

## 2.3 Mykologie (Pilzkunde)

### 2.3.1 Übersicht und Systematik

Außer den besprochenen Bakterien, die zu den Prokaryota (wie Archaeobacteria, Blaualgen und Actinomycetales) gezählt werden, finden sich unter den Eukaryota die Protisten (wie Algen, pilzähnliche Protisten und Protozoen) und auch die höheren Lebewesen. Dazu zählen Pflanzen, Tiere und die hier zu besprechenden Fungi (Mycota).

Echte Schleimpilze oder *Myxomyceten*: Sie unterscheiden sich von den echten Pilzen (*Eumyceten*) deutlich, da sie in der Wachstumsphase nackte amöboid bewegliche, vielkernige Protoplasmamassen bilden, die sich dann zu Sporenbältern (Sporangien) mit behüteten, ungeschlechtlichen Sporen umbilden können. Sie haben für die Lebensmittelmikrobiologie keine Bedeutung.

In der nachfolgenden Übersicht sind nur Abteilungen, Klassen, etc. angeführt, die lebensmittelrelevante Pilzgattungen enthalten.

#### Reich: Mycobiota (Echte Pilze, Eumycota)

Abteilung: **Oomycota**

Ordnung: Pythiales  
Saprolegniales  
Peronosporales

Unterabteilung: **Deuteromycota** (Fungi imperfecti)

Klasse: Coelomycetes

Abteilung: **Zygomycota**

Klasse: Zygomycetes

Ordnung: Mucorales

Abteilung: **Ascomycota**

Ordnung: Saccharomycetales  
Schizosaccharomycetales  
Eurotiales, ...

Hyphomycetes

Blastomycetes

Abteilung: **Basidiomycota**

Da bisher nahezu 120 000 Pilzarten beschrieben sind, die sowohl morphologisch wie auch ökologisch von den anderen Lebewesen abgrenzbar sind, zählt man neuerdings die Pilze nicht mehr zum Pflanzenreich, sondern hat in der Systematik der Lebewesen ein eigenes Pilzreich (Regnum Fungi) geschaffen. Dazu zählen die **Fungi (echte Pilze)** mit den Abteilungen Zygomycota (Jochpilze), Ascomycota (Schlauchpilze), Basidiomycota (Ständerpilze) und Deuteromycota (Fungi imperfecti).

Namensänderungen sind bei Pilzen durch immer wieder neue Erkenntnisse und Zuordnungen relativ häufig. Die Nomenklatur der Fungi ist wie üblich binominell, das heißt jeder Organismus trägt einen Gattungs- und einen Artnamen.

#### Bedeutung

Zahlreiche Pilzarten werden als Kulturorganismen bei der Herstellung und Veredelung von Lebensmitteln genutzt, andere spielen als Fäulniserreger oder als Lebensmittelvergifter eine große Rolle.

Der Parasitismus mancher Pilze führt zu Haut- und Organmykosen beim Menschen und beim Tier zu Abortus, Mastitis und Lungenentzündungen.

Stabile Symbiosen von Pilzen und Algen nennt man Flechten (Lichenes). Wurzelsymbiosen (Mycorrhiza) höherer Pflanzen mit Pilzen sind für viele Pflanzen (z.B. Waldbäume, Sträucher, Kulturpflanzen usw.) bekannt und für ihr Gedeihen sehr wichtig; Parasitosen führen zu Verfärbungen, Wachstumsstörungen, Blattwelke, Nekrosen usw.

Für etwa 200 Pilzarten sind giftige Stoffwechselprodukte, genannt **Mykotoxine** bekannt; sie lösen bei Mensch und Tier Kreislaufbelastungen, Allergien, aber auch Erbschäden (durch Teratogene) und Krebserkrankungen (durch Kanzerogene) aus, weil sie auf Verdauungs- und Nervensystem sowie Zellen und Gewebe der Lebewesen wirken (Mykotoxikosen).

Pilze gehören zu den wichtigsten Organismen des Stoffumsatzes in der Natur (**Mineralisation**); andererseits sind sie zu erstaunlichen Leistungen im Aufbau von Biomasse sowie der Produktion von **Antibiotika** befähigt.

**Pilze** gehören zu den relativ großen Mikroorganismen. Von den Bakterien unterscheiden sie sich außer durch die Größe und das Vorhandensein echter Zellkerne vor allem durch die Vielfalt der Formen. Eumycota sind chlorophyllfrei, eukaryotisch, kohlenstoffheterotroph, haben ein wenig differenziertes Zellschema, erkennbare Zellwände, Sporen für ihre Vermehrung und oft Dauerorgane.

Pilze sind in der Natur weit verbreitet. Sie leben vorwiegend als Saprophyten von toten organischen Substraten (Kohlenstoff aus organischen Rückständen) oder biotroph (als Parasiten und Symbionten) von Protozoen, Algen, Pflanzen, Tieren, Bakterien oder anderen Pilzen. Als Parasiten verursachen sie Krankheiten bei Mensch, Tier oder Pflanze. Einige Arten leben in Symbiose mit Pflanzen oder Tieren, z.B. gehen manche Pilzhyphen mit den Wurzeln von Bäumen eine enge Verbindung zum gegenseitigen Nutzen ein, die als Mycorrhiza bekannt ist.

Sie sind zwar Eukaryoten wie alle Pflanzen, ihr anatomischer Aufbau läßt aber keine klare Definition in Sprossen und Wurzeln erkennen. Außer den Basidiomycota, zu denen zum Beispiel die Speisepilze zählen, bezeichnet man alle anderen Fungi als Schimmelpilze oder einfach als Schimmel. Unter diese zählen auch die Endomycetes, Hefenpilze oder einfach Hefen.

### 2.3.2 Morphologie der Pilze

Abgesehen von den wenigen einzelligen Formen, wie die meisten Hefen, bestehen die Pilze im typischen Fall aus den **Hyphen**, unverzweigten oder häufiger verzweigten, schlauchartigen Zellfäden. Die Hyphen sind entweder durch die **Septen** (Querwände) unterteilt (septiert) oder ungekammert (unseptiert). Letzteres gilt vor allem für die primitiven Formen. Die fadenförmigen Hyphen wachsen gewöhnlich nicht einzeln, sondern bilden ein Pilzgeflecht, das **Mycel**. Bei den typischen Hyphomyceten ist das Mycel entweder als lockere, watteartige oder mehr filzige, kompakte Masse mit bloßem Auge zu erkennen. Es werden zwei Myceltypen unterschieden, das Substrat- und das Luftmycel. Das **Substratmycel** wächst in oder auf dem Nährsubstrat und dient der Nährstoffaufnahme und dem Anhaften (Hyphen dringen in Wirtszellen und Gewebe ein). Das **Luftmycel** ist die Gesamtheit von Hyphen, die sich vom Substrat erheben und aufrecht in den freien Luftraum wachsen. Die Lufthyphen zahlreicher Pilzarten weisen besonders differenzierte Formen auf, die der geschlechtlichen oder ungeschlechtlichen Fortpflanzung dienen. So bilden z. B. die auf Lebensmitteln häufig vorkommenden Hyphomyceten in bestimmten Entwicklungsstadien unterschiedliche Formen von Sporen und sporenbildenden Organen, die als arttypische Merkmale eine wichtige Rolle bei der Klassifizierung spielen.

### 2.3.3 Fortpflanzung der Pilze

#### Ungeschlechtliche Fortpflanzung:

Diese Art der Fortpflanzung ist bei Pilzen außerordentlich häufig und mannigfaltig entwickelt. Da sie im Gegensatz zur geschlechtlichen Vermehrung in kurzen Zeitspannen zur Erzeugung zahlreicher Nachkommen führt, hat sie für die Vermehrung und Verbreitung der Pilze große praktische Bedeutung. Hier erfolgt keine Vereinigung von Kernen oder sind Geschlechtszellen oder Geschlechtsorgane bei der Vermehrung beteiligt. Die Nachkommen gehen direkt aus dem alten Organismus oder aus Teilstücken hervor.

3 Arten sind möglich:

- Spaltung (Teilung): Spaltheferen
- Sprossung: Hefe, Sprosspilze
- Sporenbildung (Sporulation):
  - endogen (im Inneren gebildet): Sporangiosporen
  - exogen (am Ende von Hyphen abgeschnürt): Konidien
  - Einzelzellen von septierten Hyphen: Arthrosporen = Oidien
  - Verdickte Zellwände: Chlamydosporen oder Gemmen

#### Geschlechtliche Fortpflanzung:

Durch den Wechsel von Kernverschmelzung (Karyogamie) und Reduktionsteilung (Meiose) kommt es zur Neukombination der in den Zellkernen enthaltenen Erbsubstanz und zur genetischen Stabilisierung der Arten. Degenerationserscheinungen werden vermieden. Für die Lebensmittelmikrobiologie bietet sich damit eine Möglichkeit zur Züchtung von neuen Mikroorganismen-Stämmen, z. B. Kulturhefen mit wertvollen Eigenschaften.

Während sich die ungeschlechtliche Fortpflanzung bei zahlreichen Pilzen unter ausreichenden Wachstumsbedingungen ständig vollzieht und zu außerordentlich zahlreichen Nachkommen führt, erfolgt die geschlechtliche Fortpflanzung oft nur unter besonderen Voraussetzungen, und von vielen Pilzarten sind geschlechtliche Fortpflanzungsprozesse überhaupt nicht bekannt bzw. nicht existent. Pilze, die auf letzteres zutrifft, werden als Fungi imperfecti bezeichnet.

- Gameten
- Zygosporien
- Ascosporen
- Basidiosporien
- Oosporen

### 2.3.4 Hefen (Allgemeines)

#### Beschreibung

Die Systematik der Hefen ist nicht einheitlich, sie wird seit vielen Jahren laufend verbessert und erweitert. Derzeit sind ca. 600 Hefe-Species bekannt, welche hauptsächlich in den Abteilungen der *Ascomycota* und *Deuteromycota* (Klasse *Blastomycetes*) der echten Pilze eingeteilt sind.

Die ursprüngliche systematische Einordnung nach morphologischen Gesichtspunkten genügt oft nicht mehr. Auch die Auffindung von Ascosporen und damit der Beweis sexueller Vermehrung gibt zwar einen Hinweis auf ihre Stellung in der Systematik, befriedigt aber aus mehreren Gründen nicht. Bei gärenden Hefen wird mit Erfolg die Fähigkeit zur Zuckervergärung angewendet. Weiterhin ist ihre Differenzierung nach ihrer Verwertung von Kohlenstoffquellen sowie ihrer Verwertung von Stickstoff und ihrem Bedarf an bestimmten Vitaminen möglich.

Für die Bestimmung der nicht gärenden Hefen ist ihre Einordnung nach ihrer Nitratverwertung wichtig. Es lassen sich also (zuckerver-)gärende und nicht gärende sowie sporenbildende und nicht sporenbildende Arten unterscheiden. Unter allen Gruppen finden sich auch pathogene Arten.

Die Form der Hefen oder "Sproßpilze" ist auch innerhalb der Arten vielgestaltig und ihre Größe ist abhängig von Alter und Umwelt. Sie sind meist oval, aber auch rundlich bis wurstförmig langgestreckt und mit abgerundeten Enden; nur einzelne Arten zeigen zugespitzte Enden. Alle Hefen vermehren sich ungeschlechtlich durch Sprossung allein oder zusätzlich auch geschlechtlich durch Bildung von Ascosporen. Eine Gattung hat Zellteilung ähnlich wie Bakterien. Die Hefen sind Eukaryoten, sie haben nur einen kompakten Zellkern mit einem verdichteten Nucleolus im Inneren. Die Zellgröße liegt im Durchschnitt bei 10µm (5µm-25µm).

### Vermehrung

Alle Hefen haben ungeschlechtliche Vermehrung; die geschlechtliche Vermehrung kommt bei bestimmten Gattungen zusätzlich vor. Die Generationszeit beträgt meist etwa 1,5-2 Stunden.

Die Abteilung *Ascomycota*, Ordnung *Saccharomycetales*, Familie *Saccharomycetaceae* umfassen alle Ascosporen bildenden Hefen.

z.B.: Gattungen *Hanseniaspora*, *Saccharomyces*, *Klyveromyces*, *Pichia*

Die Klasse der Blastomycetes (Unterabteilung *Deuteromycota*) umfaßt alle imperfekten Hefen. Sie entwickeln sich nur ungeschlechtlich und vermehren sich durch sprossende Einzelzellen, Pseudomycel und Mycel mit seitlichen sporenantigen Sproßzellen (Blastosporen).

Gattungen: *Candida (Torulopsis)*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Trichosporon*

### Asporogene (nichtsporenbildende) Hefen:

#### Ungeschlechtliche Vermehrung durch Spaltung

Die Vermehrung durch Spaltung ist typisch für Bakterien. Sie tritt aber auch bei Spalthefen auf. Durch die Bildung von Querwänden geht die Mutterzelle direkt in 2 oder mehrere Tochterzellen auf.

Spalthefen: Gattung *Schizosaccharomyces* (bilden aber auch Ascosporen)

Die für Hefen typische Art der Vermehrung ist durch Sprossung. Dabei stülpt sich aus einer ausgewachsenen Mutterzelle, jeweils unter Mitnahme eines Teiles der Kernsubstanz, eine Sprosse - also eine Tochterzelle - heraus. Diese wächst zur fertigen Zelle heran und wird abgeschnürt; dabei kann sie sich ablösen oder bleibt angeheftet, wodurch langsam ein **Sproßverband** gebildet wird, der zu einer Haut auf Flüssigkeiten werden kann (Kahmhaut).

Die Sprossung erfolgt meist an den Zellpolen (polar) oder auch seltener rundum (multilateral). Bis zu 20 Narben je Zelle konnten schon gezählt werden. Wenn die Zellpole mit Narben bedeckt sind, hört die Sprossung auf.

Die durch Sprossung gebildeten Zellverbände aus langgestreckten, fadenförmigen Zellen heißen auch **Pseudomycel oder Sprossmycel**. Dieser Zellverband ist dem echten Mycel sehr ähnlich, besitzen jedoch keine Septen. An diesem Pseudomycel können kleinere runde oder ovale Zellen sitzen, sogenannte **Blastosporen**.

Bsp: Gattung *Saccharomyces*

### Sporogene (sporenbildende) Hefen:

Erblich und artspezifisch sind manche Hefen in der Lage, z.B. bei Nahrungsmangel sich auch geschlechtlich zu vermehren. Dazu werden Ascosporen im Inneren der Zellen gebildet. So können haploide Zellen verschmelzen (kopuliert) und nach Kernverschmelzung (Karyogamie) und Reduktionsteilung (Meiose) Ascosporen bilden. Auch diploide Zellen können sich durch Sprossung vermehren. (Industriell genutzte Hefen sind oft diploide Rassen). Für die Ascosporenbildung vergrößern sich die Zellen zu einem Ascus (=Korb). Jede Ascospore ist ein Keimling für eine neue Hefezelle. Es gibt polyploide Rassen, die 8 und mehr Ascosporen bilden können.

Bei einigen Hefen wie der Bäckerhefe kann auch eine geschlechtliche Vermehrung stattfinden (Abb.9). Zunächst bildet sich aus einer vegetativen Zelle ein Ascus (Sack), der vier Ascosporen enthält. Diese sind haploid. Unmittelbar nach dem Ausschlüpfen aus dem Ascus vereinigen sich zwei Ascosporen durch Kopulation, die Kerne verschmelzen und bilden eine diploide Zygote. Diese vermehrt sich durch Knospung und bildet dadurch die schon besprochenen vegetativen Zellen. Die Bildung von Ascosporen wird oft durch ungünstige Lebensbedingungen ausgelöst.

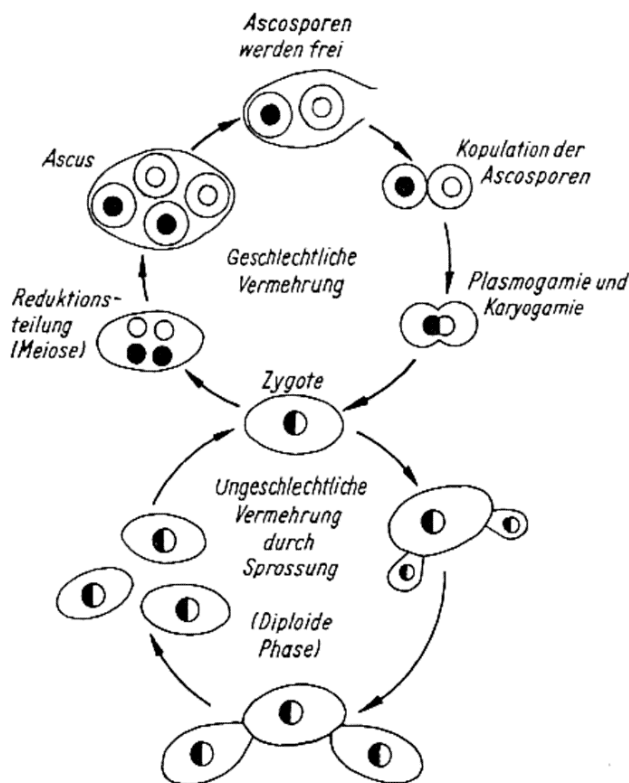


Abb.9: Lebenszyklus einer Backhefe

### Wachstumsbedingungen

Hefen sind aerob. Einzelne Stämme der Bierhefe sind fakultativ anaerob (Gärungsstoffwechsel).

Der Temperaturbereich für das Hefenwachstum erstreckt sich von 0°C bis etwa 45°C. Ihr Temperaturoptimum liegt zwischen 20°C und 30°C. Bei etwa 60°C werden Hefezellen abgetötet. Ascosporen halten oft mehr Hitze aus.

Das pH-Optimum der Hefen liegt bei pH 5,0; ihr Wachstumsbereich erstreckt sich von pH 1,5 bis pH 8,5.

Hefen sind lichtempfindlich. UV-Licht tötet sie ab. Kupfer-, Silber- und Quecksilber-Ionen hemmen ihr Wachstum (Oligodynamie).

Inosit und Vitamin B sind Wachstoffsstoffe für Hefen; sie sind so stark abhängig von ihrem Vorhandensein, daß sie sie sogar speichern können.

### Stoffwechsel

Die wichtigste Umsetzung der Hefen zur Gewinnung von Energie ist der anaerobe Abbau von Zuckern zu Alkohol und CO<sub>2</sub>. Er läuft jedoch nicht bis zum restlosen Abbau des vorhandenen Zuckers, sondern nur bis zur Anreicherung des Substrates auf etwa 10 % bis höchstens 14 % Alkohol bei Brennereihefen. Normalerweise und hauptsächlich wird Ethanol gebildet. Auch die Bildung von höheren Alkoholen (Butyl, Propyl-) ist möglich und führt in Verbindung mit Eiweißspaltprodukten zur Entstehung hochgiftiger Fuselöle. Auch der gelegentlich gebildete Methanol ist giftig und führt zum Erblinden.

Die Hefen können jedoch Zucker nicht nur vergären (Dissimilation); manche können auch Zucker, organische Säuren (z.B. Milchsäure), Alkohole, Nitrate usw. für den Zellaufbau nützen und als Kohlenstoffquelle verwenden (Assimilation). In geringem Umfang werden auch Eiweißspaltprodukte wie Aminosäuren assimiliert oder abgebaut; dadurch können Milch und Milchprodukte in ihrer Qualität und Haltbarkeit negativ beeinflußt werden (Desaminierung zu Ammoniak).

Unter den nichtgärenden Hefen finden sich Arten, die beim Menschen Organ-Mykosen wie z.B. Soor (Mundfäule) hervorrufen und bei Milchtieren als Erreger von Hefen-Mastitis vorkommen.

## 2.3.5 Schimmel (Allgemeines)

### Beschreibung

Sie unterscheiden sich ganz wesentlich von den Pflanzen: Sie sind nicht gegliedert in Sproß- und Wurzelbereich, sie haben keine Photosynthese, sie lassen keine Gefäßsysteme wie Pflanzen erkennen. Andererseits entnehmen sie, wie die meisten Bakterien, organische Verbindungen als Nahrungs- und Energiequelle ihrer Umgebung, sie sind daher, wie die meisten Bakterien, heterotroph.

Weil Schimmel einen viel niedrigeren Feuchtigkeitsanspruch als Bakterien haben, ist ihr Lebensraum bedeutend erweitert. Das wird noch begünstigt durch ihre Fähigkeit, auch bei völliger Trockenheit ihre Vermehrungsformen, die Sporen, mit jeder Luftbewegung verbreiten zu können und neue Lebensräume zu "erobern". Sie finden sich daher auch überall in Innenräumen, Hauptfundort ist jedoch der Boden. Sie vertragen pH-Werte von 3,5 gut. Temperaturen um 60° C wie auch Frostgrade lassen immer noch lebende Schimmel erwarten. Das Erscheinungsbild ist die Schimmelkolonie oder der Thallus. Die meisten Kolonien bestehen aus fädigen Vegetationsorganen, genannt **Hyphen**, die miteinander einen Vegetationskörper, genannt **Mycel**, bilden. Die Fäden selbst sind etwa 5 µm dick, können sich vielfach verzweigen und sind befähigt, unmittelbar hinter den Hyphenspitzen in einer besonders plastischen Zone oder auch an anderen Stellen ständig weiterzuwachsen (apikales Wachstum), um sich auf oder in einem Nährsubstrat auszubreiten. Die Einzelhyphe umschließt mit einer doppelschichtigen Zellwand das Protoplasma (Cytoplasma) mit seinen Einschlüssen. Bei den niederen Pilzen sind die Hyphen ohne Querwand (unseptiert), bei den höheren Pilzen durch Septen zellig gegliedert, wobei die Protoplasma-Abteilungen jedoch durch eine Pore miteinander verbunden bleiben.

### Vermehrung

Die der Fortpflanzung dienenden Fruchtstände und Mechanismen sind außerordentlich vielfältig und bilden die Grundlage für die Differenzierung der Schimmel. Die meisten Schimmelarten vermehren sich sowohl ungeschlechtlich (asexuell) als auch geschlechtlich (sexuell); beides ist nebeneinander möglich. Ein allgemeines Fortpflanzungsschema ist durch die vielfältigen Möglichkeiten nur sehr großzügig zu handhaben:

#### A) Ungeschlechtliche Vermehrung (Nebenfruchtformen) als

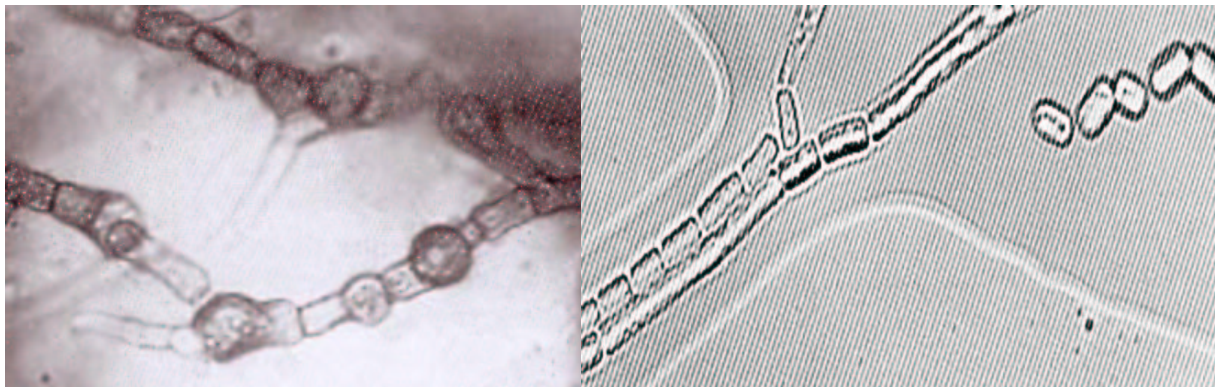
- a) Sporenbildung mit
  - 1) Konidiosporen oder
  - 2) Sporangiosporen
- b) Fragmentbildung (Hyphenzerfall) mit
  - 1) Arthrosporen (Oidien) oder
  - 2) Chlamydosporen, auch Gemmen genannt.

### Deuteromycota

Nur ungeschlechtliche Vermehrung durch Fragmentbildung.

Chlamydosporen (Gemmen)

Arthrosporen (Oidien)

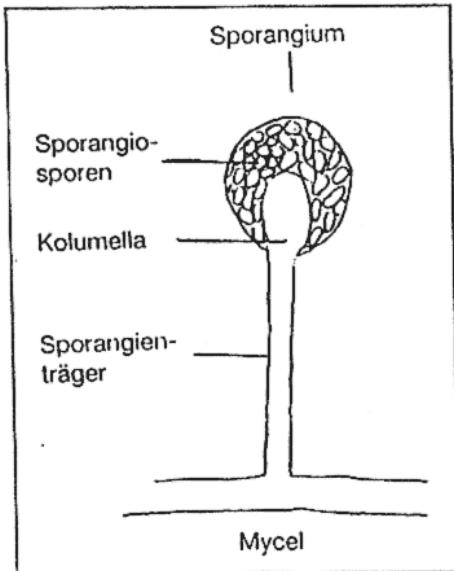


B) **Geschlechtliche Vermehrung (Hauptfruchtformen)** unter gleichzeitiger Zellverschmelzung, Kernverschmelzung und Reduktionsteilung (Meiose):

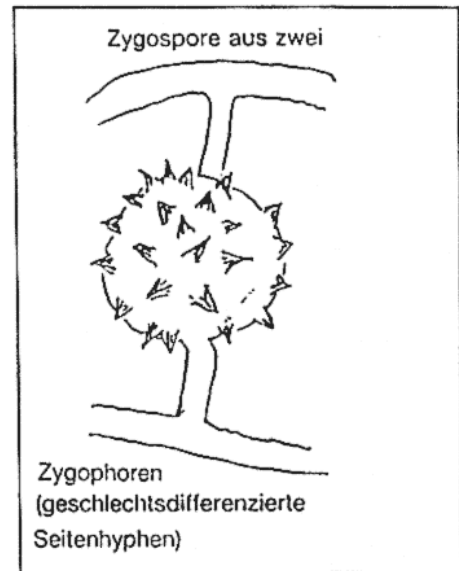
- a) Bildung von Geschlechtszellen (Gameten); Verschmelzung und Zygosporienbildung
- b) Bildung von Geschlechtszellen (Gameten); Verschmelzung und Ascosporenbildung.

**Zygomycota**

Ungeschlechtliche Vermehrung durch Sporangiosporen

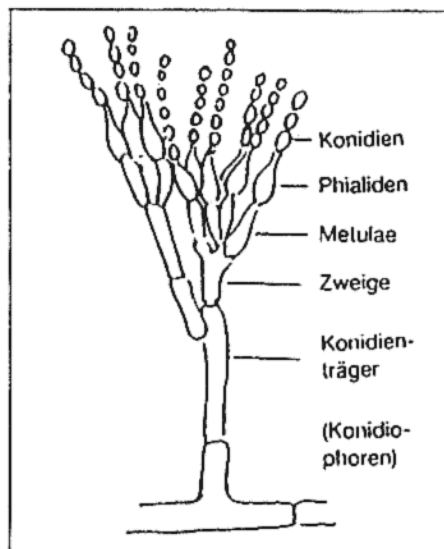


Geschlechtliche Vermehrung durch Zygosporien

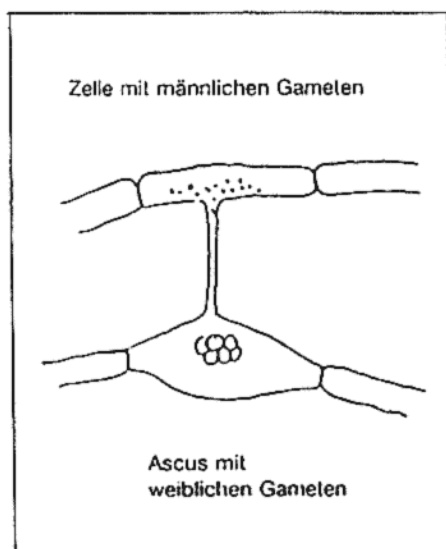


**Ascomycota**

Ungeschlechtliche Vermehrung durch Konidiosporen



Geschlechtliche Vermehrung durch Ascosporen





Besondere Bildung gibt es bei einigen Schimmelarten durch die Entstehung von Dauerformen, die zum Beispiel den Winter überstehen und im Frühjahr wieder auskeimen. Dieses Dauermycel konzentriert sich in fast stecknadelkopfgroßen kugeligen Gebilden, genannt **Sklerotien**.

Die Vermehrungsformen der Schimmel geben immer wieder Anlaß zur Verwirrung bezüglich der Namensgebung innerhalb der Gruppen Ascomycetes und Deuteromycetes. Letztere umfassen alle Schimmel beider Gruppen, die nur Nebenfruchtformen zeigen; daher stammt die Bezeichnung Fungi imperfecti (unvollständige). Damit sind jedoch leider alle Schimmeligattungen, die nur asexuelle Vermehrung haben, mit einem eigenen Namen versehen; die gleichen Gattungen, die auch als Ascomyceten geschlechtliche Vermehrung zeigen, werden mit einem anderen Gattungsnamen bezeichnet.

Beispiele: Die bekannte Gattung **Penicillium** gehört, wenn sie nur Konidien bildet, zu den Deuteromycetes; mit Ascosporenbildung gehört sie jedoch zu den Ascomyceten und heißt **Talaromyces**.

Ebenso ist es mit Paecilomyces-Byssochlamys, **Aspergillus-Eurotium**, Basipetospora-Monascus und Monilia-Neurospora.

### Wachstumsbedingungen

Schimmel sind **aerob**; unter Luftabschluß kümmern sie und gehen langsam ein. Manche Arten können jedoch fakultativ anaerob werden.

Der Temperaturbereich für das Schimmelwachstum erstreckt sich etwa von 0° bis 55°C. Viele Arten sind psychrotroph. Das Temperaturoptimum liegt meist zwischen 20° und 30°C. Der pH-Bereich ist ähnlich weit gespannt und etwa pH 2,0 bis etwa 11,5. Das pH-Optimum liegt meist im leicht sauren Bereich **pH 4**. Schimmel sind lichtempfindlich, aber weniger als die Bakterien. Einzelne Arten werden durch diffuses Licht im Wachstum stimuliert. Der Mindestwassergehalt (aw 0,99-060) für Wachstum und Stoffwechsel ist deutlich niedriger als bei Bakterien und Hefen; er liegt bei vielen Arten dicht über 14 % Feuchtigkeitsgehalt. Pasteurisierung tötet Mycel und Sporen meistens ab. Ausnahmen sind die Gattungen Byssochlamys und Monascus.

### Stoffwechsel

Als Primärstoffwechselleistungen bezeichnet man erstens die Reaktionen, die Energie und Grundbausteine liefern und zweitens die Synthese von Makromolekülen wie Nucleinsäuren (DNS, RNS), Proteinen (Enzyme, Skleroproteine), Polysacchariden (Glykane der Zellwände), Phosphatiden und Lipiden, die zur Entstehung der Biomasse nötig sind.

Unter Sekundärstoffwechsel versteht man die Umsetzungen von Makromolekülen innerhalb der Zellen mit Hilfe von (Endo-)Enzymen; auch außerhalb der Zellen vorkommende Kohlenstoffquellen und andere unlösliche Substrate werden mit Hilfe von (Exo-)Enzymen erschlossen, um sie in die Zellen aufnehmen zu können und dort weiter zu verwerten.

Das Enzymsystem der Schimmel ist so vielseitig und anpassungsfähig, daß sie als **Saprophyten** sehr stark an der Mineralisation und der Humusbildung beteiligt sind. Sie gewinnen ihre Energie ganz allgemein durch Oxidation organischer Substanzen, sind aber sehr **anspruchlos** bezüglich Wasser-, Salz-, Nährstoff- und Wuchsstoffversorgung.

**2.3.6 Hefen[nach Hawksworth 1995]****Abteilung Ascomycota****Ordnung Saccharomycetales, Familie Saccharomycetaceae**

Hiezu gehören alle ascosporenbildenden Hefen (~600 Arten).

Gattung: *Debaryomyces*  
*Dekkera bruxellensis, anomala*  
*Hanseniaspora uvarum*  
*Kluyveromyces lactis*  
*Pichia*  
*Saccharomyces cerevisiae*  
*Yarrowia lipolytica*  
*Zygosaccharomyces*  
*Citeromyces*  
*Issatchenkia*  
*Lodderomyces*  
*Torulasporea*

**Unterabteilung Deuteromycota****Klasse Blastomycetes, Ordnung Cryptococcales, Fam. Cryptococcaceae**

Umfaßt alle infekten Hefen (ungeschlechtliche Vermehrung)

Gattung: *Candida utilis, lipolytica, vini, chodatii, albicans, nigra, pseudotropicalis*  
*Cryptococcus*  
*Rhodotorula*  
*Trichosporon*  
*Brettanomyces*  
*Sporobolomyces*  
*Kloeckera apiculata*

**2.3.7 Schimmelpilze[nach Hawksworth 1995]****Abteilung Oomycota****Abteilung Zygomycota**

Gattung: *Mucor, Rhizopus, Absidia, Actinomucor*

**Abteilung Ascomycota**

Gattung: *Byssochlamys*  
*Eupenicillium* und *Talaromyces*  
*Eurotium, Emericella, Fennellia, Neosartorya, Petromyces*

**Unterabteilung Deuteromycota****Klasse Hyphomycetes, Ordnung Hyphomycetales, Familie Dematiaceae**

Gattung: *Alternaria, Cladosporium*

**Familie Moniliaceae**

Gattung: *Aspergillus, Geotrichum, Penicillium, Scopulariopsis, Sporotrichum, Trichothecium, Fusarium*

**Ordnung Tuberculariales, Familie Tuberculariaceae**

Gattung *Fusarium*

## 2.4 Virologie

### 2.4.1 Viren - Einführung

Es finden sich in der Natur Organismen, die noch erheblich kleiner sind als die kleinsten Bakterien. Iwanowski berichtete 1892 von Krankheitserregern, die so klein sind, daß sie bakteriendichte Filter passieren können, als von einem "filtrierbaren Virus" (oder filtrierbaren Gift). Daher kommt der Name Virus. (Das einzelne Partikel heißt Virion).

Später stellte sich heraus, daß Viren

- a) nur einen Typ Nucleinsäure enthalten (also nur DNA oder nur RNA, nie beide),
- b) zur Reproduktion ist nur die Nucleinsäure notwendig
- c) Wachstum und Teilung nicht vorhanden sind. Viren sind also keine selbständigen Lebewesen, denn zu ihrer Vermehrung ist Zellinhalt lebender Zellen notwendig. Dieses rein parasitäre Leben führt zum Zelltod der Wirtszelle (obligate Zellparasiten).

#### Beschreibung

Die Größe der Viren liegt jenseits der Auflösungsgrenze des Lichtmikroskops (<200 nm); es werden Durchmesser zwischen 20 und 350 nm gemessen. (Zum Vergleich: ein menschlicher Erythrozyt mißt 7000 nm!)

Die Formen der Viren sind ebenfalls sehr unterschiedlich. Es dominiert zwar die Kugelform, doch finden sich auch Stäbchen und Fäden, Quader und Zylinder; sogar wie Kaulquappen geschwänzte Formen sind bekannt.

Der einzelne Organismus besteht aus einem zentralen Kern infektiöser **Nucleinsäure**, dem genetischen Material. Der Kern ist von einer schützenden **Proteinhülle** umgeben, genannt Capsid. Dieses ist nicht schützende Hülle allein, sondern erleichtert oder ermöglicht sogar das Eindringen der Nucleinsäure in die Wirtszelle. Die Wirtsspezifität des Virus wird also vom Capsid bestimmt. Die Hüll-Proteine bzw. ihre Untereinheiten (Capsomere) wirken als Antigene und geben auch den einzelnen Virusarten ihre Formen. Über dem Capsid können weitere **Außenhüllen** vorhanden sein, die aus Proteinen, Kohlenhydraten und Lipoiden bestehen. Außerdem finden sich bei verschiedenen Viren Enzyme wie Phosphatasen, Katalasen, Lipasen und die für die Anheftung an bestimmte Wirtszellen so wichtigen Neuramidasen (Umhüllte Viren).

#### Klassifizierung

Bei der Einteilung der Viren liegt ein von Lwoff 1962 erarbeitetes System zugrunde (Art der Nucleinsäure, Anordnung der Capsomeren, Beschaffenheit der Außenhüllen, chemische und morphologische Merkmale). Daraus sind seit 1965 von einem internationalen Komitee provisorische Klassifizierungsvorschläge erarbeitet worden, die mindestens 9 humane Virusfamilien (mit Gattungen und Arten) und 17 animale Virusfamilien erkennen lassen. Darüber hinaus führen größere antigene Unterschiede einer Art zur Unterteilung in Serotypen; kleinere Unterschiede werden als Subtypen geführt. Ein Virusstamm ist ein im Labor isoliertes und passagiertes Virus einer Art oder eines Typs oder eines Subtyps.

#### Vermehrung, Züchtung, Nachweis von Viren

Viren ist es nicht möglich, sich durch eigene Stoffwechselleistungen zu vermehren. Sie benötigen dazu lebende Zellen, in die sie eindringen und zur Bildung virusspezifischer Nucleinsäuren veranlassen, ohne irgend eine Teilung der eingedrungenen Materie zu vollziehen. In den infizierten Zellen erfolgt vielmehr eine separate Reproduktion viraler Makromoleküle und deren Vereinigung zu neuen Viruseinheiten.

Die Bereitstellung lebender Systeme für die Viruskultur erfordert beträchtlichen technischen Aufwand. Anfangs verwendete man kleine Versuchstiere, die später durch Hühnerembryonen in bebrüteten Eiern ersetzt wurden. Heute ist für die meisten Virusarten die Zellkultur lebender isolierter Gewebe das Mittel der Wahl. Das gilt auch für die Herstellung von Impfstoffen und diagnostischen Antigenen.

Nach erfolgreicher Isolierung können Viren mit serologischen, biologischen oder chemisch-physikalischen Methoden identifiziert werden. Der materielle Aufwand ist in jedem Falle sehr hoch. Für nicht spezialisierte Laboratorien erschöpft sich daher das Bemühen lediglich in verschiedenen Nachweismöglichkeiten einer Infektion durch Viren. Der Antikörpernachweis im Patientenserum steht dabei an erster Stelle (Antikörpertiter).

### Tenazität

Von besonderer Wichtigkeit ist die Widerstandsfähigkeit (Tenazität) der Organismen. Viren sind gegenüber äußeren Einflüssen meist empfindlicher als Bakterien, weil ihnen sowohl eine Zellwand als auch die Möglichkeit Sporen zu bilden fehlen.

Alle Viren sind gegen höhere Temperaturen empfindlich, weil 55° C bis 70° C zu ihrer Inaktivierung führen, die durch Denaturierung der Kapselproteine in wenigen Minuten eintritt. Kochen führt zur sofortigen Zerstörung ihrer Infektiosität. Höhere Thermoresistenz ist abhängig von Milieufaktoren wie pH-Wert des Substrates, seine Ionenkonzentration und Ionenarten, aber auch Trockenheit, Schutzkolloide u.a.

Niedere Temperaturen lassen Viren längere Zeit überleben. In sterilen Medien ist eine Lagerung bei 4°C über mehrere Wochen ohne wesentlichen Aktivitätsverlust möglich. Langzeitkonservierungen ist bei -20 bis -30°C möglich, außerdem in Trockeneis bei -76°C oder in flüssigem Stickstoff bei -196°C. Am sichersten sind lyophilisierte Viren bei 4°C haltbar.

Viren sind meist bei pH 6 bis pH 9 stabil. Gegen sichtbares Licht sind Viren jedoch sehr empfindlich, ebenso gegen UV-Licht und ionisierende Strahlen.

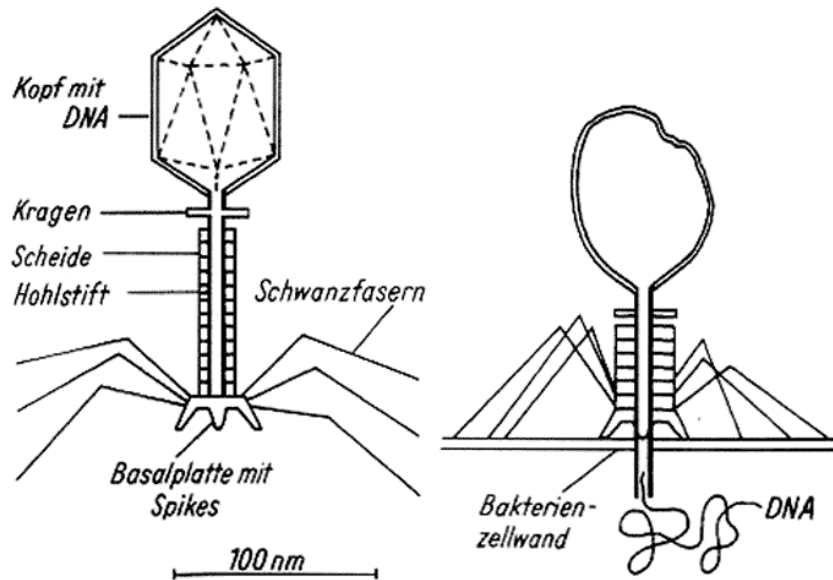
Gute inaktivierende Wirkung haben Aldehyde, Peressigsäure, Salpetrige Säure, Tenside, Halogenverbindungen und organische Lösungsmittel. Aber zum Beispiel Pökeln und Salzen von Fleisch bleiben ohne Wirkung, weil Viren in Zellverbänden, eiweißreichen Medien wie Blut und Lymphe oder in Glycerin gut geschützt sind. Auch zahlreiche Desinfektionsmittel mit guter Wirkung auf Bakterien versagen gegenüber Viren.

Viren sind **stets potentiell pathogen**; sie sind **streng gewebs- oder wirtsspezifisch**; sie führen zur Bildung charakteristischer Einschlußkörperchen in befallenen Zellen (diagnostisch wichtig). Eine Virusinfektion kann latent oder manifest sein; sie kann zu langandauernder Immunität führen. Alle Arten von Lebewesen können durch Viren infiziert werden (Menschen, Tiere, Pflanzen). Viren sind gegen Antibiotika resistent.

## Bakterienspezifische Viren = Bakteriophagen

### Beschreibung

Viren, die Bakterien als Wirtszelle gebrauchen, nennt man Bakteriophagen (phagein = fressen, also "Bakterienfresser"), kurz Phagen. Wenn Phagen säurebildende Bakterien in milchwirtschaftlich genutzten Kulturen befallen, verlangsamt sich die Säuerung oder stoppt sie total. (Viren töten ja ihre Wirtszellen ab). Wir können davon ausgehen, daß es für alle uns nützlichen Bakterienarten gefährliche Viren gibt. Phagen gliedern sich in einen Kopf, der im Inneren die DNA enthält, und einen Schwanz.



Links: freier Phage

Rechts: an eine Bakterienzelle angeheftet, nach der Injektion; Scheide kontrahiert, DNA ausgestossen und Kopf deformiert

### Vermehrung

Grundsätzlich können wir die Phagenvermehrung in vier Abschnitte gliedern.

1. Zusammentreffen und Anheften des Phagen an die Wirtszelle (Adsorption) und enzymatische Öffnung der Bakterienwand.
2. Einschießen des Phagen-Erbmaterials in die Wirtszelle (Injektion) und Eklipse, das heißt keine Phagensubstanz nachweisbar.
3. Produktion vieler Phagen durch die Wirtszelle.
4. Auflösung der Wirtszelle (Lyse)

Das **Zusammentreffen** des Phagen mit der Wirtszelle ist zufällig, denn Phagen sind unbeweglich. Sie werden passiv mit der Strömung (Luft, Milch) mitgerissen. Je größer in einem Substrat die Zahl der Phagen ist, und je heftiger die Strömung, desto wahrscheinlicher ist ein Zusammenstoß. Eine Anheftung kann nur dann stattfinden, wenn Phage und Wirt "zusammenpassen". Bakterien tragen auf ihrer Zelloberfläche jeweils für die Art typisch geformte Anheftstellen. Das "Gegenstück" trägt der Phage auf seiner Hülle. So läßt sich erklären, daß sich ein für *Sc. lactis* gefährlicher Phage an eine *E. coli*-Zelle nicht anheften kann und sie somit nicht infizieren und vernichten kann. Phagen, die zur Bakterienzelle passen, heißen "homolog". Phagen sind aber nicht artspezifisch, sondern nur stammspezifisch. Diesen Umstand nutzt man zum Beispiel bei der Kulturenrotation.

Nach der **Anheftung** bringt der Phage sein Erbmaterial in die Zelle. Nur das Phagen-Erbmaterial bewirkt die nachfolgend behandelten Vorgänge.

Das Erbmaterial des Phagen bewirkt, daß das Wirtsbakterium seinen Stoffwechselapparat zur ausschließlichen **Phagenproduktion** umstellt. So wird die DNS-Produktion der Bakterienzelle gestoppt und in die Phagen-DNS umgebaut. Die Bakterienzelle stellt ihre eigene Eiweißproduktion ein und stellt Phagen-Eiweiß, sowie für die Phagenproduktion wichtige Enzyme her. Die Bestandteile der Phagen werden massenhaft angefertigt. Schließlich "setzen sich" die Einzelteile des Phagen selbständig zusammen.

Die **fertigen Phagen** besitzen Enzyme, die die Zellhülle der Bakterien durchlöchern. So können sie intakte Bakterien infizieren. Die befallenen Bakterien sterben ab.

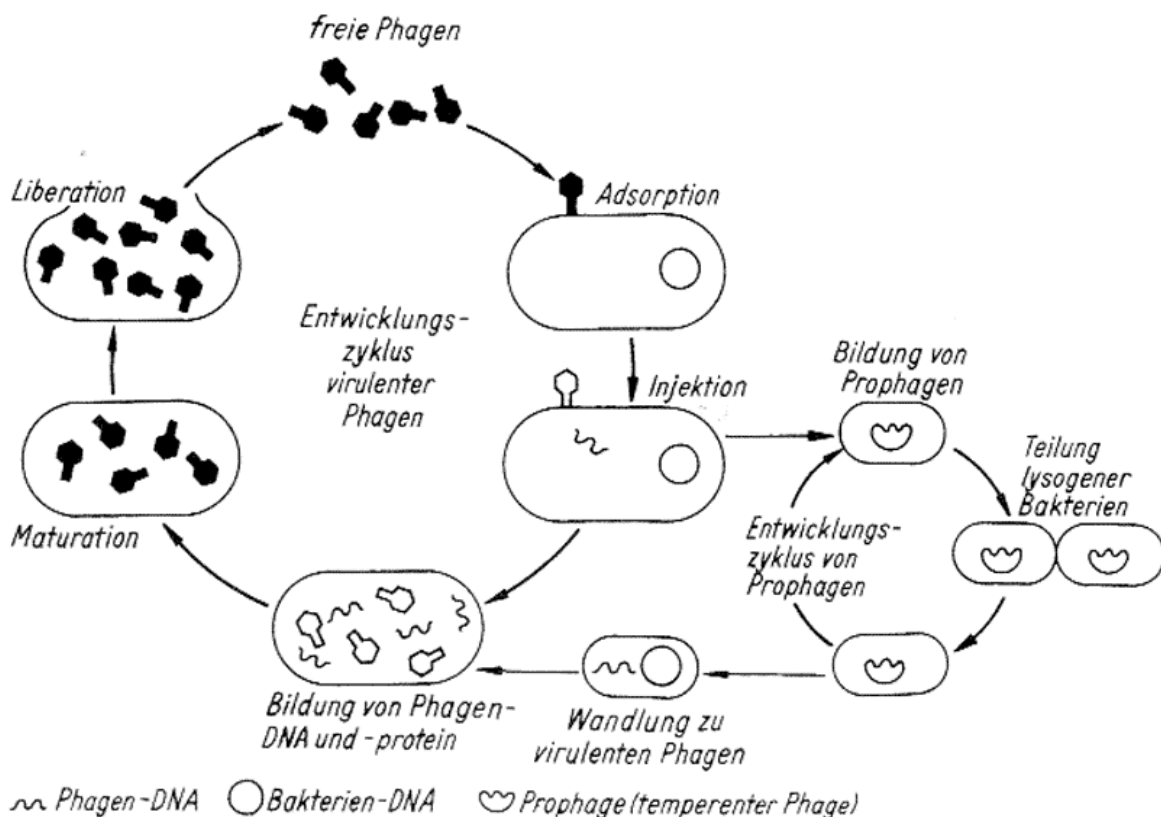
Phagen, die sich wie beschrieben vermehren, nennt man virulent. Nach Teuber kann eine Streptococcus-Zelle innerhalb rund 100 Minuten 100 virulente Phagen produzieren. Eine lysierte Kultur kann über 10 Mrd. virulente Phagen enthalten. Phagen reichern sich also, wenn man keine Gegenmaßnahmen ergreift, in kürzester Zeit stark an.

### Temperente Phagen - Lysogene Bakterien

Phagen, die ihren Wirt zwar infizieren, aber nicht lysieren heißen temperente Phagen. Das Phagenerbmaterial wird dabei ins wirtseigene Erbmateriale eingebaut und mit diesem verdoppelt (Prophage). Alle Nachkommen der Zelle enthalten ebenso das Phagenerbmaterial. Diese lysogenen Bakterien arbeiten jedoch normal (z.B. säuern) und sind immun gegenüber dem Angriff des Phagen, den sie enthalten. In seltenen Fällen werden temperente Phagen virulent.

### Der lytische und der lysogene Vermehrungszyklus temperenter Phagen

Ein temperenter Phage adsorbiert an eine bakterielle Wirtszelle und injiziert seine DNA. Beim lysogenen Vermehrungszyklus wird die virale DNA als sog. Prophage in das Bakteriengenom integriert, mit diesem zusammen repliziert und so an die Tochterzellen weitergegeben. Beim lytischen Vermehrungszyklus wird die virale DNA nicht integriert, sondern repliziert und in virale mRNAs transkribiert. Die Translation der mRNAs liefert viele Proteine (Capsomere und Enzyme). Capsomere und Phagen-DNAs werden zu Phagenpartikeln zusammengesetzt. Es kommt zur Lyse der Wirtszelle, die Phagen werden freigesetzt und können neue Zellen infizieren. Ein lytischer Zyklus muß nicht direkt nach der Infektion einer Zelle beginnen: Ein Prohage kann vom lysogenen in den lytischen Zyklus übergehen. Die virale DNA wird dabei wieder aus dem Wirtschromosom desintegriert, und ein lytischer Zyklus beginnt.



Schema des Entwicklungszyklus von Bakteriophagen

### **Mycoviren**

Sind bei Pilzen weit verbreitet. Der Unterschied zu den Phagen liegt in der fehlenden Infektiösität, der fehlenden Lysis der Wirtszellen und die Übertragung erfolgt nur durch Kopulation oder Protoplastenfusion. In der englischsprachigen Literatur werden Mycoviren als *virus-like-particles* (VLP) bezeichnet. Der Nucleinsäuretyp ist meistens RNA und seltener DNA.

**Killerhefen** sind ebenfalls Mycoviren. Die Killerhefen bilden ein toxisches Glycoprotein, welches zum Verlust von Kalium und ATP in der Zelle führt, wodurch sensitive Zellen absterben. Killerhefen wurden außer in den wirtschaftlich bedeutenden Stämmen von *Sacch. cerevisiae* auch in den Species der Hefegattungen *Hansenula*, *Pichia* u.a. gefunden.

### **Übertragung**

Die Übertragung der Viren erfolgt entweder über direkten Kontakt oder durch belebte sowie unbelebte Virusüberträger (Vektoren). Die meisten Viruskrankheiten werden durch saugende bzw. beißende Insekten (Stechmücken, Zecken) übertragen, wobei es teilweise zu einer Vermehrung der Viren im Verdauungstrakt kommt. Pflanzliche Virosen werden hptsl. durch Blattläuse, Zikaden, Fliegen und Blattwanzen übertragen. Unbelebte Virusüberträger können auch Lebensmittel wie, Milch, Butter, Käse und Trinkwasser sein.

### **Bekämpfung der Phageninfektionen**

Grundsätzlich bieten sich zwei gegensätzliche Möglichkeiten an, Produktionsstörungen durch Phagen auszuschalten:

- Die Kultur darf weder bei der Herstellung, noch bei der späteren Produktion mit homologen Phagen infiziert werden. Oder ...
- Die Kultur muß so widerstandsfähig sein, daß Angriffe homologer Phagen höchstens geringe Aktivitätsverluste zur Folge haben (phagenresistente Kultur).

Möglichkeiten:

- Einsatz von phagendichten Filtern → hoher technische Aufwand
- Kulturenzucht ohne Phagenkontakt (verwenden von phagenhemmenden Medien(phosphathaltig) mit gebundenem Ca- und Mg-Ionen (sind für Phagenadsorption und Stabilität des Capsid notwendig), Anzuchtmedium auf 90°C/30min erhitzen)
- Einsatz phagentötende Substanzen wie Peressigsäure oder Chlor (Desinfektion)
- Räumliche und personelle Trennung von Produktion und Kulturreiherung verringern ebenfalls das Übertragungsrisiko durch Luftzug, Sprühnebel und Personenkontakt
- Einsatz von Mehrstamm-Kulturen
- Rotation von Bakterienkulturen mit unterschiedlicher Phagenempfindlichkeit
- Einsatz phagenresistenter Starterkulturen

**Viroide** bestehen nur aus Nucleinsäure (ringförmig geschlossenen einsträngige RNA-Moleküle) und unterscheiden sich von den Viren durch das Fehlen einer Proteinhülle.

**Prionen** sind infektiöse Eiweißpartikel ohne Nucleinsäureanteil, sind kleiner als Viren und sehr resistent gegen Hitze und Desinfektionsmittel.