

Der Regensburgischen Botanischen Gesellschaft
zum 200. Geburtstag

Ein Beitrag zur Systematik und Entwicklungsbiologie Höherer Pilze: Hefe-Typen der Basidiomyceten

Teil I: Schizosaccharomycetales, Protomyces-Typ

H. PRILLINGER¹, CH. DÖRFLER², G. LAASER³,
B. ECKERLEIN⁴, L. LEHLE⁵

¹ Raiffeisen Bioforschung, Reitherstraße 21–23, A-3430 Tulln, N.Ö.

² Birkenstraße 3, D-8051 Kranzberg

³ Dachstraße 20, D-8000 München 60

⁴ Baumgarten 14, D-3550 Marburg/Schröck

⁵ Lehrstuhl für Zellbiologie und Pflanzenphysiologie,
Universität Regensburg, D-8400 Regensburg

Eingegangen am 31.1.1990

Prillinger, H., Dörfler, Ch., Laaser, G., Eckerlein, B. & L. Lehle (1990) - A contribution to the systematics and evolution of higher fungi: Yeast-types in the Basidiomycetes. Part I: *Schizosaccharomycetales*, Protomyces-type. *Z. Mykol.* 56 (2): 219–250.

Key Words: Ascomycetous yeasts, *Schizosaccharomycetales*, *Protomycetaceae*, *Taphrinaceae*, basidiomycetous yeasts, Basidiomycetes, Heterobasidiomycetes, meiosporangium evolution, cell wall carbohydrate pattern, extracellular amyloid compounds, diazonium blue B-test, urease-activity, ubiquinone system, simple holobasidia.

Abstract: In this and three following papers 205 yeasts and yeast states of Basidiomycetes and presumed relatives were investigated comparatively on the basis of the carbohydrate (neutral sugars) pattern of purified cell walls, urease-activity, diazonium blue B reaction, the production of extracellular amyloid compounds (EAS), fermentation of carbohydrates, and ubiquinone data. A clustering leading to the Protomyces-, the Microbotryum-, the Ustilago-, the Dacrymyces-, and the Tremella-type became apparent. The different yeast types correspond well with 5S rRNA clusters known from the literature. The Protomyces-type comprises all the investigated *Protomyces* (4) and *Taphrina* (33) strains. A significant amount of rhamnose in all yeast cell walls analysed differentiates the Protomyces-type from the Microbotryum-, Ustilago-, Dacrymyces-, and Tremella-type. Predominant quantities of glucose, moderate amounts of mannose and small percentages of galactose are some further characteristics of the cell walls from yeasts of *Protomyces* and *Taphrina* strains. Members of the Protomyces-type exhibit affinities to both the Ascomycetes and the Basidiomycetes. A two layered cell wall (TEM) and a negative DBB-reaction are common with all ascomycetous yeasts. On the other hand the presence of urease, production of extracellular amyloid compounds, and the primary- and secondary-structure of 5S rRNA reflect a relationship closer to the Basidiomycetes than to the Ascomycetes. The ancient character of the Protomyces-type is indicated by the host spectra of the investigated *Protomyces* and *Taphrina* strains (*Protomyces*: *Apiaceae* (2), *Cichoriaceae* (2); *Taphrina*: *Polypodiaceae* (2), *Betulaceae* (9), *Fagaceae* (1), *Salicaceae* (3), *Ulmaceae* (1), *Rosaceae* (6), *Aceraceae* (2), *Anacardiaceae* (1)). Interestingly *Taphrina* isolates from ferns exhibit a remarkable variability. E.g. cell walls of *T. vestergrenii* (from *Dryop-*

teris) contain significant amounts of fucose, a cell wall sugar which differentiates the *Microbotryum*-type from the other types. To clarify the relationship of *Protomyces* and *Taphrina* to the *Endomycetales*, 21 strains of different ascomycetous yeast genera – predominantly type strains – have been included in this investigation. Surprisingly the qualitative cell wall carbohydrate pattern of these genera displayed a remarkable homogeneity. Two groups could be detected: group 1 contains only mannose and glucose and is characteristic for: *Kloeckera apiculata*, *Kluyveromyces polysporus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Torulaspora delbrueckii*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Ambrosiozyma monospora*, *Arthroascus javanensis*, *Citeromyces matritensis*, *Pachysolen tannophilus*, *Dekkera bruxellensis*, *Eeniella nana*, *Lodderomyces elongisporus*, *Metschnikowia reukaufii*, *Schwanniomyces occidentalis*, *Wickerhamia fluorescens*, and *Wingea robertsiae*. Significant quantities of galactose beside mannose and glucose are characteristic for group 2: *Wickerhamiella domercqiae*, *Octosporomyces octosporus*, *Lipomyces starkeyi*, and *Schizosaccharomyces pombe*. Molecular and biochemical data (cell wall carbohydrate, 5S rRNA, ubiquinone (Q-9, Q-10), urease activity) were used to place the *Schizosaccharomycetales*, the *Protomycetales*, and *Taphrinaceae* within the phylogenetic vicinity of the *Basidiomycetes* (e.g. genera of the *Microbotryum*-type) on the one hand and fruiting bodies forming *Ascomycetes* (e.g. *Ophiostoma* species) on the other hand. According to the close relationship between *Protomyces* and *Taphrina* as indicated by cell wall analysis and 5S rRNA sequence data, the ascus of *Taphrina* is regarded as a „siphonal“ germination stage of a chlamydospore. This "siphonal" germ tube acts as a meiosporangium, where an evolution from an indeterminated number of meiotic nuclei in the case of *Protomyces* (polykaryotic) to a single meiotic nucleus represented by the *Taphrina* species becomes obvious.

Zusammenfassung: An 205 Hefen und Hefe-Stadien von Basidiomyceten und diesen nahestehenden Organismen wurden die folgenden Merkmale untersucht: a) qualitatives und quantitatives Neutralzuckerspektrum gereinigter Hefe-Zellwände; b) Urease-Aktivität; c) Diazonium-Blau B-Test; d) Bildung von extrazellulären amyloiden Substanzen (EAS); e) Fermentation von Kohlenhydraten; f) Ubichinon-Spektrum. Aufgrund der dabei erzielten Ergebnisse lassen sich die untersuchten Hefe-Stämme fünf Hefe-Typen zuordnen. Im einzelnen sind dies: 1. *Protomyces*-Typ, 2. *Microbotryum*-Typ, 3. *Ustilago*-Typ, 4. *Dacrymyces*-Typ und 5. *Tremella*-Typ. Diese Einteilung in Hefe-Typen, überwiegend aufgrund des qualitativen und quantitativen Neutralzuckerspektrums von gereinigten Hefezellwänden (kokkales Einzellerstadium), korreliert sehr gut mit den bisher bekannt gewordenen Sequenz-Clustern der 5S rRNS.

Im *Protomyces*-Typ finden sich bisher 4 *Protomyces*- und 33 *Taphrina*-Hefe Isolate. Für diesen Typ sind charakteristisch: Ein signifikanter Rhamnosegehalt in den Hefezellwänden (Rhamnose: Differenzierungszucker gegenüber *Microbotryum*-, *Ustilago*-, *Dacrymyces*- und *Tremella*-Typ); im quantitativen Zellwandzuckerspektrum dominiert Glukose gefolgt von wechselnden Mengen an Mannose und Rhamnose sowie geringeren Anteilen an Galaktose. Vertreter des *Protomyces*-Typ weisen sowohl Beziehungen zu *Ascomyceten* als auch *Basidiomyceten* auf. Zugunsten einer *Ascomyceten*verwandtschaft sprechen der negative DBB-Test und eine im Elektronenmikroskop zweischichtige Zellwand. Ein positiver Urease-Test, die Bildung extrazellulärer amyloider Substanzen sowie die Primär- und Sekundärstruktur der 5S rRNS deuten andererseits auf eine nähere Beziehungen zu den *Basidiomyceten* hin. Der phylogenetisch ursprüngliche Charakter der *Protomyces*- und *Taphrina*-Hefen wird aus dem breiten Wirtsspektrum, welches die Farnpflanzen miteinschließt, ersichtlich (*Osmundaceae*: Fossilien aus dem Oberkarbon ca. 300 Millionen Jahre alt). Bisher wurden Vertreter von folgenden Wirtsfamilien untersucht: *Protomyces*: *Apiaceae* 2, *Cichoriaceae* 2; *Taphrina*: *Polypodiaceae* 2, *Betulaceae* 9, *Fagaceae* 1, *Salicaceae* 3, *Ulmaceae* 1, *Rosaceae* 6, *Aceraceae* 2, *Anacardiaceae* 1. Eine größere Variabilität fiel bei den beiden *Taphrina*-Isolaten von Farnen auf. Die Hefezellwände von *T. vestergrenii* (auf *Dryopteris*) enthielten neben den bereits genannten Zuckern auch beträchtliche Mengen an Fucose. Dieser Zucker erwies sich für den *Microbotryum*-Typ als charakteristisch.

Um verwandtschaftliche Beziehungen der *Protomyces*- und *Taphrina*-Arten zu den *Endomycetales* (*Ascomyceten*-Hefen) besser abschätzen zu können, wurden 21 verschiedene *Ascomyceten*-Hefe Gattungen – überwiegend Typus-Stämme – in die Untersuchungen miteinbezogen. Die bisher analysierten 21 *Ascomyceten*-Hefe Gattungen erwiesen sich in ihrem qualitativen und quantitativen Zellwand-Neutralzuckerspektrum als auffallend einheitlich. Es ließen sich bisher zwei Gruppen charakterisieren. In der ersten finden sich *Ascomyceten*-Hefen, welche ausschließlich Mannose und Glukose enthalten. Untersucht wurden: *Kloeckera apiculata*, *Kluyveromyces polysporus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Torulaspora delbrueckii*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Ambrosiozyma monospora*, *Arthroascus javanensis*, *Citeromyces matritensis*, *Pachysolen tannophilus*, *Dekkera bruxellensis*, *Eeniella nana*, *Lodderomyces elongisporus*, *Metschnikowia reukaufii*, *Schwanniomyces occidentalis*, *Wickerhamia fluorescens* und *Wingea robertsiae*. In einer zweiten Gruppe findet man neben Mannose und Glukose auch deutliche Mengen an Galaktose. Diese Zellwandzucker sind charakteristisch für: *Lipomyces starkeyi*, *Octosporomyces octosporus*, *Schizosaccharomyces pombe* und *Wickerhamiella domercqiae*.

Molekulare und biochemische Daten (Zellwandzucker, 5S rRNS-Sequenz, Ubichinonspektrum (Q-9, Q-10), Urease-Aktivität) ermöglichen es, die *Schizosaccharomycetaceae* sowie die *Protomycetaceae* und *Taphrinaceae* in den Verwandtschaftsbereich der Basidiomyceten (Vertreter des *Microbotryum*-Typs) einerseits und von Fruchtkörper bildenden Ascomyceten (z. B. *Ophiostomaceae*) andererseits zu stellen. Aufgrund der durch molekulare Merkmale (Zellwandzucker, Ubichinon-Spektrum, EAS-Bildung, 5S rRNS Primär- und Sekundärstruktur) dokumentierten nahen Verwandtschaft von *Protomyces* und *Taphrina* wird der Ascus der *Taphrina*-Arten als ein siphonales Keimstadium von Chlamydosporen, in dem meiotische Endosporen gebildet werden, interpretiert. Diesem siphonalen Keimstadium kommt die Funktion eines Meiosporangiums zu, wobei eine Höherentwicklung von einer unfixierten Zahl von Meiose-kernen (Polykaryon: *Protomyces*) zu einem fixiert einkernigen Meiosporangium (*Taphrina*) offenkundig wird.

Im Verlauf der vergangenen Jahre wurde von uns eine größere Anzahl von Hefen aus Fruchtkörpern von verschiedenen Homobasidiomyceten isoliert. Unser Bestreben, diese Hefen oder Hefe-Stadien den entsprechenden höheren Pilzen aus denen sie isoliert wurden, zuzuordnen, erwies sich bisher nur bei *Collybia* als erfolgreich (Prillinger 1988, Prillinger & al. 1989). Für eine größere Zahl weiterer Hefe-Isolate aus Homobasidiomyceten ließen sich nahe verwandtschaftliche Beziehungen zu verschiedenen Gruppen der Heterobasidiomyceten nachweisen („tremelloide“ Hefen aus den Blätterpilzen *Asterophora lycoperdoides* und *A. parasitica*; „ustilaginoide“ Hefen aus den Blätterpilzen *Delicatula integrella*, *Lentinus crinitus* und *Marasmiellus ramealis* bzw. den Porlingen *Ganoderma* cf. *adpersum* und *Polyporus lepideus*). Durch DNS-Klonierungs- und heterologe und homologe DNS-Hybridisierungs-Experimente gelang bei den Hefe-Isolaten von *Ganoderma*, *Marasmiellus* und *Polyporus* eine eindeutige Zuordnung zu dem Heterobasidiomycet *Ustilago maydis*. Dies ließ sich auch durch entsprechende Kreuzungsexperimente mit pflanzenpathogenen Isolaten bestätigen (Prillinger & al. 1989).

Die Existenz von Homobasidiomyceten-Hefen, sowie das häufig sehr spezifische Vorkommen von Hefe-Stadien der Heterobasidiomyceten in höheren Pilzen ließ den Entschluß reifen, eine umfassendere Zahl von Basidiomyceten auf der "kokkalen" Einzellerstufe, welche der Hefestufe entspricht, vergleichend zu untersuchen. Der zunächst aufgrund von Studien zur Ontogenese postulierte, phylogenetisch ursprüngliche Charakter dieser morphologischen Organisationsstufe (Oberwinkler 1977, 1978), hat sich in den folgenden Jahren durch eine größere Zahl weiterer Merkmale bestätigen lassen (Bandoni 1984a, Gottschalk & Blanz 1985, Oberwinkler 1985, 1988, Prillinger 1987, Smith 1989). Inwieweit sich das Hefestadium von Zygo-, Asco- und Basidiomyceten auf der kokkalen Einzellerstufe auf derbwandig kokkale Stadien mit Dauersporenfunktion von überwiegend plasmodialen Organismen zurückführen läßt, wird in einem späteren Abschnitt kurz diskutiert (vgl. rhizopodiale Organisationsstufe: Prillinger 1987). Vergleichende Untersuchungen an Hefezellwandproteinen von vegetativen Hefezellen und Ascosporen bei *Saccharomyces cerevisiae* von Briza & al. (1990) weisen deutlich darauf hin, daß die Zellwand der Ascosporen phylogenetisch ursprünglicher ist. Nur für letztere ließen sich dem Peptidoglykan der Prokaryonten ähnliche Aminosäuren (D-Alanin, D-Glutaminsäure) nachweisen. Der Begriff Ascosporen ist nach Breitenbach (pers. Mitteilung) bei Hefen deshalb nur mit Vorbehalt zu gebrauchen. Der neutralere Begriff Endosporen mit meiotischer oder mitotischer Funktion scheint zur Zeit sinnvoller.

Über das kokkale Einzellerstadium wird es zudem möglich, Basidiomyceten-Hefen sowie Hefe-Stadien von Heterobasidiomyceten bzw. Homobasidiomyceten unter vergleichbaren Bedingungen zu kultivieren und zu analysieren.

Die folgenden **Merkmale** wurden für eine solche Analyse in der vorliegenden Arbeit ausgewählt:

1. Die qualitative und quantitative Neutralzuckerzusammensetzung der Hefe-Zellwand (vgl. Dörfler 1990).

Die, in dieser Publikationsserie an 205 Hefen oder Hefe-Isolaten aus Asco- und Basidiomyceten vorgenommenen, qualitativen und quantitativen Neutralzuckeranalysen der Hefe-Zellwände ließen eine auffällige Gruppenbildung erkennen. Da diese Gruppenbildung zudem eine weitgehende Übereinstimmung mit den bisher für Basidiomyceten bekannten Sequenz-"Clustern" der 5S rRNS zeigt, erweist sich im folgenden eine Gliederung nach diesen Gruppen als sinnvoll. Jeder für eine Gruppenbildung charakteristische Zellwand-Typ wird nach einer für diesen Typ als ursprünglich erachteten Gattung benannt: PROTOMYCES-Typ, MICROBOTRYUM-Typ (Prillinger & al. 1990a), USTILAGO-Typ (Prillinger & al. 1990b), DACRYMYCES-Typ und TREMELLA-Typ (Prillinger & al. 1991).

2. Die physiologische Hefe-Standardcharakterisierung (vgl. Laaser 1989).

Von den 83 (Barnett & al. 1983) untersuchten physiologischen Merkmalen erwiesen sich nur der Urease-Test (Harnstoffspaltung), der Diazonium Blau B Test (DBB-Test: ein physiologisches Zellwandmerkmal) und der Nachweis extrazellulärer amyloider Substanzen (EAS) als phylogenetisch interessante Differenzierungsmerkmale. Die für diese Tests ermittelten Daten wurden deshalb gemeinsam mit dem Nachweis von Fermentation in die im folgenden dargebotenen Übersichtstabellen mitaufgenommen. Eine ausführliche Zusammenstellung weiterer physiologischer Daten findet sich bei Laaser (1989).

3. Das Ubichinon (Coenzym Q). Dieses, mit einer lipophilen Kette aus Isopreneinheiten in der inneren Mitochondrienmembran lokalisierte Coenzym der Atmungskette hat sich in den vergangenen Jahren als ein wichtiges Kriterium zur Abgrenzung von Gattungen bei Hefen- und Hyphenpilzen erwiesen (Yamada & Kondo 1971, Yamada & al. 1988). In der vorliegenden Arbeit wurde an 80 Hefe-Isolaten eine Analyse des Coenzym Q mittels HPLC durchgeführt.

Für die im Diskussionsteil dargelegten Schemata wurden zusätzlich morphologische Befunde sowie Literaturdaten aus Arbeiten zur Ultrastruktur bzw. zu Analysen der 5S rRNS berücksichtigt.

Um einen Vergleich der Hefen und Hefe-Stadien von Basidiomyceten mit klassischen Ascomyceten-Hefen zu ermöglichen, wurde eine größere Zahl von Ascomyceten-Hefen, überwiegend in Form der jeweiligen Typus-Gattung, analysiert. Sämtliche in der vorliegenden Arbeit untersuchten Mikroorganismen werden nach der zur Zeit gültigen Systematik den *Ascomycetes* oder *Endomycetes* zugerechnet, wobei die Stellung der *Protomycetales* als unsicher gilt (von Arx & al. 1982, Kramer 1988).

Material und Methoden

Stämme:

Endomycetales: *Ambrosiozyma monospora* (Saito) van der Walt, CBS 2554 (T); *Arthroascus javanensis* (Klöcker) von Arx CBS 2555 (T); *Citeromyces matritensis* (Santa Maria) Santa Maria CBS 2764 (T); *Dekkera bruxellensis* van der Walt CBS 74 (T); *Eeniella nana* M. Th. Smith et al. CBS 1945 (T); *Kloeckera apiculata* (Reess emend. Kloecker) Janke CBS 104 (T); *Kluyveromyces polysporus* van der Walt DSM 70294 (T); *Lipomyces starkeyi* Lodder et Kreger-van Rij DSM 70295 (T); *Lodderomyces elongisporus* (Recca et Mrak) van der Walt DSM 70320 (T); *Metschnikowia reukaufii* Pitt et Miller CBS 5834 (T); *Octosporomyces octosporus* (Beijerinck) Kudrjavitsev DSM 70573; *Pachysolen tanophilus* Boidin et Adzet CBS 4044 (T); *Saccharomyces cerevisiae* Hansen DSM 70449 (T); *Saccharomycodes ludwigii* Hansen DSM 70551; *Schizosaccharomyces pombe* Lindner

var. *pombe* CBS 357; *Schwanniomyces occidentalis* Kloecker var. *occidentalis* CBS 819 (T); *Torulaspora delbrueckii* (Lindner) Lindner CBS 817; *Wickerhamia fluorescens* (Soneda) Soneda DSM 70715 (T); *Wickerhamiella domercqiae* van der Walt & Liebenberg CBS 4351 (T); *Wingea robertsiae* (van der Walt) van der Walt DSM 70870 (T); *Zygosaccharomyces rouxii* (Boutroux) Yarrow CBS 732 (T).

Ophiostomatales: *Ophiostoma polyporicola* O. Const. & Ryman Pr 1987/158, auf *Fomitopsis pinicola*; östliche Pupplinger Au, München, Bayern, Deutschland, leg. et det. Helfer 1. Okt. 1986 (Beleg M75/86).

Protomycetaceae: *Protomyces inouyei* P. Hennings, ex *Crepis japonica* ATCC 16175; *P. inundatus* Dangeard, ex *Apium nodiflorum* ATCC 28130 und ATCC 28148; *P. pachydermus* Thuem. Pr 1987/25; ex *Taraxacum officinale*, Mattinger Hänge (Bergmatting) Regensburg, Bayern leg. et det. Prillinger 10. Jun. 1987.

Taphrinaceae: *Taphrina amentorum* (Sadeb.) Rostrup FO 29242.00; Pr 1986/61: (Klonkultur) ex weibl. Kätzchen *Alnus incana* 200 m oberhalb Talstation Regensburger Hütte, Stubai Falbeson-Ochsenalm, Tirol, Österreich; leg. et det. Prillinger 9. Aug. 1986. Pr 1986/62: (Klonkultur) 50 m entfernt von Pr 1986/61. *T. americana* Mix ex *Betula fontinalis* CBS 331.55. *T. betulina* Rostrup ex *Betula intermedia* CBS 417.54. *T. caerulescens* (Desm.) Tulasne ex *Quercus coccinea* CBS 333.55 und ex *Q. alba* CBS 351.35. *T. californica* Mix ex *Dryopteris arguta* CBS 374.39. *T. carnea* Johanson ex *Betula pubescens* CBS 332.55. *T. cerasi* (Fkl.) Sadebeck CBS 275.28. *T. communis* (Sadeb.) Giesenhagen ex *Prunus americana* CBS 352.35 und ex *P. angustifolia* CBS 357.39. *T. confusa* (Atk.) Giesenhagen ex *Prunus virginiana* CBS 375.39. *T. dearnessii* Jenkins ex *Acer rubrum* CBS 334.55. *T. deformans* (Berk.) Tul. ex *Prunus persica*; PB 3713.00; Bot. Garten Nymphenburg, München, Bayern leg. et det. Blanz 6. Jun. 1976. CBS 356.35: ex Früchte *Prunus persica*. *T. farlowii* Sadeb. ex *Prunus serotina* CBS 376.39. *T. flavorubra* Ray ex Früchte *Prunus pumila* var. *susquehanae* CBS 377.39. *T. johansonii* Sadebeck ex *Populus tremuloides* CBS 378.39. *T. letifera* (Pk.) Saccardo ex *Acer spicatum* CBS 335.55. *T. maculans* Butler CBS 427.69. *T. nana* Johanson ex *Betula nana* CBS 336.55. *T. polystichi* Mix ex *Polystichum spinulosum* CBS 379.39. *T. populina* Fries ex *Populus nigra* CBS 337.55, ATCC 34559 und ATCC 34560. *T. populi-salicis* Mix CBS 419.54. *T. pruni* Tul. ex *Prunus domestica* CBS 358.35. *T. pruni-subcordatae* (Zeller) Mix CBS 381.39. *T. purpurascens* Robinson ex *Rhus copallina* CBS 338.55. *T. robinsoniana* Giesenhagen ex *Alnus incana* CBS 382.39 und 383.39; ex *A. rugosa* ATCC 11693. *T. sadebeckii* Johanson Pr 1985/42: ex *Alnus glutinosa*. Morgenstelle Tübingen, Baden-Württemberg, Deutschland leg. Blanz det. Prillinger 7. Sept. 1985. Pr 1987/113: ex *Alnus glutinosa*. Kronsegger Tal Schiltern/Langenlois, Niederösterreich, Österreich leg. et det. Prillinger 30. Aug. 1987. *T. potentillae* (Farl.) Johanson (*T. tormentillae* Rostrup) ex *Potentilla canadensis* CBS 339.55. *T. tosquinetii* (Westend.) Tulasne CBS 276.28, Pr1987/108: ex *Alnus glutinosa* Langen-Ebersroith (Schutzgebiet Rgbg. Bot. Ges.), Bayern, Deutschland leg. et det. Prillinger 29. Aug. 1987. *T. ulmi* (Fkl.) Johanson ex *Ulmus rubra* CBS 420.54. *T. vestergrenii* Giesenhagen ex *Dryopteris filix-mas* FO 36526.00. *T. virginica* Sadebeck ex *Ostrya virginiana*.

Lebendkulturen aller Stämme wurden in der Mikroorganismensammlung der RBF (A-3430 Tulln, Reitherstr. 21–23; Österreich) hinterlegt.

Physiologische Charakterisierung:

Sie wurde nach van der Walt & Yarrow (1984) und Laaser (1989) durchgeführt.

Zellwandanalysen:

Anzucht: Schüttelkulturen in 500 ml GYP-Medium wurden bis zu einer OD (546 nm) von 5 bei Zimmertemperatur inkubiert. Danach wurden die Hefen bei 1000 g abzentrifugiert und solange mit dest. Wasser gewaschen bis der Überstand klar blieb.

Zellaufschluß: Hefe-Zellen wurden ca. 1:1 in dest. Wasser suspendiert und in der French Press (Aminco, Colora) unter Eiskühlung bei 20.000 PSI (1406 bar) so lange aufgeschlossen bis nach lichtmikroskopischer Kontrolle keine intakten Zellen mehr gefunden wurden.

Reinigung der Zellwände: Nach Aufschluß 3–4 mal mit dest. Wasser waschen, jeweils bei 1000xg 4° C zentrifugieren. Um cytoplasmatische Verunreinigungen zu entfernen, wurde eine weitere Reinigung nach Selvendran (1975) vorgenommen (vgl. Dörfler 1990). Zellwände, die keine positive Reaktion mit KJ/Jod-Lösung ergaben wurden in wenig dest. Wasser aufgenommen und gefriergetrocknet. Anschließend wurde das trockene Zellwandmaterial in einem Mörtel zu einem homogenen feinen Pulver zerrieben.

Gaschromatographie der Zellwandzucker: Durch eine Hydrolyse nach Ring & Selvendran (1978) wurden die Zellwandzuckerpolymere in die Einzelkomponenten überführt. Dazu wurden 2 mg Zellwandtrockenpulver mit 2 ml 2N Trifluoressigsäure (TFE) versetzt, ultrabeschallt, mit Stickstoff überschichtet und 2 Std. bei 120° C (Thermoblock) hydrolysiert. Der Hydrolyserückstand wurde bei 1600 xg durch Zentrifugieren (15 Min.) abgetrennt, mit 0,5 ml dest. Wasser gewaschen und noch einmal zentrifugiert. Die beiden Überstände wurden vereinigt und mit 90 µg myo-Inositol (interner Standard) versetzt. Die TFE wurde durch Abblasen mit Stickstoff und mehrmaliges Waschen mit dest. Wasser entfernt. Danach wurden die freigesetzten Neutralzucker nach der Methode von Jones & Albersheim (1972) zu Alditolacetaten derivatisiert. In einem ersten Schritt wurden dazu die Neutralzucker zunächst auf pH 8–9 (0.005N NaOH) gebracht und mit 200 µl 1 % wässrigen Na-Borhydridlösung in die Zuckeralkohole (Alditole) überführt (4 Std. 30° C). Danach wurde zu den Proben 5 x je 2 ml 1 % essigsäures Methanol und zweimal je 2 ml reines Methanol gegeben, dazwischen jeweils mit Stickstoff abgeblasen. Die Proben wurden danach 1 Std. im Exsikkator über KOH Plättchen getrocknet (vgl. Dörfler 1990). In einem zweiten Schritt wurden die Zuckeralkohole dann in die Alditolacetate überführt. Dazu wurde der trockene Rückstand mit 400 µl Essigsäureanhydrid versetzt, durch Ultrabeschallung suspendiert, mit Stickstoff überschichtet und 2 Std. auf dem Thermoblock (120° C) inkubiert. Das restliche Acetanhydrid wurde mit Stickstoff abgeblasen. Der Rückstand wurde mit 2 ml Dichlormethan versetzt und 3 mal mit je 2 ml dest. Wasser ausgeschüttelt. Die wässrigen Phasen wurden verworfen, die Dichlormethanphase wurde nach dem letzten Ausschütteln mit Stickstoff abgeblasen. Der trockene Rückstand mit den Alditolacetaten wurde in 500 µl Aceton aufgenommen und für die Gaschromatographie verwendet.

Gaschromatograph: 1–2 µl Probe wurden in einen Hewlett-Packard Gaschromatograph (5830 A mit GC Terminal 18850 A) mit Glassäule (1,8 m lang, 0,2 cm Durchmesser, gefüllt mit 3% SP 2340 auf 100/200 Supelcoport) eingespritzt und aufgetrennt.

Bedingungen der Gaschromatographie: Temperaturprogramm von 190° bis 225° C (2° C/Min.). Injektionstemperatur: 200° C; Flammenionisationsdetektor: 260° C. Trägergas: Stickstoff (Durchflußgeschwindigkeit 28 ml/min).

Zur Identifikation wurde ein Standardgemisch aus D-Glukose, D-Galaktose, D-Mannose, L-Xylose, L-Arabinose, L-Fucose, L-Rhamnose und myo-Inositol den gleichen Versuchsbedingungen unterworfen und gaschromatographisch analysiert.

Ubichinon (Coenzym Q)-Analyse:

Anzucht: 10% Bierwürzeextrakt-Medium pH 5,6–5,8; Schüttelkulturen in Fernbachkolben mit 200 ml Medium, Anzucht bis zur späten logarithmischen bis frühen stationären Phase (meist 3–5 Tage, Zimmertemperatur), Ernte wie oben.

Extraktion aus ganzen Hefezellen (Yamada & Kondo 1971, 1973):

10–20 g Hefezellen wurden mit 5 g Pyrogallol, 20 g NaOH Plättchen und 150 ml Methanol versetzt und 45–60 Min. bei 93–95° C in einem Rundkolben mit Rückflußkühler extrahiert und anschließend im Eisbad abgekühlt. Aus diesem Gemisch wurden die nichtverseifbaren Lipide (Ubichinon etc.) 3 mal mit 130 ml n-Hexan extrahiert, über Faltenfilter abfiltriert und am Rotationsverdampfer zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in 1,5 ml Aceton aufgenommen (gegebenenfalls dunkel und kühl lagern).

Vorreinigung durch präparative Dünnschichtchromatographie:

Um das Ubichinon von den mitextrahierten Lipiden zu trennen, wird der Acetonextrakt auf Dünnschichtalufolie Kieselgel 60 (mit Fluoreszenzindikator F 254, 0,2 mm Schichtdicke, Merck) aufgetragen und mit dem Laufmittel Benzol 30 Min. in einer Chromatographiekammer entwickelt. Die Ubichinonbande wird durch Cochromatogra-

phie über einen seitlich mitlaufenden Ubichinonstandard im kurzwelligen UV-Licht identifiziert und mit einem Spatel von der Alufolie abgekratzt. Das Ubichinon-haltige Kieselgel wird schließlich in einem Eppendorf Reagenzgefäß mit 200–400 µl Aceton eluiert.

HPLC-Analyse:

Die Acetonextrakte werden in einer Speed-Vac Zentrifuge zur Trockene eingedampft, die Rückstände in 100 µl Methanol (für Ultraspektroskopie) aufgenommen, bei 8000 xg 5 Min. zentrifugiert und in Mengen von 5–50 µl auf eine Flüssigkeitshochdruckchromatographie-Säule aufgetragen. Säule: Oktyl = Si 100 Polyol 0,005 mm (Größe: 4,6 x 250 mm Serva Heidelberg) („Reversed Phase“); Mobile Phase: Methanol : Dest. Wasser (ultrarein) = 98,5 : 1,5; Durchflußrate: 1 ml/Min.; UV-Detektor (Modell 2151 LKB; Schweden): 275 nm; Auswertung: Shimadzu Integrator (C-R3A, Chromatopac; Kyoto; vgl. Schroeder & Lockau 1986).

Die Retentionszeiten wurden mit einem Standardgemisch (Q7, Q8, Q9, Q10 von La Roche; Geschenk von Dr. G. Hauska) bestimmt. Dieses Standardgemisch wurde auch zur Peakidentifikation 1:1 mit einem Probenanteil vermischt und aufgetragen.

Ergebnisse

Über das qualitative und quantitative Neutralzuckerspektrum gereinigter Hefezellwände ließen sich für DBB negative Hefen bisher drei verschiedene Hefe-Typen charakterisieren. Zwei dieser Hefe-Typen sind innerhalb der klassischen Ascomyceten-Hefen im Sinne von Barnett & al. (1983) und Kreger-van Rij (1984) verbreitet. Ein dritter läßt sich für die Vertreter der *Protomycetaceae* und *Taphrinaceae* deutlich abgrenzen.

ASCOMYCETEN-HEFEN:

Die untersuchten Arten sind in Tabelle 1 zusammengestellt. *Ambrosiozyma monospora* findet sich bei von Arx & van der Walt (1988) als Vertreter der *Ophiostomatales*, die restlichen Arten sind den *Endomycetales* zuzurechnen. Für diese Hefen lassen sich zwei verschiedene qualitative Zellwandzuckerspektren feststellen:

a) **Mannose-Glukose-Typ:** Der Großteil der untersuchten Hefen gehört diesem Typ an. Innerhalb dieses Typs finden sich die Ubichinone Q-6, Q-7, Q-8 und Q-9. Auffällig ist, daß bei allen Stämmen mit Ubichinon Q-6, Mannose als Zellwandzucker dominiert. Bei Stämmen mit länger-kettigen Ubichinonen (Q-7 bis Q-9) finden sich aber auch alle Übergänge bishin zu einem Vorherrschen von Glukose. Ein fermentativer Abbau von Kohlenhydraten ist mit Ausnahme von *Arthroascus javanensis* bei allen untersuchten Arten verbreitet. Bei keinem Vertreter wurde bisher eine Urease-Aktivität bzw. die Bildung von EAS gefunden.

b) **Glukose-Mannose-Galaktose-Typ:** Dieser aufgrund des qualitativen Zuckerspektrums differenziertere Hefezellwand-Typ fand sich bisher nur bei Hefen mit langkettigen Ubichinonen (Q-9 und Q-10). Weitere Differenzierungsmuster innerhalb dieses Typs sind die Fähigkeit zur Bildung von EAS und ein Fehlen der Fermentation von Kohlenhydraten bei den *Lipomycetaceae* (*L. starkeyi*, vgl. Kreger-van Rij 1984) sowie die Gegenwart von Urease-Aktivität bei den *Schizosaccharomycetaceae* (*Octosporomyces octosporus*, *Sch. pombe*). Bei allen Vertretern der *Schizosaccharomycetaceae* ist ein fermentativer Abbau von Kohlenhydraten bekannt (Barnett & al. 1983). Das quantitativ sehr verschiedene Zellwandneutralzuckerspektrum von *O. octosporus* und *Sch. pombe* unterstreicht wie die Ubichinonausstattung die Eigenständigkeit der Gattung *Octosporomyces* innerhalb der *Schizosaccharomycetaceae* (Kudriavzev 1960, Yamada & Banno 1989). *Wickerhamiella domercquiae* fehlt sowohl eine Urease-Aktivität als auch eine Fermentation von Kohlenhydraten und die Bildung von EAS (Tabelle 1).

Die für den *Protomyces*-, *Microbotryum*-, und *Dacrymyces*- bzw. *Tremella*-Typ charakte-

ART	STAMMNUMMER	ZELLWANDZUCKER						FERM ⁽¹⁾	UREA ⁽¹⁾	DBB ⁽¹⁾	EAS ⁽¹⁾	Co-Q ⁽¹⁾
ASCOMYCETEN HEFEN		GLC	MAN	GAL	XYL	ARA	FUC	RHA				
KLOECKERA APICULATA (Hanseniaspora uvarum)	CBS 104 (T)	37	63	-	-	-	-	-	+	-	-	6
KLUYVEROMYCES POLYSPORUS	DSM 70294 (T)	43	57	-	-	-	-	-	+	-	-	6
SACCHAROMYCES CEREVISIAE	DSM 70449 (T)	41	59	-	-	-	-	-	+	-	-	6
SACCHAROMYCODES LUDWIGII	DSM 70551	37	63	-	-	-	-	-	+	-	-	6
TORULASPORA DELBRÜCKII	CBS 817	27	73	-	-	-	-	-	+	-	-	6
ZYGOSACCHAROMYCES ROUXII	CBS 732 (T)	44	56	-	-	-	-	-	+	-	-	6
AMBROSIOZYMA MONOSPORA	CBS 2554 (T)	55	45	-	-	-	-	-	+	-	-	7
ARTHROASCUS JAVANENSIS	CBS 2555 (T)	63	37	-	-	-	-	-	-	-	-	8
CITEROMYCES MATRITENSIS	CBS 2764 (T)	49	51	-	-	-	-	-	+	-	-	8
PACHYSOLEN TANNOPHILUS	CBS 4044 (T)	39	61	-	-	-	-	-	+	-	-	8
DEKKERA BRUXELLENSIS	CBS 74 (T)	65	35	-	-	-	-	-	+	-	-	9
EENIELLA NANA	CBS 1945 (T)	50	50	-	-	-	-	-	+	-	-	9
LODDEROMYCES ELONGISPORUS	DSM 70320	60	40	-	-	-	-	-	+	-	-	9
METSCHNIKOWIA REUKAUFII	CBS 5834 (T)	54	46	-	-	-	-	-	+	-	-	9
SCHWANNIOMYCES OCCIDENTALIS	CBS 819 (T)	46	54	-	-	-	-	-	+	-	-	9
WICKERHAMIA FLUORESCENS	DSM 70715 (T)	53	47	-	-	-	-	-	+	-	-	9
WINGEA ROBERTSIAE	DSM 70870 (T)	42	58	-	-	-	-	-	+	-	-	9
WICKERHAMIELLA DOMERCQIAE	DSM 4351 (T)	28	52	20	-	-	-	-	-	-	-	9 ²⁾
LIPOMYCES STARKEYI	DSM 70295 (T)	53	30	17	-	-	-	-	-	-	+	9
OCTOSPOROMYCES OCTOSPORUS	DSM 70573	90	6	3	-	1	-	-	+	-	-	9
SCHIZOSACCHAROMYCES POMBE	CBS 357	76	14	8	-	-	-	-	+	-	-	10

Tabelle 1

ristischen Differenzierungszucker Rhamnose, Fucose und Xylose fehlen allen bisher untersuchten klassischen Ascomyceten-Hefen.

DER PROTOMYCES-TYP

Als Zellwandzucker wurden bestimmt: Glukose als Hauptzucker sowie Mannose, Rhamnose und Galaktose; Arabinose fand sich in Spuren, bei einem *Taphrina*-Isolat von Farnen (*T. vestergrenii*) wurde auch Fucose nachgewiesen. Die Gegenwart von Rhamnose erwies sich als ein gut geeignetes Differenzierungsmerkmal. Xylose scheint hingegen allen *Protomyces*- und *Taphrina*-Arten zu fehlen. Der Test auf Urease-Aktivität sowie die Bildung von EAS war für alle Arten bisher positiv. Ein fermentativer Abbau von Kohlenhydraten ließ sich nur bei einem Stamm von *T. amentorum* feststellen. Ein durchgehend negativer DBB-Test bestätigt die elektronenoptischen Befunde von von Arx & at. (1982), wonach die Hefezellwand als den Ascomyceten nahestehend einzustufen ist. Soweit bisher untersucht, fand sich bei allen *Protomyces*- und *Taphrina*-Arten das Ubichinon Q 10. Die Vertreter dieses Typus sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Bei der Isolierung von *Protomyces* und *Taphrina* Arten aus der Natur treten häufig ustilagoide und tremelloide Hefen als Kontaminanten auf. Diese geben sich oft erst nach einer längeren Latenzzeit zu erkennen und finden sich dann gelegentlich auch in Stammsammlungen. Mehrere im Verlauf dieser Arbeit identifizierte Kontaminanten schließen die Tabelle 2 ab.

Diskussion

Der folgende Diskussionsteil ist in zwei Teile gegliedert. Im ersten Abschnitt wird auf die analysierten Merkmale eingegangen, im zweiten Abschnitt werden die untersuchten Mikroorganismen diskutiert. Dabei wird versucht, wichtige Entwicklungslinien in der Phylogenie der Basidiomyceten anhand von eigenen Ergebnissen und Literaturdaten zu rekonstruieren.

1. Analytierte Merkmale

1.1. Qualitative und quantitative Neutralzuckerspektrum

Obwohl erste chemische Untersuchungen an Hefezellwänden mit Salkowski (1894) bereits in das vorige Jahrhundert zurückreichen, ist es bis heute nicht gelungen, phylogenetische Zusammenhänge auf der kokkalen Einzellerstufe = Hefe für einzelne Pilzgruppen darzulegen. Die Gründe hierfür lassen sich in zwei Punkten zusammenfassen:

1.1.1. Es wurden bisher kaum Hefe-Stadien von höheren Pilzen (z.B. Hefe-Stadien von Heterobasidiomyceten) untersucht.

Tabelle 1: Qualitative und quantitative Neutralzuckerspektren von Hefe-Zellwänden, Fermentation (Ferm), Harnstoffspaltung (Urea), Diazonium Blau B Test (DBB), Bildung extrazellulärer amyloider Substanzen (EAS) und Analyse des Coenzym Q von Ascomyceten-Hefen. Zellwandzuckerangaben in % des Gesamtzuckeranteiles. Glc: Glukose, Man: Mannose, Gal: Galaktose, Xyl: Xylose, Ara: Arabinose, Fuc: Fucose, Rha: Rhamnose.

1) nach Barnett & al. 1983; 2) eigene Daten; (T) Typus-Stämme.

Table 1: Qualitative and quantitative carbohydrate (neutral-sugars) composition of purified yeast cell walls, fermentation (Ferm), urease-activity (Urea), diazonium blue B-test (DBB), extracellular amyloid compounds (EAS), and ubiquinone system of different ascomycetous yeasts. Cell wall carbohydrate composition in percentages of total response. Glc: glucose, Man: mannose, Gal: galactose, Xyl: xylose, Ara: arabinose, Fuc: fucose, Rha: rhamnose.

1) According to Barnett & al. 1983; 2) own data; (T) type strain.

ART	STAMM	WIRT	ZELLWANDZUCKER							FERM	UREA	DBB	EAS	Co-Q
			GLC	MAN	GAL	XYL	ARA	FUC	RHA					
PROTOMYCES														
Apiaceae														
P. INUNDATUS	ATCC 28130	Apium nodiflorum	80	8	1	-	1	-	10	-	+	-	+	10
P. INUNDATUS	ATCC 28148	A. nodiflorum	81	8	0	-	1	-	10	-	+	-	+	10 ¹⁾
Cichoriaceae														
P. INOUYEI	ATCC 16175	Crepis japonica	74	14	1	-	1	-	11	-	+	-	+	10 ¹⁾
P. PACHYDERMUS	Pr 1987/25	Taraxacum officinale	58	22	2	-	1	-	18	-	+	-	+	10
TAP-IRINA														
a) PTERIDOPHYTA														
Polypodiaceae														
T. POLYSTICHII	CBS 379.39	Polystichum spinulosum	67	19	1	-	-	-	12	-	+	-	+	10
T. VESTERGRENII	FO 36526	Dryopteris filix-mas	64	20	1	-	1	7	7	-	+	-	+	10
b) SPERMATOPHYTA (Angiospermae)														
Betuliaceae (Hamamelididae)														
T. AMENTORUM	FO 29242	Alnus incana	77	10	1	-	1	-	11	-	+	-	+	
T. AMENTORUM	Pr 1986/61 (K)	A. incana	83	9	1	-	1	-	7	+	+	-		
T. AMENTORUM	Pr 1986/62 (K)	A. incana	69	14	1	-	1	-	7	-	+	-		10
T. ROBINSONIANA	CBS 382.39	A. incana	72	14	-	-	1	-	13	-	+	-	+	
T. ROBINSONIANA	CBS 383.39	A. incana	74	13	1	-	1	-	11	-	+	-	+	
T. ROBINSONIANA	ATCC 11693	A. rugosa	81	10	1	-	1	-	8	-	+	-	+	
T. SADEBECKII	Pr 1985/42 (K)	A. glutinosa	66	19	1	-	-	-	14	-	+	-	+	
T. SADEBECKII	Pr 1987/113	A. glutinosa	78	15	-	-	1	-	7	-	+	-	+	

Tabelle 2/1 „Protomyces Typ“

ART	STAMM	WIRT	ZELLWANDZUCKER							FERM	UREA	DBB	EAS	Co-Q
			GLC	MAN	GAL	XYL	ARA	FUC	RHA					
TAPHIRINA														
T. TOSQUINETII	Pr 1987/108	Alnus glutinosa	85	10	1	-	1	-	4	-	+	-	+	10
T. TOSQUINETII	CBS 276.28	A. glutinosa	85	10	1	-	1	-	4	-	+	-	+	10
T. AMERICANA	CBS 331.55	Betula fontinalis	77	12	1	-	-	-	10	-	+	-	+	
T. BETULINA	CBS 417.54	B. intermedia	76	13	1	-	1	-	9	-	+	-	+	
T. CARNEA	CBS 332.55	B. intermedia	77	14	2	-	1	-	7	-	+	-	+	
T. NANA	CBS 336.55	B. nana	76	13	-	-	1	-	11	-	+	-	+	
T. VIRGINICA	CBS 340.55	Ostrya virginiana	70	17	1	-	1	-	10	-	+	-	+	
Fagaceae (Hamamelididae)														
T. CAERULESCENS	CBS 351.35	Quercus alba	68	12	2	-	-	-	18	-	+	-	+	10 ¹⁾
T. CAERULESCENS	CBS 333.55	Q. coccinea	80	12	5	-	-	-	3	-	+	-	+	10 ¹⁾
Salicaceae (Dilleniidae)														
T. JOHANSONII	CBS 378.39	Populus tremelloides	79	11	3	-	1	-	7	-	+	-	+	
T. POPULINA	CBS 337.55	P. nigra	69	18	5	-	-	-	10	-	+	-	+	10
T. POPULINA	ATCC 34559	P. nigra	77	12	4	-	2	-	5	-	+	-	+	
T. POPULINA	ATCC 34560	P. nigra	74	15	3	-	1	-	8	-	+	-	+	
T. POPULI-SALICIS	CBS 419.54	P. trichocarpa	74	15	2	-	1	-	7	-	+	-	+	
Ulmaceae (Dilleniidae)														
T. ULMI	CBS 420.54	Ulmus rubra	70	18	4	-	1	-	7	-	+	-	+	
Rosaceae (Rosidae)														
T. COMMUNIS	CBS 352.35	Prunus americana	66	21	10	-	-	-	3	-	+	-	+	
T. DEFORMANS	PB 3713	P. persica	79	12	6	-	-	-	3	-	+	-	+	
T. DEFORMANS	CBS 356.35	P. persica	73	15	8	-	-	-	4	-	+	-	+	10 ¹⁾

ART	STAMM	WIRT	ZELLWANDZUCKER								FERM	UREA	DBB	EAS	Co-Q
			GLC	MAN	GAL	XYL	ARA	FUC	RHA						
TAPHIRIA															
T. FLAVORUBRA	CBS 377.39	Prunus susquehannae	72	15	8	-	1	-	5	-	-	+	-	+	
T. PRUNI	CBS 358.35	P. domestica	63	21	11	-	-	-	4	-	-	+	-	+	
T. PRUNI-SUBCORDATA	CBS 381.39	P. subcordata	74	12	10	-	1	-	5	-	-	+	-	+	
T. POTENTILLAE	CBS 339.55	Potentilla canadensis	84	10	1	-	1	-	5	-	-	+	-	+	10
Aceraceae (Rosidae)															
T. DEARNESSII	CBS 334.55	Acer rubrum	61	21	10	-	-	-	8	-	-	+	-	(+)	
T. LETIFERA	CBS 335.55	A. spicatum	65	19	11	-	1	-	4	-	-	+	-	+	
Anacardiaceae (Rosidae)															
T. PURPURSACENS	CBS 338.55	Rhus corallina	68	17	7	-	1	-	7	-	-	+	-	+	
Als Kontaminanten identifiziert															
T. CALIFORNICA	CBS 374.39		89	6	1	3	1	-	-	-	-	+	+	+	
T. FARLOWII	CBS 376.39		53	45	-	2	1	-	-	+	-	-	-	-	9
T. MACULANS	CBS 427.69		93	4	-	2	1	-	-	-	-	+	+	+	

Tabelle 2/3

1.1.2. Die bisher durchgeführten Untersuchungen konzentrierten sich meist nur auf eine Zellwandkomponente. Nach Cabib & at. (1982) setzt sich die Hefezellwand aus drei Komponenten zusammen: Glucan, Mannan und Chitin. Während die Glucane meist als Homopolymere vorliegen, sind die Mannane häufig kovalent mit Proteinen verknüpft. Zudem können in die verzweigten Mannanketten weitere Zucker integriert sein. Solche Heteropolysaccharide wurden in der Gattung *Schizosaccharomyces* eingehender untersucht und als Galaktomannane identifiziert (Bush & at. 1974). Bartnicki-Garcia (1970) erkennt zwar den deutlich verschiedenen Chitingehalt der Zellwand von Ascomyceten-Hefen (Mannan- β -Glucan-Zellwand-Typ; ca. 1% Chitin) und Basidiomyceten-Hefen (Chitin-Mannan-Zellwand-Typ; ca. 5–15% Chitin). Nach Dörfler (1990) erweist sich der Chitingehalt der Zellwand aber als unbrauchbar, um natürliche Gruppierung innerhalb der Basidiomyceten vorzunehmen.

Nach den bisher durchgeführten Untersuchungen fällt auf, daß der Chitingehalt der Hefezellwand in phylogenetisch als ursprünglich erachteten Gruppen sehr niedrig ist (*Protomyces*, *Taphrina* Dörfler 1990). Eine Höherentwicklung auf der kokkalen Einzellerstufe ist häufig sehr gut mit einer deutlichen Zunahme des Chitingehaltes korreliert. Inwieweit sich der Chitingehalt in Hefezellwänden nützen läßt, um das erdgeschichtliche Alter einzelner Hefe-Typen besser abzuschätzen, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

Auch die in ihrem methodischen Ansatz sehr verschiedenen Arbeiten von Tsuchiya & al. (1965; Serologie) und Gorin & Spencer (1970; Kernresonanz-Spektren) geben letztlich nur eine Information über die in der äußeren Zellwand lokalisierte Mannankomponente ab. In beiden Fällen wurde inzwischen gezeigt, daß Ein-Gen-Mutationen zu Veränderungen des Zellwandmannans und damit zu verschiedenen Ergebnissen führen (Spencer & al. 1971; Ballou 1974; vgl. auch Price & al. 1978). Zu einer ähnlich kritischen Wertung von Kernresonanz- und serologischen Daten kommen auch Fuson & al. (1979) aufgrund von DNS/DNS Hybridisierungsexperimenten innerhalb der Gattung *Hansenula*. Nach Nakase & Suzuki (1985) erwiesen sich in vergleichenden Untersuchungen an *Debaryomyces hansenii* Zymogramme von Fermenten der Glykolyse und des Citratzyklus (Glukose-6-Phosphat Dehydrogenase, Malat Dehydrogenase usw.) als aussagekräftiger gegenüber Kernresonanz-Spektren und serologischen Methoden.

Das in der vorliegenden Arbeit untersuchte qualitative und quantitative Neutralzuckerspektrum der Hefezellwand baut auf Arbeiten von Weijman & de Hoog (1975), Weijman & Golubev (1988; mit zusammenfassender Darstellung) und Weijman & Rodrigues de Miranda (1988) auf, wonach der qualitativen Neutralzuckerzusammensetzung der Hefezellwand ein hoher phylogenetischer Zeigerwert zukommt. Da die von Weijmann an Ganzzellhydrolysaten durchgeführte Methode nur bedingt quantitative Aussagen zuläßt, wurde von Dörfler & al. (1986; Dörfler 1990), eine neue Methode

Tabelle 2: *Protomyces*-Typ: Qualitative und quantitative Neutralzuckerspektren von Hefe-Zellwänden, Fermentation (Ferm), Harnstoffspaltung (Urea), Diazonium Blau B Test (DBB), Bildung extrazellulärer amyloider Substanzen (EAS) und Analyse des Coenzym Q. Zellwandzuckerangaben in % des Gesamtzuckeranteiles. Abkürzungen wie in Tab. 1.

1) nach Yamada & al. (1983,1988); (+) sehr schwache Reaktion.

Table 2: *Protomyces*-type: Qualitative and quantitative carbohydrate (neutral sugars) composition of purified yeast cell walls, fermentation (Ferm), urease-activity (Urea), diazonium blue B-test (DBB), extracellular amyloid compounds (EAS), and ubiquinone system. Cell wall carbohydrate composition in percentages of total response. For abbreviations compare table 1.

1) According to Yamada & al. (1983,1988); (+) weak reaction.

ausgearbeitet. Die mit dieser Methode ermittelten Zuckerdaten erfassen somit spezifisch die Glucan- und Mannan-Fraktion der Hefezellwand. Bei einem Vergleich der in dieser Arbeit vorgelegten Daten mit Ergebnissen, welche mit der Ganzzellhydrolysat-Methode erzielt wurden (Arbeiten von Weijmann l.c. oder Sugiyama & al. 1985), fällt auf, daß die Werte für Glukose und Galaktose häufig stärkere Abweichungen erkennen lassen. Die Ursachen für diese Abweichungen sind meist auf Komponenten des Cytoplasmas zurückzuführen (z.B. Glykogen). Sie werden von Dörfler (1990) ausführlich diskutiert. Suzuki & Nakase (1988) zeigen, daß auch die Gegenwart von Xylitol im Cytoplasma bei der Ganzzellhydrolysat-Methode die nachgewiesene Xylosemenge beeinträchtigen kann.

1.2. Physiologische Hefecharakterisierung

Die physiologischen Tests umfassen die Fermentation verschiedener Kohlenstoffquellen, den oxidativen Abbau (Assimilation) von Zuckern, Zuckeralkoholen, organischen Säuren, Stärke, Inulin, Arbutin, Glycerin sowie einiger Stickstoffquellen, das Wachstum mit und ohne verschiedene Vitamine, die Empfindlichkeit gegen verschiedene Temperaturen, gegen das Antibiotikum Cycloheximid und gegen hohe Zuckerkonzentrationen und schließlich die Bildung extrazellulärer amyloider Substanzen, die Bildung von Essigsäure, die Hydrolyse von Harnstoff und die Reaktion mit Diazonium Blau B.

Zusammen mit einem Ultrastruktur-Merkmal – einer laminaren Zellwandschichtung – ist der Diazonium Blau B Test gegenwärtig das zuverlässigste Kriterium, um zwischen Asco- und Basidiomyceten-Hefen zu differenzieren (van der Walt & Hopsu-Havu 1976, Hagler & Ahearn 1981, Simmons & Ahearn 1987). In der vorliegenden Arbeit erwies sich dieser Test nur bei einigen Vertretern der *Protomycetales* als schwierig in der Auswertung. Eine sehr schwach positive Reaktion bei *Protomyces*-Arten bleibt zunächst unberücksichtigt. Bei *Protomycopsis patellii* sprechen die Daten von Laaser (1989) für ein positives Ergebnis. Vereinzelt ist ein positiver DBB-Test auch für Zygomyceten bekannt (*Absidia glauca*: + und – Stämme, *Mycotypha africana*: Hefe und Hyphe; Kraepelin pers. Mitteilung).

Ähnlich wie der Diazonium Blau B Test ist auch der Urease-Test (Spaltung von Harnstoff) ein wichtiges Differenzierungsmerkmal für Hefen von Basidiomyceten (Christensen 1946, Seeliger 1956, Roberts & al 1978, Zimmer & Roberts 1979, Booth & Vishniac 1987). Ein negativer Urease-Test ist bisher nur für eine DBB positive Basidiomyceten-Hefe bekannt (*Ballistosporomyces ruber*: Nakase & al. 1989). Nicht eindeutig ist dieser Test für *Candida sonchii* (Barnett & al. 1983). Ein positiver Urease-Test liegt aber auch für einige wenige DBB negative Ascomyceten-Hefen vor (*Taphrinales*, *Protomycetales*, *Schizosaccharomycetales*; *Saitoella complicata*, *Zygozoma oligophaga*; Laaser 1989). Eine sehr reichhaltige Zusammenstellung über das Vorkommen bei Archae- und Eubakterien, die Struktur, Funktion und Regulation mikrobieller Ureasen findet sich bei Mobley & Hausinger (1989).

Auf die Bedeutung extrazellulärer amyloider Substanzen zur Differenzierung von Basidiomyceten-Hefen wird von Sugiyama & al. (1985) und Laaser (1989) hingewiesen. Mit diesem Merkmal läßt sich der Tremella-Typ gut von dem Dacrymyces- dem Ustilago- und dem Microbotryum-Typ abtrennen (Prillinger 1990 a, b, 1991).

Das Kriterium der Fermentation von Kohlenhydraten wurde in diese Arbeit aufgenommen, um zu zeigen, daß der Übergang zu einem oxidativen Stoffwechsel bei Hefen von Basidiomyceten weitgehend vollzogen ist (vgl. Tabelle 2: Ein Isolat von *Taphrina amentorum*; *Mrakia gelida*, *Cystofilobasidium* sp. Prillinger & al. 1991). Eine umfangreichere Zusammenstellung über fermentierende Basidiomyceten Hefen finden sich bei Laaser (1989).

Der überwiegende Teil der physiologischen Tests erwies sich sehr nützlich zur eindeutigen Stammidentifizierung. Mehrfach finden sich auch Zucker-Assimilations-Tests, die sich mit den, in dieser Arbeit berücksichtigten Zellwanddaten gut korrelieren ließen. Besonders auffällig war z.B. das Fehlen einer oxidativen Verwertung von Erythritol, Glucuronsäure, myo-Inosit (2 Ausnahmen: *Taphrina polystichi*, *T. virginica*), Lactose, Melibiose (vgl. Ausnahmen bei Mix 1954) und Rhamnose bei Vertretern des *Protomyces*-Typs bzw. das Fehlen eines oxidativen Abbaues von myo-Inosit innerhalb des *Microbotryum*-Typs (einzige Ausnahme: *Sporobolomyces inositolophilus*; vgl. Laaser 1989). Nur in den aufgeführten Fällen war diese Korrelation nahezu vollständig, so daß hier auf die ausführliche Zusammenstellung und Diskussion weiterer physiologischer Daten auf Laaser (1989) verwiesen wird.

1.3. Ubichinon (Coenzym Q)

Dieser Test erwies sich als sehr nützlich Gattungskriterium. Bei verschiedenen *Protomyces*- und *Taphrina*-Stämmen (*T. farlowii*; Tabelle 2) und bei Hefe-Isolaten aus Homobasidiomyceten führte er zudem zu einer sehr raschen Abklärung der Kontaminantenfrage (Prillinger & al. 1991). Ähnliches gilt auch für verschiedene Hefe-Isolate aus Rostpilzen (Prillinger & al. 1991). Da sowohl für Homobasidiomyceten als auch für Rostpilze bisher nur das Co-Q 9 bekannt ist (Kuraishi & al. 1985), lassen sich häufige microbotryoide, ustilaginoide und tremelloide Hefen mit Co-Q 10 einfach als Kontaminanten identifizieren.

Das für Basidiomyceten-Hefen seltene Co-Q 8 findet sich nur bei zwei ursprünglichen Gattungen des *Tremella*-Typs (*Mrakia*, *Cystofilobasidium*; Prillinger & al. 1991). Co-Q 10 ist für sehr viele Heterobasidiomyceten-Hefen charakteristisch. Co-Q 10(H₂) wurde bisher nur zweimal in den Gattungen *Sporobolomyces* und *Rhodotorula* gefunden (Nakase & Suzuki 1986), ist aber bei vielen Plecto- Pyreno- und Loculoascomycetes bekannt (Kuraishi & al. 1985).

Eine gute Analyse und Diskussion der das Ubichinon-Spektrum beeinflussenden Anzucht- und Extraktionsbedingungen findet sich bei Billon-Grand (1989).

2. Untersuchte Hefen und Hefe-Stadien

2.1. Ascomyceten-Hefen (*Endomycetales* s. str.):

Nach von Arx & van der Walt (1988) wird die Ordnung der *Endomycetales* heute eingeschränkt auf Hefen oder hefeähnliche Pilze, welche in flüssigen Medien wachsen; soweit Hyphen vorhanden, fehlen diesen Septen mit einem zentralen Porus (Mikroporen-Septen: *Hansenula beckii*, *Geotrichum fermentans*), in der Regel sind diese Septen im Elektronenmikroskop aus zwei getrennten Wänden aufgebaut; sie besitzen keine Fruchtkörper. Aufgrund der Septenultrastruktur werden Beziehungen zu den Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* vermutet.

Zur Abgrenzung von Familien wird die Form und Struktur der Ascosporen herangezogen. Inwieweit diese Familien nach wie vor polyphyletisch sind, sollte sich nach von Arx & van der Walt (1988) zukünftig durch Einbeziehung biochemischer Charakteristika abklären lassen. Im folgenden werden kurz die einzelnen Familien mit den in dieser Arbeit untersuchten Vertretern vorgestellt.

Endomycetaceae: Ascosporen hutförmig, glatt; Asci zerfließend; *Pachysolen tannophilus*.

Saccharomycetaceae: Ascosporen ± rund, glatt oder ornamentiert; Asci nicht zerfließend; *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspora delbrueckii*, *Zygosaccharomyces rouxii*.

Saccharomycopsidaceae: Ascosporen abgeflacht (dorsiventral), linsenförmig oder „Saturn“-förmig; glatt oder ornamentiert; *Arthroascus javanensis*, *Wingea robertsiae*.

Dipodascaceae: Ascosporen eiförmig – kurz zylindrisch selten rund; dickwandig oder mit Scheide; Asci persistent; *Schwanniomycetes occidentalis*, *Lodderomyces elongisporus*.

Anamorphe Vertreter finden sich in der Gattung *Geotrichum*. Diese Gattung ist nach Weijman & al. (1988) bereits weitgehend homogen.

Saccharomycodaceae: bipolar sprossende Hefen; *Hanseniaspora uvarum*, *Saccharomyces ludwigii*.

Metschnikowiaceae: Ascosporen nadel- bis spindelförmig mit 0–1 Septen; Asci länglich; *Metschnikowia reukaufii*.

Lipomycetaceae: Ascosporen stäbchen- oder nierenförmig-ellipsoid; Kolonien schleimig, amyloid; *Lipomyces starkeyi*.

Die Einheitlichkeit dieser Familie wird von Lodolo & al. (1990) auch durch eine Restriktionsfragmentanalyse der Mitochondrien DNS belegt. Mit *Dipodascopsis*, *Lipomyces*, *Waltomyces* und *Zygozoma* umfaßt die Familie zur Zeit vier gut definierte Gattungen. Die Art *Dipodascopsis uninucleata* ist bisher ausschließlich als Mycelpilz bekannt.

Anamorphe Arten entsprechen der Gattung *Myxozoma*. Nach Weijman & al. (1988) ist auch diese Gattung homogen.

Schizosaccharomycetaceae: Zellen vermehren sich ausschließlich durch Teilung; *Octosporomyces octosporus*, *Schizosaccharomyces pombe*.

Eine Zuordnung der Gattung *Kluyveromyces* (Asci: viel- bis wenig- bis einsporig; Ascosporen: nierenförmig bis rund, glattwandig; Sporen werden leicht frei gesetzt) und *Wickerhamiella* (Asci: 1-sporige, rasch zerfallend; Ascosporen: oval mit rauher Oberfläche) wird von von Arx & van der Walt (1988) offen gelassen.

Nach Lachance (1989) erweist sich die Gattung *Kluyveromyces* van der Walt emend. van der Walt aufgrund von Restriktionsfragment-Analysen der ribosomalen DNS (r-DNS) als gut begründet. Phylogenetische Beziehungen zu *Saccharomyces cerevisiae* und *Clavispora opuntiae* werden dargelegt. Nach Lachance (1989) und Phaff (1989) kommt aber der Form und Anzahl der Ascosporen kein größerer evolutiver Stellenwert zu. Das Vorkommen dimorpher Ascosporen ist auch für die Arten *Yarrowia* (*Endomycopsis*) *lipolytica*, *Pichia membranaefaciens* und *P. ohmeri* bekannt, bei letzterer auch durch DNS/DNS-Hybridisierungsexperimente belegt (Fuson & al. 1980).

Imperfekte (anamorphe) Ascomyceten-Hefen werden in die Familie der *Candidaceae* gestellt (von Arx & van der Walt 1988). Als Leitmerkmale für diese Familie gelten: eine im TEM zweischichtige Zellwand, eine holoblastische (Luftballon-) Knospung und Septen ohne Poren oder mit Mikroporen. Weijman & al. (1988) fügen dieser Charakterisierung zumindest für die Gattung *Candida* noch eine negative EAS Reaktion und ein Fehlen von Xylose, Rhamnose und Fucose in Ganzzellhydrolysaten hinzu. Trotz dieser beträchtlichen Eingrenzung ist nach Weijman & al. (1988) die Gattung *Candida* nach wie vor heterogen und enthält Anamorphe der *Endomycetaceae*, *Metschnikowiaceae*, *Saccharomycetaceae* und *Saccharomycopsidaceae*.

Untersucht wurden in der vorliegenden Arbeit *Dekkera bruxellensis* und *Eeniella nana*.

Ambrosiozyma monospora mit 4-sporigen Asci, hutförmigen Ascosporen und septierten Hyphen wird von von Arx & van der Walt (1988) in die Ordnung der *Ophiostomatales* (*Cephaloascaceae*) gestellt.

Wie die in Tabelle 1 zusammengestellten Daten zeigen, erweist sich die Zellwand-Neutralzucker-Zusammensetzung für ein breiteres Spektrum „klassischer“ Hefe-Gattungen als sehr einheitlich. Es ließen sich zwei Typen feststellen:

2.1.1. Mannose-Glukose-Typ: Als Zellwandkomponenten finden sich Mannan und β -Glucan (Bartnicki-Garcia 1970, Vega & Dominguez 1986). Dieser Typ dürfte nach Literaturangaben auch für *Yarrowia lipolytica* (Ferm. –, Urea. +, DDB –, EAS –, Co-Q 9; Vega & Dominguez 1986) und *Candida albicans* (Ferm. +, Urea –, DBB –, EAS –, Co-Q 9; Sullivan & al. 1983) vorliegen.

2.1.2. Glukose-Mannose-Galaktose-Typ: Als Zellwandkomponenten sind für *Schizosaccharomyces pombe* nachgewiesen: β -Glucan, α -Glucan, Galaktomannan (Bush & al. 1974, Horisberger & al. 1978). Nach Weijman (1979) findet sich dieser Typus auch in den Gattungen *Dipodascus* und *Geotrichum* (de Hoog & al. 1986).

Alle in Tabelle 1 aufgeführten Gattungen mit Co-Q 6 lassen zusätzlich auch eine quantitative Übereinstimmung in ihrem Zuckerspektrum mit Mannose als Hauptkomponente erkennen.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die „klassischen“ Hefen aufgrund des in dieser Arbeit untersuchten qualitativen und quantitativen Neutralzuckerspektrums der Zellwand einheitlicher sind als es der gegenwärtigen Taxonomie entspricht. Eine gut begründete Sonderstellung nehmen bisher nur die *Lipomycetaceae* und *Schizosaccharomycetaceae* ein. Neben morphologischen Merkmalen wie der Ascusbildung lassen sich die *Lipomycetaceae* auch durch ihre Zellwandzuckerkomponenten, die Bildung extrazellulärer amyloider Substanzen, Wachstum auf 0,1 % Cycloheximid und einem Fehlen eines anaeroben Kohlenhydratabbaues sehr gut abgrenzen (Tabelle 1; Kreger-van Rij 1984, Weijman & al. 1988). Ihre sackförmig nach außen knospenden Asci sind zudem vortreffliche Beispiele für die Plastizität und Evolutionstendenzen des Ascomyceten-Hefemeiosporangiums auf der kokkalen Einzellerebene (vgl. Oberwinkler 1985). Neben unfixiert vielsporigen Ascusausstülpungen sind bei *Lipomyces*-Arten auch einsporige Formen bekannt (van der Walt & al. 1989). Die Dicke der Ascuszellwand kann dabei stark variieren (Kreger-van Rij 1984). Inwieweit solche einsporige, lipomycesartige Vorfahren auch für die Evolution von Basidiomyceten-Hefen von Interesse sein könnten, müssen zukünftige Untersuchungen weiter abklären.

Auf die großsystematische Zuordnung der *Schizosaccharomycetaceae* wird im folgenden näher eingegangen. Unter Berücksichtigung weiterer molekularer Merkmale sollte es möglich werden, zu einer natürlicheren Systematik der Hefen zu gelangen (vgl. Balzi & al. 1985, Kurtzman 1989, Lachance 1989, Phaff 1989). Jüngere molekulare Analysen über die Genanordnung auf der mt-DNS haben gezeigt, daß die Aufrechterhaltung der Gattung *Eeniella* unzureichend begründet erscheint (Clark-Walker & al. 1988). In gleicher Weise läßt sich die Berechtigung der Gattungen *Pichia* und *Hansenula* aufgrund einer verschiedenen Verwertung von Nitrat durch DNS/DNS-Hybridisierungsexperimente nicht weiter erhärten (Kurtzman 1984).

In Schema 1 sind charakteristische Hefe-Typen der Basidiomyceten bzw. Hefen und Hefe-Typen, welche diesen phylogenetisch nahe stehen dargestellt. Die gewählte Anordnung soll, soweit dies gegenwärtig möglich ist, die Entstehung im Verlauf der Evolution widerspiegeln. Neben den in dieser Arbeit und denen von Dörfler (1990) und Laaser (1989) vorliegenden Daten, wurden auch die Arbeiten von Kreger-van Rij (1984), Oberwinkler (1985), Walker (1985), Gottschalk & Blanz (1985), Blanz & al. (1989) und Kurtzman (1989) berücksichtigt. Das Konzept der Hefe-Typen wurde ge-

wählt, weil die bisher vorliegenden Zellwanddaten eine sehr ähnliche Gruppenbildung erkennen lassen, wie dies auch für die 5S rRNS bekannt ist (Sequenzcluster: Walker & Doolittle 1983). In der Regel sind die Grenzen bei den Zellwand-Typen breiter und beinhalten eine größere Zahl von Arten. Eine Ausnahme bildet der *Dacrymyces*-Typ dessen Vertreter sich wie jene des *Tremella*-Typs im 5S rRNS Sequenzcluster 5 finden. Eine Abgrenzung dieses Typs wurde erst durch Hinzunahme eines physiologischen Merkmals möglich. Die Sequenzcluster 1 und 2 (mit Typ A Struktur) ließen sich mit dem Zellwandmerkmal bisher nicht weiter auflösen.

Eine Zusammenfassung der den einzelnen Hefe-Typen zugeordneten Arten und Gattungen zu taxonomischen Gruppierungen höherer Ordnung (Ordnung oder Klasse z.B. *Protomyces*: *Protomyces*, *Taphrina* usw.) liegt nahe. Nach unserer Auffassung sollte dies aber erst nach einer umfassenderen Kenntnis möglicher Übergangssippen und unter Einbezug von Daten zur Ultrastruktur erfolgen. Es wurde deshalb zunächst in den vier vorliegenden Arbeiten dieser Publikationsserie darauf verzichtet. Allein den Schizosaccharomycetales wurde bisher der Rang einer Ordnung zugebilligt. Das in Tabelle 1 wiedergegebene qualitative und quantitative Zellwandneutralzuckerspektrum (*Octosporomyces octosporus*, *Schizosaccharomyces pombe*) und die im folgenden genannten, weiteren Merkmale rechtfertigen nach unserer Auffassung eine Ausgliederung der *Schizosaccharomycetaceae* aus den *Endomycetales* sensu von Arx & van der Walt (1988).

2.2. Schizosaccharomycetales:

Die Schizosaccharomycetales wurden aufgrund der folgenden Merkmale als kokkale Vertreter in die weitere Verwandtschaft der Basidiomyceten gestellt:

- a) Signifikante Unterschiede zu *S. cerevisiae* in Gentranskription und Regulation (Balzi & al. 1985, Russell & Nurse 1986, Erard & al. 1988).
- b) Signifikante Unterschiede im Zellteilungszyklus *Sch. pombe* entspricht weitgehend höheren Eukaryonten G1, S, G2 und M-Phase; *S. cerevisiae* Spindelpolkörperchen-Verdoppelung und Spindelbildung in S-Phase; Russell & Nurse 1986, Erard & al. 1988).
- c) 5S rRNS zeigt größere Ähnlichkeit zu *Protomyces* (Walker 1985). Konservative Teilbereiche der 18S und 26S rRNS von *Sch. pombe* weisen im Vergleich mit *S. cerevi-*

Abb. 1. Hefen und Hefe-Stadien: *Schizosaccharomycetales* — *Protomyces* Typ.

- a) *Octosporomyces japonicus*: Stadien der Endosporenbildung (vgl. Abb. 2f); Insert: sich teilende Zelle (Spaltung).
 - b) *Protomyces pachydermus*
 - c) *Taphrina polystichii*
 - d) *T. vestergrenii*
 - e) *T. amentorum*
 - f) *T. letifera*
- b-f Kulturen aus logarithmischen Wachstumsphase (GYP-Medium).

Fig. 1. *Schizosaccharomycetales* — *Protomyces*-type: yeasts and yeast stages.

- a) *Octosporomyces japonicus*: endospore formation (compare Fig. 2f); insert: vegetative propagation by splitting.
 - b) *Protomyces pachydermus*
 - c) *Taphrina polystichii*
 - d) *T. vestergrenii*
 - e) *T. amentorum*
 - f) *T. letifera*
- b-f cultures from the logarithmic growth phase (GYP-medium).

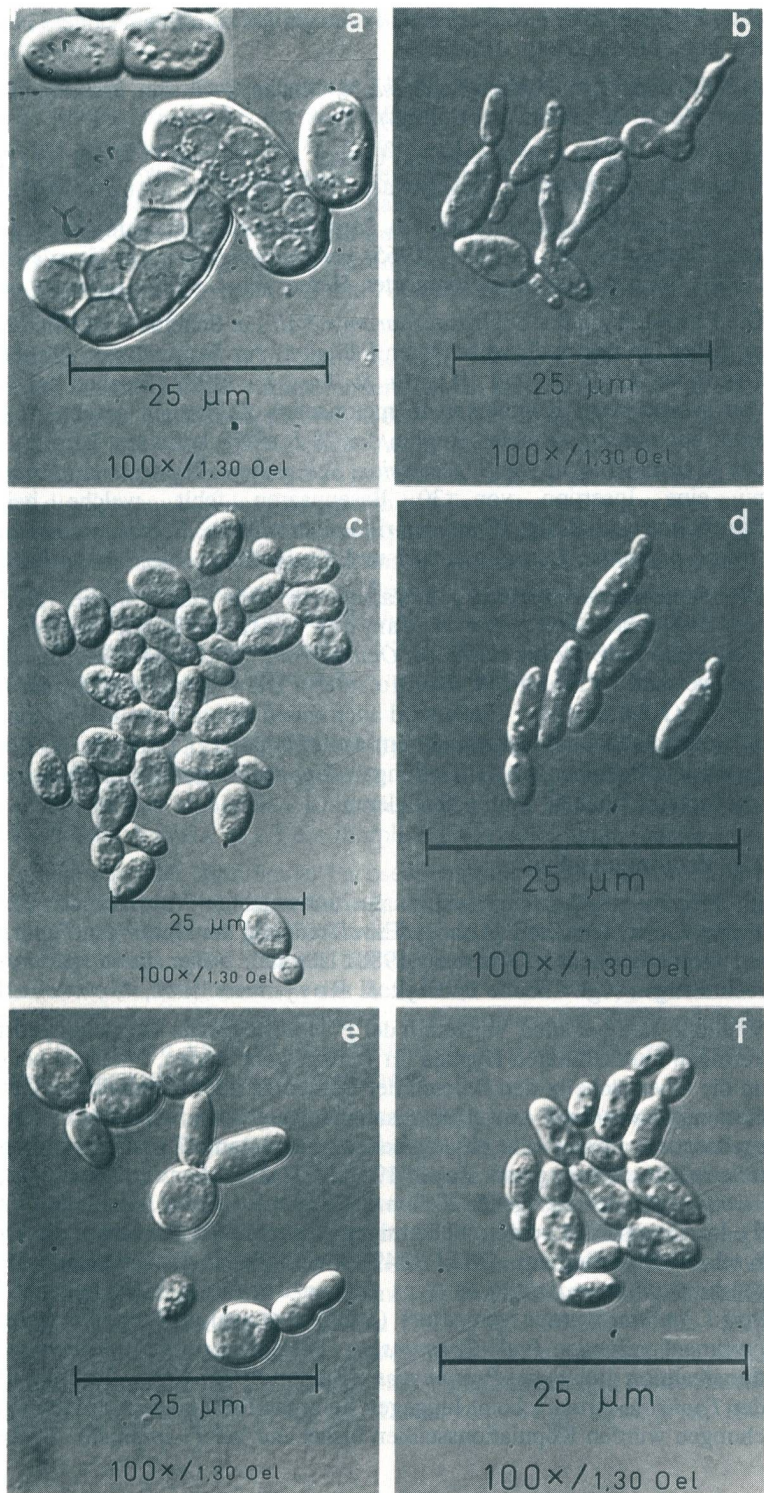


Abb. 1.

siae, *Pichia stipitis* und *Pachysolen tannophilus* signifikant höhere Nukleotidaustauschraten auf (Kurtzman 1989).

d) Zellwandaufbau ähnlich *Taphrina* (α -Glucan, β -Glucan, Mannan als Heteropolysaccharid; Petit & Schneider 1983).

e) physiologische Charakteristika: Urease +, Coenzym Q 9 und 10 (Tabelle 1) bzw. kein Ubichinon nachweisbar: Hasegawaea (Yamada & Banno 1989).

f) vegetative Zellteilung (Abb. 1a). Morphologisch sehr ähnliche Teilungsstadien wurden von Kobayasi & Tubaki (1965) bei *Holtermannia corniformis* und von Prillinger (1988) bei den Homobasidiomyceten-Hefen von *Collybia tuberosa* gezeigt.

Die Basisstellung der *Schizosaccharomycetales* in Schema 1 läßt sich rechtfertigen mit der in dieser Gruppe noch verbreiteten Fähigkeit zur Fermentation (Tabelle 1). Arbeiten von Olson & al. (1978) und Hirata & Tanaka (1982) machen bei *S. pombe* das Fehlen von synaptischen Komplexen in meiotischen Zellkernen glaubhaft. In Strukturanalysen einer hochgradig variablen Region der 28 S rRNS konnten Blanz & al. (1989) zeigen, daß in dem Molekül von *S. cerevisiae*, *Sch. pombe*, *Taphrina deformans* und *T. vestergronii* eine Insertion von 30 Basenpaaren fehlt, welche bei allen typischen Basidiomyceten-Hefen (*Rhodospodium toruloides*, *Septobasidium carestianum*, *Microstroma juglandis*, *Ustilago hordei* und *Exobasidium vaccinii*) vorhanden ist.

Die *Schizosaccaromycetales* umfassen zur Zeit eine Familie (*Schizosaccharomycetaceae* Beijerinck; von Arx & van der Walt 1988) mit drei verschiedene Gattungen (*Schizosaccharomyces*: Co-Q 10, *Octosporomyces*: Co-Q 9 und *Hasegawaea*: kein Co-Q nachweisbar; Yamada & Banno 1989). Die Eigenständigkeit der Gattung *Octosporomyces* (Kudriavzev 1960) wird auch durch das in Tabelle 1 wiedergegebene quantitative Zellwandneutralzuckerspektrum weiter erhärtet (Yamada & Banno 1989). Phylogenetische Beziehungen der Gattungen *Dipodascus* und *Geotrichum* zu den *Schizosaccharomycetales* bleiben weiter abzuklären.

2.3. Protomyces-Typ:

Im Protomyces-Typ sind bisher alle untersuchten Vertreter der *Protomycetaceae* und *Taphrinaceae* enthalten (Abb. 1). Eine Trennung der Gattungen *Taphrina* und *Protomyces* auf Ordnungsebene (Kramer 1988) läßt sich bisher durch kein molekulares Merkmal rechtfertigen (vgl. Tabelle 2, Eijk & Roeymans 1982, Gottschalk & Blanz 1985).

Während sich bei allen Vertretern der *Protomycetaceae* die Chlamydosporen noch an vielkernigen interzellulären Hyphen im Wirtsgewebe finden, treten sie bei den *Taphrina*-Arten an die Oberfläche in den Bereich der Epidermis oder unterhalb der Cutikula (Abb. 2). Die Gattung *Taphridium* mit einer zusammenhängenden, subepidermalen Schicht von Chlamydosporen nimmt eine phylogenetisch interessante Zwischenstellung ein (Abb. 3). Wir teilen die Auffassung von Juel (1902, 1921), welcher die Chlamydosporen der *Protomycetaceae* als den ascogenen Zellen der *Taphrina*-Arten homologe Organe erachtet (Abb. 2). Im Unterschied zu den vielkernigen *Protomycetaceae* bilden die *Taphrina*-Arten dikaryotische Myzelien aus (Mix 1949). Innerhalb der Ascomyceten ist dies bisher nur noch für die *Ophiostomatales* (von Arx & van der Walt 1988) bekannt. In jungen Mycelien von *T. bullata* wurden von Juel (1921) aber auch mehrere Kernpaare pro Hyphenkompartiment gefunden (vgl. *Coemansia*: Prillinger 1984). Hinweise auf eine Konjugationsreaktion gibt es bei *Protomyces* (Büren 1915, 1922, Tubaki 1957). Die Mehrzahl der *Taphrina*-Arten scheint hingegen homothallisch zu sein, trotz eingehenderer Untersuchungen wurden Kopulationsstadien bisher nur bei *T. epiphylla* (Wieben 1927) und *T.*

deformans (Mix 1935) beobachtet. Eine genauere Analyse des Fortpflanzungssystems liegt für beide Gattungen nicht vor.

Prillinger (1987) erachtet unfixiert vielkernige Hyphensysteme als ursprünglich und führt aufgrund seiner Beobachtungen bei der Ascusbildung von *T. sadebeckii* – Aufreißen der äußeren Wand der ascogenen Zelle (Abb. 2; vgl. Juel 1921, Mix 1949) – die Ascusbildung der *Taphrina*-Arten auf siphonale Keimstadien von Chlamydosporen zurück. Die in der vorliegenden Arbeit auf der kokkalen Hefe-Stufe nachgewiesene enge Verwandtschaft der beiden Gattungen *Protomyces* und *Taphrina* erhärtet diese Interpretation (Tabelle 2). Wir teilen dabei nicht die Auffassung von Juel (1902), daß ein Fehlen morphologischer Sexualorgane bei *Protomyces* und *Taphrina* im Sinne einer Reduktion zu deuten ist (vgl. Prillinger 1987).

Siphonale Keimstadien mit Längen bis zu 280 µm wurden bei verschiedenen *Protomyces*-Arten von Tubaki (1957) dokumentiert. Da bei den *Taphrina*-Arten zudem die für viele Euscomycetes charakteristischen Ascus-Vesikel nicht gefunden wurden (Beckett 1981), erachten wir es als sinnvoller den Ascus der *Taphrina*-Arten als siphonales Keimstadium mit meiotischen Endosporen zu betrachten. Syrop & Beckett (1972) konnten zeigen, daß die Sporenwand der Endosporen bei *Taphrina* direkt aus Einstülpungen der Cytoplasmamembran hervorgeht. Diesem siphonalen Keimstadium von Chlamydosporen kommt die Funktion eines Meiosporangiums zu, welches eine Höherentwicklung von einer unfixierten Vielzahl von Meiosekernen (*Protomyces*) zu einem einzigen meiotischen Zellkern – fixiertes Meiosporangium der *Taphrina*-Arten – erkennen läßt. Vielkernige Meiosporangien Mutterzellen („ascogene Zellen“) sind auch für die auf Farnen parasitierenden Arten *Mixia osmundae* und *Taphrina higginsii* bekannt (Mix 1947, Kramer 1958).

Wir teilen die Auffassung von Savile (1955, 1968), daß sich die *Protomycetaceae* über die auf *Osmundaceae* parasitierende Gattung *Mixia* sinnvoll an siphonale Zygomyceten anschließen lassen. Die in den siphonalen Keimsporangien von *Mixia osmundae* noch erhaltene Columella liefert Savile (s.o.) ein morphologisch gutes Indiz hierfür.

Aus dieser Sicht scheint auch der signifikante Fucose-Gehalt der Zellwand von *Taphrina vestergrenii* interessant. Diese Art kommt parasitisch auf Farnen vor (*Dryopteris filix-mas*; Tabelle 2, Abb. 1d). Von Weijman (1977) wurde Fucose in Ganzzellhydrolysaten von *Mucor mucedo* nachgewiesen. Da Fucose bei keiner weiteren *Protomyces*- und *Taphrina*-Art gefunden wurde, erachteten wir das Hefe-Isolat von *T. vestergrenii* zunächst als Kontaminante. Durch eine elektrophoretische Auftrennung der Zellwandproteine konnte Dörfler (1990) diesen Verdacht nicht bestätigen. *T. vestergrenii* zeigte die für die Gattung *Taphrina* charakteristischen Proteinbanden.

Eine von Goto & al. (1987) vermutete nahe Verwandtschaft von *Taphrina*-Arten mit der imperfekten (anamorphen) Hefe *Saitoella complicata* läßt sich durch die in der vorliegenden Arbeit erzielten Daten nur eingeschränkt weiter erhärten. Zwar stimmen die physiologischen Daten (Ausnahme: EAS -; vgl. wenige schwach EAS + *Taphrina*-Arten sowie *T. purpurascens* EAS - Laaser 1989), das Coenzym Q (10), der DBB-Test (-) und die Ultrastruktur der Zellwand (zweischichtig; enteroblastische Knospung) von *Saitoella* und *Taphrina*-Arten weitgehend überein, nach Sugiyama & al. (1985) wurden aber für *Saitoella* nur sehr geringe Rhamnosemengen gefunden (1-2%; vgl. Tabelle 2). Da Sugiyama & al. (1985) für ihre Untersuchungen Ganzzellhydrolysate verwendeten, welche nach unserer Erfahrung einen höheren Rhamnosegehalt vortäuschen (vgl. Werte für *Rhodsporidium*-Arten Prillinger & al. 1990a und Daten von Sugiyama & al. 1985),

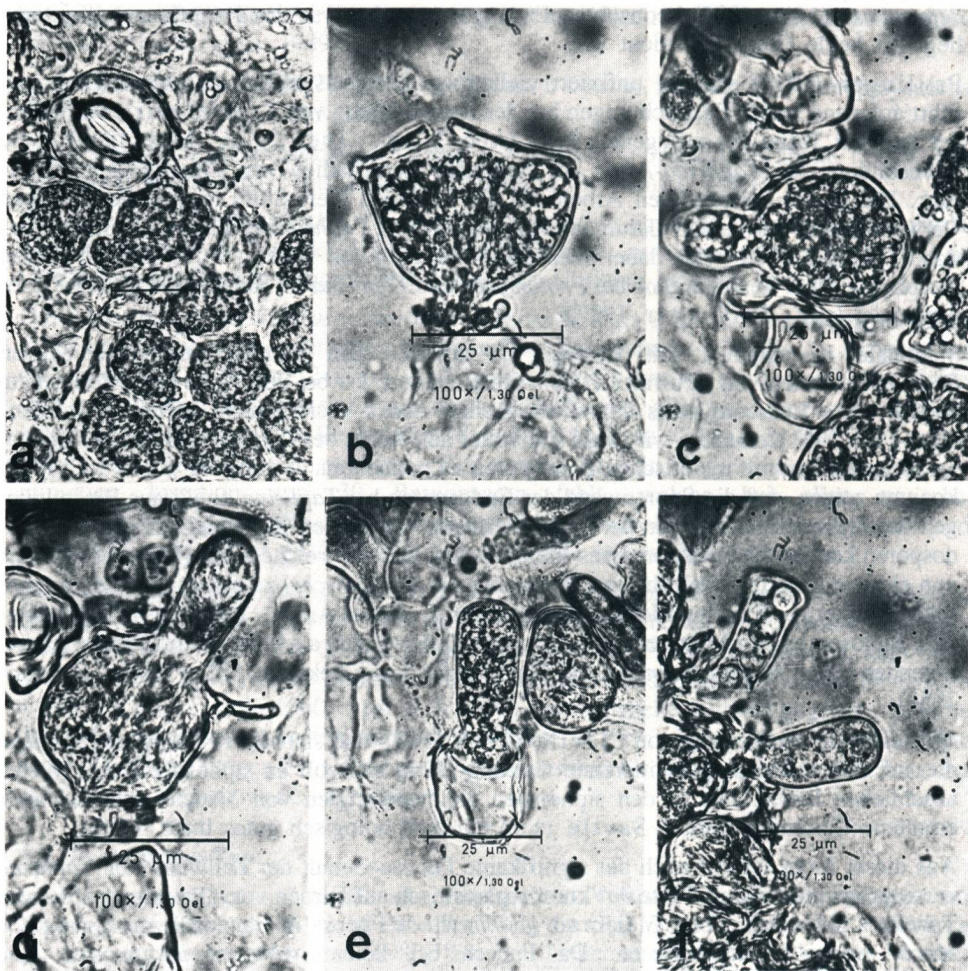


Abb. 2. Stadien der Endosporenbildung bei *Taphrina sadebeckii*.

- a) Chlamydosporen (ascogene Zellen) im Bereich der unteren Blattepidermis.
- b) Aufreißen der äußeren Chlamydosporenwand.
- c, d) Austreten des siphonalen Keimschlauches.
- e, f) Endosporenbildung im jungen Meiosporangium.

Fig. 2. *Taphrina sadebeckii*: endospore formation.

- a) chlamydospores (ascogenous cells) between epidermis cells.
- b) rupture of the outer chlamydospore wall.
- c, d) appearance of a „siphonal“ germination tube.
- e, f) endospore formation within a juvenile meiosporangium (ascus).

sollten die Rhamnose Daten für *Saitoella* an gereinigtem Zellwandmaterial nochmals analysiert werden. Die zentrale Bedeutung dieses Charakter-Zuckers für den *Protomyces*-Typ geht aus Tabelle 2 hervor.

Die in Schema 1 zum Ausdruck gebrachte, sehr ursprüngliche Stellung des *Protomyces*-Typs läßt sich durch folgende Daten belegen:

Das Wirtsspektrum der *Protomyces*- und *Taphrina*-Arten reicht von höchstentwickelten Angiospermen (*Asteraceae*) bis zu sehr ursprünglichen Gruppen von Farnen wie die *Osmundaceae*. Wedelreste mit Sporangien von Vertretern der *Osmundaceae* (*Discopteris*, *Todeopteris*, *Kidstonia*) sind aus dem Oberkarbon mit einem Alter von ca. 300 Millionen Jahre bekannt (Mägdefrau pers. Mitt.). Strukturerhaltene Stämme (*Thamnopteris*, *Zallesskya*) kennt man seit dem Perm. Wir teilen die Auffassung von Dietel (1904), daß sich obligat parasitische Beziehungen bereits in der noch plastischen Frühphase der Familien-Differenzierung etabliert haben (Boehm & McLaughlin 1989). Verschiedene morphologische Merkmale von *Mixia osmundae*, dem einzigen Vertreter der *Protomycetaceae* mit Columella und passiver Sporenfreisetzung (Kramer 1958) erhärten dies weiter. Nach Kramer (1958) weist die Gattung *Mixia* sowohl Merkmale der *Protomycetaceae* als auch *Taphrinaceae* auf. Aufgrund ihres vielkernigen, wenig septierten Myzels und großer Ähnlichkeiten im Verlauf der Sporenbildung wird *Mixia* von Kramer (1958) zu den *Protomycetaceae* gestellt.

Innerhalb der Angiospermen finden sich die *Taphrina*-Arten fast ausschließlich auf den ursprünglichen holzigen Vertretern mit einer Ausnahme: *T. potentillae* auf krautigen *Geum*- und *Potentilla*-Arten (Mix 1949). *Protomyces*, *Protomycopsis* und *Taphridium* hingegen parasitieren auf phylogenetisch sehr jungen krautigen Vertretern der *Asteraceae*, *Cichoriaceae* und *Apiaceae*. Vertreter der *Protomycetaceae* kommen damit sowohl auf sehr ursprünglichen Wirten (*Osmundaceae*) als auch extrem abgeleiteten Wirten (*Apiaceae*, *Asteraceae* und *Cichoriaceae*) vor. Das enorm breite Wirtsspektrum einerseits und andererseits das Vorkommen eines sehr ähnlichen qualitativen und quantitativen Neutralzuckerspektrums gereinigter Hefezellwände, ein weitgehend identisches Ubichinon-System (Q-10), die Bildung von EAS und eine nahezu übereinstimmende Primär- und Sekundärstruktur der 5S rRNS (Walker 1985, Gottschalk & Blanz 1985) unterstreichen den phylogenetisch ursprünglichen Charakter der kokkalen Organisationsstufe (= Hefe) bei *Protomyces*- und *Taphrina*-Arten (Oberwinkler 1977, 1985, Prillinger 1987). Kaum untersucht wurde bisher die Frage, inwieweit sich auf der kokkalen Organisationsstufe das dünnwandige vegetative Hefestadium auf ein möglicherweise phylogenetisch älteres, derbwandiges, kokkales Einzellerstadium mit Dauersporenfunktion zurückführen läßt.

Die Existenz signifikant dickerer, mehrschichtiger Zellwände bei Zygomyceten-Hefen, welche bei der Knospung noch häufig unregelmäßig zerreißen, waren lange ein Grund, Zygomyceten-Hefen aus den Hefen auszuklammern (Forst & Prillinger 1988, Forst & Prillinger unveröffentlicht). Untersuchungen zur Ultrastruktur der Hefeknospung von Lara & Bartnicki-Garcia (1974) haben für *Rhizopus (Mucor) rouxii* aber deutlich gemacht, daß die Knospung weitgehend mit dem für Basidiomyceten-Hefen charakteristischen Typ übereinstimmt (Kreger-van Rij & Veenhuis 1971). Auf eine nähere Verwandtschaft der Zygo- und Basidiomyceten-Hefen weist auch der für *Mycotypha*-Hefen positive DBB-Test hin (Kraepelin pers. Mitteilung).

Die phylogenetische Herkunft der Ascomyceten-Hefen ist zur Zeit hingegen weitgehend unklar. Biochemische Untersuchungen der Zellwand von Ascosporen und vegetativen Hefezellen bei *Saccharomyces cerevisiae* deuten aber auch hier auf eine mögliche Herkunft

der vegetativen Hefe-Stadien von derbwandigen Dauerformen hin (Breitenbach pers. Mitteilung). Über diesen Weg lassen sich zudem die Chitinpilze mit einem ontogenetischen Hefestadium (Zygo-, Asco- und Basidiomyceten) problemlos an phylogenetisch ursprünglichere Sippen mit einer nackten vielkernigen vegetativen Plasmodiumphase anknüpfen (vgl. rhizopodiale Organisationsstufe: Prillinger 1987). Auf die Vielkernigkeit der Zygomyceten-Hefen weisen Forst & Prillinger (1988) hin. Zellwandlose, vielkernige, hyphenähnliche Stadien, welche derbwandige Dauersporen – kokkale Organisation – ausbilden, sind auch für die parasitische Gattung *Coelomyces* (Chytridiomycetes) bekannt (Bland & Couch 1985). Fest steht, daß in älteren Hefekulturen von *Protomyces* und *Taphrina* solche derbwandigen Einzellerstadien auftreten.

Von den *Taphrinaceae* sind zur Zeit ca. 97 Arten weltweit bekannt, bei den *Protomycetaeae* sind es etwa 19 (Mix 1949, Tubaki 1957).

Inwieweit der hohe Glukose Gehalt in den Zellwänden der rezenten *Protomyces*- und *Taphrina*-Arten auf ein Vorliegen von Heterobathmie hinweist, läßt sich zur Zeit noch schwer abschätzen. Die deutlich tieferen Werte für das untersuchte Isolat von *Ophiostoma* deuten zunächst darauf hin. Sie bedürfen aber einer weiteren Bestätigung.

In ähnlicher Weise dürfte sich auch das Fehlen von Haustorien bei den meisten *Taphrina*-Arten erklären lassen (Mix 1949, Marte & Gargiulo 1972). Feststeht, daß sich Haustorien noch bei verschiedenen *Taphrina*-Arten auf Farnen (*T. laurencia*: Giesenhagen 1892, *T. higginsii*, *Mixia osmundae*: Mix 1947) sowie einer *Taphrina*-Art auf Zingiberaceae (*T. maculans*: Butler 1911) finden lassen.

Die Nucleotid-Sequenzen der 5S und 28S rRNS (Walker 1985, Gottschalk & Blanz 1985, Blanz & al. 1989, Kurtzman 1989) sowie die Spindelpolkörper mitotischer Zellkerne (Heath & al. 1988) sind weitere wichtige Merkmale, welche die sehr ursprüngliche Stellung der Organismen des *Protomyces*-Typs rechtfertigen.

Aufgrund dieser phylogenetisch primitiven Stellung der Vertreter des *Protomyces*-Typs im Stammbaum der Basidiomyceten stellt sich die Frage, inwieweit sich nicht auch Fruchtkörper bildende Ascomyceten auf diesen Typ zurückführen lassen. Nach De Hoog & Scheffer (1984) und Weijman & de Hoog (1985; vgl. Samuels & Müller 1979) ist Rhamnose ein charakteristisches Differenzierungsmerkmal um die Gattung *Ophiostoma* von der Gattung *Ceratocystis* abzutrennen (vgl. Weijman & de Hoog 1975). Wir haben deshalb ein *Ophiostoma*-Isolat aus älteren *Fomitopsis pinicola* Fruchtkörpern in unsere Zellwanduntersuchungen miteinbezogen. Die Art wurde zunächst von Helfer als *O. epigloeum* (Guerro) de Hoog bestimmt. Constantinescu & Ryman (1989) haben diese Art inzwischen von anderen *Ophiostoma*-Arten abgegrenzt und als *O. polyporicola* beschrieben. Nach Helfer (pers. Mitteilung) stimmt seine Aufsammlung in den morphologischen Merkmalen mit *O. polyporicola* überein. *O. polyporicola* ließ sich wie folgt charakterisieren: GLC 43% MAN 32% RHA 26 % (vgl. Dörfler 1990). Das qualitative Neutralzuckerspektrum entspricht damit weitgehend dem *Protomyces*-Typ. Interessant ist der im Vergleich zu *Protomyces*- und *Taphrina*-Arten niedrige Glukose- und hohe Manno-se-Gehalt. Bei einer größeren Zahl von *Ophiostoma*-Arten wurde von Weijman & De Hoog (1985) auch Galaktose nachgewiesen. Da *Ophiostoma*-Arten in ihren Zellwänden einen geringen Zellulose-Anteil enthalten, welcher mit der in dieser Arbeit angewandten Methodik nicht erfaßt wurde, bleibt die Abklärung verwandtschaftlicher Beziehungen zwischen *Protomyces*- und *Taphrina*-Arten einerseits und *Ophiostoma*-Arten andererseits zukünftigen Untersuchungen vorbehalten (Weijman 1976). Zumindest für verschiedene *Protomyces*-Arten ist eine positive Chlor-Zink-Jod Reaktion als Indiz für Zellulose von Chlamydosporen und Hyphen bekannt (Büren 1917, Tubaki 1957).

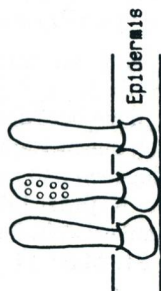
INTERPRETATION DER ASCUSBILDUNG BEI TAPHRINA

SIPHONALER KEIMSCHLAUCH MIT ENDOSPoren

T. carpini
(Sadebeck 1884)



Taphrina



Epidermis

Chlamydosporen epidermal
oder subcuticular fixierte
Endosporenzahl (meist 8)

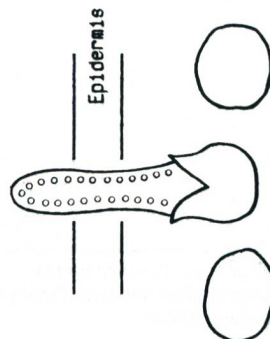
Taphridium

Epidermis



Chlamydosporen eingezeichnetig
unterhalb der Epidermis

Protomyces



Epidermis

Chlamydosporen unregelmäßig
im Hinfengewebe verteilt
unfixierte Endosporenzahl

Abb. 3. Interpretation der „Ascusbildung“ bei *Taphrina* als siphonaler Keimschlauch mit Endosporen.

Fig. 3. A novel interpretation of „ascus formation“ in *Taphrina*. Ascus: „siphonal“ germ tube producing endospores.

Zusammenfassung: Molekulare Daten (Zellwandzucker, Bildung von EAS, 5S rRNS, Co-Q, Carotinoide) des kokkalen Einzellerstadiums (Hefe) sprechen zugunsten einer nahen Verwandtschaft der *Protomycetaceae* und *Taphrinaceae*. Aufgrund eines sehr breiten Wirtsspektrums (*Osmundaceae* bis *Asteraceae*) darf auf ein hohes phylogenetisches Alter der Hefe-Stadien von *Protomyces*- und *Taphrina*-Arten geschlossen werden. Ihre morphologisch nur wenig differenzierten Myzelien nehmen eine sehr ursprüngliche Stellung im Stammbaum der Basidiomyceten ein. Von dem *Protomyces*-Typ dürften sich sowohl Basidiomyceten als auch Fruchtkörper-bildende Ascomyceten ableiten. In mehreren wichtigen Hefe-Merkmalen (DBB-Test, zweischichtige Zellwand im EM. von Arx & al. 1982) entsprechen die Vertreter des *Protomyces*-Typ noch den Ascomyceten.

Für ein Verständnis der Höherentwicklung von Ascomyceten mit Endosporen zu Basidiomyceten mit exogenen Sporen liefern Sadebeck (1884) und Oberwinkler (1985) deutliche Hinweise (Abb. 3). Sadebeck kann bei *Taphrina carpini* zeigen, daß einzelne Asci, in destilliertes Wasser getaucht, nach außen Hefeknospen abgeben. Ein morphologisch sehr ähnliches Vorkommen von endogenen und exogenen Sporen ist in der Gattung *Aureobasidium* verbreitet (Hermanides-Nijhof 1977). *A. pullulans* (Pr 1987/4) entspricht in seinem qualitativen und quantitativen Zellwand-Neutralzuckerspektrum weitgehend den *Schizosaccharomycetales* (Glc: 81, Man: 14, Gal: 3, Ara: 1 %).

Danksagung

Für zahlreiche anregende Diskussionen und interessante Hefe-Isolate ist der Erstautor Herrn Prof. Dr. F. Oberwinkler großen Dank schuldig. Wichtige Hefe Stämme wurden auch von Prof. Dr. Dipl.-Ing. U. Stahl, Prof. Dr. P. Blanz, Dr. P. Hoffmann, Herrn W. Helfer und Herrn K. Scheide in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt. Herr Prof. Dr. K. Mägdefrau verdankt der Erstautor wertvolle Hinweise über das fossile Vorkommen der *Osmundaceae*. Für wichtige Literaturhinweise haben wir Herrn Dr. B. Schulz zu danken. Ebenso sei eine Einführung in die Hefephysiologie (G. Laaser) durch Frau Dr. M. Th. Smith dankenswert erwähnt. Sehr nützliche Ratschläge zur Isolation der Ubichinone erhielten wir von Prof. Dr. Y. Yamada. Für die Bereitstellung einer „French-Press“ zum Zellaufschluß gilt Herrn Prof. Dr. R. Schmitt und für eine Einführung zur Bedienung Frau A. Mitter unser Dank. Herrn Prof. Dr. A. Bresinsky, Prof. Dr. W. Tanner und Prof. Dr. G. Hauska sei für die großzügige Förderung und materielle Unterstützung sowie Herrn K. Ziegler für die Betreuung bei den Ubichinon-Analysen und Herrn Th. Backe und Ing. A. Dietrich für die Einführung und Hilfe bei der Textverarbeitung herzlich gedankt. Seiner Frau Judith ist der Erstautor für die Geduld und Hilfe bei der Herstellung der Abbildungen dankbar verbunden. Frau S. Korcz hat sich durch die Anzucht und sorgfältige Betreuung der Hefe-Kulturen verdient gemacht. Gefördert durch Sachmittel der DFG (Pr 238/4).

Schema 1. Hefe-Typen der Basidiomyceten.

Phylogenetische Interpretation mit einer Zusammenfassung wichtiger morphologischer, anatomischer, physiologischer und molekularer Daten.

Scheme 1. Yeast-types in the Basidiomycetes.

Phylogenetic interpretation with a summary of characteristic morphological, anatomic, physiological, and molecular features.

HEFE-TYPEN der BASISDIOMYCETEN

MYCETEN
HOMOBASIDIOMYCETEN

SCHIZOSACCHAROMYCES
OCTOSPOROMYCES
HASEGAWAEA

PROTOMYCES
TAPHRINA

USTILAGO-TYP.

M: PHRAGMO- und EINFACHE
HOLOBASIDIEN
ZW: EM mehrschichtig
ZUCKER: GLC;MAN;GAL
DBB +
Ph: UREASE +, EAS -
SS: RNS: TYP B (3)

MICROBOTRYUM-TYP

1: PHRAGMO- und EINFACHE
HOLOBASTIDIEN
ZW: EM mehrschichtig
ZUCKER: MAN; GLC; GAL; FUC; (RHA)
DBB +
PH: UREASE +, EAS -
SS PRNS: TYP A (1,2)

DACRYMYCES-TYP

Ph: UREASE +; EAS -
TREMELLA-TYP
ZW. u. SS rNS wie
EINFACHE HOLOBASIDIEN

TREMELLA-TYP

M: PHRAGMO, EINFACHE und
KOMPLEXE HOLOBASIDIEN
ZW: EM mehrschichtig
ZUCKER: GLC:MAN;XYL
DBB +
PH: UREASE +; EAS +
SS: rNS: TYP B (5)

SCHIZOSACCHAROMYCETALES

M: HEFEN MIT ENDOSPOREN
ZU: EM zweischichtig
ZUCKER: GLC; MAN; GAL
DBB -
PH: UREASE +; EAS -
SS CMS: INTERMEDIÄR (ASCO/BASIDIOMYCETEN)

PROTOMYCES-TYP

M: SIPHONALER KEIMSCHLAUCH
MIT ENDOSPoren (=Ascus)
ZU: EW zweischichtig
ZUCKER: GLC; MAN; GAL; RHA
DBB -
Ph: UREASE +; EAS +
ESS rNS: BASIDIOMYCETEN-TYP (A, B)

Literatur

- ARX von J. A. & J. P. van der WALT (1988) – *Ophiostomatales* and *Endomycetales*. – In Hoog G. S. de & al.: The expanding realm of yeast-like fungi, Elsevier Sci. Publ., Amsterdam pp. 166–176.
- , VAN DER WALT, J. P. & N. V. D. M. LIEBENBERG (1982) – The classification of *Taphrina* and other fungi with yeast-like cultural states. – *Mycologia* 74: 285–296.
- BALLOU, C. E. (1974) – Some aspects of the structure, immunochemistry, and genetic control of yeast mannans. – *Adv. Enzymol.* 40: 239–270.
- BALZI, E., DI PIETRO, A., GOFFEAU, A., HEERIKHUIZEN, H. van & J. KLOOTWIJK (1985) – The RNA polymerase I initiation site and the external transcribed spacer of the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* ribosomal RNA genes. – *Gene* 39: 165–172.
- BANDONI, R. J. (1984a) – The *Tremellales* and *Auriculariales*: An alternative classification. – *Trans. mycol. Soc. Jap.* 25: 489–530.
- (1984b) – *Tremellales* with a yeast phase (*Sirobasidiaceae* and *Tremellaceae*). In Kreger-van Rij, N. J. W. (ed.): The yeasts – a taxonomic study, 3rd ed., pp 541–544. Elsevier Sci. Publ., Amsterdam.
- BARNETT, J. A., PAYNE, R. W. & D. YARROW (1983) – Yeasts: Characteristics and identification. Univ. Press Cambridge.
- BARTNICKI-GARCIA, S. (1970) – Cell wall composition and other biochemical markers in fungal phylogeny. In Harborne, J. B. (ed.) *Phytochemical phylogeny*. Academic press London New York pp. 82–103.
- BECKETT, A. (1981) – Ascospore formation. In: Turian, G. & Hohl, H. R. (eds.) “The fungal spore: morphogenetic controls.” Academic Press, New York pp. 107–129.
- BILLON-GRAND, G. (1989) – Influence on minor peaks of coenzymes Q of the glucose concentration in the culture medium, the stage of the growth cycle, and the duration of the coenzyme Q extraction: required conditions for determining the minor coenzymes Q. – *J. Gen. Appl. Microbiol.* 35: 261–268.
- BLAND, C. E. & J. N. COUCH (1985) – Structure and Development. In Couch, J. N. & Bland, C. E. (eds.) „The genus *Coelomyces*“. Academic Press, Orlando pp. 23–80.
- BLANZ, P. A., UNSELD, M. G. & RAUH (1989) – Group-specific differences in the secondary structure of the 28S ribosomal RNA of yeasts. *Proc. 7th. Int. Symp. Yeasts. Yeast* 5: S399–S404. Wiley & Sons Chichester.
- BOEHM, E. W. A. & D. J. MCLAUGHLIN (1989) – Phylogeny and ultrastructure in *Eocronatium musciola*: meiosis and basidial development. – *Mycologia* 81: 98–114.
- BOOTH, J. L. & H. S. VISHNIAC (1987) – Urease testing and yeast taxonomy. – *Can. J. Microbiol.* 33: 396–404.
- BRIZA, P., ELLINGER, A., WINKLER, G. & M. BREITENBACH (1990) – Characterization of a D, L-dityrosine-containing macromolecule from yeast ascospore walls. – *J. Biol. Chem.* 265: 15118–15123.
- BÜREN, G. von (1915) – Die Schweizerischen *Protomycetaceen* mit besonderer Berücksichtigung ihrer Entwicklungsgeschichte und Biologie. – *Beitr. Krypt. Fl. Schweiz* 5 (1): 1–95.
- (1917) – Beitrag zur Biologie Entwicklungsgeschichte von *Protomyces inundatus* Dang. – *Mitteil. naturf. Gesellsch. Bern* pp. 109–132.
- (1922) – Weitere Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Biologie der *Protomycetaceen*. – *Beitr. Krypt. Fl. Schweiz* 5 (3): 1–94.
- BUTLER, E. J. (1911) – The leaf spot of Turmeric (*Taphrina maculans* sp. nov.) – *Ann. Mycol.* 9: 93–39.
- BUSH, D. A., HORISBERGER, M., HORMAN, I. & P. WURSH (1974) – The wall structure of *Schizosaccharomyces pombe*. – *J. Gen. Microbiol.* 81: 199–206.
- CABIB, E., ROBERTS, R. & B. BOWERS (1982) – Synthesis of the yeast cell wall and its regulation. – *Ann. Rev. Biochem.* 51: 763–793.
- CHRISTENSEN, W. B. (1946) – Urea decomposition as a means of differentiating *Proteus* and *Paracolon* cultures from each other and from *Salmonella* and *Shigella*. – *J. Bacteriol.* 52: 461–466.
- CLARK-WALKER, G. D., HOEBEN, P., PLAZINSKA, A., SMITH, D. K. & E. H. WIMMER (1988) – Application of mitochondrial DNA analysis to yeast systematics. In Hoog G. S. de & al. (eds.) The expanding realm of yeast-like fungi. Elsevier Sci. Publ. Amsterdam pp. 259–266.
- CONSTANTINESCU, O. & S. RYMAN (1989) – A new *Ophiostoma* on Polypores. – *Mycotaxon* 34: 637–642.
- DIETEL, P. (1904) – Betrachtungen über die Verteilung der Uredineen auf ihren Wirtspflanzen. – *Zentbl. Bakt.* 2 Abt. 12: 218–234.
- DÖRFLER, CH. (1990) – Vergleichende Untersuchungen zum biochemischen Aufbau der Zellwand an Hefestadien von niederen und höheren Basidiomyceten. – *Bibl. Mycologica* 129: 1–164.
- , LEHLE, L. & H. PRILLINGER (1986) – Vergleichende Zellwandanalysen an Basidiomycetenhefen aus Homobasidiomyceten. – *Z. Mykol.* 52: 347–358.
- EIJK, G. W. & H. J. ROEYMAN (1982) – Distribution of carotenoids and sterols in relation to the taxonomy of *Taphrina* and *Protomyces*. – *Antonie van Leeuwenhoek* 48: 257–264.

- ERARD, M., BARKER, D. & J. GREEN (1988) – Is chromosome condensation a phylogenetic marker? In Hoog, G. S. de & al. (eds.) The expanding realm of yeast-like fungi. – Elsevier Sci. Publ. Amsterdam pp. 267–277.
- FORST, Th.G. & H. PRILLINGER (1988) – Vergleichende karyologische Untersuchungen an dimorphen Zygomyceten. – Z. Mycol. 54: 139–154.
- FUSON, G.B., PRICE, C.W. & H.J. PHAFF (1979) – Deoxyribonucleic Acid Sequence Relatedness Among Some Members of the Yeast Genus *Hansenula*. – Int. J. System. Bacteriol. 29: 64–69.
- (1980) – Deoxyribonucleic Acid Base Sequence Relatedness among Strains of *Pichia ohmeri* that Produce Dimorphic Ascospores. – Int. J. System. Bacteriol. 30: 217–219.
- GIESENHAGEN, K. (1892) – Ueber Hexenbesen an tropischen Farnen. – Flora 76: 130–156.
- GORIN, P.A.J. & J.F.T. SPENCER (1970) – Proton magnetic resonance spectroscopy – an aid in identification and chemotaxonomy of yeasts. – Advanc. Appl. Microbiol. 13: 25–89.
- GOTO, S., SUGIYAMA, J. & M. HAMAMOTO (1987) – *Saitoella*, a new anamorph genus in the *Cryptococcaceae* to accommodate two himalayan yeast isolates formerly identified as *Rhodotorula glutinis*. – J. Gen. Appl. Microbiol. 33: 75–85.
- GOTTSCHALK, M. & P.A. BLANZ (1985) – Untersuchungen an 5S ribosomalen Ribonukleinsäuren als Beitrag zur Klärung von Systematik und Phylogenie der Basidiomyceten. – Z. Mykol. 51 (2): 205–243.
- HAGLER, A.N. & D.G. AHEARN (1981) – Rapid diazonium blue B test to detect basidiomycetous yeasts. – Int. J. Syst. Bacteriol. 31: 204–208.
- HEATH, I.B., ASHTON, M.L. & S.G.W. KAMINSKYI (1988) – Mitosis as a phylogenetic marker among the yeasts – review and observations on novel mitotic systems in freeze substituted cells of the *Taphrinales*. In Hoog G.S. de & al. (eds.) The expanding realm of yeast-like fungi Elsevier Sci. Publ. Amsterdam pp. 279–297.
- HERMANDES-NIJHOF, E.J. (1977) – *Aureobasidium* and allied genera. – Stud. Mycol. 15: 141–177.
- HIRATA, A. & K. TANAKA (1982) – Nuclear behaviour during conjugation and meiosis in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. – J. Gen. Appl. Microbiol. 28: 263–274.
- HOOG, G.S.de & R.J. SCHEFFER (1984) – *Ceratocystis* versus *Ophiostoma*: a reappraisal. – Mycologia 76: 292–299.
- , SMITH, M.Th. & E. GUEHO (1986) – A revision of the genus *Geotrichum* and its teleomorphs. – Stud. Mycol. 29: 1–131.
- HORISBERGER, M., VONLANTHEN, M. & J. ROSSET (1978) – Localization of a-Galactomannan and of Wheat Germ Agglutinin Receptors in *Schizosaccharomyces pombe*. – Arch. Microbiol. 119: 107–111.
- JONES, T.M. & P. ALBERSHEIM (1972) – A gaschromatographic method for the determination of aldose and uronic acid constituents of plant cell wall polysaccharides. – Plant. Physiol. 49: 926–936.
- JUEL, H.O. (1902) – *Taphridium* Lagerh. & Juel, eine neue Gattung der *Protomycetaceen*. – Bihang Svenska Vet. Akad. Handl. 27: 1–29.
- (1921) – Cytologische Pilzstudien, II. Zur Kenntnis einiger Hemiasceen. – Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsaliensis 5: 3–43.
- KOBAYASI, Y. & K. TUBAKI (1965) – Studies on cultural characters and asexual reproduction of Heterobasidiomycetes. I. – Trans. Mycol. Soc. Japan 6: 29–36.
- KRAMER, C.L. (1958) – A new genus in the *Protomycetaceae*. Mycologia 50: 916–926.
- (1988) – The *Taphrinales*. In Hoog, G.S. de & al. (eds.) The expanding realm of yeast-like fungi. Elsevier Sci. Publ. Amsterdam pp. 151–166.
- KREGER-van RIJ, N.J.W. (1984) – The yeasts. Elsevier Sci. Publ. Amsterdam.
- & M. VEENHUIS (1971) – A comparative study of the cell wall structure of basidiomycetous and related yeasts. – J. Gen. Microbiol. 68: 87–95.
- KUDRIAVZEV, W.I. (1960) – Die Systematik der Hefen. Akademie-Verlag, Berlin.
- KURAIISHI, H., KATAYAMA-FUJIMURA, Y., SUGIYAMA, J. & T. YOKOYAMA (1985) – Ubiquinone systems in fungi I. Distribution of ubiquinones in the major families of ascomycetes, basidiomycetes, and deuteromycetes, and their taxonomic implications. – Trans. mycol. Soc. Japan 26: 383–395.
- KURTZMAN, C.P. (1984) – Synonymy of the yeast genera *Hansenula* and *Pichia* demonstrated through comparisons of deoxyribonucleic acid relatedness. – Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol. 50: 209–217.
- (1989) – Estimation of Phylogenetic Distances among Ascomycetous Yeasts from Partial Sequencing of Ribosomal RNA. – Proc. 7th Int. Symp. Yeasts. Yeast 5: S351–S354. Wiley & Sons Chichester.
- LAASER, G. (1989) – Vergleichende systematische Studien an Basidiomycetenhefen unter besonderer Berücksichtigung der Hefestadien. – Bibliotheca Mycologica 130: 1–325.
- LACHANCE, M.-A. (1989) – Restriction mapping of rDNA and the taxonomy of *Kluyveromyces* van der Walt emend. van der Walt. – Proc. 7th Int. Symp. Yeasts. Yeast 5: S379–S383. Wiley & Sons Chichester.
- LARA, S.L. & S. BARTNICKI-GARCIA (1974) – Cytology of budding in *Mucor rouxii*: wall ontogeny. – Archiv Mikrobiol. 97: 1–16.

- LODOLO, E.J., ROSSOUW, F.T. & N.P. FERREIRA (1990) – Mitochondrial DNA Analyses of the *Lipomyces* family. – System. Appl. Microbiol. 13: 1–7.
- MARTE, M. & A.M. GARGIULO (1972) – Electron microscopy of Peach leaves infected by *Taphrina deformans* (Berk.) Tul. – Phytopath. medit. 11: 166–179.
- MIX, A.J. (1935) – The life history of *Taphrina deformans*. – Phytopathology 25: 41–66.
- *Taphrina osmundae* Nishida and *Taphrina higginsii* sp. nov. – Mycologia 39: 71–76.
- A monograph of the genus *Taphrina*. – Univ. Kansas Sci. Bull. 33: 3–167.
- MOBLEY, H.L.T. & R.P. HAUSINGER (1989) – Microbial Ureases: Significance, Regulation, and Molecular Characterization. Microbiol. Rev. 53: 85–108.
- NAKASE, T. & M. SUZUKI (1985) – Taxonomic studies on *Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder et Kreger-van Rij and related species. II. Practical discrimination and nomenclature. J. Gen. Appl. Microbiol. 31: 71–86.
- (1986) – The ubiquinone system in strains of species in the ballistospore-forming yeast genera *Sporidiobolus*, *Sporobolomyces* and *Bullera*. – J. Gen. Appl. Microbiol. 32: 251–258.
- (1988) – Isolation and maintenance of ballistospore-forming yeasts. In Hoog, G.S. de & al. (eds.) The expanding realm of yeast-like fungi. pp 375–387 Elsevier Sci. Publ. Amsterdam.
- OKADA, G., SUGIYAMA, J., ITOH, M. & M. SUZUKI (1989) – *Ballistosporymyces*, a new ballistospore-forming anamorphic yeast genus. – J. Gen. Appl. Microbiol. 35: 289–309.
- OBERWINKLER, F. (1977) – Das neue System der Basidiomyceten. In Frey, W. & al. (eds.): Beiträge zur Biologie der niederen Pflanzen, Fischer, Stuttgart pp. 59–105.
- (1978) – Was ist ein Basidiomycet? – Z. Mykol. 44: 13–29.
- (1985) – Anmerkungen zur Evolution und Systematik der Basidiomyceten. – Bot. Jahrb. Syst. 107: 541–580.
- (1988) – Heterobasidiomycetes with ontogenetic yeast-stages – systematic and phylogenetic aspects. In Hoog, G.S. de & al. (eds.): The expanding realm of yeast-like fungi, Elsevier Sci. Publ., Amsterdam pp. 61–74.
- OLSON, L. W., EDEN, U., EGEL-MITANI, M. & R. EGEL (1978) – Asynaptic meiosis in fission yeast? – Hereditas 89: 189–199.
- PETIT, M. & A. SCHNEIDER (1983) – Chemical analysis of the yeast form of *Taphrina deformans*. – Arch. Microbiol. 135: 141–146.
- PHAFF, H.J. (1989) – Trends in yeast systematics. – Proc. 7th Int. Symp. Yeasts. Yeast 5: S341–S349. Wiley & Sons Chichester.
- PRICE, C.W., G.B. FUSON, & H.J. PHAFF (1978) – Genome Comparison in Yeast Systematics: Delimitation of Species Within the Genera *Schwanniomyces*, *Saccharomyces*, *Debaryomyces*, and *Pichia*. – Microbiol. Rev. 42: 161–193.
- PRILLINGER, H. (1984) – Zur Evolution von Mitose, Meiose und Kernphasenwechsel bei Chitinpilzen. – Z. Mykol. 50: 267–352.
- (1987) – Yeasts and anastomoses: Their occurrence and implications for the phylogeny of Eumycota. In Rayner, A.D.M. & al. (eds.): Evolutionary biology of the fungi. BMS Symp. Vol. 12, Cambridge University Press, Cambridge pp 355–377.
- (1988) – Are there yeasts in Homobasidiomycetes? In Hoog, G.S. de & al. (eds.): The expanding realm of yeast-like fungi, Elsevier-Sci. Publ., Amsterdam pp. 33–59.
- ALTENBUCHNER, J., SCHULZ, B., DÖRFLER, Ch., FORST, Th., LAASER, G. & U. STAHL (1989) – *Ustilago maydis* isolated from Homobasidiomycetes. Proceedings Applied Plant Molecular Biology (Braunschweig Symposium Nov. 1988) Technische Universität, Braunschweig pp. 408–425.
- DEML, G., DÖRFLER, Ch., LAASER, G. & W. LOCKAU – (1990a) – Ein Beitrag zur Systematik und Entwicklungsbiologie Höherer Pilze: Hefe-Typen der Basidiomyceten. Teil II: Microbotryum-Typ. – Acta Botanica 103: (im Druck).
- & G. HAUSKA (1990b) – Ein Beitrag zur Systematik und Entwicklungsbiologie Höherer Pilze: Hefe-Typen der Basidiomyceten. Teil III: Ustilago-Typ. – Z. Mykol. 56: 251–278.
- & K. ZIEGLER (1991) – Ein Beitrag zur Systematik und Entwicklungsbiologie Höherer Pilze: Hefe-Typen der Basidiomyceten. Teil IV: Dacrymyces-Typ, Tremella-Typ. – Sydowia 53: (im Druck).
- RING, S. G. & R. R. SELVENDRAN (1978) – Purification and methylation analysis of cell wall material from *Solanum tuberosum*. – Phytochemistry 17: 745–752.
- ROBERTS, G. D., HORSTMEIER, C.D., LANG, G.A. & J.H. FOXWORTH (1978) – Rapid urea broth test for yeasts. – J. Clin. Microbiol. 7: 584–588.
- RUSSEL, P. & P. NURSE (1986) – *Schizosaccharomyces pombe* and *Saccharomyces cerevisiae*: A Look at Yeasts Divided. Cell 45: 781–782.
- SADEBECK R. (1884) – Untersuchungen über die Pilzgattung *Exoascus* und die durch dieselbe um Hamburg hervorgerufenen Baumkrankheiten. – Jahrb. Hamburg. Wissensch. Anst. 1: 93–124.
- SALKOWSKI, E. (1894) – Über die Kohlehydrate der Hefe. – Ber. Deutsch. chem. Ges. 27: 3325–3329.

- SAMUELS, G. T. & E. MÜLLER (1979) – Life-history study of Brazilian Ascomycetes 5. – *Sydowia* 31: 169–179.
- SAVILE, D.B.O. (1955) – A phylogeny of the Basidiomycetes. – *Can. J. Bot.* 33: 60–104.
- (1968) – Possible interrelationships between fungal groups. In Ainsworth, G.L. & al. (eds.) *The Fungi* III. Academic Press, New York pp. 649–675.
- SCHROEDER, H.-U. & W. LOCKAU (1986) – Phylloquinone copurifies with the large subunit of photosystem I. – *FEBS Letters* 199: 23–27.
- SEELIGER, H.P.R. (1956) – Use of a urease test for the screening and identification of cryptococci. – *J. Bacteriol.* 72: 127–131.
- SELVENDRAN, R.R. (1975) – Analysis of cell wall material from plant tissues: extraction and purification. – *Phytochemistry* 14: 1011–1017.
- SIMMONS, R.B. & D.G. AHEARN (1987) – Cell wall ultrastructure and diazonium blue B reaction of *Sporopachyderma quercum*, *Bullera tsugae*, and *Malassezia* spp. – *Mycologia* 79: 38–43 (1987).
- SMITH, T.L. (1989) – Disparate evolution of yeasts and filamentous fungi indicated by phylogenetic analysis of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase genes. – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 7063–7066.
- SPENCER, J.F.T., GORIN, P.A.J. & G.H. RANK (1971) – The genetic control of the two types of mannan produced by *Saccharomyces cerevisiae*. – *Can. J. Microbiol.* 17: 1451–1454.
- SUGIYAMA, J., FUKAGAWA, M., CHIU, S.-W. & K. KOMAGATA (1985) – Cellular carbohydrate composition, DNA base composition, ubiquinone systems, and diazonium blue B color test in the genera *Rhodospiridium*, *Leucosporidium*, *Rhodotorula* and related basidiomycetous yeasts. – *J. Gen. Appl. Microbiol.* 31: 519–550.
- SULLIVAN, P. A., YIN, C. Y., MOLLOY, C., TEMPLETON, M. D. & M. G. SHEPHERD (1983) – An analysis of the metabolism and cell wall composition of *Candida albicans* during germ-tube formation. – *Can. J. Microbiol.* 29: 1514–1525.
- SUZUKI, M. & T. NAKASE (1988) – The distribution of xylose in the cells of ballistosporeous yeasts-application of high performance liquid chromatography without derivatization to the analysis of xylose in whole cell hydrolysates. – *J. Gen. Appl. Microbiol.* 34: 95–103.
- SYROP, M.J. & A. BECKETT (1972) – The origin of ascospore-delimiting membranes in *Taphrina deformans*. – *Arch. Mikrobiol.* 86: 185–191.
- TSUCHIYA, T., FUKAZAWA, Y. & S. KAWAKITA (1965) – Significance of serological studies on yeasts. – *Mycopath. Mycol. Appl.* 26: 1–15.
- TUBAKI, K. (1957) – Biological and cultural studies of three species of *Protomyces*. – *Mycologia* 49: 44–54.
- VEGA, R. & A. DOMINGUEZ (1986) – Cell wall composition of the yeast and mycelial forms of *Yarrowia lipolytica*. – *Arch. Microbiol.* 144: 124–130.
- WALKER, W.F. & W.F. DOOLITTLE (1983) – 5S rRNA sequences from eight basidiomycetes and fungi imperfecti. – *Nucleic Acids Res.* 11: 7625–7630.
- (1985) – 5S Ribosomal RNA Sequences from Ascomycetes and Evolutionary Implications.-System. Appl. Microbiol. 6: 48–53.
- WALT, J.P. van der & V.K. HOPSE-HAVU (1976) – A colour reaction of the differentiation of ascomycetous and hemibasidiomycetous yeasts. – *Antonie van Leeuwenhoek* 42: 157–163.
- & D. YARROW (1984) – Methods for the isolation, maintenance, classification, and identification of yeasts. In Kreger-van Rij, N.J.W. (ed.): *The yeasts, a taxonomic study*. – Elsevier Sci. Publ. Amsterdam pp. 45–104.
- , SMITH, M.Th., YAMADA, Y., NAKASE, T. & P.D.G. RICHARDS (1989) – *Lipomyces japonicus* sp. nov. from Japanese Soil. – *System. Appl. Microbiol.* 11: 302–304.
- WEIJMAN, A.C.M. (1976) – Cell wall composition and taxonomy of *Cephaloscyus fragrans* and some *Ophiostomaceae*. – *Antonie van Leeuwenhoek* 42: 315–324.
- (1977) – Carbohydrate composition and taxonomy of the genus *Dipodascus*. – *Antonie van Leeuwenhoek* 43: 323–331.
- (1979) – Carbohydrate composition of *Geotrichum*, *Trichosporon* and allied genera. – *Antonie van Leeuwenhoek* 45: 119–127.
- & G.S. De HOOG (1975) – On the subdivision of the genus *Ceratocystis*. – *Antonie van Leeuwenhoek* 41: 353–360.
- (1985) – Carbohydrate patterns and taxonomy of *Sporothrix* and *Blastobotrys*. – *Antonie van Leeuwenhoek* 51: 111–120.
- & W.I. GOLUBEV (1988) – Carbohydrate patterns and taxonomy of yeasts and yeast-like fungi. In Hoog, G.S. de & al. (eds.) *The expanding realm of yeast-like fungi*. – Elsevier Sci. Publ. Amsterdam pp. 361–371.
- & L. RODRIGUES de MIRANDA (1988) – Carbohydrate patterns of *Candida*, *Cryptococcus* and *Rhodotorula* species. – *Antonie van Leeuwenhoek* 54: 535–543.

- RODRIGUES de MIRANDA, L. & J.P. van der WALT (1988) - Redefinition of *Candida* Berkhout and the consequent emendation of *Cryptococcus* Kützing and *Rhodotorula* Harrison. - *Antonie van Leeuwenhoek* 54: 545-553.
- WIEBEN, M. (1927) - Die Infektion, die Mycelüberwinterung, und die Kopulation bei Exoasceen.- *Forsch. Geb, Pfl.krankh. und Immunität im Pfl.reich* 3: 139-176.
- YAMADA, Y. & K. KONDO (1971) - Taxonomic significance of coenzyme Q system in yeasts and yeast-like fungi (1). - *Proc. 1st Int. spec. Symp. Yeasts, Smolenice*, pp. 363-373.
- (1973) - Coenzyme Q systems in the classification of the yeast genera *Rhodotorula* and *Cryptococcus*, and the yeast-like genera *Sporobolomyces* and *Rhodospiridium*. - *J. Gen. Appl. Microbiol.* 19: 59-77.
- & I. BANNO (1989) - A proposal to divide the genus *Schizosaccharomyces* Lindner sensu Yarrow into three separate genera. - *Proc. 7th Int. Symp. Yeasts. Yeast 5: S393-S395. Wiley & Sons Chichester.*
- OHISHI, T. & K. KONDO (1983) - The coenzym Q system in strains of some yeasts and yeast-like fungi. - *J. Gen. Appl. Microbiol.* 29: 51-57.
- , BANNO, I., von ARX, J.A. & J - P. van der WALT (1988) - Taxonomic significance of the coenzyme Q system in yeasts and yeast-like fungi. In Hoog, G.S. de & al. (eds.): *The expanding realm of yeast-like fungi.* - Elsevier Science Publishers Amsterdam. pp 299-308.
- ZIMMER, B.L. & G.D. ROBERTS (1979) - Rapid selective urease test for the presumptive identification of *Cryptococcus neoformans*. - *J. Clin. Microbiol.* 10: 380-381.



Deutsche Gesellschaft für Mykologie e.V.
German Mycological Society

Dieses Werk stammt aus einer Publikation der DGfM.

www.dgfm-ev.de

Über [Zobodat](#) werden Artikel aus den Heften der pilzkundlichen Fachgesellschaft kostenfrei als PDF-Dateien zugänglich gemacht:

- **Zeitschrift für Mykologie**
Mykologische Fachartikel (2× jährlich)
- **Zeitschrift für Pilzkunde**
(Name der Heftreihe bis 1977)
- **DGfM-Mitteilungen**
Neues aus dem Vereinsleben (2× jährlich)
- **Beihefte der Zeitschrift für Mykologie**
Artikel zu Themenschwerpunkten (unregelmäßig)

Dieses Werk steht unter der [Creative Commons Namensnennung - Keine Bearbeitungen 4.0 International Lizenz](#) (CC BY-ND 4.0).



- **Teilen:** Sie dürfen das Werk bzw. den Inhalt vervielfältigen, verbreiten und öffentlich zugänglich machen, sogar kommerziell.
- **Namensnennung:** Sie müssen die Namen der Autor/innen bzw. Rechteinhaber/innen in der von ihnen festgelegten Weise nennen.
- **Keine Bearbeitungen:** Das Werk bzw. dieser Inhalt darf nicht bearbeitet, abgewandelt oder in anderer Weise verändert werden.

Es gelten die [vollständigen Lizenzbedingungen](#), wovon eine [offizielle deutsche Übersetzung](#) existiert. Freigelegter lizenzierte Teile eines Werks (z.B. CC BY-SA) bleiben hiervon unberührt.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Mykologie - Journal of the German Mycological Society](#)

Jahr/Year: 1990

Band/Volume: [56_1990](#)

Autor(en)/Author(s): Prillinger H., Dörfler Ch., Laaser G., Eckerlein B., Lehle L.

Artikel/Article: [Ein Beitrag zur Systematik und Entwicklungsbiologie Höherer Pilze: Hefe-Typen der Basidiomyceten Teil I: Schizosaccharomycetales, Protomyces-Typ 219-250](#)