ein neues Sporangium zu bilden. Auf diese Weise werden auch vielleicht die Differenzen zwischen verschiedenen Zygosporen dieses Sitzes zu deuten sein, die ebenso wie bei Basidiobolus entweder bald nach der Bildung keimfähig sind oder einer längeren Ruheperiode dazu bedürfen. Und in letzter Zeit konnte Klebs bei den Algen die Copulation der Gameten künstlich verhindern und dieselben ohne Copulation zur weiteren Entwickelung zwingen. Bei Basidiobolus ist diese Verhinderung der Kerncopulation und die vegetative weitere Entwickelung derselben in Anbetracht der der Bildung derselben vorausgegangenen Kern-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0138-0

heilung, die so lebhaft an die Reductionstheilungen des Thierreiches erinnert, besonders interessant, weil sie zeigt, dass ein männlicher oder weiblicher Kern für sich allein die vollen Eigenschaften eines normalen, vegetativen Zellkernes besitzt.

Bei Basidiobolus können also zwischen dem ersten Stadium der Befruchtung, d. i. der Copulation des Plasma der beiden Zellen, und dem Endstadium derselben, der Copulation der Zellkerne, Wochen vergehen, während bei den von Klebahn untersuchten Conjugaten beide Phasen monatelang von einander entfernt werden können. Wann tritt die eigentliche Befruchtung ein? ob erst mit der Verschmelzung der beiden Kerne, ob dieselben nicht schon früher einander beeinflussen? das sind Fragen, auf welche bei dem jetzigen Stadium der Befruchtungslehre kaum eine Antwort zu geben ist. Zur Zeit der Untersuchungen de Bary's und Tulasne's galt die Verschmelzung des plasmatischen Inhalts zweier Zellen als Befruchtung. Auf dieser Grundlage haben die beiden Mykologen, gestützt auf äusserst mühsame Untersuchungen, die Lehre von der Befruchtung der Ascomyceten entworfen, die in späteren Jahren zwar verspottet und fast vergessen war, trotzdem jedoch die Grundlage für alle späteren Untersuchungen bilden wird. Bei dem damaligen Stadium unserer Kenntnisse des Befruchtungsvorganges in dem Thier- und Pflanzenreiche war ein tieferes Verständniss der von genannten Mykologen und ihren Schülern gemachten Entdeckungen einfach unmöglich, es fehlte doch damals vollständig das Verständniss für die Bedeutung der Zellkerne während des Sexualactes. Wie bekannt, betrachtete man später eine Zeit lang die Befruchtung als eine Verschmelzung beider sexuellen Kerne, bis erst in den letzten Jahren ein Mittelweg gefunden wurde, welcher in dem Befruchtungsvorgange die Vereinigung der Kerne und entsprechender plasmatischer Theile sieht. Die Beobachtungen J. Rückert's über die Eifurchung bei Cyclops zeigen jedoch, dass die Sache doch nicht so einfach zu sein scheint, und sind andererseits geeignet auf manche Vorgänge bei den Pilzen ein neues Licht zu werfen. Rückert zeigte bekanntlich, dass von einer vollständigen Verschmelzung der beiden sexuellen Zellkerne während der Befruchtung der genannten Copepoden nicht ohne Weiteres die Rede sein kann; während jeder der mehreren succesiven Theilungen der befruchteten Eizelle waren in der karyokinetischen Figur die Elemente des männlichen und weiblichen Kernes von einander getrennt, ja auch in dem ruhenden Kerne ist in den ersten Stadien zwischen den beiden Elementen eine Scheidewand zu erkennen.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0139-9

Die Kerntheilungen der Furchungskerne bei Cyclops, welche Rückert beschrieben hat, erinnern schon an die sonderbaren karyokynetischen Bilder, welche Dr. Poirault und ich bei den Uredineen beobachteten und die wir als konjugate Kerntheilung bezeichnet haben.[1]) Während jedoch bei Cyclops die der conjugaten Kerntheilung so ähnlichen Mitosen mit der Befruchtung anfangen und vielleicht bald aufhören, finden wir solche bei den Uredineen während des ganzen vegetativen Lebens, während der Bildung der Aecidiosporen, Uredosporen, Teleutosporen. Sie fangen in dem Momente an, wo eine reife Sporidie keimt und wächst. Die junge Sporidie besitzt nur je einen Zellkern, dieser theilt sich bald und die beiden treten nun in dieses gegenseitige Verhältniss ein, welches sie zwingt immer nur auf konjugate Weise sich zu theilen, um endlich in der Zeugite mit einander zu verschmelzen. Diese Verschmelzungen der Zellkerne bei den Pilzen hat in letzten Jahren Dangeard mit Nachdruck als Befruchtung bezeichnet. Ich hoffe, dass die Forschungen der nächsten Zeit in dieser Hinsicht Klarheit verschaffen werden; nach meinem jetzigen Dafürhalten könnten sie nur mit dem letzten Stadium der Befruchtung bei Basidiobolus verglichen werden. Es scheint, dass zwischen die schon bei unserem Pilz und bei den Conjugaten von einander soweit zeitlich getrennte zwei Phasen der Befruchtung, die Verschmelzung des Plasma und die Verschmelzung der Kerne, noch eine längere oder kürzere Entwickelungsperiode des Pilzes eingeschoben wird, die Ascogonentwickelung bei manchen Ascomyceten, die ganze Entwickelung eines Rostpilzes von der Keimung der Sporidie bis zur Bildung der Zeugite.

Jedenfalls bezeichnet die Bildung einer Zeugite, mag es Dauerspore sein, wie bei den meisten Uredineen und Ustilagineen, oder keine Dauerspore, wie bei den Tremellineen, Basidiomyceten oder Ascomyceten, den Anfang einer neuen Generation, und zwar der Sporocarpgeneration. Dieser Sporocarp ist bei den Ascomyceten ein Ascus, bei den Basidiomyceten und Tremellineen eine Basidie. Auf diese Weise sind wir, und zwar auf grossen Umwegen, genau auf den Pfad gekommen, den der geniale de Bary in seiner vergleichenden Morphologie der Pilze, Capitel IV, 128 sq. betreten hat, und die Mykologie der Zukunft muss wieder an den Ideengang anknüpfen, den de Bary in dem eben citirten Werke so geistreich entrollte.

1) G. Poirault et M. Raciborski, Sur les noyaux des Urédinées, Journal de Botanique 1895, cfr. auch Biologisches Centralblatt 1896 Nr. 1.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05162-0140-0

# ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung

Jahr/Year: 1896

Band/Volume: 82

Autor(en)/Author(s): Raciborski Marian

Artikel/Article: Ueber den Einfluss äusserer Bedingungen auf die Wachsthumsweise des Basidiobolus ranarum. 107-132