

Unter diesen selben und andern ungünstigen Bedingungen kommt es auch zu Zerfallerscheinungen und Bildung von brutkörperartigen Organen, deren weiteres Verhalten dem über die isolierten Teile Gesagten entspricht.

Beim Auskeimen der Zygoten wie der vegetativen Vermehrungsprodukte geht eine Phase unregelmäßigen — an Protonemen erinnernden — Wuchses dem Anfang der Thallusorganisation voran. Diese erfolgt durch lokal gehäufte und bestimmt orientierte Bildung der Palsadenschläuche (Zentrenbildung).

Münster (Westf.), 16. Januar 1911.

Benötigt der Pilz *Coprinus* Kalksalze zu seinen physiologischen Funktionen?

Von **James R. Weir.**

Während niedere Pilze ebenso wie niedere Algenformen Kalziumsalze für ihre Existenz und Funktionen entbehren können, ist die Frage, ob für höhere Pilze Kalzium ebenso wichtig ist wie für die höher stehenden Algenformen, bis jetzt nicht erledigt worden. Nur Hori¹⁾ hat kürzlich einige Versuche veröffentlicht, welche wenigstens für zwei Arten höherer Pilze ergeben hatten, daß bei Abwesenheit löslicher Kalziumverbindungen jede Entwicklung ausblieb, woraus er den Schluß zog, daß gewisse höhere Pilze sehr wahrscheinlich Kalziumsalze benötigen²⁾.

Da ich mich nach mehreren Seiten hin mit Fragen über die Gattung *Coprinus* beschäftigte, widmete ich auch obiger Frage meine Aufmerksamkeit. Zunächst wurde ein Nährmedium bereitet wie folgt: 3 g Agar wurden in 200 ccm dest. Wasser gelöst und 2 g Glukose, 1 g Monokaliumphosphat, neutralisiert mit Ammoniak, und 0,5 g Magnesiumsulfat zugesetzt und die Lösung in vier konische Flaschen von je 200 ccm Kapazität verteilt.

A diente als Kontrollflasche, B erhielt 2 g neutrales Kaliumsulfat, C 3 g neutrales Kaliumtartrat, D 2 g neutrales Kaliumoxalat,

1) Flora, Bd. CI, pag. 447.

2) Bezüglich der Funktion der Kalziumsalze vgl. Oscar Loew, Flora 1892, pag. 368.

um die Kalkspuren unlöslich zu machen. Diese Salzmengen waren einander nahezu chemisch äquivalent, die Mischungen wurden wie üblich sterilisiert und mit Sporen von einer Reinkultur von *Coprinus plicatilis* (Fries) in einer Dampfatosphäre infiziert. Nach 2 Wochen ergab sich: in A waren kleine Fruchtkörper bis zur Sporenreife entwickelt, in B und C war Keimung und Myzelbildung eingetreten aber noch kein Fruchtkörper gebildet, in D war gar keine Keimung eingetreten, keine Spur Myzel war sichtbar und auch später änderte sich daran nichts mehr.

Zweiter Versuch: Hier wurde das gleiche Nährmedium verwendet aber unter Zumischung von 10 ccm Stallmistextrakt. Die Flaschen wurden mit *C. papillatus* (Fries) infiziert und bei 30° im Thermostat gehalten. Nach 10 Tagen waren in A zwei Fruchtkörper entwickelt bis zum sporenreifen Zustand. Nach 20 Tagen war in B und C Myzelien und Rudimente von Fruchtkörpern entstanden, in D aber keine Spur Myzel entwickelt.

Dritter Versuch: Das Nährmedium war dasselbe, wie beim zweiten Versuch, wurde aber mit Sporen von *Coprinus niveus* (Fries) infiziert. Nach 19 Tagen erschienen Fruchtkörper in großer Zahl und kräftig entwickelt in A, in B erschien Myzel, in C Myzel mit Fruchtkörpern, in D aber war jede Spur Entwicklung ausgeblieben. Nach weiteren 5 Tagen erschienen sieben Fruchtkörper in B, aber noch ohne Sporen. In C nahmen die Fruchtkörper nicht weiter zu, und auch keine Sporen waren erschienen. In D war wieder jede weitere Entwicklung ausgeblieben.

Vierter Versuch: Hier unterschied sich das Nährmedium von dem bei dem ersten Versuch nur durch die Abwesenheit des Agar. Es wurden hier Petrischalen zu den Kulturen verwendet, welche mehrere Schichten Filtrierpapier enthielten. Nach dem Sterilisieren wurden diese in sterilisierte Lösung getaucht, so daß die eindringende Flüssigkeit das Filtrierpapier benetzen mußte, auf welches dann die Sporen von *C. ephemeroides* (Fries) wie früher ausgesät wurden. In jeder Abteilung waren vier so präparierte Schalen, welche in große, etwas Wasser enthaltende sogenannte Kristallisierschalen gesetzt wurden, die geschützt vor dem direkten Sonnenlicht bei Zimmertemperatur stehen blieben. Nach 2 Tagen Stehen ergab sich in allen vier Abteilungen, daß Keimung der Sporen eingetreten war. Nach 10 weiteren Tagen im Thermostat ergab sich bei A Entwicklung von kleinen wohlgeformten Fruchtkörpern mit Sporen und ein blasser Fruchtkörper ohne Sporen. Alle diese Fruchtkörper waren positiv heliotropisch, doch verflüssigten sich erstere,

wenn auch langsam, der blasse Fruchtkörper aber nicht. Bei B zeigte sich nun viel Myzel und nach 3 weiteren Tagen Fruchtkörper mit Sporen. Bei C viel Myzelium und nach 4 weiteren Tagen drei kleine Fruchtkörper ohne Sporen in einer von den vier Schalen. In D war gar keine weitere Entwicklung eingetreten.

Nachträglich wurde ein Medium hergestellt, mit Zusatz von 0,2 % Chlorkalzium zu A, weil der benützte Agar und das Mistextrakt offenbar nur sehr geringe Mengen Kalk enthielten. Nach diesem Kalziumsalzzusatz nun war die Fruchtkörperbildung eine sehr reichliche geworden.

Fünfter Versuch: Es wurden 20 ccm konzentriertes Stallmistextrakt zu 100 ccm destilliertes Wasser gesetzt und die neutralisierte Flüssigkeit in drei Teile geteilt. A diente als Kontrolle. B erhielt 0,1 % Chlorkalzium. Da nun durch diesen Zusatz etwas Phosphorsäure ausgefällt war, so wurde noch 0,02 % Monokaliumphosphat zugesetzt. C erhielt 0,08 % neutrales Kaliumoxalat, wodurch eine Trübung herbeigeführt wurde, woraus sich offenbar nur auf einem geringen Kalkgehalt des Mistextraktes schließen ließ. Auch hier wurden Petrischalen mit Fließpapiereinlage wie im vierten Versuch verwendet. Nach 2 Tagen war überall beginnende Sporenkeimung eingetreten, welche sich nach 2 weiteren Tagen bei A und B sehr weit entwickelte, bei C aber stehen blieb, unter Zeichen des Absterbens. Nach 6 weiteren Tagen war in A und B Entwicklung von Fruchtkörpern eingetreten¹⁾.

Sechster Versuch: Eine Lösung von 2 % Wittepepton wurde mit soviel verdünnter Kaliumoxalatlösung versetzt, als noch eine Zunahme der Trübung bemerkt wurde. Als 0,04 % der Peptonlösung an Oxalat verbraucht war, schienen die sämtlichen vorhandenen Kalkspuren sicher gefällt zu sein. Die Lösung wurde wohl bedeckt, 3 Tage stehen gelassen, bis sich der ausgeschiedene oxalsaure Kalk als Niederschlag am Boden gesammelt hatte. Die sorgfältig abgezogene Lösung wurde nun nach dem Filtrieren in zwei Teile geteilt. A erhielt keinen weiteren Zusatz, zu B aber wurden 0,2 % Chlorkalzium gesetzt. Nach 5 Tagen nach der Aussaat von Sporen des *Coprinus plicatilis*, welcher auch beim fünften Versuch verwendet wurde, zeigte sich in den Petrischalen bei A nur Spuren von Keimung, während bei B schon reichlich Myzel entwickelt war. Während nun bei A auch nach weiteren 8 Tagen gar keine Entwicklung der Myzelbildung eingetreten war, bildeten sich

1) Es wurde bei mehreren Versuchen festgestellt, daß die neutrale Reaktion des Nährmediums während der Entwicklung der *Coprini* nicht in eine saure umschlug.

bei B bereits Fruchtkörper, die etwas später reife Sporen und die charakteristische Selbstverflüssigung zeigten.

Es geht aus diesen Versuchen hervor, daß Kalziumverbindungen zum Leben und Gedeihen höherer Pilze ebenso notwendig sind als für die höheren Algen und die höher stehenden Pflanzen überhaupt. Das Genus *Coprinus* gehört, wie bekannt, zu den höchst entwickelten Pilzen. Hori's Arbeit (l. c.) konnte zwar ebenfalls kaum einen Zweifel mehr aufkommen lassen, aber seine Beweisführung ist eine mehr indirekte. Durch meinen Nachweis, daß die Kalziumzufuhr die durch Kalziumentziehung entwicklungsuntüchtig gewordene Lösung wieder entwicklungstüchtig für *Coprinus* macht, ist die Probe aufs Exempel erbracht, der erste direkte Beweis geliefert worden¹⁾.

1) Die Einwände, welche gegen Hori's Arbeit gebracht wurden, scheinen nicht wohl begründet zu sein. Einerseits beruht ja die Giftwirkung löslicher Oxalate eben nur auf Kalkentziehung bei kalkbedürftigen Organismen (siehe hierüber die Ausführungen von O. Loew in der Münchener med. Wochenschr. vom 6. Dez. 1910 über „Die physiologische Rolle der Kalziumsalze“ und auch in Flora 1892). Andererseits könnte der Hinweis, daß Kalziumoxalat auch von den Wurzeln höherer Pflanzen ausgenützt werden könne und daher auch höheren Pilzen keineswegs unzugänglich zu sein brauche, sich nur auf solche Fälle beziehen, in denen tatsächlich ein, wenn auch sehr geringes Wachstum in Hori's Versuchen stattfand, wie bei *Botrytis* und *Sclerotinia*, *Rhizopus* und *Fusarium*. Es wäre denkbar, daß hier durch Säurebildung wie bei Wurzeln etwas Kalziumoxalat gelöst und assimiliert worden wäre. Diese Arten haben keine entscheidende Antwort auf obige Frage gegeben. Anders liegt aber der Fall bei Hori's Versuch mit *Cephalothecium* und *Entomophthora*. Diese Arten zeigten absolut keine Entwicklung, wenn Kalzium nur als unlösliches Oxalat vorhanden war. Sie sind also kalkbedürftig. Interessant ist die weitere Frage, wo die physiologische Grenze liegt zwischen den kalkbedürftigen höheren Pilzformen und den niederen kalknichtbedürftigen Formen.