

HUMANPATHOGENE PILZE
IM TIER- UND PFLANZENREICH

VORTRÄGE DER
5. WISSENSCHAFTLICHEN TAGUNG DER
DEUTSCHSPRACHIGEN MYKOLOGISCHEN GESELLSCHAFT
IN MÜNCHEN
AM 17. UND 18. JULI 1965

HERAUSGEGEBEN VON

PROF. DR. HANS GÖTZ
KLINIKUM ESSEN DER RUHRUNIVERSITÄT BOCHUM

UND

DR. HANS RIETH
HAMBURG

MIT 82 TEXTABBILDUNGEN

1969
GROSSE VERLAG
BERLIN

Institut für medizinische Mikrobiologie, Farbenfabriken Bayer AG, Werk Elberfeld

Sexualhormone bei Schimmelpilzen

M. PLEMPPEL, Wuppertal-Elberfeld

Mit 6 Abbildungen

Neben der asexuellen Vermehrung durch Sporangiosporen fand BLAKESLEE um 1900 bei Schimmelpilzen der Gattungen *Mucor* und *Phycomyces* Formen der sexuellen Fortpflanzung, die dieser Pilzart den Namen Zygomyceten – Jochpilze – eintrug. Viele dieser Schimmelpilze sind heterothallisch und treten in 2 Geschlechtern auf, die man mangels genügender morphologischer Unterscheidungsmerkmale mit (+) und (–) bezeichnet. Treffen (+)- und (–)-Mycelien auf geeignetem Nährsubstrat aufeinander, so bilden sie in ihrer Berührungszone Sexualorgane – Gametangien – aus, die aufeinander zuwachsen und an den Spitzen verschmelzen. Das Produkt dieser Gametangiogamie ist eine Zygote, aus der nach der Reduktionsteilung ein Keimsporangium mit (+)- und (–)-Sporen auswächst.

Die dieser Sexualreaktion vorausgehenden morphogenetischen Prozesse der Sexualorganbildung veranlaßten BURGEFF 1924 zur hypothetischen Annahme von hormonartigen Substanzen, die diese ganze Sexualreaktion hervorrufen und steuern. 1956 haben wir mit systematischen Versuchen zur Isolierung solcher Sexualhormone begonnen.

Das Problem läßt sich – auch physiologisch – in 2 Teile gliedern:

1. Vorgänge, die zur Sexualorganbildung führen

Wenn sich (+)- und (–)-Mycelien von z.B. *Mucor mucedo* auf ~ 1–2 mm genähert haben, so entstehen entlang der Berührungszone (+)- und (–)-Sexualorgane, morphologisch auffallende, ~ 1/5 mm lange Lufthyphen. Auf Grund der Beobachtung, daß die Sexualorganbildung schon erfolgt, wenn die (+)- und (–)-Hyphen sich noch nicht berührt haben, schlossen wir auf im Substrat diffundierende, morphogenetisch wirksame Substanzen; ihr mikrobiologischer Nachweis gelang mit folgender Versuchsanordnung (Abb. 1):

Eine 60 cm lange Chromatographieröhre mit 6 cm Durchmesser und eingeschmolzener G₄-Sinterfritte wird zu einem Drittel mit Sabouraud milieu d'épreuve gefüllt. Als Träger für die einzuimpfende Sporensuspension verwendeten wir das Ligningerüst der Cucurbitaceae *Luffa cylindrica*, das normalerweise als Badeschwamm benutzt wird. Nach der Sterilisation beimpft man mit ~ 5000 (+)- und (–)-Sporen in Suspension und schließt

Abb. 1. Durchlüftungsröhre

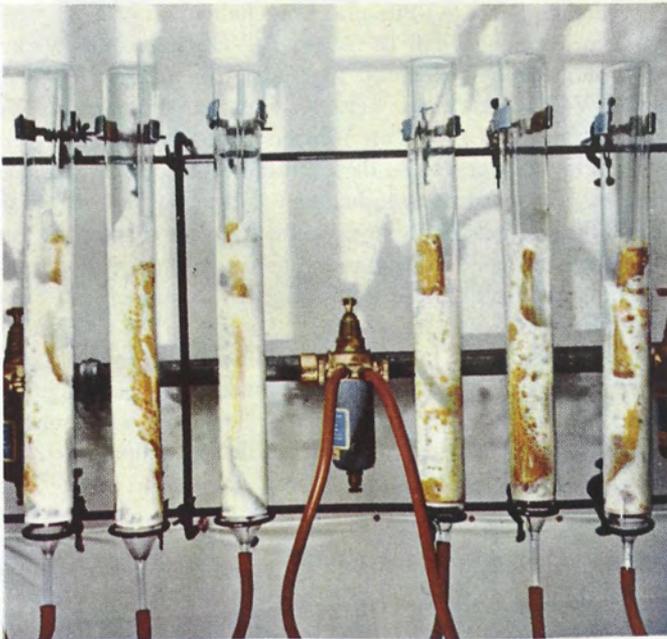
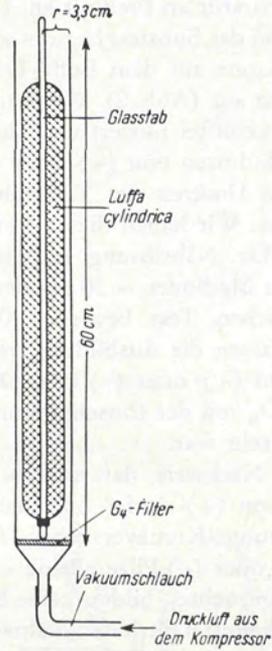


Abb. 2. Durchlüftungs-Kulturen

die Apparatur an Preßluft an. Die G_1 -Sinterfritte liefert sehr fein verteilte Luft, und das Substrat beginnt zu schäumen. Die Pilzsporen wachsen in der Schaumzone auf dem Luffa-Träger zu kräftigen, intensiv gelb gefärbten Mycelien aus (Abb. 2). Wenn man 5 Tage nach der Beimpfung die Nährlösung keimfrei filtriert und sie im Lochtestverfahren auf isolierte Petrischalenkulturen von (+)- oder (-)-Mucor-Pilzen einwirken läßt, so bilden diese im Umkreis des Testloches ihre typischen Sexualorgane in großer Zahl aus. Wir haben dieses Verfahren auf Fermenter übertragen und aus ~ 2000 Ltr. Nährlösung mittels klassisch-chemischer und chromatographischer Methoden ~ 30 mg der weitgehend reinen Wirkstoffe isoliert. Im biologischen Test bewirken $0,1 \gamma$ dieser Wirkstoff-Fraktion, gelöst in 1 ml Wasser, die Ausbildung von 40–60 (+)- oder (-)-Sexualorganen am isolierten (+)- oder (-)-Pilz. Die Summenformel dieser Wirkstoffe lautet $C_{20}H_{25}O_5$, mit der Einschränkung, daß unsere Wirkstoff-Fraktion nur etwa 95%ig rein war.

Der Nachweis, daß es sich bei dieser Wirkstoff-Fraktion um ein Gemisch von (+)- und (-)-Sexualhormonen handelte, gelang mit Hilfe des Nährlösungs-Kreuzversuches (Abb. 3):

(+)- oder (-)-Pilze alleine – ohne Sexualpartner –, in Durchlüftungsröhren gezüchtet, bilden keine Sexualhormone. Läßt man aber einen (+)-Pilz im keimfrei filtrierten Nährsubstrat eines (-)-Mycels wachsen, bekommt man nach weiteren 5 Tagen mit dem Filtrat der Nährlösung Sexualreaktion im Lochtestversuch beim (-)-Pilz und umgekehrt.

Neben dem Ergebnis, daß es je ein (+)-Hormon mit Wirkung auf den (-)-Pilz und ein (-)-Hormon mit Wirkung auf den (+)-Pilz gibt, zwingt dieser Versuch zu einer weiteren logischen Folgerung: Wenn die Nährlösungsfiltrate von (+)- oder (-)-Pilzen keine Sexualhormone enthalten – und das zeigte der Versuch –, diese Filtrate aber den Sexualpartner zur Bildung seines Sexualhormons induzieren – und das war der Fall –, so müssen diese Filtrate geschlechtsspezifische Induktorsubstanzen enthalten. Diese Induktoren haben wir Progamone genannt, ohne damit eine chemische Verwandtschaft mit den Sexualhormonen (Gamonen) im Sinne einer Gamonvorstufe ausdrücken zu wollen.

Zusammenfassend kann zum ersten Teilproblem gesagt werden: Im Substrat diffundierende Progamone induzieren den jeweiligen Sexualpartner zur Bildung und Exkretion seiner formativ wirksamen Sexualhormone, die – als Kreuzreaktion – wieder den Sexualpartner zur Sexualorganbildung veranlassen.

2. Steuerung der Wachstumskrümmungen der Sexualorgane, die zur Kopulation führt

Die auf Grund des Gamonreizes entstandenen (+)- und (-)-Sexualorgane erheben sich $\sim 1/5$ mm über das Substrat. Im Verlauf weniger Stunden ver-

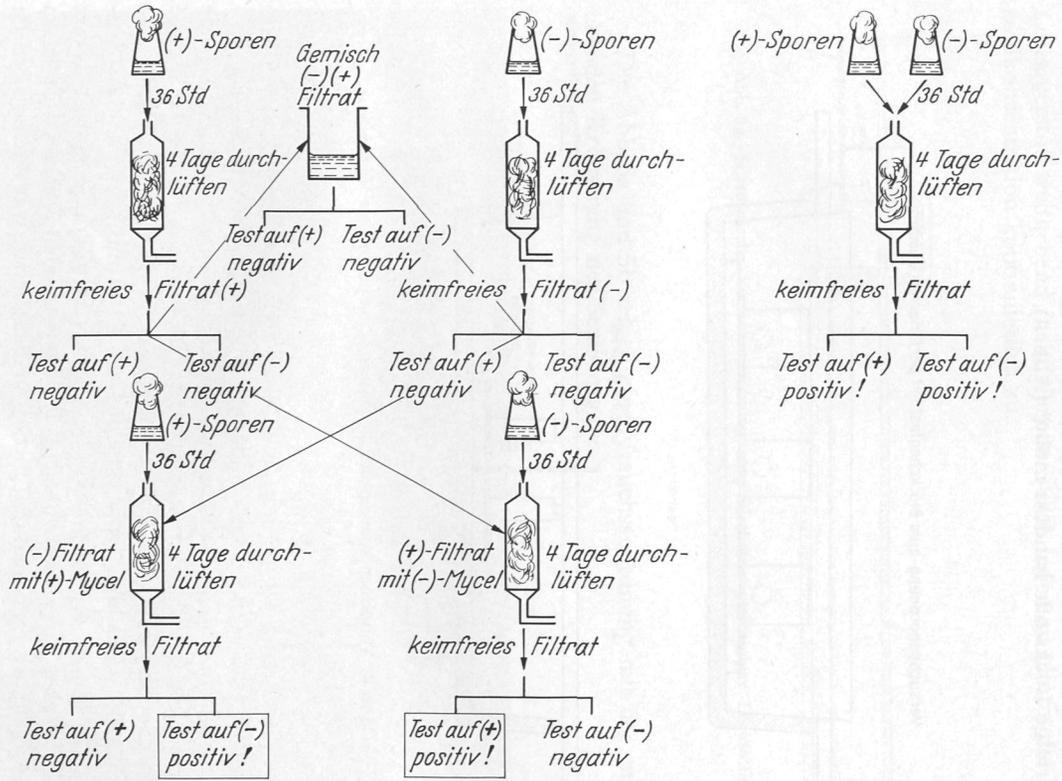


Abb. 3. Nährlösungs-Kreuzversuch

längern sie sich auf durchschnittlich 2–3 mm und kommen durch Wachstumskrümmungen miteinander in Spitzenkontakt. Irgendein stoffliches Prinzip muß diese Wachstumskrümmungen steuern. Unter einer Vielzahl von Versuchen und Versuchsanordnungen bewies einer, daß es sich um gasförmige Lockstoffe handeln mußte (Abb. 4).

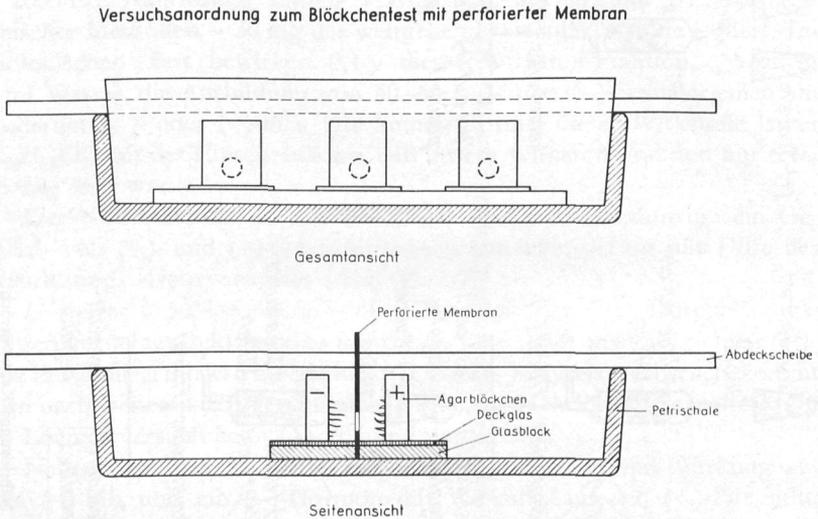


Abb. 4. Versuchsanordnung zum Blöckchentest mit perforierter Membran

Eine Petrischale wurde mit Hilfe einer sehr dünn gespaltenen Glimmerscheibe in 2 Teile geteilt und die Glimmerscheibe an den Schalenrändern mit flüssig gemachtem Bienenwachs so abgedichtet, daß beide Schalenhälften luftdicht voneinander getrennt waren. Mit einer Zange kniffen wir ein Loch von 4 mm Durchmesser in die Glimmerscheibe und setzten rechts und links von diesem Loch (+)- und (-)-Pilzkultur-Ausstiche, die vorher mittels Gamon zur Sexualorganbildung gereizt waren. Mit 2 Glasplatten und Bienenwachs dichteten wir dann die Petrischale am oberen Rand ab. Zwischen den Pilzkultur-Ausstichen war nur noch durch das Loch in der Glimmerscheibe Kontakt möglich. Nach weiteren 8 Stunden waren die (+)- und (-)-Sexualorgane durch das Loch aufeinander zugewachsen und hatten teilweise kopuliert.

Mit weiteren Versuchen konnten wir zeigen, daß diese gasförmigen Lockstoffe als organ- und geschlechtsspezifische Wuchsstoffe auf die Sexualorgane der Sexualpartner einwirken und über ein Konzentrationsgefälle

im Gasraum des Biotops das Spitzenwachstum der Sexualorgane steuern. Das Konzentrationsgefälle wird durch eine hohe Empfindlichkeit der Lockstoffe gegen O_2 der Luft aufrechterhalten: Jedes Sexualorgan ist mit einer Lockstoff-Wolke umgeben, deren äußerster – ältester – Teil durch Luftsauerstoff weitgehend inaktiviert ist. Nach innen zu nimmt die Wirkstoffkonzentration kontinuierlich zu.

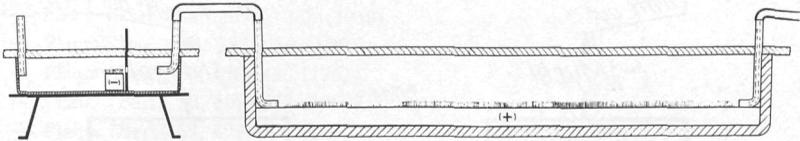


Abb. 5a. Schematische Versuchsanordnung zum Nachweis gasförmiger Lockstoffe

Die Abb. 5a und 5b zeigen eine Versuchsanordnung mit der entsprechenden Krümmung der Sexualorgane.



Abb. 5b. Auf Lockstoffe reagierende (-) Sexualorgane

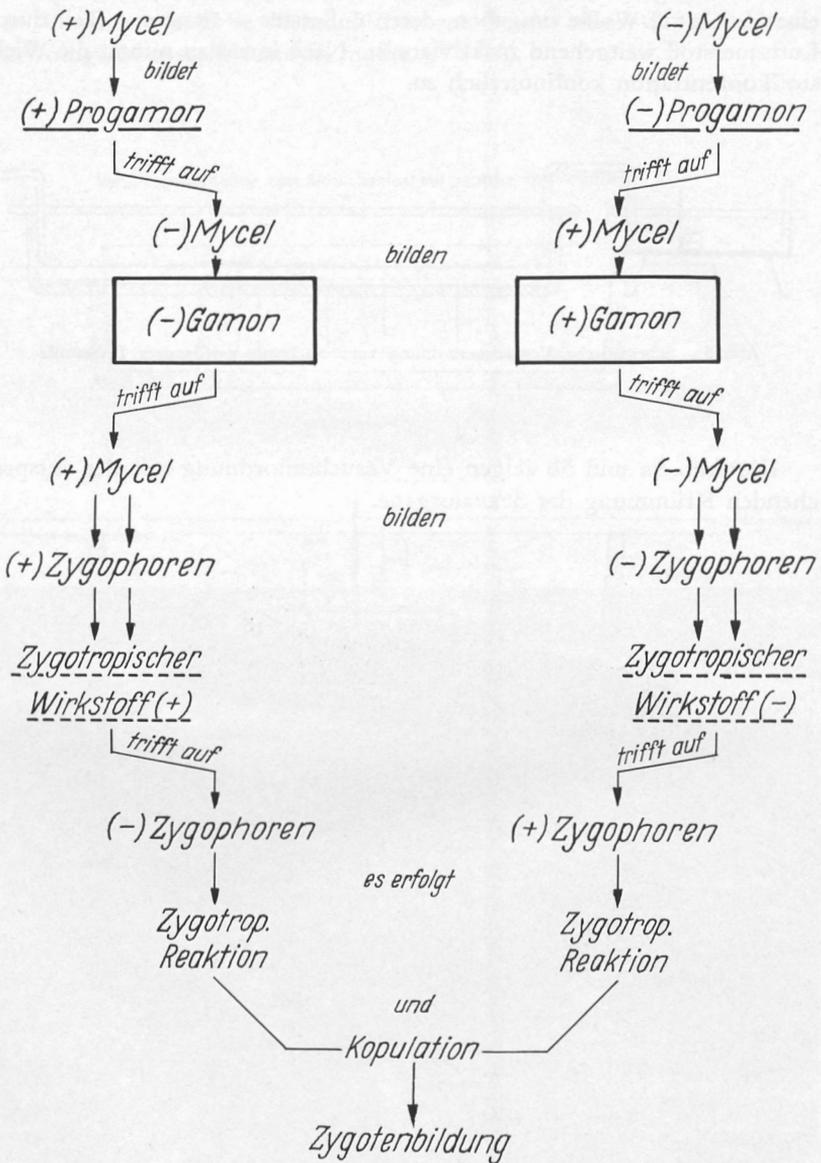


Abb. 6. Schema der Sexualreaktion bei Zygomyceten

Das Zusammenwirken der einzelnen Wirkstoffe vom Beginn der Reaktion bis zur Zygotenbildung zeigt die letzte und das bisher Gesagte zusammenfassende Abbildung 6.

Literatur

1. BURGEFF, H., u. M. PLEMPER: *Naturwissenschaften* **43**, 473–474 (1956).
2. PLEMPER, M.: *Arch. Mikrobiol.* **26**, 151–174 (1957).
3. — *Z. Naturforsch.* **13b**, 302–305 (1958).
4. — *Naturwissenschaften* **47**, 227 (1959).
5. — *Planta (Berl.)* **55**, 254–258 (1960).
6. — *Planta (Berl.)* **56**, 438–446 (1961).
7. — *Planta (Berl.)* **58**, 509–520 (1962).
8. — *Planta (Berl.)* **59**, 492–508 (1963).
9. — *Planta (Berl.)* **65**, 225–231 (1965).

Dr. MANFRED PLEMPER
Institut für Mikrobiologie
Farbenfabriken Bayer AG,
Werk Elberfeld
56 Wuppertal-Elberfeld