Rawald, W.: Untersuchungen zur Stickstoffernährung der höheren Pilze. — Mykorrhiza (Intern. Myk.-Symp. Weimar 1960); Jena 1962 (a).
Rawald, W.: Über extrazelluläre Wirkungen höherer Pilze. — Mykorrhiza (Intern. Myk.-Symp. Weimar 1960); Jena 1962 (b).
Rawald, W.: Das Myzelwachstum höherer Pilze in seinen Beziehungen zu natürlichen Substraten und deren Extrakten. — Arch. f. Forstw.; im Druck (c).
Rawald, W.: Über die Bedeutung wasserlöslicher Vitamine für das Myzelwachstum höherer Pilze. — Arch. f. Mikr.; 1962 (d).
Rawald W.: Zur Abhängigkeit des Myzelwachstums höherer Pilze von der Versorgung mit Kohlenhydraten. — Z. f. Allg. Mikr.; 1962 (e).
Rothmaler, W.: Allgemeine Taxonomie und Chorologie der Pflanzen. — Jena 1950.
Schwarz, O.: Monographie der Eichen Europas und des Mittelmeergebietes. — Feddes Rep., Sonderh. D 2; 1937.
Schwarz, O.: Das Verhältnis der Systematik zur Phylogenetik. — Jena 1960.

Die Bedeutung biochemischer und physiologischer Merkmale für die Artdifferenzierung

Von Horst Lyr*

Mit 1 Abbildung

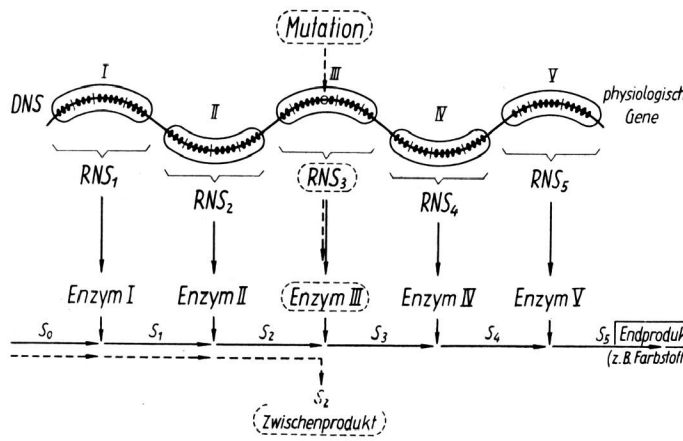
Für eine Artdiagnose benötigt man leicht erkennbare Unterscheidungsmerkmale, die bei allen Individuen einer Art erkennbar sein müssen, um ein vorliegendes Material klassifizieren zu können. Bei höheren Pflanzen werden fast ausschließlich morphologische Merkmale verwendet. Je primitiver aber die äußere Organisationsform der Organismen ist, um so geringer wird die Zahl der verwertbaren morphologischen Merkmale. Daher ist man in der Mikrobiologie bemüht, an ihrer Stelle physiologische bzw. biochemische Merkmale zu verwenden. Moderne Bestimmungsschlüssel für Bakterien und *Actinomyceten* beruhen zu einem großen Teil auf der Anwendung solcher Merkmale (Vergärbarkeit von Zuckern, Farbstoffbildung, Temperaturoptimum usw., vgl. Bergey 1948, Krassilnikow 1959!). Auch bei höheren Pilzen werden verschiedentlich biochemische Merkmale (Farbreaktionen) als Hilfsmittel für die Artdiagnose benutzt, obwohl hier durch die Ausbildung komplizierterer Fruchtkörper weit bessere Möglichkeiten zu einer Aufschlüsselung nach morphologischen Merkmalen bestehen. Aber auch bei *Hymenomyceten* ist man für Bestimmungsschlüssel nach Myzelmerkmalen auf die Verwendung physiologischer und biochemischer Merkmale angewiesen (Nobles 1948). Allerdings überwiegen in den bisherigen Schlüsseln die mikromorphologischen Merkmale.

Es ist im allgemeinen nicht schwierig, biochemische Unterschiede bei verschiedenen Kulturen von Mikroorganismen zu finden. Eine ganz andere Frage ist jedoch, welcher Wert diesen Merkmalen für die Artdiagnose beizumessen ist. Wie stark die Ansichten hierüber auseinandergehen, ist aus der je nach den Autoren sehr wechselnden Artenzahl der verschiedenen Systeme von *Actinomyceten* zu ersehen. Bei den Bakterien ist das Problem sehr ähnlich, und es besteht noch kein Überblick über die existierenden Arten. Bei den niederen Pilzen (*Fungi imperfecti, Ascomycetes* u. a.) ist in vielen Gattungen eine Artdiagnose z. Zt. nur sehr begrenzt möglich wegen der nomenklatorischen Konfusion und wegen des Fehlens moderner Untersuchungen zur Taxonomie dieser Gruppen. Auch hier ist häufig der Mangel an morphologischen Merkmalen ein begrenzender Faktor für den Fortschritt der Erkenntnis. Die Wirtsspezifität der parasitären Arten kann ein physiologischer Faktor sein. Oft sind es

* Aus dem Institut für Forstbotanik Eberswalde (Humboldt-Universität Berlin).

aber nur die veränderten Umweltverhältnisse, die auf die Morphologie der Fruktifikationsorgane einwirken und dadurch zur Aufstellung vieler neuer Arten führten, die nicht selten identisch sind. Auch bei höheren Pilzen ist in manchen Gattungen die Artabgrenzung noch sehr unsicher.

Die Schwierigkeit einer Einschätzung des Wertes physiologischer Merkmale ist meist dadurch bedingt, daß wir noch einen zu geringen Einblick in die genetischen Zusammenhänge der Merkmalsausbildung im physiologischen wie im morphologischen Bereich haben. Galt lange Zeit die „Ein-Gen—ein-Enzym"-Theorie als plausible Arbeitshypothese in der Genetik, so ist heute eine Revision des klassischen Gen-Begriffes notwendig, was durch die neue Entwicklung in der Bakterien-Genetik ausgelöst wurde. Das klassische physiologische „Gen" muß in weitere Untereinheiten aufgelöst werden (Pseudoallele), die gemeinsam für die Bildung eines Enzyms zusammenwirken. Bei Ausfall oder Veränderung solcher Untereinheiten (Mutation) können sowohl quantitative wie qualitative Unterschiede in der Enzymbildung auftreten (Kaudewitz 1959). Für die Bildung von Farbstoffen oder anderen Syntheseprodukten ist das normale Funktionieren ganzer Enzymgruppen erforderlich, während kompliziertere morphologische Merkmale offenbar von einem größeren genetischen Komplex gesteuert werden, wobei über die Mechanismen, die zur Ausbildung solcher komplizierten Systeme — wie z. B. zu einem hutförmigen Fruchtkörper spezifischer Form und Färbung — führen, so gut wie nichts bekannt ist. Im beigegebenen Schema (s. Abb.!) sind Reaktionsketten vereinfacht dargestellt, die zur Ausbildung eines biochemischen



Ausbildung eines biochemischen Merkmales (vereinfachte Darstellung):

DNS = Desoxyribonukleïnsäure im Zellkern als Träger der genetischen Information, lokalisiert linear angeordnet und in Komplexen zu genetisch faßbaren Einheiten (klassischen oder physiologischen Genen) geformt. Die klassischen Gene lassen sich bei feinerer Analyse in weitere Untereinheiten (Pseudoallele) auflösen.

DNS überträgt die Information auf RNS (Ribonukleïnsäure), die im Zytoplasma die Synthese spezifischer Enzyme auflöst.

Die sinnvolle Aufeinanderfolge der Enzymwirkung führt zur Synthese spezifischer Verbindungen (z. B. eines Farbstoffes).

Bei Veränderungen im Bereich der Pseudoallele (Mutationen) wird eine veränderte RNS und damit ein verändertes Enzym gebildet, das nicht mehr funktionstüchtig ist. Dadurch wird die Synthesekette unterbrochen, und ein Zwischenprodukt reichert sich an Stelle des Endproduktes an.

Merkmals (Farbstoff) führen. Der Einfachheit halber wird eine fließbandartige Anordnung der Enzyme angenommen, wie sie in einigen Fällen nachgewiesen ist. Das Schema veranschaulicht die Wirkung von Mutationen: Durch eine Mutation an der angedeuteten Stelle kann durch Veränderung der DNS-Struktur über die RNS ein verändertes Enzym entstehen, das entweder nur schwach oder gar nicht aktiv ist. Dadurch wird das Fließbandsystem unterbrochen, es entsteht kein Farbstoff; dafür reichert sich an der blockierten Stelle ein Zwischenprodukt an. Äußerlich ist dann eine farblose Mutante feststellbar.

Es ist verständlich, daß bei Ausfall einzelner Enzyme oder Syntheseprodukte zwar Mutationen vorliegen, die zur Differenzierung verschiedener Stämme nützlich sein können — auf ihnen läßt sich jedoch kein Artbegriff aufbauen, da man üblicherweise die Arten als weiter voneinander entfernt stehende Einheiten betrachtet. Allerdings gibt es im Pflanzenreich kein scharfes Kriterium für eine Art. Es bleibt auch in der Mykologie im wesentlichen dem Taktgefühl des Taxonomen überlassen, welchen Wert er den einzelnen Merkmalen beimißt und ob er die Zahl der Unterscheidungsmerkmale für ausreichend erachtet, eine neue Art aufzustellen. Hyphenkombinationsversuche werden bei *Hymenomyceten* nur selten angewandt, obwohl sie zur Artdiagnostik sehr wichtig sind. Voraussetzung hierfür ist allerdings, daß sich der Pilz als Einsporkultur kultivieren läßt. In manchen Fällen kann die Merkmalsausbildung von Umweltfaktoren abhängig sein, wodurch es schwierig ist, die Variationsbreite in einfacher Weise zu erfassen.

In der Systematik der niederen Organismen verwendet man viele Merkmale (Farbstoffbildung, Vitaminbedarf, Zuckerverwertung u. a.), die auf der Mutationsebene veränderlich sind. Dadurch besteht die Gefahr, daß Mutanten zu Arten erhoben werden. Es ist daher zu fragen: Lassen sich biochemische oder physiologische Merkmale überhaupt zur Artdiagnose verwenden? Das ist durchaus der Fall. Es gibt zahlreiche biochemische Merkmale, die typisch für eine Art sind. Das ist auch nicht verwunderlich, wenn man berücksichtigt, daß eine Art letztlich ein Makrokomplex spezifischer biochemischer Reaktionen ist, der sich durch qualitative und quantitative Unterschiede von einer anderen Art abgrenzt, und daß auch morphologische Merkmale physiologisch gesteuert werden. Man muß sich aber damit abfinden, daß in manchen Bereichen die Grenzen noch fließend sind. Entscheidend für den artdiagnostischen Wert eines Merkmals ist seine Konstanz, wobei das Merkmal durchaus verschiedenen Arten gemeinsam sein kann. In den meisten Fällen ist eine Abgrenzung nur durch die Berücksichtigung der spezifischen Merkmals k o m b i n a t i o n möglich. Bei physiologischen und biochemischen Reaktionen muß man selbstverständlich damit rechnen, daß sie (ebenso wie morphologische Merkmale) vom Alterszustand des Organismus abhängig sind. Trotz der durch Mutationen möglichen Variabilität biochemischer Merkmale ist eine artspezifische Konstanz häufig nachweisbar (z. B. Bildung bestimmter Enzyme, Synthese spezifischer Antibiotika usw.). Diese Konstanz wird in der freien Natur zum Teil dadurch bestimmt, daß das Fehlen dieser Potenz lebenswichtige Funktionen schädigt oder einschränkt. Das würde im ontogenetischen Ablauf zu Letal-Faktoren führen, die das Individuum lebensunfähig machen, entweder aus inneren, biochemischen Ursachen oder durch den in der Natur vorhandenen Konkurrenzdruck. Im zweiten Falle ließe sich eine solche Rasse in künstlicher Kultur erhalten, wie es zum Beispiel für den Kulturchampignon gilt, der in der freien Natur — im unsterilen Boden — nicht mehr konkurrenzfähig ist. Der Wert mancher Merkmale kann auch erst in phylogenetischer Sicht wichtig werden (bessere Verbreitungschancen, Schutzfarben u. a.). Hier sind wahrscheinlich die Hutfarben bei den höheren Pilzen von Bedeutung, die bekanntlich typisch für eine Art sind, wenn auch die Farbausbildung von der Belichtung abhängig ist. Im Einzelfall wissen wir noch sehr wenig darüber; und bei intensiverem Studium dieser Frage dürften noch sehr interessante Zusammenhänge zu Tage treten.

Mit der Anwendung von Farbtesten bei Hutpilzen verwenden wir biochemische Merkmale in Form von Enzymnachweisen oder von Reaktionen chemischer Inhaltsstoffe. Bei fast allen *Russula*-Arten lassen sich die Enzyme Laccase und Tyrosinase nachweisen, die als oxydierende Enzyme für die Verfärbung von Pilzfruchtkörpern nach Verletzungen ver-

antwortlich sind (z. B. Blaufärbung von *Boletus*-Arten, die Laccase und Urushiol enthalten; dieses gibt nach Oxydation einen blauen Farbstoff). Eine Eigenverfärbung der Fruchtkörper (wie z. B. durch die Tyrosinase bei *Russula adusta* und *R. nigricans*) ist jedoch nur möglich, wenn neben den oxydierenden Enzymen auch geeignete oxydable Substrate vorhanden sind. Erst das Zusammentreffen beider Merkmale führt zu einer Eigenfärbung. Fehlt das endogene Substrat, so kann man die Wirkung des Enzyms durch Zusatz eines künstlichen Substrates an der daraufhin einsetzenden Verfärbung sichtbar machen (bei Laccase mit 1%iger alkoholischer Benzidin- oder Guajakollösung, bei Tyrosinase mit einer Mischung von 10^{-2}M p-Kresol + 0,05 % Glykokoll [Lyr 1958]). Damit ist es möglich, diese beiden Enzyme bei zahlreichen Pilzarten nachzuweisen (Boidin 1951; Piroard 1956). Sie kommen regelmäßig bei *Russula*- und *Lactarius*-Arten vor; Laccase fehlt dagegen bei der Gattung *Amanita* u. a.

Zwei Arten können in der Ausstattung mit oxydierenden Enzymen (die offenbar ein Gattungs- oder Familienmerkmal sind) identisch sein, lassen sich aber infolge zusätzlicher Inhaltsstoffe unterscheiden. Mit Hilfe von Benzidin- und p-Kresol-Reagenz sind die Enzyme Tyrosinase und Laccase nachweisbar. Tropft man dem Stiel Phenollösung auf, so entsteht bei fast allen *Russula*-Arten eine Braunfärbung, bei *R. olivacea* Fr. jedoch eine Violettfärbung (Schäffer 1952). Das ist dadurch bedingt, daß *Russula olivacea* noch bestimmte Stoffe enthält, die mit dem enzymatisch oxydierten Phenol kuppeln und dadurch eine Violettfärbung ergeben. Phenol gibt mit anderen Aromaten verschiedene solcher Mischfarben und wird daher gern für die Differenzialdiagnostik bei Pilzen benutzt. Die Braunfärbung zeigt die normale Oxydationsfarbe von Phenol, das durch Tyrosinase oxydiert wird. Es ist möglich, daß jedes dieser Merkmale einzeln auch bei anderen Arten vorkommt. Das läßt sich in einigen Fällen nachweisen. In der Gattung *Russula* jedoch ist diese Merkmalskombination für eine bestimmte Art typisch. Ähnliche Beispiele lassen sich auch an dem Vorkommen von Laccase, Tyrosinase und Peroxydase im Myzel von Holzzerstörern aufzeigen, worauf aber hier nicht weiter eingegangen werden soll.

Jeder Bestimmungsschlüssel beruht auf einer geeigneten Aufschlüsselung von Merkmalskombinationen. Da viele Einzelmerkmale gattungs- oder familienspezifisch sind, ist es verständlich, daß ein einziges Merkmal — sei es ein physiologisches, biochemisches oder morphologisches — normalerweise zur Artdiagnose nicht ausreicht. Das liegt vor allem daran, daß wir in den meisten Fällen nicht wissen, ob und wie häufig Mutanten für dieses Merkmal in der Natur auftreten. Mit Mutanten muß man aber stets beim Nachweis von Enzymen oder Inhaltsstoffen rechnen. Eine andere Frage ist jedoch, ob und wie lange sich solche Mutanten in der Natur erhalten können. Es ist verständlich, daß ein Streuzersetzer, der im wesentlichen vom Abbau der zellulosehaltigen Streu lebt, nicht existenzfähig ist, wenn das Enzym Cellulase ausfällt — es sei denn, er wird auf einem künstlichen Nährboden am Leben erhalten. Die Wildformen werden daher immer über eine für ihre Ökologie typische und notwendige Enzymausstattung verfügen. Tatsächlich haben sich bei der Untersuchung holzzerstörender Pilze enzymatische Merkmale sowohl in qualitativer wie auch (bei einigen Arten) in quantitativer Hinsicht als arttypisch und sehr konstant erwiesen. Künftige Untersuchungen müssen zeigen, welche physiologischen Merkmale für eine Art als notwendig und damit als typisch anzusehen sind und welche Merkmale ohne Gefährdung der Art mutativen Veränderungen unterworfen sein können. Nur die erste Kategorie läßt sich für eine Artdiagnose verwenden. In der überwiegenden Zahl der Fälle wird man auf Merkmalskombinationen angewiesen sein.

Von der Genetik wäre zu wünschen, daß ein fester, gut definierter Artbegriff geschaffen wird, der auch auf Mikroorganismen anwendbar ist. Bei diesen wird auf die Verwendung physiologischer und biochemischer Merkmale bei der Artdiagnostik nicht zu verzichten sein. Es ist aber unbedingt notwendig, den Wert der einzelnen Merkmale für die Species sehr viel stärker zu berücksichtigen. Hierbei spielt die normale Umwelt der Art eine wichtige Rolle, da sie uns gewisse Aufschlüsse über die Notwendigkeit und die Bedeutung eines physiologischen Merkmales geben kann.

Es ist nicht zu erwarten, daß in nächster Zukunft bereits eine allen Wünschen entsprechende Lösung dieser Frage gefunden wird, da erst seit kurzer Zeit die biochemische Phase der Biologie angebrochen ist und erst wenige Vorstöße in den biophysikalischen Bereich unternommen wurden. Es läßt sich aber erkennen, daß auch in der Biologie die klassische Periode von einer neuen abgelöst wird, die uns auf allen Gebieten vertiefte Einsichten bringen wird.

Zusammenfassung:

1. Alle Eigenschaften, die auf der Bildung oder Nichtbildung eines Stoffes oder Enzyms beruhen, können durch einfache Mutation bedingt sein und sind daher für sich allein nicht als Artmerkmale zu brauchen (Farbstoffbildung, Zuckervergärung, Antibiotikabildung, Wuchsstoffbedarf, Enzymbildung u. a.).

2. Stehen solche Merkmale jedoch in einem lebensnotwendigen Zusammenhang mit der Ökologie einer Art, so ist eine Konstanz dieser Merkmale bei Wildformen zu erwarten, die das Merkmal für diagnostische Zwecke geeignet macht.

3. Da viele biochemische Merkmale nicht art-, sondern gattungs- oder familienspezifisch sind (Struktur von Inhaltsstoffen und Antibiotika, Vorkommen spezieller Enzyme wie Peroxydase, Laccase, Tyrosinase u. a.), wird in den meisten Fällen nur eine Merkmalskombination zu einer Artabgrenzung führen.

4. Biochemische Merkmale des Sekundärstoffwechsels sind besser als solche des Primärstoffwechsels für Artdifferenzierungen geeignet.

5. Quantitative Merkmale sind für eine Artdiagnose wenig geeignet, da sie mutativ abändern können.

6. Da morphologische Merkmale — soweit man bisher übersehen kann — komplexer bedingt sind und einem komplizierteren, also spezifischeren Steuerungsverfahren unterworfen sind, lassen sie sich besser als biochemische Merkmale für eine Artdiagnose verwenden, sofern man die Variabilitätsbreite gebührend berücksichtigt.

7. Bei niederen Organismen, bei denen man auf die Auswertung physiologischer und biochemischer Merkmale nicht verzichten kann, ist eine Wertung der einzelnen Merkmale im Hinblick auf die Lebensnotwendigkeit für die Art in einer bestimmten Umwelt unerläßlich.

Literatur:

Bergey, W.: Manuel of Determinative Bacteriology. — Baltimore 1948.

Boidin, J., in Revue d. Mycologie **16**, 173; 1951.

Kaudewitz, F., in Chemie der Genetik, S. 104; 1959.

Krassilnikow, N. A.: Diagnostik der Bakterien und *Actinomyceten*. — Jena 1959.

Lyr, H., in Planta **50**, 359; 1958.

Nobles, M., in Canad. Res. Sect. C. **26**, 281; 1948.

Piroard, M. F., in Ann. de l'Université de Lyon, Sect. C, **9**, 23; 1956.

Schäffer, J.: *Russula*-Monographie (Die Pilze Mitteleuropas, III). — Bad Heilbrunn 1952.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Zeitschrift für Pilzkunde

Jahr/Year: 1961

Band/Volume: 27_1961

Autor(en)/Author(s): Lyr Horst

Artikel/Article: Die Bedeutung biochemischer und physiologischer Merkmale für die Artdifferenzierung 78-82