

# Ueber die Aneurinheterotrophie bei einigen antherenbewohnenden Brandpilzen

Autor(en): **Blumer, S.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft Bern**

Band (Jahr): - **(1940)**

PDF erstellt am: **17.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-319396>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

S. Blumer

## Ueber die Aneurinheterotrophie bei einigen antherenbewohnenden Brandpilzen

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Bern.) \*)

Im Entwicklungsgang der Brandpilze lassen sich zwei Abschnitte unterscheiden. Aus der keimenden Brandspore gehen haploide Sporidien hervor, die hefeartig sprossen und auf künstlichen Nährböden leicht kultiviert werden können. Nach der Kopulation der Sporidien erfolgt die Infektion der Nährpflanze, und von diesem Zeitpunkt an beginnt die streng parasitische Lebensweise, die schliesslich mit der Bildung der Brandsporen ihren Abschluss findet. Die Kultur der Sporidien gelang schon OSCAR BREFELD, dem Altmeister der Pilzkultur. Er verwendete dafür verschiedene Nährböden von sehr komplexer Zusammensetzung. Nun zeigte sich aber schon in unsern ersten Untersuchungen mit Ustilagineen, dass der Antherenbrand von *Melandrium rubrum*, *Ustilago violacea* in einer rein synthetischen Nährlösung nicht gedeiht (SCHOPFER, 10). Durch Zusatz von Aneurin kann aber eine sehr gute Entwicklung des Pilzes ausgelöst werden. Das Vitamin B<sub>1</sub> wirkte auf den untersuchten Stamm von Baarn schon in sehr geringen Dosen; mit 0,015  $\gamma$  in 25 ccm Nährlösung wurde schon eine optimale Entwicklung erzielt (SCHOPFER und BLUMER, 12). Weitere Versuche zeigten nun, dass für diesen Stamm von *Ustilago violacea* ein Gemisch der beiden Aneurinkomponenten, Pyrimidin und Thiazol in äquimolaren Mengen dieselbe Wirkung hervorbringt wie das Aneurinmolekül als Ganzes. Der Grad der Aneurinheterotrophie ist also für den untersuchten Stamm von *Ustilago violacea* gleich wie für *Phycomyces*, d. h. der Pilz vermag weder das Aneurin noch eine seiner Komponenten selbst zu synthetisieren, dagegen ist er zur Aneurinsynthese befähigt, wenn er beide Komponenten in der Nährlösung zur Verfügung hat.

\*) Ich möchte nicht unterlassen, der Stiftung zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung an der bernischen Hochschule für ihre finanzielle Unterstützung auch an dieser Stelle bestens zu danken.

Untersuchungen an andern Ustilagineen zeigten, dass sich diese Pilzgruppe in bezug auf das Aneurin nicht einheitlich verhält. Von zehn untersuchten Arten erwiesen sich sieben als auxo-autotroph, das heisst, sie sind imstande, die Aneurinsynthese auch in unserer synthetischen Nährlösung auszuführen, sie gedeihen also ohne Zugabe eines Wuchsstoffes. Eine Art (*Ustilago longissima*) wurde durch Aneurin und Pyrimidin schwach gefördert. Nach unsern ersten Untersuchungen (SCHOPFER und BLUMER, 12) zeigte die antherenbewohnende *Ustilago scabiosae* einen noch höhern Grad der Aneurinheterotrophie. Die ersten Versuche mit dieser Art ergaben, dass hier das Gemisch der beiden Aneurinkomponenten unwirksam sei, dass also die Entwicklung nur durch das ganze Aneurinmolekül ausgelöst werden könne. Später zeigte es sich dann allerdings, dass es sich hier hauptsächlich um eine Frage der Konzentration handelt. Im Bereiche der suboptimalen und optimalen Konzentration ergeben Pyrimidin plus Thiazol nur eine schwache Entwicklung, während sie in höhern Konzentrationen das Aneurin zu ersetzen vermögen (BLUMER und SCHOPFER, 2). Die auf *Dianthus deltoides* vorkommende biologische Art von *Ustilago violacea* verhielt sich in unsern Versuchen verschieden, man konnte hier zum Eindruck gelangen, dass die Aneurinheterotrophie im Laufe der Zeit immer ausgeprägter werde.

Aehnliche Verschiedenheiten zeigten sich auch bei einigen Ustilagineen aus andern Gattungen (SCHOPFER et BLUMER, 13). Während sich *Tilletia horrida* genau gleich verhielt wie *Ustilago violacea*, schienen *T. levis* und *T. tritici* durch das Aneurin und seine Komponenten nicht oder nur, schwach gefördert zu werden. Diese Feststellungen stehen im Gegensatz zu den Ergebnissen, die DEFAGO (4) mit *Tilletia tritici* erzielte. Nach seinen eingehenden Untersuchungen ist diese Art gegenüber dem Aneurin in hohem Grade heterotroph, das Gemisch der beiden Komponenten ist wirkungslos, dagegen kann die Entwicklung durch Aneurin ausgelöst werden.

Solche widersprechenden Ergebnisse legen die Frage nahe, ob die Aneurinheterotrophie als physiologisches Artmerkmal gelten kann, oder ob sich einzelne Individuen oder Sippen derselben Art je nach ihrer Provenienz gegenüber dem Aneurin verschieden verhalten. Vom Standpunkt der Parasitologie aus musste namentlich die Frage interessieren, ob sich die verschiedenen biologi-

schen Arten einer Sammelart in dieser Beziehung von einander unterscheiden. Da diese Kleinarten in vielen Fällen durch morphologische Merkmale, z. B. Sporengrösse, wie auch durch kulturelle Besonderheiten (Farbe und Aussehen der Kolonien) charakterisiert sind, lag die Möglichkeit nahe, dass sie sich auch in ihrem Verhalten gegenüber Wachstumsfaktoren unterscheiden. Endlich musste auch geprüft werden, ob sich der Grad der Aneurinheterotrophie bei längerer Kulturdauer verändert, wofür wir bei *Ustilago violacea* f. sp. *dianthi deltoidis* bereits gewisse Anhaltspunkte fanden.

Es standen uns für diese Untersuchung 215 Einsporidienkulturen von 9 Kleinarten der Sammelart *Ustilago violacea* zur Verfügung. Sie stammten von 13 verschiedenen Nährpflanzen aus der Familie der Caryophyllaceen und von 26 verschiedenen Standorten. Ferner wurden von zwei andern antherenbewohnenden Arten, *Ustilago pinguiculae* und *U. vinosa* je vier Stämme untersucht.

Für die Zusendung von Material bin ich folgenden Herren zu bestem Dank verpflichtet: Dr. P. CRUCHET, Morges, Prof. F. KOBEL, Wädenswil, Prof. W. KOCH, Zürich, Dr. R. LAUBERT, Mülheim (Ruhr), Prof. W. H. SCHOPFER, Bern, und Prof. W. RYTZ, Bern.

Die Isolation der Sporidien erfolgte in den meisten Fällen mit dem Mikromanipulator. Aus einer Brandsporensuspension in sterilem Wasser oder Nährlösung wurden mit einer feinen Pipette kleine Tröpfchen, die nur 1—3 Brandsporen enthielten, auf ein grosses Deckglas gebracht und 12—24 Stunden in der feuchten Kammer gehalten. Während dieser Zeit erfolgte die Keimung und die Bildung der Primärsporidien, die mit dem Mikromanipulator isoliert wurden. Die Stammkulturen wurden kürzere oder längere Zeit auf Agar mit Zusatz von 2 % Glukose, 1 ‰ Asparagin und Hefeextrakt gezogen. Die Nährlösung für die Vitaminversuche hatte folgende Zusammensetzung: Glukose 1 %, Asparagin 1 ‰,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,5 ‰,  $\text{MgSO}_4$  0,5 ‰. Diese Grundlösung wird in den folgenden Tabellen als K (Kontrolle) bezeichnet. Die mit P bezeichnete Lösung enthielt dazu 0,4  $\gamma$  2-Methyl-4-amino-5-amino-methylpyrimidin pro Liter (0,01  $\gamma$  pro Kolben). Die mit T bezeichnete Lösung enthielt dieselbe Menge von 4-Methyl-5-( $\beta$ -oxyäthyl)-thiazol. Die PT-Lösung enthält beide Aneurinkomponenten in derselben Konzentration. Die mit B<sub>1</sub> bezeichnete Lö-

sung enthielt 0,8  $\gamma$  synthetisches Aneurin pro Liter (0,02  $\gamma$  pro Kolben).

Für die Ueberimpfung in die Nährlösung wurden in den ersten Versuchen die Pilzkolonien vom Agar abgeschabt, in dest. Wasser gebracht und dann mit der Pipette sehr schwach geimpft. Die Resultate waren aber nicht durchaus befriedigend, weil gelegentlich Spuren von Agar in die Impfflüssigkeit gelangten, wodurch die Ergebnisse erheblich gestört werden konnten. Wo in den Kontrollen ein deutliches Wachstum auftrat, wurde der Versuch mit der grössten Vorsicht wiederholt. Für die spätern Versuche kam das Impfmateriale zunächst für einige Tage in die Nährlösung ohne Wuchsstoff. Durch die starke Impfung setzte hier eine mittel-mässige Entwicklung ein, wobei aber der Vorrat an Aneurin aufgebraucht wurde. Die auf diese Art vorbehandelten Kulturen lieferten in der Regel eindeutige Resultate.

Die Kulturdauer betrug 13—14 Tage. Wahrscheinlich hätte man mit einer längern Dauer der Versuche eine etwas stärkere Entwicklung erzielen können. Da alle untersuchten Formen in Nährlösungen nur Sprossmycelien bilden, konnte auch hier die nephelometrische Methode angewendet werden (vgl. BLUMER, 1). Die prozentuale Lichtabsorption wird im folgenden als nephelometrischer Wert (NW) bezeichnet.

### 1. Das Verhalten verschiedener Stämme einer biologischen Art

Zur Abklärung der Frage, ob innerhalb einer biologischen Art, je nach der Provenienz des Materials verschiedene Grade der Heterotrophie vorkommen, wurde die auf *Melandrium album* und *M. rubrum* verbreitete Kleinart *Ustilago lychnidis-dioicae* Liro gewählt. Diese Form tritt besonders in den Voralpen auf *Melandrium rubrum* sehr häufig auf, so dass Material von verschiedenen Standorten mit Leichtigkeit zu beschaffen war. Ob auf den beiden *Melandrium*-Arten dieselbe biologische Art vorkommt, wie LIRO (7) auf Grund seiner Versuche annimmt, oder ob es sich um zwei verschiedene formae speciales handelt (ZILLIG, 14), wurde nicht nachgeprüft.

Es wurden im ganzen 23 Einsporidienkulturen der Form auf *M. album* von 2 Standorten und 89 Einsporidienkulturen der Form auf *M. rubrum* von zehn Standorten untersucht. Man könnte sich vielleicht fragen, warum von dieser Kleinart eine so grosse

Anzahl von Stämmen isoliert und auf ihr Verhalten gegenüber dem Aneurin geprüft wurde. Es mag hier erwähnt werden, dass da noch eine andere Frage mitspielte. Ich hoffte, schliesslich unter einer grossen Zahl von Stämmen einen zu finden, der gegenüber dem Aneurin autotroph gewesen wäre. Es hätte sich damit eine gute Gelegenheit geboten, die Vererbung dieses physiologischen Merkmales im Kreuzungsversuch zu untersuchen. Leider fand sich aber unter allen untersuchten Stämmen kein einziger auxo-autotropher Stamm. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tab. 1 zusammengestellt. Um festzustellen, ob die Dauer der Kultur auf festen Nährböden einen Einfluss auf den Grad der Heterotrophie ausübt, ist in der Tabelle auch die Zeit von der Isolation des Pilzes bis zur Einleitung des Vitaminversuches angegeben.

Tab. 1. Entwicklung von *Ustilago lychnidis-dioicae* Liro von verschiedenen Standorten

Nährpflanze und Herkunft	Kulturdauer	Zahl der Stämme	Nephelometrische Werte %				
			K	P	T	PT	B <sub>1</sub>
<i>Melandrium album</i>							
Bern, Bot. Garten . . . . .	19 Monate	19	3,3	4,0	3,3	30,4	34,8
Freiburg . . . . .	4 "	4	2,6	3,1	2,0	32,0	39,0
<i>Mittel</i> <sup>1)</sup>			3,2	3,8	3,1	30,7	35,6
<i>Melandrium rubrum</i>							
Justistal . . . . .	20 Monate	27	3,2	4,1	3,7	26,9	24,2
Tannalp (Frutt) . . . . .	17 "	4	1,6	3,5	2,6	29,0	28,5
Engstlenalp . . . . .	17 "	4	1,1	3,5	1,8	22,4	21,3
Engstlenalp <sup>2)</sup> . . . . .	7 "	6	1,3	3,1	2,7	20,3	20,5
Surenenpass <sup>2)</sup> . . . . .	7 "	12	1,3	4,3	1,9	26,5	24,3
Blatten (Lötschental)	7 "	4	2,1	3,6	2,6	21,9	20,9
Col des Mosses . . . . .	7 "	5	1,8	4,0	4,5	28,1	27,5
Ferden (Lötschental)	1½ "	14	2,1	2,7	2,3	21,2	21,9
Schynige Platte . . . . .	3 Wochen	6	3,2	6,3	4,7	25,3	23,3
Kandersteg . . . . .	2 "	5	1,8	4,7	3,8	20,4	20,6
<i>Mittel</i> <sup>1)</sup>			2,3	3,9	3,1	24,7	23,4

<sup>1)</sup> Die Mittelwerte sind nicht das arithmetische Mittel aus den hier angegebenen Zahlen, da diese selbst Mittelwerte aus einer ungleich grossen Zahl von Versuchen darstellen. Für die Berechnung dieses Mittels wurden die Einzelablesungen am Nephelometer benützt.

<sup>2)</sup> Die Nährpflanzen wurden ausgegraben und längere Zeit im Botanischen Garten kultiviert.

Aus Tab. 1 geht hervor, dass alle isolierten Stämme von *Ustilago lychnidis-dioicae* von *Melandrium album* und *M. rubrum* ungefähr denselben Grad der Heterotrophie gegenüber dem Aneurin aufweisen. Sie verhalten sich gleich wie der Stamm von Baarn, mit dem unsere ersten Untersuchungen ausgeführt wurden. Alle Stämme erwiesen sich als PT-Pilze vom Typus *Phycomyces*. Sie vermögen weder das Aneurin noch seine beiden Komponenten zu synthetisieren, dagegen sind sie imstande, Pyrimidin und Thiazol zum Aneurinmolekül zu vereinigen.

Die Dauer der Kultur auf festen Nährböden, die in diesen Versuchen zwischen zwei Wochen und zwanzig Monaten variiert, hat anscheinend keinen Einfluss auf den Grad der Heterotrophie.

Dagegen zeigen sich zwischen den Formen auf *Melandrium album* und *M. rubrum* einige Unterschiede, die in Anbetracht der grossen Zahl von Versuchen nicht ganz zufälliger Natur sein können. Zunächst fällt auf, dass bei der Form auf *Melandrium album* mit Aneurin oder PT bedeutend höhere nephelometrische Werte erreicht werden als bei den von *M. rubrum* isolierten Stämmen. Es müssen für die Entwicklung dieser Form noch andere Wachstumsfaktoren in Betracht kommen, was jedoch nicht näher untersucht wurde.

Auffällig ist ferner, dass die Stämme von *M. rubrum* fast ausnahmslos mit PT eine etwas bessere Entwicklung ergaben, als mit Aneurin selbst. Wir haben diese Erscheinung auch schon bei andern Pilzen beobachtet (SCHOPFER und BLUMER, 13), doch kann diese merkwürdige Tatsache vorläufig nicht erklärt werden. Es erscheint nicht ausgeschlossen, dass hier die Konzentration der Wirkstoffe eine Rolle spielt. Die von *M. album* isolierten Stämme zeigen dagegen eine etwas bessere Entwicklung mit  $B_1$  als mit PT. Dies lässt sich ohne weiteres so interpretieren, dass hier die Synthese der beiden Komponenten zum Aneurinmolekül etwas gehemmt oder herabgesetzt ist, es besteht also eine Tendenz zu einem höhern Grad der Heterotrophie.

Endlich muss hier erwähnt werden, dass sich die beiden Formen auch im Aussehen der Agarkulturen etwas voneinander unterscheiden. Schon KNIEP (6) beobachtete, dass die Kulturen der Form auf *M. album* leicht rosa gefärbt sind. Dazu sind die Kolonien oft faltig, während die Form von *M. rubrum* mehr gelbliche

und glatte Kolonien bildet. Diese Unterschiede fallen auf den ersten Blick auf und machen es wahrscheinlich, dass die Formen auf den beiden *Melandrium*-Arten doch nicht identisch sind, wie LIRO (7) auf Grund seiner positiv ausgefallenen Infektionsversuche annimmt.

## 2. Das Verhalten verschiedener Kleinarten der *Ustilago violacea*

Die Infektionsversuche von ZILLIG (14) und LIRO (7) wiesen auf eine weitgehende Spezialisierung des Antherenbrandes der Caryophyllaceen hin. *Ustilago violacea* s. l. ist als eine Sammelart zu betrachten, die aus zahlreichen biologischen Arten besteht. Neben dem Merkmal der Wirtswahl unterscheiden sich einige dieser Kleinarten nach LIRO auch in der Farbe der Brandsporen. KNIEP (6) wies, wie schon erwähnt auf die Unterschiede in der Farbe der Sporidienkulturen hin. Auch ich konnte feststellen, dass sich in der Farbe der Kolonien je nach der Wirtspflanze bedeutende Unterschiede zeigen, doch lassen sich von den fast weissen Kolonien der Formen auf einigen *Dianthus*-Arten alle Uebergänge feststellen bis zu den intensiv gelben Kolonien der Form auf *Silene acaulis*. Es ist unmöglich, hier Grenzen zu ziehen. Nach CIFERRI (3) bestehen auch im Durchmesser der Brandsporen bedeutende Unterschiede, doch ist es vorderhand nicht möglich, dieses morphologische Merkmal mit den biologischen (Spezialisierung) zu koordinieren, da zwischen Formen, die sich biologisch gleich verhalten, gelegentlich bedeutende Grössenunterschiede nachzuweisen sind, während andererseits Formen, die zu verschiedenen biologischen Arten zu zählen sind, in der Grösse der Brandsporen keine Unterschiede aufweisen. Ob sich hier morphologische und biologische Differenzierung so vollständig überschneiden, müssten weitere Infektionsversuche zeigen. KNIEP wies auch auf Grössenunterschiede in den Sporidien verschiedener biologischer Arten hin. Für die nahe Verwandtschaft dieser Kleinarten spricht die Tatsache, dass die meisten Formen leicht untereinander kopulieren.

LIRO teilt die Sammelart *Ustilago violacea* (Pers.) Roussel in 12 Kleinarten ein, die meistens auf eine Wirtsgattung oder auf wenige Arten spezialisiert sind. In Ausnahmefällen geht eine biologische Art auf eine andere Gattung über. Von diesen Klein-



arten LIROs konnten für diese Untersuchungen neun berücksichtigt werden. Allerdings stammte mein Material teilweise von Nährpflanzen, die in Infektionsversuchen noch nie verwendet worden sind, wie z. B. *Dianthus silvester*, *D. caesius*, *Silene acaulis*, *Silene vulgaris ssp. alpina* u. a. In diesen Fällen kann natürlich die Einordnung zu einer bestimmten Kleinart nur eine vorläufige sein.

Die Ergebnisse unserer Vitaminversuche sind in Tab. 2 (S. 27) zusammengestellt. Von den untersuchten Formen ist keine auxo-autotroph, ebenso ist keine imstande, Pyrimidin oder Thiazol zu synthetisieren. Die untersuchten Stämme sind ohne Ausnahme als PT-Organismen zu bezeichnen. Nur bei einzelnen Stämmen zeigte sich eine geringe Förderung durch Thiazol (*U. dianthorum*), was allerdings noch durch weitere Versuche bestätigt werden müsste. In den meisten Fällen wirkt Aneurin gleich wie die entsprechenden Mengen von Pyrimidin und Thiazol.

Einige Formen entwickelten sich in unserer Nährlösung auch mit Zusatz von Aneurin nur mittelmässig. Vielleicht hätten in diesen Fällen bei längerer Versuchsdauer höhere nephelometrische Werte erzielt werden können, doch wurde die Versuchsdauer im Interesse der Einheitlichkeit überall auf 13–14 Tage bemessen. Unterschiede in der Wachstumsintensität zeigten sich gelegentlich auch bei Stämmen derselben Herkunft. So betrug z. B. die nephelometrischen Werte für die Stämme 1–7 von *Ustilago violacea* s. str. auf *Saponaria* im Mittel 16,9, für die Stämme 8–12 dagegen 24,5. Diese Unterschiede traten auch in Agarkulturen auf. Die Stämme 1–7 bildeten relativ kleine Kolonien, die nach 20 Tagen einen Durchmesser von 2–4 mm erreichten, während die übrigen Stämme in der gleichen Zeit Kolonien von 6–7 mm Durchmesser bildeten. Die langsam wachsenden Stämme ergaben mit PT ungefähr dieselben Werte wie mit B<sub>1</sub>, dagegen bewirkte das Gemisch der beiden Aneurinkomponenten für die schneller wachsenden Stämme eine bedeutend schwächere Förderung als bei Zugabe von Aneurin. Es erscheint nicht ausgeschlossen, dass es sich dabei um Geschlechtsunterschiede handelt, doch konnte dies nicht mit Sicherheit festgestellt werden, weil gerade bei dieser Form Kopulationen selten auftreten, was schon von KNIEP beobachtet wurde.

Tab. 2. Heterotrophie gegenüber dem Aneurin bei verschiedenen Kleinarten von *Ustilago violacea*

Kleinart (nach Liro)	Wirtspflanze	Herkunft	Kulturdauer	Zahl der Stämme	Nephelometrische Werte (Mittel)				
					K	P	T	PT	B <sub>1</sub>
<i>U. violacea</i> (Pers.) Roussel s. str.	<i>Saponaria officinalis</i> L. . . . .	Kettwig a. d. Ruhr (leg. R. Laubert) . . . . .	7 Mon.	12	2,9	3,2	2,8	15,7	17,8
<i>U. antherarum</i> (Fr.) Liro . . . . .	<i>Silene acaulis</i> L. . . . .	Fruitt, Obwalden (leg. F. Kobel) . . . . .	18 Mon.	7	2,1	2,1	1,8	24,6	25,4
<i>U. lychnidis-dioicae</i> (D. C.) Liro	<i>Melandrium album</i> (Miller) Garcke	vergl. Tab. 1 . . . . .		23	3,2	3,8	3,1	30,7	35,6
	<i>Melandrium rubrum</i> Garcke . . . . .	vergl. Tab. 1 . . . . .		87	2,3	3,9	3,1	24,7	23,4
<i>U. dianthorum</i> Liro . . . . .	<i>Dianthus carthusianorum</i> L. . . . .	Saas-Fee, Wallis . . . . .	13 Tage	7	2,6	3,8	6,6	33,5	34,9
	<i>Dianthus deltoides</i> L. . . . .	St. Luc, Wallis . . . . .	14 Tage	5	5,0	5,0	6,0	40,0	38,8
	<i>Dianthus silvester</i> Wulf. . . . .	Baarn . . . . .	?	2	6,0	5,0	6,5	17,5	18,8
	<i>Dianthus caesius</i> Sm. . . . .	Morges (leg. P. Cruchet)	14 Mon.	6	3,9	4,9	4,5	31,4	32,8
<i>U. superba</i> Liro . . . . .	<i>Dianthus superbus</i> L. . . . .	Boltingen (leg. W. Rytz) . . . . .	18 Mon.	12	2,0	2,5	3,3	33,6	37,3
<i>U. coronariae</i> Liro . . . . .	<i>Lychnis flos cuculi</i> L. . . . .	Bern, bot. Garten . . . . .	1 Mon.	10	2,6	2,9	2,8	28,9	28,9
<i>U. major</i> Schroet. . . . .	<i>Silene Otites</i> (L.) Wibel . . . . .	Samaden, Graubünden . . . . .	19 Tage	6	0,8	0,9	0,6	21,2	26,6
	<i>Silene nutans</i> L. . . . .	Samaden, Graubünden . . . . .	18 Tage	6	2,3	2,3	2,7	29,9	33,9
	<i>Silene inflata</i> Sm., ssp. alpina (Lam.) Thom. . . . .	Stalden, Wallis (leg. W. Koch) . . . . .	19 Mon.	11	2,8	3,9	3,1	20,9	25,2
<i>U. silenes-nutantis</i> (D. C.) Liro	<i>Silene inflata</i> Sm., ssp. alpina (Lam.) Thom. . . . .	Celerina, Graubünden . . . . .	18 Tage	5	2,0	2,4	1,3	23,6	23,2
<i>U. silenes-inflatae</i> (D. C.) Liro	<i>Silene inflata</i> Sm., ssp. alpina (Lam.) Thom. . . . .	Engstlenalp, Bern . . . . .	14 Mon.	8	1,7	2,8	2,5	24,6	25,3
	<i>Silene inflata</i> Sm., ssp. alpina (Lam.) Thom. . . . .	Fextal, Graubünden . . . . .	18 Tage	4	1,3	1,6	1,8	24,8	25,8

### 3. Das Verhalten anderer antherenbewohnender Ustilagineen

In den Antheren von *Pinguicula* bildet *Ustilago pinguiculae* Rostr. ihre Brandsporen aus. Nach SCHELLENBERG (8) steht diese Art systematisch der Gruppe von *Ustilago violacea* sehr nahe und wurde früher auch mehrfach mit dieser vereinigt. Bei uns scheint *U. pinguiculae* besonders auf *Pinguicula alpina* nicht selten vorzukommen. Das in diesen Versuchen verwendete Material stammt vom Oeschinenholz bei Kandersteg (11. 6. 1939).

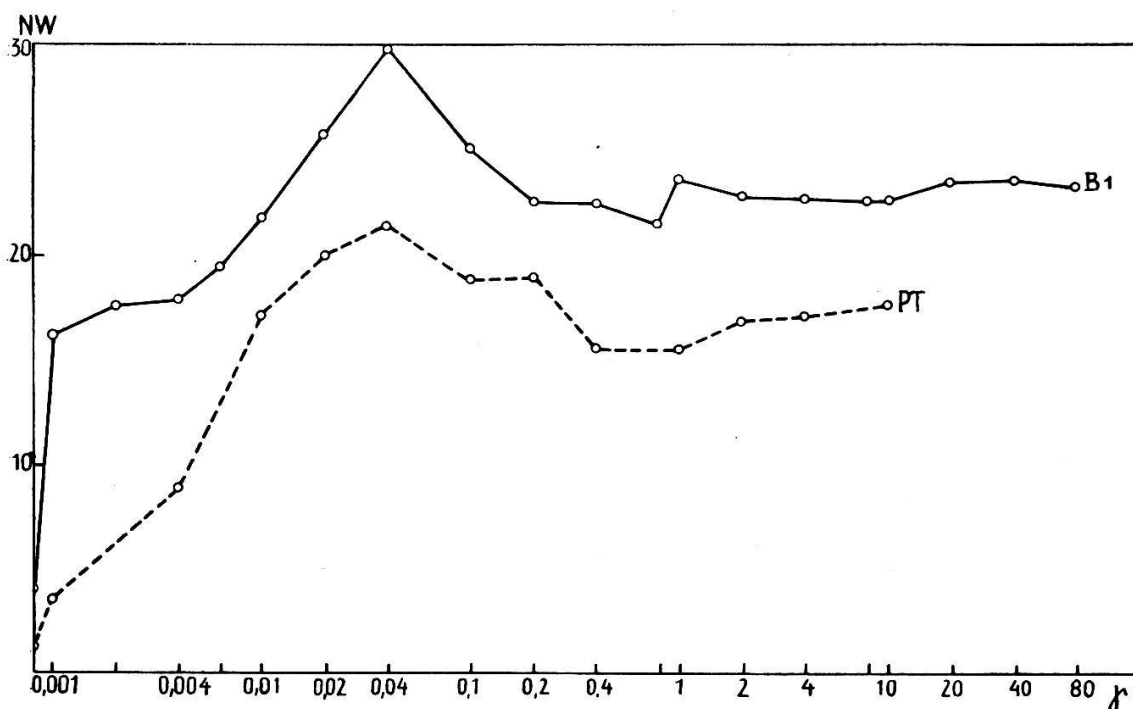
Die Brandsporen sind gut keimfähig. In Nährlösungen bildet sich ein 3—4zelliges Promycel mit Sporidien. Oft erfolgt die Keimung mit einem mycelartigen Faden, oder das Promycel kann gelegentlich in einen ziemlich langen verkrümmten Faden auswachsen. Die Sporidienkopulation erfolgt seltener als bei den meisten Formen von *U. violacea*, doch konnte ich zahlreiche einwandfreie Kopulationen feststellen. Der Pilz bildet auf Agar weissliche, schleimige und leicht zerfliessende Kolonien.

Schon die ersten Versuche ergaben, dass *U. pinguiculae* ein typischer PT-Pilz ist. Er unterscheidet sich in dieser Hinsicht also nicht von der nahe verwandten *U. violacea*. Das Optimum der Aneurinwirkung liegt etwas höher als bei dieser Art, nämlich etwas unterhalb 0,04  $\gamma$ /25 ccm. Wie aus der Abbildung hervorgeht, kann auch bei dieser Art das Aneurin im Bereiche der suboptimalen und optimalen Dosen nicht vollständig durch das Gemisch von Pyrimidin und Thiazol ersetzt werden.

An den Konzentrationskurven von *U. pinguiculae* fällt auf den ersten Blick der ausgesprochene Kurvengipfel bei der optimalen Konzentration auf. Bei höhern Vitamindosen zeigt sich eine leichte, aber immerhin deutliche Entwicklungshemmung. Alle vier untersuchten Stämme dieser Art verhielten sich gleich, wenn auch die absoluten Werte bedeutende Abweichungen zeigten. Auch supraoptimale Dosen von Pyrimidin plus Thiazol bewirkten, wie aus der Kurve hervorgeht, eine deutliche Hemmung. Von einer toxischen Wirkung kann hier allerdings nicht gesprochen werden, da die nephelometrischen Werte bei weiter zunehmender Konzentration des Aneurins nicht mehr abnehmen.

Bis jetzt wurde eine Hemmung durch Aneurin nur bei *Rhizopus*-Arten beobachtet (vgl. SCHÖPFER, 11, S. 39). Nun sind diese Pilze aber im Gegensatz zu *Ustilago pinguiculae* gegenüber dem

Aneurin autotroph. Wir stehen hier vor der Tatsache, dass das Aneurin auf einen Pilz sowohl fördernd als hemmend wirken kann. Bis zu einer Konzentration von 0,04  $\gamma$  ist die Förderung unverkennbar, ohne Vitaminzugabe erfolgt überhaupt keine nennenswerte Entwicklung des Pilzes. Schon bei einer Konzentration, die ungefähr doppelt so hoch ist wie das Optimum, bewirkt das Aneurin



Entwicklung von *Ustilago pinguiculae* bei steigenden Konzentrationen von B<sub>1</sub> und PT

eine deutliche Senkung der nephelometrischen Werte. Es gibt vorläufig keine befriedigende Erklärung dieses merkwürdigen Verhaltens.

Aus Tab. 3 geht hervor, dass auch Thiazol allein eine schwache Förderung auf *U. pinguiculae* ausübt. Ebenso wirkt Aethylaneurin\*) deutlich fördernd, doch scheint das Optimum hier bedeutend höher zu liegen. Auch hier tritt bei höhern Konzentrationen eine deutliche Hemmung auf. Thiochrom ergibt nur in relativ hohen Konzentrationen eine mittelmässige Entwicklung. Dasselbe gilt für Hefeextrakt.

\*) C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> anstatt CH<sub>3</sub> in Stellung 2 des Pyrimidins.

**Tab. 3. Wirkung der Aneurinkomponenten, Aethylaneurin und Thiochrom auf *Ustilago pingiculae* (Stamm 3)**

	Konzentration					
	0	0,01 $\gamma$	0,02 $\gamma$	0,2 $\gamma$	1 $\gamma$	10 $\gamma$
	NW	NW	NW	NW	NW	NW
	%	%	%	%	%	%
Pyrimidin . . . . .	1,3	4,8	3,5	3,5	4,8	
Thiazol . . . . .		4,0	2,5	9,0	8,8	
Pyrimidin + Thiazol		17,0	20,0	18,8	15,5	16,8
Aneurin . . . . .		19,9	21,1	15,5	16,0	15,1
Aethylaneurin . . . .		13,3	18,3	23,7	19,5	19,2
Thiochrom . . . . .		1,1		10,4		16,6

Endlich wurden einige Versuche mit der auf *Oxyria digyna* in den Alpen verbreiteten *Ustilago vinosa* (Berk.) Tul. ausgeführt. Der Pilz bildet auf Agar gelbliche Kolonien, ungefähr wie *Ustilago scabiosae*. Nach LIRO (7) ist *U. vinosa* systematisch etwas weiter von den bis jetzt untersuchten antherenbewohnenden Brandpilzen entfernt. Sie hat wie diese Sporen mit netzartig verbundenen Leisten, doch sind diese hier engmaschig, im Gegensatz zu *U. violacea*, *U. scabiosae* und *U. pingiculae*. Nach GOLDSCHMIDT (5) kopulieren aber die Sporidien von *U. vinosa* leicht mit *U. violacea*, was doch wieder auf eine nähere Verwandtschaft hinweisen würde. Man darf allerdings die Kopulation, die nur zur Plasmogamie führt, noch nicht als eigentliche Bastardierung bezeichnen, solange man die Kreuzungsprodukte nicht bis zur Karyogamie, d. h. bis zur Bildung und Keimung der Brandsporen verfolgen kann.

Die Versuche wurden mit Material aus dem Fextal ausgeführt. Es wurden von dieser Art nur vier Stämme nach dem Plattenverfahren isoliert. *Ustilago vinosa* ist ebenfalls ein typischer PT-Pilz. Mit Pyrimidin oder Thiazol ist die Entwicklung nicht besser als in den Kontrollserien, während mit Aneurin, wie auch mit Pyrimidin plus Thiazol nephelometrische Werte von 26 erreicht wurden.

#### 4. Veränderungen im Grade der Aneurinheterotrophie

Es geht aus den Tabellen 1 und 2 hervor, dass der Grad der Heterotrophie gegenüber dem Aneurin bei der Sammelart

*Ustilago violacea* im allgemeinen ziemlich konstant ist. Ob es sich um frisch isolierte Stämme handelt, oder ob sie zwanzig Monate auf Agar kultiviert worden waren, hatte keinen nachweisbaren Einfluss auf den Grad der Heterotrophie. Der von uns zuerst untersuchte Stamm von Baarn, der wahrscheinlich schon seit Jahren in Kultur ist, verhielt sich gegenüber dem Aneurin und seinen Komponenten nicht anders als die neu isolierten Stämme.

Trotzdem musste die Frage, ob unsere Stämme durch längere Kultur im Grad der Aneurinheterotrophie verändert werden können, einmal näher untersucht werden. Dies um so mehr, als wir in früheren Untersuchungen (SCHOPFER und BLUMER, 12) bei *Ustilago violacea* f. sp. *dianthi deltoidis* deutliche Anzeichen einer mit der Zeit immer ausgeprägteren Heterotrophie bemerkten. Nach Tab. 2 zeigen die Formen auf *Saponaria officinalis*, *Melandrium album*, *Dianthus silvester* (Boltigen), *D. superbus*, *Lychnis flos cuculi* und *Silene Otites* Anzeichen einer etwas stärkeren Heterotrophie. Bei diesen Formen ergibt sich mit Pyrimidin plus Thiazol in ungefähr optimalen Konzentrationen ein wesentlich schwächeres Wachstum als mit den entsprechenden Dosen von Aneurin. Diese Stämme erschienen nun besonders geeignet, um die Stabilität des Grades der Heterotrophie näher zu untersuchen. Die Versuche wurden mit Stamm 11 von *U. major* auf *Silene Otites*, sowie mit einigen Stämmen von *U. violacea* auf *Saponaria officinalis* durchgeführt. Die Pilze wurden während mehreren Passagen in unserer gewöhnlichen Nährlösung kultiviert. Leider wurden die Versuche nach der 6. Ueberimpfung durch einen längeren Militärdienst unterbrochen. Wie aus Tab. 4 hervorgeht, lieferten sie immerhin einige Anhaltspunkte für eine Veränderung im Grade der Heterotrophie.

Vergleichen wir zunächst die nephelometrischen Werte der Kulturen mit Aneurin, so sehen wir, dass sie ziemlich bedeutenden Schwankungen unterworfen sind, die wohl in erster Linie auf unkontrollierbare Einflüsse (Temperatur, Stärke der Impfung) zurückzuführen sein mögen. Diese Variationen sind durchaus unregelmässig und richtungslos. Es machen sich keinerlei Anzeichen von Depressionen geltend, gleichviel, ob das Impfmateriale aus einer Agarkultur, aus einer PT- oder B<sub>1</sub>-Kultur stammte.

Ganz anders verläuft nun die Entwicklung mit Pyrimidin plus Thiazol. Nach der ersten Ueberimpfung sind die Werte für PT

fast gleich hoch wie für  $B_1$ . Dies muss zwar als Ausnahme betrachtet werden, da nach zahlreichen Versuchen, die in Tab. 2 zusammengestellt sind, mit PT gewöhnlich etwas kleinere Werte erzielt wurden. Von der zweiten bis zur sechsten Ueberimpfung sinken jedoch die nephelometrischen Werte für die PT-Kulturen regelmässig ab, bis sie schliesslich kaum mehr höher sind als die der Kontrollen. Nach einer Kultur in unserer Nährlösung von kaum drei Monaten ist also aus einem PT-Pilz ein Aneurin-Pilz geworden, der die Fähigkeit, Pyrimidin und Thiazol zum Aneurinmolekül zu vereinigen fast vollständig verloren hat.

Tab. 4. Veränderungen im Grade der Heterotrophie bei *Ustilago major*, Stamm 11

Ueberimpfung Nr.	Datum der Ueberimpfung	Herkunft des Impfmateri als	Nephelometrische Werte %		
			K	PT	$B_1$
1	7. Februar	aus Agarkultur . . . . .	2,0	24,0	26,0
2	20. Februar	aus Kontrolle (K) von Nr. 1	3,5	16,0	34,0
3	6. März	aus Kontrolle (K) von Nr. 2	1,5	15,5	24,5
4	18. März	aus Kontrolle (K) von Nr. 3	2,5	10,0	37,5
5	3. April	a) aus PT von Nr. 4 . . . . .	0,5	8,4	36,0
		b) aus $B_1$ von Nr. 4 . . . . .	1,5	5,8	32,5
6	17. April	a) aus PT von Nr. 5 a . . . . .	2,0	2,6	24,5
		b) aus $B_1$ von Nr. 5 a . . . . .	3,0	4,1	26,0
7	29. April	a) aus PT von Nr. 6 a . . . . .	3,5	4,5	38,0
		b) aus $B_1$ von Nr. 6 a . . . . .	2,0	3,4	42,2
	9. August	aus alter Agarkultur . . . . .	1,0	1,5	19,5
		aus junger Agarkultur . . . . .	4,0	4,5	28,0

Diese Zunahme der Aneurinheterotrophie zeigt sich, wie aus Tab. 4 hervorgeht, nicht nur bei der Kultur in Nährlösungen, sondern auch auf festen Nährböden. Der Stamm 11 von *U. major* war bei der ersten Ueberimpfung (7. Febr.) ungefähr ein halbes Jahr in Kultur. Zu dieser Zeit wuchs er mit PT noch ebenso gut wie mit  $B_1$ . Nach weitem sechs Monaten zeigte es sich, dass auch hier die Heterotrophie viel weiter fortgeschritten war; mit PT ergab sich am 9. August keine nennenswerte Entwicklung mehr. Diese Ergebnisse wurden auch durch Versuche mit sechs Stämmen von *U. violacea* s. str. auf *Saponaria* bestätigt. Es müsste allerdings nach unsern Erfahrungen mit *Ustilago scabiosae* noch untersucht werden, ob diese Zunahme der Aneurin-

heterotrophie nicht durch höhere Konzentrationen von PT wieder kompensiert werden könnte. Unsere Versuche wurden immer mit der annähernd optimalen Konzentration von je 0,02  $\gamma$  pro 25 ccm ausgeführt.

### 5. Allgemeine Schlussfolgerungen

Die Untersuchung von 223 Stämmen der Sammelart *Ustilago violacea* und einiger verwandter Arten (*U. scabiosae*, *U. pingiculatae*, *U. vinosa*) ergab, dass alle untersuchten Stämme gegenüber dem Aneurin heterotroph sind. Auxo-autotrophe Stämme, also solche, die imstande sind, das zum Ablaufe der Lebensvorgänge notwendige Aneurin selbst zu synthetisieren, scheinen nicht vorzukommen. Die Aneurinheterotrophie ist also nicht als zufälliges Merkmal zu betrachten. Ebenso wenig ist sie auf eine Degeneration als Folge der Kultur auf künstlichen Substraten zurückzuführen. Im Grade der Aneurinheterotrophie stimmen die hier untersuchten Stämme weitgehend überein.

SCHOPFER (vgl. 9 und 11) konnte namentlich für die Mucorineen zeigen, dass das Aneurinbedürfnis auf einem Verlust des Synthesevermögens beruht. Er unterscheidet nach dem Grad der Heterotrophie in bezug auf das Aneurin und seine Komponenten folgende acht Hauptgruppen, die für die verschiedensten Lebewesen des Tier- und Pflanzenreiches gültig sind:

1. Die höhere Pflanze. Vollständig autotroph.
2. Die auxo-autotrophen Mikroorganismen, die imstande sind, die Aneurinsynthese vollständig auszuführen (*Absidia glauca* und zahlreiche andere Pilze).
3. Die Pyrimidin-Organismen. Thiazol wird synthetisiert, nicht aber Pyrimidin (*Rhodotorula rubra*, *Schizophyllum commune*).
4. Die Thiazol-Organismen. Pyrimidin wird synthetisiert, nicht aber Thiazol (*Mucor Ramannianus*).
5. Organismen, die durch Pyrimidin gefördert werden, bei denen aber das Pyrimidin nicht vollständig die Wirkung von PT oder B<sub>1</sub> ersetzen kann (*Parasitella simplex*, *Absidia ramosa*).
6. Die PT-Organismen. Verlust der Synthesefähigkeit für Pyrimidin und Thiazol (*Phycomyces blakesleeanus*, *Staphylococcus aureus*).



7. Die Aneurin-Organismen. Verlust der Synthesefähigkeit für Pyrimidin und Thiazol, sowie Verlust der Fähigkeit, die beiden Komponenten zum Aneurinmolekül zu vereinigen (*Phytophthora cinnamomi*).

8. Hemmende Wirkung des Aneurins (*Rhizopus*).

Nach dieser Einteilung müssen alle untersuchten Stämme als PT-Organismen bezeichnet werden. Es konnte aber festgestellt werden, dass bei verschiedenen Kleinarten mit Pyrimidin und Thiazol nicht die gleich starke Förderung erzielt werden kann wie mit Aneurin. Es machen sich hier Anzeichen einer stärkern Heterotrophie geltend. Die Versuche mit *Ustilago major* und *U. violacea* s. str. zeigten, dass bei diesen Formen der Grad der Heterotrophie nicht sehr stabil ist. Sie waren nach relativ kurzer Kulturdauer nicht mehr imstande, Pyrimidin und Thiazol zum aktiven Aneurin zu vereinigen. Ob sie diese Fähigkeit vollständig verloren haben, müsste allerdings noch untersucht werden. Möglicherweise würden auch hier stark supraoptimale Konzentrationen der beiden Aneurinkomponenten eine normale Entwicklung ermöglichen, wie wir für *Ustilago scabiosae* nachgewiesen haben. Weniger wahrscheinlich erscheint die Annahme, dass der Vorgang der Aneurinsynthese bei diesen Pilzen nur langsamer verläuft, so dass man schliesslich bei längerer Kulturdauer auch mit PT höhere nephelometrische Werte erzielen könnte. Es wäre auch sehr interessant, zu untersuchen, ob es unter besondern Kulturbedingungen gelingen würde, die experimentell erzielte Zunahme der Aneurinheterotrophie wieder rückgängig zu machen, also die Aneurinpilze wieder zu PT-Pilzen zu regenerieren.

Es muss allerdings erwähnt werden, dass die Mehrzahl der untersuchten Stämme im Grad der Aneurinheterotrophie absolut stabil war. Aber die Tatsache, dass es einzelne Stämme gibt, bei denen der Grad der Heterotrophie nicht scharf fixiert ist, kann vielleicht gewisse Widersprüche in den Angaben verschiedener Autoren erklären. *Tilletia tritici* ist nach DEFAGO (4) ein Aneurinpilz, nach unsern Beobachtungen (SCHOPFER et BLUMER, 13) dagegen muss sie als auxo-autotroph gelten, sie zeigt höchstens eine schwache Förderung durch P, PT und B<sub>1</sub>. Hier sind die Ergebnisse stark abweichend, sie bewegen sich sozusagen auf der ganzen Skala der abgestuften Heterotrophie, während wir experimentell nur einen Syntheseverlust von einer Stufe zur nächsten

erreichen konnten. Trotzdem sehen wir vorläufig keine andere Möglichkeit, solche Widersprüche zu erklären, als mit der Annahme verschieden reagierender Stämme, wobei vielleicht die Art der Vorbehandlung eine wichtige Rolle spielt.

Die Aneurinheterotrophie der von uns untersuchten Stämme von *Ustilago violacea* und der verwandten Arten zeigt eigentlich ein auffällig einheitliches Bild. Es wäre aber verfehlt, dies einfach auf die parasitische Lebensweise dieser Pilze zurückzuführen, da es ja nach frühern Feststellungen auch auxo-autotrophe Brandpilze gibt (SCHOPFER, 11). Nun stimmen aber *U. violacea*, *U. scabiosae*, *U. pinguiculae* und wahrscheinlich auch *U. vinosa* darin überein, dass sie ihre Brandsporen in den Antheren der Wirtspflanzen ausbilden. Man könnte sich fragen, ob vielleicht der Grad der Aneurinheterotrophie durch diese Besonderheit ihrer Lebensweise bestimmt wurde. Es erscheint nicht ausgeschlossen, dass Pilze, die auf ganz bestimmte Substrate spezialisiert sind, gerade dadurch gegenüber dem Aneurin heterotroph werden. Es wäre hier an die grosse Zahl der holzbewohnenden Hymenomyceten, besonders an die Polyporales zu erinnern, von denen man zahlreiche Arten kennt, die die Fähigkeit, das Aneurin zu synthetisieren, ganz oder teilweise verloren haben. Auch diese Pilze stehen in der Natur unter ganz bestimmten, mehr oder weniger einseitigen Bedingungen. Wenn diese Ueberlegungen zutreffen, so müsste man unter den auf bestimmte Substrate spezialisierten Pilzen, seien es Saprophyten oder Parasiten, eine relativ grössere Zahl von auxo-heterotrophen Arten und auch einen höhern Grad der Heterotrophie erwarten als bei ubiquistischen Pilzen.

### Zitierte Literatur

1. BLUMER, S. Untersuchungen über die Biologie von *Ustilago violacea* (Pers.) Fuck. I. Mitteil. — Archiv f. Mikrobiol. 8: 458—478. 1937.
2. — und SCHOPFER, W. H. Beiträge zur Biologie und Wirkstoffphysiologie von *Ustilago scabiosae* (Sowerby) Winter. — Ber. Schweiz. Bot. Gesellschaft. 50: 248—272. 1940.
3. CIFERRI, R. Ustilaginales. — Flora Italica Cryptogama Fasc. 17. 1938.
4. DEFAGO, G. Effets de l'aneurine, de ses composants et de l'hétéroauxine sur la croissance de trois parasites du blé. — Phytopath. Zeitschr. 13: 293—315. 1940.

5. GOLDSCHMIDT, V. Vererbungsversuche mit den biologischen Arten des Antherenbrandes (*Ustilago violacea* Pers.). — Zeitschr. f. Bot. 21: 1—90. 1928/29.
6. KNIEP, H. Untersuchungen über den Antherenbrand (*Ustilago violacea* Pers.). — Zeitschr. f. Bot. 11: 257—284. 1919.
7. LIRO, J. I. Die Ustilagineen Finnlands. — Ann. Acad. Sci. Fennicae, Serie A 17: 1—636. 1924.
8. SCHELLENBERG, H. C. Die Brandpilze der Schweiz. — Beitr. zur Kryptogamenflora der Schweiz, Bd. 3, Heft 2. 1911.
9. SCHOPFER, W. H. Aneurine et hétérotrophie chez les microorganismes. — Archiv f. Mikrobiol. 9: 116—128. 1938.
10. — Ueber die Einwirkung von Aneurin auf *Ustilago violacea*. — Ber. Deutsche Bot. Gesellschaft 55: 572—576. 1938.
11. — Vitamine und Wachstumsfaktoren bei den Mikroorganismen, mit besonderer Berücksichtigung des Vitamins B<sub>1</sub>. — Ergebn. der Biologie 16: 1—172. 1939.
12. — und BLUMER, S. Untersuchungen über die Biologie von *Ustilago violacea* (Pers.) Fuck. II. Mitteil. — Archiv f. Mikrobiol. 9: 305—367. 1938.
13. — — Recherches sur la répartition de l'hétérotrophie par rapport à l'aneurine chez les champignons. — Archiv f. Mikrobiol. 11: 205—214. 1940.
14. ZILLIG, H. Ueber spezialisierte Formen beim Antherenbrand, *Ustilago violacea* (Pers.) Fuck. — Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 53: 33 bis 74. 1921.