

Einige Beobachtungen an *Ancylistes Closterii* Pfitzer.

Von Karl Höfler (Wien).

Mit 4 Textfiguren.

Ancylistes Closterii ist ein Phycomycet aus der ziemlich isoliert stehenden Familie der *Ancylistidaceae*, die früher zu den *Chytridiales* gezählt wurde, jetzt zu den *Oomycetes* gestellt wird¹⁾. Der Pilz lebt in verschiedenen Arten der Desmidiaceen-Gattung *Closterium* und erscheint auf diese Gattung streng spezialisiert.

Ich hatte reichliches Material von *Ancylistes* in einer Algenprobe zur Verfügung, die ich am 14. VIII. 1947 bei Hackenbuch im Ibmer Moor in Oberösterreich gesammelt hatte. Wirtspflanze war hier *Closterium lunula* (Müll.) Nitzsch. Diese grosse, für zellphysiologische Studien vorzüglich geeignete Art war in einem jungen Moorstich mit leicht verschmutztem Wasser reichlich entwickelt; da im selben Gewässer auch eine dichtbänderige *Spirogyra* sowie *Scenedesmus denticulatus* Langerh. auftrat, die in den benachbarten, sonst gleichen algenbesiedelten Stichen fehlten, so dürfte der etwas reichere Nährstoffgehalt auch dem *Closterium lunula* zur Dominanz verholfen haben. Die Algenprobe war bis zu Anfang September in Salzburg im Freien an einem Bächlein kühl kultiviert und am 4. Sept. nach Wien gebracht worden. Bei warmem Spätsommerwetter vermehrte sich der Pilz hier rasch, der nun einigen Schaden unter meinen Algen anrichtete, aber nur *Closterium lunula* infizierte, die übrigen Desmidiaceen und Zygnetaceen der Probe niemals befiel, womit die Beobachtung früherer Autoren nur bestätigt wird.

Wir verdanken E. Pfitzer (1872) die grundlegende Arbeit, welche nicht nur die erste Beschreibung von *Ancylistes Closterii*, sondern auch eine Reihe wichtiger und historisch bemerkenswerter Beobachtungen sowohl zur Physiologie des Parasiten als des Wirtes enthält. Die Arbeit wird im neueren allgemein botanischen Schrifttum — Küster (1935) ausgenommen — so selten zitiert, dass sie die Hervorholung wohl verdient. Dies umso mehr, da wir aus einer Fussnote erfahren, dass Pfitzer's Lehrer Johannes von Han-

1) Fitzpatrick stellt die *Ancylistaceae* in seinem Werke über die niederen Pilze (The lower Fungi 1930, p. 118) als einzige Familie in die Ordnung der *Ancylistales*.

stein, einer der Klassiker der ersten Blütezeit der deutschen Protoplasmaforschung, an der Untersuchung persönlich beteiligt war. Wirtsalge des Pilzes war *Closterium acerosum* Ehrbg. — Pfitzer übertrug im Herbst reichliches Material dieser Zieralge, welches zum Teil durch den Parasiten getötet zu sein schien und septierte Schläuche mit angeschwollenen Zellen und Sporen enthielt, in ein flaches Wasserbecken des Bonner botanischen Gartens; hier traten dann schon im Feber und März die Closterien in Menge auf. Bald erfolgte die Infektion der jugendlichen Zellen, die aber in der ersten Zeit grün blieben und bei schwacher Vergrößerung von gesunden Zellen kaum zu unterscheiden waren. Doch waren die Algenzellen von sehr zarten, zylindrischen Schläuchen von etwa $10\ \mu$ Dicke durchzogen. Diese liessen bei Einwirkung plasmolysierender Mittel noch keine Membranabhebung erkennen. Oft enthielt ein befallenes *Closterium* mehrere (3—8) Individuen des schmarotzenden Pilzes, ohne dass es noch wesentlich zu leiden schien. Die Closterien behielten ihre grüne Farbe, ihre Beweglichkeit und phototaktische Reaktionsfähigkeit und zeigten die gewohnte lebhaftige Strömung in der der Zellenmembran anliegenden Plasmaschicht. Die jungen *Ancylistes*-Schläuche blieben anfangs auf die plasmaerfüllten Rinnen lokalisiert, die zwischen den Längsleisten der im Querschnitt sternförmigen Plastiden von *Cl. acerosum* freibleiben. Der Tod der Zellen der Wirtsalge trat erst im folgenden Entwicklungsstadium ein, in welchem die Schläuche des Pilzes septiert, d. h. in Zellen gegliedert waren und jede Pilzzelle einen Fortsatz senkrecht nach der Zellwand des Wirtes trieb; diese kurzen Fortsätze pressten sich der Wand fest an, durchbohrten sodann die Wandstelle, der sie anlagen, mit einer runden Öffnung und traten als Papillen hervor. Sie wachsen dann zu langen, etwa $5\ \mu$ dicken Schläuchen aus, in welche das Plasma des Pilzes nach und nach übergeht. Pfitzer's Abbildung 1 (bei A. Fischer 1892, S. 83 wiedergegeben) zeigt, wie diese Schläuche nun im Rasen der gesellig lebenden Algen den Weg nach gesunden *Closterium*-Zellen hin finden. Wenn sie deren Membran berühren, so schwillt die Hyphenspitze, in die das Plasma einwandert, an, heftet sich fest und umschlingt das *Closterium* mit einer meist schiefen Windung. „Der Schmarotzer beginnt dann ein Loch in die Membran zu bohren, und es ist hervorzuheben, dass schon vor deren Durchbrechung sich im Inneren der befallenen Zelle Störungen zeigen.“ Die grünen Plastidenplatten des Closteriums treten ein Stück von der Wand zurück — es handelt sich wohl um Plastidenkontraktion im heutigen Sinn — die Plasmaströmung wird unregelmäßig, „indem sich das Plasma wiederholt an der Angriff genommenen Stelle hügelartig anhäuft, um schnell wieder abzufließen. Findet die Umwindung nahe den Enden statt, so wird

wohl auch die Plasmawandung der endständigen Vakuole zerrissen, ihr Wasser vermischt sich mit dem des übrigen Zellraumes und die bekannten „tanzenden“ Körner werden vom Plasmastrom fortgeführt.“ Wenn nachher der Pilz in die Algenzelle eindringt, erscheint er zunächst als membranlose Plasmamasse, die sich schon nach wenigen Stunden parallel der Zellachse verlängert und in einigen Tagen zu dem schlank zylindrischen Körper heranwächst. —

In meinem spätsommerlichen Material fanden sich meist die Entwicklungsstadien des Pilzes, wo septierte Hyphen den grössten Teil der nekrotischen oder schon getöteten Zellen von *Closterium lunula* erfüllen. Die einzelnen Zellen des Pilzes scheinen in dieser Phase physiologisch voneinander isoliert zu sein. Wenn ich das Material in Traubenzuckerlösung von 0,8 mol plasmolyse und einige Stunden in feuchter Kammer belies, so erhielt ich in vielen *Ancylistes*-Zellen eine prächtige konvexe Plasmolyse vom in Fig. 4 dargestelltem Grad, also keine Haftpunkte („negative Plasmolyseorte“) in der Mitte der Querwände, wie sie sich sonst bei gegliederten Pilzhypen so oft finden. Die Zellen meiner Versuchsalge *Cl. lunula* sind grösser als die von *Cl. acerosum* und beherbergen nicht (Pfitzer, S. 382) 6 bis 30 sondern oft wesentlich mehr Zellen des Parasiten. Das Auswachsen der Zellen zu Schläuchen konnte ich im mikroskopischen Präparat gut beobachten. Es fiel mir dabei auf, dass diese, wenn sie die *Closterium*-Zellwand von innen erreicht haben, sich nicht daran abplatteln, sondern wie es scheint, fast widerstandslos hindurch zu wachsen vermögen. Offenbar erfolgt eine so starke Ausscheidung zelluloselösenden Enzyms in den Hyphenspitzen, dass die Membran dadurch unmittelbar aufgelöst wird. Ich habe seinerzeit nachweisen können (Höfler, 1926, S. 119, 125, 147), dass die Zellwand von *Closterium lunula* stets frei von der Eiseneinlagerung bleibt, die ja für die Membranen der meisten anderen *Closterium*-Arten so kennzeichnend ist. Vielleicht hängt damit die besonders leichte Wegsamkeit der *lunula*-Wandung für die Hyphen von *Ancylistes* zusammen.

Bevorzugtes Interesse bot mir das Verhalten der Pilzschläuche im vitalgefärbten Material. Ich war zur Zeit der hier mitgeteilten Beobachtungen mit einer Versuchsreihe beschäftigt, die die Wirkung des basischen Oxazin-Farbstoffes Prune pure auf *Cl. lunula* zum Gegenstand hat. Prune pure ist ein guter Vitalfarbstoff (vgl. Küster 1933, Schönleber 1936), der bei schwach saurer und neutraler Reaktion (bei pH 3,5—9) zur Gänze in molekularer, lipoidlöslicher und permeierfähiger Form vorhanden ist (Drawert 1938, S. 191). Seine Wirkung auf intakte, nicht pilzbefallene *lunula*-Zellen ist eine sehr starke. Er veranlasst eine höchst auffallende Kontraktion der grossen grünen Plastiden, die aber vital-

reversiblen Charakter hat, bei der auch die Strömung der wandständigen Plasmaschicht unvermindert anhält; es soll davon an anderer Stelle die Rede sein. — Die Pilzzellen werden nun vom Prune pure-Farbstoff, der zweifellos auch in sie eindringt, nicht tangiert. Ja ich

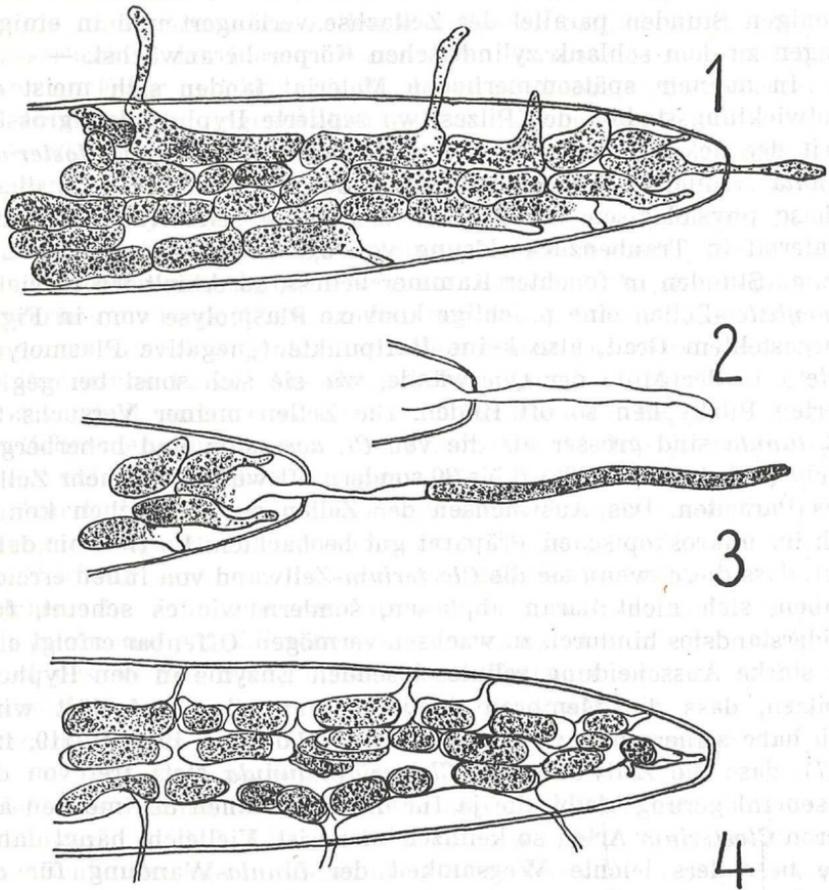


Fig. 1—3. *Ancylistes Closterii* in *Closterium lunula*. — Wachstum der Hyphen nach Vitalfärbung mit Prune pure 1 : 10.000. 1. um 15.25 Uhr, 2. um 16.25 Uhr, 3. um 19.30 Uhr, vgl. Text.

Fig. 4. *Ancylistes*, in 0,8 mol Traubenzucker plasmolysiert. — Die Plastidenreste sind in den Zeichnungen weggelassen.

sah zu meinem Erstaunen, dass auch das Wachsen der mit dem Vitalfarbstoff behandelten *Ancylistes*-Schläuche seinen Fortgang nimmt. In einem Versuch vom 18. IX. war das *Closterium*-Material um 13 Uhr 30 in eine frisch bereitete Prune pure-Lösung 1 : 10.000 übertragen und von der fünften Minute an beobachtet worden. In den gesunden *lunula*-Zellen trat stärkste Plastidenkontraktion ein.

Das Präparat wurde dann in feuchter Kammer aufbewahrt. Von 15 Uhr 30 bis 16 Uhr 35 wurde das Auswachsen der Schläuche verfolgt (Fig. 1). Wie rasch dieses Wachstum bei *Ancylistes* vor sich gehen kann, hat schon Pfitzer festgestellt, der wohl als erster ein reines Spitzenwachstum der Pilzhypen wissenschaftlich beschrieben hat. Das Protoplasma selbst wandert in der Fadenspitze aktiv vorwärts und verschliesst den Weg hinter sich durch abgechiedene Querwände, welche die fast inhaltsleeren hinteren Zellen von der plasmareichen Scheitelzelle trennen (vgl. Raciborski's spätere Schilderung des Schrittwachstums bei *Basiliobolus ranarum*). Pfitzer mass die Wachstumsgeschwindigkeit der *Ancylistes*-Hypen bis zu 9—14 μ pro Minute, was das rascheste bis dahin bekannte Wachstum für hautumhüllte Zellen bedeutete.

Ich stellte fest, dass das Pilzplasma gegen Vitalfärbung mit Prune pure so widerstandsfähig ist, dass es sein rasches Wachstum, welches zweifellos eine aktive Leistung des Protoplasmas darstellt, fortsetzt (Fig. 2). Als das Präparat um 19 Uhr 30, also 6 Stunden nach dem Beginn der Farbeinwirkung revidiert wurde, hatte ein am Zellpol ausgewachsener Schlauch eine von Plasma dicht erfüllte Endzelle abgegliedert (Fig. 3). Muss auch damit gerechnet werden, dass der Prune pure-Farbstoff von anderen lebenden Zellen im Präparat und vom Detritus im Laufe der Stunden zum Hauptteil weggespeichert worden war, so beweist der Versuch doch zumindest, dass die vorangegangene Farbeinwirkung das in den folgenden Stunden beobachtete aktive Wachstum nicht verhindert hat. Damit erscheint aber das Protoplasma unseres Pilzes als hervorragend resistent gegenüber einem ins Zelleninnere eindringenden und für die Plasmen anderer Zellsorten keineswegs unschädlichen Farbstoffes.

Die Beobachtung reiht sich dem Befund von Guilliermond (1941, S. 132) an. Dieser Forscher hat u. a. festgestellt, dass *Saprolegnia* in Kulturmedien noch zu wachsen vermag, welche 0,0005 bis 0,02% der leicht giftigen Farbstoffe Bismarckbraun und Methylenblau enthalten. Becker (1936) stellt das Schrittwachstum von *Basidiobolus*-Zellen, die mit dem unschädlichen Farbstoff Neutralrot vorgefärbt waren, in guten Photos dar. —

Einer Anregung Küster's folgend, sei hier weiter die Frage nach dem Lebensort der Pilzhypen innerhalb der Algenzelle berührt. Nach Küster (1935, S. 606) scheinen intrazellulär lebende Parasiten in vielen Fällen im Protoplasma ihre Wirtszellen, seltener in Zellsäften sich aufzuhalten, wie der Flagellat *Leptomonas* im Milchsaft von *Euphorbia*; ein parasitärer Organismus, *Caryococcus hypertrophicus*, siedelte im Zellkern von Euglenen, in welchen er Schwellungen hervorruft, die als Caryophysem (P. A. Dangeard) beschrieben worden sind. „Über Plastiden-Parasiten“, sagt Küster,

„scheint nichts bekannt zu sein.“ — Meine Versuchsalge *Closterium lunula* besitzt in jeder Zellhälfte einen besonders mächtigen, axial gelagerten Chloroplasten mit längs verlaufenden Flügeln. Die Plastiden nehmen den grössten Teil vom Innenraum der Zelle ein. Würde man Plastiden-Plasma-Relationen berechnen, etwa so wie Kern-Plasma-Relationen ausführlich ermittelt worden sind, so stünde *Closterium lunula* unter den Conjugaten wohl mit an der Spitze. Ich habe nun vielfach gesehen, wie die reifen, septierten *Ancylistes*-Schläuche innerhalb der Plastiden der Wirtszellen entwickelt waren. Auch wo die Schläuche vorzüglich (ähnlich wie Pfitzer für sein befallenes *Cl. acerosum* angibt) in den Rinnen zwischen den Längsleisten der Plastiden wachsen, sind sie bei meinem *Cl. lunula* nicht etwa der Wandschicht, sondern stets den Plastiden enge angepresst und ziehen zweifellos vornehmlich aus ihnen ihre Nahrung.

In einem Punkt glaube ich Pfitzer richtigstellen zu müssen. Es soll nach ihm (1872, S. 393, vgl. Küster 1935, S. 313) eine Mumifikation toter Plastiden eintreten, welche, nachdem *Ancylistes* die *Closterium*-Zelle getötet hat, zu einer zuerst trüb dunkelgrünen und dann lederbraunen Masse innerhalb weniger Stunden zusammensinken. Pfitzer glaubt nun, dass es nur die von ihm entdeckte geschlechtliche Generation von *Ancylistes* ist, die, in den Ruhezustand übergehend, noch alles irgend Assimilierbare an sich reisst und dadurch die Mumifizierung bewirkt, wogegen bei der durch die vegetativen Formen des Pilzes bewirkten Tötung keine Verfärbung der grünen Algenchloroplasten eintreten soll. — Pfitzer's Versuchspflanze war *Cl. acerosum*. Bei meinem pilzbefallenen Material von *Cl. lunula* habe ich hingegen so viel Zellen mit gebräunten, eingeschnurrten Plastiden und dabei noch lebenden septierten *Ancylistes*-Fäden gesehen, deren Zellglieder sich auch zu Hyphen auszuwachsen anschickten, dass für meine Alge die Bräunung und Schrumpfung der Plastiden auch durch die vegetative Form des Pilzes wohl feststeht. Es mag sich doch vielleicht bei Pfitzer um eine Zufallsbeobachtung gehandelt haben, indem er etwa jugendliche, von der vegetativen Pilzform befallene, und alternde, von der Geschlechtsform getötete Algenzellen verglichen hat.

Im Protokoll eines Versuches vom 21. IX. 1947 finde ich folgende Beobachtung vermerkt. Aus einer von *Ancylistes* erfüllten *lunula*-Zelle wachsen die Pilzhypen aus, der nekrotische Chloroplast ist noch grün gefärbt. Aus dem absterbenden Plastiden treten grosse sattgrüne Kugeln und am anderen Zellpol retortenartig geformte grüne Massen aus, die durchaus den Myelinfiguren und Sphärolithen gleichen, wie sie Weber (1933) aus *Spirogyra*-Chloroplasten unter der Einwirkung von 1—2% Na-Oleatlösung austreten

sah und wie Menke (1934) sie auch an anderen Plastiden mit anderen Reagentien wiedererhielt. Die Sphärolithe werden nach Weber unter Beteiligung der lipoiden Phase des Chloroplasten gebildet; sie zeigen im polarisierten Licht deutliche Doppelbrechung, d. h. dunkle Auslöschungskreuze. Die von mir beobachteten grünen Massen sind unter dem Einfluss der Wunde, welche die auswachsenden Schläuche den Plastiden beigebracht haben, aus diesen ausgetreten. Sie stellen wohl das erste natürliche Vorkommen solcher Plastiden-Sphärolithe dar.

Infektionsversuche mit *Ancylistes*, die ich geplant hatte, stehen noch aus. Ich konnte im Frühjahr 1948, als ich noch überwintertes Ibmer Pilzmaterial besass, in der Wiener Umgebung kein *Closterium lunula* beschaffen, und als ich solches im Sommer 1949 in der steirischen Ramsau aus dortigen, 1100—1200 m hoch gelegenen Hochmooren und von alpinen Standorten aus den Niederen Tauern reichlich zur Verfügung hatte, fand sich der Pilz dort nirgends wieder. Sollten andere Botaniker glücklicher sein und gleichzeitig über *Ancylistes* und artenreiche Closterienproben verfügen, so sei die Aufmerksamkeit auf die Frage gelenkt, ob Closterien-Arten mit eisenfreier oder -armer Zellwand für den Befall mit *Ancylistes* etwa anfälliger sind als die mit eisengepanzerten Zellmembranen versehenen Arten. Wär dies der Fall, so liesse sich daraus vielleicht, mit entsprechender Zurückhaltung, auf eine biologische Schutzfunktion der Eiseninkrustierung schliessen.

Literatur.

- Becker, W. A., 1937: Über die Entstehung der Vernarbungsmembranen. *Protoplasma* **27**, 341.
- Dangeard, P. A., 1902: Sur le caryophyseme des Eugleniens (C. R. Acad. Sc. Paris **134**, 1365).
- Drawert, H., 1938: Über die Aufnahme und Speicherung von Prune pure durch die pflanzliche Zelle. *Planta* **29**, 179.
- Fischer, A., 1892: *Phycomycetes*, in Rabenhorsts Kryptogamenflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz, II. Aufl., Bd. I, Pilze, IV. Abt.
- Guilliermond, A.—Atkinson, L. R., 1941: The Cytoplasm of the plant cell. Waltham, Mass., U.S.A.
- Höfler, K., 1926: Über Eisengehalt und lokale Eisenspeicherung in der Zellwand der Desmidiaceen. Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl., Abt. I, **135**, 103.
- Küster, E., 1933: Über Färbung lebenden Protoplasmas von Pflanzenzellen mit Prune pure. *Zeitschr. wiss. Mikrosk.* **50**, 409.
- 1935: Die Pflanzenzelle. G. Fischer, Jena.
- Menke, W., 1934: Chloroplastenstudien I. *Protoplasma* **21**, 279.

- Pfitzer, E., 1872: Ein neuer Algenparasit aus der Ordnung der Phycornyceten. Monatsber. Akad. d. Wissenschaften zu Berlin. Aus d. Jahre 1872, S. 379.
- Raciborski, M., 1907: Über Schrittwachstum der Zelle. Bull. Acad. Sc. Cracovie, Cl. math.-nat., S. 898.
- Reinhardt, M. O., 1892: Das Wachstum der Pilzhypphen. Ein Beitrag zur Kenntnis des Flächenwachstums vegetabilischer Zellmembranen. Jahrb. f. wiss. Bot. **23**, 479.
- Schönleber, K., 1936: Über Prune pure und seine Verwendung als Protoplasma-Vitalfärbemittel. Zeitschr. wiss. Mikrosk. **53**, 303.
- Weber, F., 1933: Myelinfiguren und Sphärolithe aus *Spirogyra*-Chloroplasten. Protoplasma **19**, 455.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Sydowia](#)

Jahr/Year: 1950

Band/Volume: [4](#)

Autor(en)/Author(s): Höfler Karl

Artikel/Article: [Einige Beobachtungen an Ancylistes Closterii Pfitzer. 381-388](#)