© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

76. J. Grüß: Die Anpassung eines Pilzes (Anthomyces Reukaufii) an den Blütenbau und den Bienenrüssel.

(Mit Tafel XIII und 1 Abb. im Text.)

(Eingegangen am 28. Dezember 1917.)

Der Pilz, welcher ein hohes Maß von Anpassungsfähigkeit besitzt, ist *Anthomyces Reukaufii*. Er ist bereits durch die Literatur bekannt und wurde zuerst von REUKAUF[1]) beschrieben, welcher ihn im Blütenhonig verschiedener Pflanzen, besonders *Salvia pratensis* und *verticillata*, entdeckte. Dieser Organismus gehört zu den *Saccharomyceten*, und der Entdecker beschreibt schon verschiedene Wachstumsformen, die er auch in seinem Bericht abbildet. Der Verfasser züchtete den Pilz aus *Lamium album* im ausgehöhlten Objektträger und ist der Ansicht, da er ihn auf verschiedenen Pflanzen gefunden hat, daß jede Blumenart vorwiegend ihren eigenen Pilz beherberge, was auf die verschiedene Zusammensetzung und Beschaffenheit des Nektars zurückgeführt wird.

Die Darstellung der Hefepräparate geschah in folgender Weise: Die von den Insekten besuchten Blüten wurden am Abend in einem verschlossenen Glase 2 Tage aufbewahrt, wodurch sich der Pilz in genügender Weise vermehrte. Der Nektar wird dann auf dem ausgehöhlten Objektträger ausgedrückt und nach Zusatz von ein wenig Honigwasser mit dem Deckglas bedeckt. Ein solches Präparat — eine feuchte Kammer im Kleinen — überdauert gut den Winter.

Der Pilz ist von P. LINDNER in seinem Atlas (2. Auflage, 1910) auf Tafel 90—93 in einigen verschiedenen photographischen Aufnahmen zur Darstellung gebracht und außerdem noch in seinem Bericht: Das Gaslichtpapier als Ersatz für die Glasplatten bei mikrophotographischen Aufnahmen, — s. diese Berichte, Bd. XXXIV, 1916, Heft 7.

Außerdem haben sich noch Ing. VACLAV SCHUSTER und VLADIMIR ULEHLA[2]) mit diesem *Saccharomyceten* beschäftigt. In ihrer Abhandlung: Studien über Nektarorganismen, wurde die aus einer Anzahl Blüten isolierte Hefe als „*Lamium I*“ bezeichnet.

1) REUKAUFS: Die Kleinwelt. Jahrg. 3, 1911/12, p. 25—27.

2) Diese Berichte, Bd. XXI, 1913, S. 129.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Es sei hier als besonders wichtig hervorgehoben, daß die beiden Autoren eine günstige Entwicklung des Pilzes beobachteten, als sie zu ihrer Nährlösung (Pepton Witte 1,0 pCt., KH_2PO_4 0,3 pCt., $MgSO_4$ 0,5 pCt., H_2O 93,5 pCt.) 5 g der Lösung von 5 verschiedenen Zuckerarten: *Dextrose, Laevulose, Saccharose, Maltose. Laktose* hinzugefügt hatten.

Was zunächst die Benennung des Pilzes anbetrifft, so dürfte es wohl gerechtfertigt sein, wenn man ihn als *Anthomyces Reukaufii* bezeichnet, da er sich den verschiedensten Blüten angepaßt hat, und wenn man ihm andrerseits auch den Namen des Entdeckers zuerteilt.

Meine eigenen Untersuchungen über diesen Organismus bewegen sich in der Richtung, um zu zeigen, daß demselben ein hohes Maß von Anpassungsfähigkeit zu eigen ist. Ich habe den Pilz in der Umgebung von Friedrichshagen vorzugsweise in den Blüten von *Linaria vulgaris* gefunden; selten fand sich ein Sporn, dessen Nektar nicht inficiert war.

Aus einer isolierten Zelle wurde eine Reinkultur auf Würze-Gelatine hergestellt, die als Stammkultur bezeichnet sein möge.

Diese Hefe stellte durchgehends eine einzellige Sproßhefe dar mit allen typischen Eigenschaften: kuglig bis oval, mit großer Vakuole, in der sich fast immer ein stark lichtbrechendes Körnchen befand, dann auch kleinere Zellen mit dichtem, körnigem Plasma; in vielen Zellen, besonders in den größeren, ein voluminöser Fetttropfen oder mehrere kleine Tröpfchen.

Die Hefezelle, aus der die Stammkultur hervorging, hatte sich in einem *Linaria*sporn befunden und die für ihr Vorkommen in Blüten charakteristische dreizackige Aussproßform besessen, die also durch die Kultur verloren ging, indem nur runde Einzelzellen aus ihr entstanden.

Daraus ergab sich die Aufgabe, zu versuchen, ob aus der Einzelzelle der Stammkultur wieder die dreizackige Sproßform, wie sie sich in der Blüte findet, erzeugt werden könne. Zu erwarten war, daß dies am leichtesten dadurch zu erreichen wäre, daß man den Pilz wieder unter seinen ursprünglichen natürlichen Wachstumsbedingungen kultivierte.

Um die Veränderungen der Kulturhefe festzustellen, die beim Auskeimen derselben in Blüten auftreten würden, waren diese erst für die Impfung in geeigneter Weise vorzubereiten. Um zu verhüten, daß die zu impfende Blüte nicht schon vorher von einem

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Insekt besucht sein würde, wurden von den Blütenständen alle geöffneten Blüten entfernt und nur die jüngsten geschlossenen Blütenknospen stehen gelassen. Diese wurden mit Gaze umhüllt und öffneten sich nach einigen Tagen. Nachdem dann einige Hefezellen aus der Stammkultur mit der Präpariernadel in den Honigbehälter eingeführt worden waren, wurden die Blüten wieder mit Gaze umhüllt und so gegen Insektenbesuch beschützt. Nach einigen Tagen wurde dann der inficierte Nektar unter dem Mikroskop untersucht.

Die erste Impfung wurde an einer *Fritillaria*blüte ausgeführt. An dem einzigen Blütenstand dieser Pflanzen wurden nur 3 Blüten belassen, die daher reichlich Honig produzierten. Bemerkenswert war, daß bald nach der Impfung die schöne rote Färbung allmählich in gelb überging. Die erste Impfung wurde am 15. 7. 1916 unternommen und lieferte ein sehr günstiges Resultat.

Bei dieser Keimung entsteht wie gewöhnlich an der *Saccharomyces*zelle durch Sprossung eine kleine knopfförmige Tochterzelle (Taf. XIII, Fig. 1). Dann aber tritt ein anderer Vorgang ein. Die Mutterzelle streckt sich und die Tochterzelle wächst nun nicht mehr wie sonst kuglig aus, sondern ihr Wachstum geht gleichfalls in die Länge.

Es resultiert dadurch eine langgestreckte Doppelzellform (Fig. 2a, 2b), in der das Plasma gewöhnlich acropetal angehäuft ist, während sich in dem breitesten Querdurchmesser die Vakuole ausbildet. Darauf sprossen aus dem sich mehr und mehr streckenden Endteil eine bis drei — in den meisten Fällen nur zwei — Tochterzellen hervor, die sich am Ende kolbig verdicken und an ihrer Insertion sich regelmäßig stielförmig ausziehen (Fig. 3). Damit ist die Dreizackform ausgebildet.

Die sich streckende Mutterzelle kann auch an jedem ihrer beiden Pole je eine Tochterzelle entstehen lassen, die sich gleichfalls mit acropetaler Plasmaanhäufung streckt (Fig. 4). Schließlich können die beiden Tochterzellen gleichzeitig oder nach einander an einem Pol der Mutterzelle entsprießen. Sehr selten bilden sich die Zellen hintereinander aus, ein Fall, der zur Kettenbildung führt und vielleicht hier als Rückfall in die Hyphenbildung zu erklären ist.

Resultat: Die Dreizackform kommt dadurch zustande, daß an dem einen Pol der sich streckenden Mutterzelle in derselben Richtung eine und kurz vor dem andern Pol in verschiedenen Richtungen zwei Tochterzellen aussprossen.

Charakteristisch für die Dreizackform der Blüten ist durchaus die Streckung der Zellen. Um dies hervorzuheben, mögen diese Zellen als „gracil“ bezeichnet sein zum Unterschied gegen die ovale Sproßform. Es ließ sich durch einen Versuch nachweisen, daß der Nährboden einen gewissen Einfluß auf die Ausbildung der „gracilen“ Form ausübt.

Versuch: In eine zweite Blüte des erwähnten *Fritillaria*-stockes wurde aus derselben Reinkultur, wie vorher beschrieben, übergeimpft. Nach 24 Stunden wurden die Zellen aus der Blüte wieder herausgenommen und im hohlen Objektträger im hängenden Tropfen weiterkultiviert. Sie befanden sich nunmehr in demselben Honig, unter dieser Bedingung aber schwimmend in dem Medium. Es resultierten nach direkter Beobachtung unter dem Mikroskop die auf der Tafel unter 5a, b, 6a, b und 7 dargestellten Zellformen. Alle diese Zellen, die im hohlen Objektträger weiterkultiviert wurden, ergaben durchaus keine Dreizackformen, sie blieben vielmehr oval und entwickelten kleine strauchförmige Sproßverbände. In der Blüte hätten sie sich zu Dreizackformen ausgebildet, wie dies auch aus der dritten Blüte zu ersehen war. Die erzielten Dreizackzellen lieferten im hängenden Tropfen gleichfalls nur Sproßkolonien mit ovalen Zellen.

Außer auf *Fritillaria imperialis* wurde der Pilz noch in die Blüten folgender Pflanzen eingeführt: *Delphinium elongatum, Linaria vulgaris, Antirrhinum majus, Lonicera spec. Phlox multiflora.* In allen diesen Fällen wurde das gleiche Ergebnis erhalten: es fanden sich schon nach dem zweiten Impftage die Dreizackformen, oder die Hefen waren mit gracilen Tochterzellen ausgesproßt. Doch fanden sich in einzelnen Blüten neben den erwähnten auch manche ovale Zellen, die nach ihrer Menge zu urteilen, aus den eingeimpften hervorgegangen sein mußten.

Jedenfalls folgt aus dem gesamten Ergebnis, daß die Zusammensetzung des Blütenhonigs keinen Einfluß auf die Ausbildung dieser seltsamen Zellformen hat, denn es ist zweifellos anzunehmen, daß alle diese Blüten einen Honig von verschiedener Zusammensetzung secernieren.

Darnach kann die Meinung REUKAUFs, der die verschiedene Ausbildung des Pilzes auf die verschiedene Zusammensetzung des Nektars zurückführt, der Wirklichkeit nicht entsprechen.

Resultat:

1. In Blüten entwickeln sich aus ovalen Zellen vorzugsweise Dreizackformen, kleine aus 4 Zellen bestehende Sproßverbände.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Die Zusammensetzung des Blütenhonigs übt auf die Ausbildung der Dreizackformen keinen Einfluß aus. Der Pilz entwickelt sich in dieser Weise in allen Blüten, die Honig erzeugen.

2. Ovale Zellen, die nicht aussprossen, gehen in den Dauerzustand über. Für diesen ist die Bildung von mehreren kleinen oder einzelnen größeren Fetttropfen sowie die Umhüllung mit einer Schleimschicht charakteristisch.
3. In der Natur finden sich in den Blüten meist Dreizackformen mit gracilen Zellen. Daneben kommen auch ovale Einzelzellen vor. Im hängenden Tropfen entwickeln sich nur solche.

Die Dreizackformen bestehen in den meisten Fällen aus 4 Zellen, weshalb sie im Folgenden als „*Tetraden*" bezeichnet sein mögen, und dem entsprechend können sich auch *Biaden*, *Triaden*, *Pentaden* usw. ausbilden.

Von den vielen verschiedenartigen Kulturen, die ich im Reagenzglas ausgeführt habe, und die in der ausführlichen Arbeit näher beschrieben werden, möchte ich hier nur den folgenden Versuch anführen:

Eine Anzahl Reagenzgläser wurden bis zu einem Drittel gefüllt:

a) mit einer Lösung, die in Leitungswasser 5% Rohrzucker und 15% Glukose enthielt;
b) mit der gleichen Lösung, die einen Zusatz von 2% Leucin erhielt.

In jedes Reagenzglas wurde ein Streifen steriles Filtrierpapier hineingeschoben, welches in die Flüssigkeit eintauchte und oben bis unterhalb des Watteverschlusses herausragte. Auf diese Weise entspricht das Substrat zum Teil wenigstens den natürlichen Verhältnissen. Ein großer Unterschied besteht immerhin: In der *Linaria*blüte befinden sich die Pilzzellen auf einer gerillten Epidermis oder auf rauhen Papillen, deren Zellen als Honigdrüsen funktionieren. Hier steht der Pilz unter den günstigeren Bedingungen der Ernährung, der Durchlüftung und möglicher Weise der Fortführung seiner Stoffwechselprodukte.

Eingeimpft wurden ovale Sproßhefen aus einer Reinzucht auf Würze-Agar. Nach 5 Tagen hatten sich in beiden Flüssigkeiten nur wieder eine Menge ovaler Einzelzellen ausgebildet. Die Flüssigkeiten wurden nun so geneigt, daß die Papierstreifen ganz eintauchten.

Die wieder aufrecht gestellten Kulturen, in denen die Papierstreifen mit Einzelzellen übersät waren, blieben zur weiteren Entwicklung vom 22. 7. 1916 bis 27. 7. 1916 bei gewöhnlicher Temperatur sich selbst überlassen.

Das Resultat fiel so aus, wie ich vermutet hatte. Unter den in stickstoffreier Lösung auf dem Papier ausgesproßten Zellen (Fig. 8) fanden sich in der Tat gracile Tetraden, die genau mit denen aus dem *Linaria*sporn übereinstimmten, daneben *Triaden* und *Biaden* (Fig. 8a, b und c). Die Hauptmenge bestand freilich aus ovalen Einzelzellen.

Ein anderes Aussehen zeigten die mit der stickstoffhaltigen Lösung ernährten Zellen. Diese waren voluminöser und hatten dichtes Plasma mit ein oder zwei Vakuolen. Auch hier fanden sich die kurzen Sproßverbände: Dreizackformen, Triaden und Doppelzellen. Der Unterschied liegt aber darin, daß die Zellen mit breiter Basis aneinanderhafteten. Die stielförmige Insertion fehlte: Die Sproßverbände bestanden also nicht aus gracilen, sondern aus ovalen Zellen (Fig. 9a, b und c). Die Hauptmenge machten gleichfalls die Einzelzellen aus.

In einer anderen Versuchsreihe (ohne Papierstreifen) kamen folgende Nährlösungen zur Anwendung:

a) Auf 50 ccm Leitungswasser = 4 g Glukose + 1 g Rohrzucker + 1 ccm Aprikosendekokt,

b) Auf 20 ccm Leitungswasser = 0,5 g Leucin + 0,25 g Asparagin.

2 Monate nach der Einimpfung hatten sich in der Lösung a meist einzelne Zellen zahlreich entwickelt. Dazwischen fanden sich auch vereinzelt Triaden und Tetraden.

In der Lösung b, der Stickstoffkultur, hatte sich nichts entwickelt. Der Pilz kann also aus den Amidosäuren die Komponenten der Kohlenhydrate nicht abspalten.

Das Ergebnis des Kulturversuches mit der Lösung a stimmt mit dem überein, das auch die beiden böhmischen Forscher O. SCHUSTER und V. ULEHLA erlangt hatten: sie beobachteten in älteren Kulturen neben Einzelzellen auch Tetraden.

Resultate:

1. In stickstoffreicher Nährlösung entwickeln sich nicht die typischen gracilen Zellen mit stielförmiger Insertion. Die Zellen werden oval oder länglich-oval und haften mit breiter Basis aneinander. Bisweilen können sie zu langgestreckten Formen übergehen.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

2. Im hängenden Tropfen sprossen die gracilen Tetraden mit ovalen Zellen aus.
3. In älteren, stickstoffarmen Kulturflüssigkeiten finden sich neben ovalen Einzelzellen auch Tetraden mit mehr oder weniger gracil ausgebildeten Zellen.

Kulturen im hängenden Tropfen.

Von den vielen Kulturen, die ich im hohlen Glasklotz und im ausgehöhlten Objektträger ausgeführt, mögen hier nur die beiden folgenden beschrieben werden:

In den hängenden Tropfen über dem hohlen Glasklotz wurde eine gracile Doppelzelle gebracht und ihre Entwicklung unter dem Mikroskop verfolgt. Die Kulturflüssigkeit wurde so hergestellt, daß mehrere mit Nektar angefüllte *Linaria*sporne von Blüten, die unter Gazeverschluß aufgezogen worden waren, mit der geeigneten Wassermenge wiederholt aufgekocht wurden.

Die unter Fig. 10a, Taf. XIII, dargestellte Doppelzelle sproßte nach 3—4 Stunden an dem stärkeren Ende mit zwei kleinen Zweigen aus (Fig. 10b). Nach 6 Stunden war die kleine Kolonie (Fig. 10c) entstanden und nach weiteren 2 Stunden die Kolonie (Fig. 10d). Die Aussprossung blieb bis dahin nur auf die größere Einheit der Doppelzelle beschränkt, während die kleinere Komponente sich noch im Dauerzustand befand, wie sich dies auch an den beiden Fetttröpfchen erkennen ließ, die sich in ihrem Plasma deutlich abhoben. Als nach 12 Stunden die Kolonie (Fig. 10e) entstanden war, hatte diese Zelle ihren Dauerzustand verlassen und eine kleine runde Tochterzelle t polar gebildet. Bei diesem Vorgange waren die Fetttröpfchen verschwunden, mithin resorbiert und als Baumaterial verbraucht worden. Eine ähnliche Entwicklung ist in der Textfigur dargestellt. Alle diese Kolonien bezeichne ich als „Strauchkolonien“; sie sind gradezu typisch für diese Art des Kultivierens.

Wie verschieden die im hängenden Tropfen entwickelten Strauchkolonien denjenigen gegenüber sind, welche in Blüten gebildet werden, wird durch die folgende Versuchsreihe gezeigt:

Eine kräftig entwickelte Blumenkrone eines *Linaria*stockes wurde inficiert und in einem Glasröhrchen so aufbewahrt, daß die Spitze des Sporns in einem Wassertropfen stand. Gleichzeitig wurde aus den Blüten desselben Stockes eine genügend große Menge Honig gewonnen, die als hängender Tropfen über den hohlen Glasklotz an das abschließende Deckglas angetragen wurde. Aus derselben Kultur wurden einige ovale Zellen in den Sporn und in

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

den hängenden Tropfen eingeführt. Die Entwicklung dauerte 3 Tage bei einer durchschnittlichen Temperatur von 18—20°. Das Ergebnis ist auf Taf. XIII, Fig. 11a—d und Fig. 12a—e bei ca. 400-facher Vergrößerung wiedergegeben. Auffallend sind die langgestreckten Formen b und d aus der Spornkultur, die ich in Blüten freiwachsender Pflanzen sonst nicht oder nur selten — in einem Falle in einer *Delphinium*blüte (Taf. XIII, Fig. 13a—g) beobachtet habe.

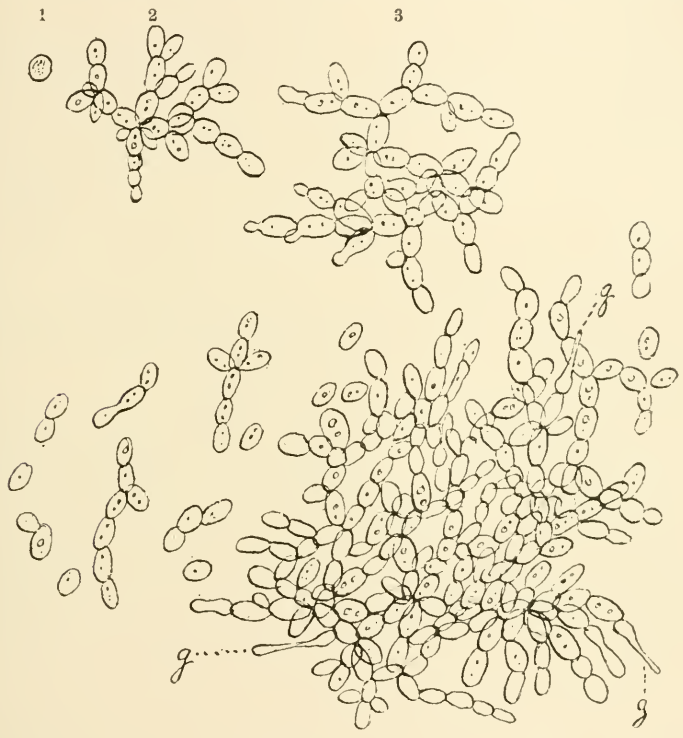


Abb. 1. 1. Eine Zelle aus einer Reinzucht auf Würze-Agar. 2. Dieselbe Zelle entwickelte sich im hängenden Tropfen von Linariahonig zu einer kleinen Strauchkolonie nach 48 Stunden. 3. Dieselbe Kolonie nach weiteren 8 Stunden. 4. Dieselbe Kolonie nach weiteren 40 Stunden. Es beginnt der Zerfall; einige Zellen (g) haben sich gracil ausgebildet. In den meisten Zellen Fettröpfchen.

Diese schlanken Formen erinnern schon an *Mycel*fäden; sie sind deswegen so selten, weil sie in den Blüten durch die Windbewegung oder durch den eingeführten Insektenrüssel leicht zum Zerfall gebracht werden. Der Unterschied in den beiden Kulturen, der in der gracilen und ovalen Aussprossung liegt, kann nicht schlagender nachgewiesen werden.

BiodiversityHeritageLibrary, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Monströse Formen.

Durch Zufall, als ich darauf ausging, die Bedingungen zu ermitteln, unter denen die Ausbildung der gracilen *Tetraden* erfolgt, beobachtete ich einige monströse Formen, die ich hier zur Kenntnis bringen möchte, um darzutun, daß die Plasmakonstitution den Pilz befähigt, eine große Anzahl recht mannigfaltiger Formen auszubilden.

Der Versuch verlief folgendermaßen: Ein *Linaria*sporn, der nur Dreizackhefen enthielt, wurde auf dem Objektträger der Länge nach halbiert und in einzelne Teile zerschnitten. Diese wurden unter Zusatz einer Mischung aus *Linaria*- und *Tropaeolum*honig in die Höhlung des Objektträgers geschoben, worauf das Deckglas mittelst Vaseline luftdicht aufgekittet wurde. Nach 24 Stunden hatten sich die schön schlanken Tetraden in eigentümlicher Weise verändert. Die freien Enden hatten sich mächtig kolbenförmig und zu großen blasenförmigen Zellen ausgebildet, die auf Taf. XIII, Fig. 14—16, wiedergegeben sind.

Diese monströsen Zellen waren aber nicht abgestorben, sondern sie sproßten, als sie in den hängenden Tropfen übergeführt worden waren, mit immer kleiner werdenden Tochterzellen zu Strauchkolonien aus.

Aber nicht genug des Merkwürdigen! Am Rande der Höhlung, wo die Flüssigkeitsschicht sehr dünn war, erschienen ganz andersartige Kolonien, als ich sie jemals zu beobachten Gelegenheit hatte. Von diesen habe ich eine auf Taf. XIII, Fig. 17, abgebildet. Ich bezeichne sie dem Aussehen entsprechend als „Netzkolonie."

Dieser eigenartige Sproßverband besteht also nur aus Tetraden und Triaden. Jede Tochterzelle produziert an ihrem freien Ende stets wieder eine Tetrade. Alle Zellen sind gracil und zeigen die stielförmige Insertion.

Noch überraschender war die Tatsache, daß solche gracilen, der Netzkolonie entnommenen Tetraden im hängenden Tropfen aus demselben Blütenhonig stets eine Strauchkolonie zur Entwicklung brachten.

Nun muß ich aber berichten, daß es mir nie gelang, in derselben Weise mit anderem Material eine Netzkolonie zum zweiten Male zur Ausbildung zu bringen.

Wohl ließ sich in einigen Präparaten noch Neubildung von Tetraden konstatieren; diese traten aber nur vereinzelt auf, keineswegs waren sie zur Netzkolonie vereinigt.

Den Gegensatz zu den durch den vorstehenden Kulturversuch erhaltenen Riesenzellen bilden Zellformen von sehr geringen Dimensionen, die ich als „Hungerformen" bezeichne. Am besten

Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

erhält man sie, wenn man die Kulturlösung, Aprikosen- oder Pflaumendekokt, fortgesetzt verdünnt und in den hängenden Tropfen dann nur wenige Zellen hineinbringt. Die Häufchen, die man auf diese Weise durch Zerfall der Strauchkolonien erhält, sind nicht sehr voluminös, so daß sie nicht über das Gesichtsfeld des Mikroskops reichen. In seinem Bericht über das Gaslichtpapier usw. bildet LINDNER[1]) einen derartigen Cumulus ab.

In der Mitte einer solchen kreisförmigen Kolonie (Fig. 18) finden sich die größeren Zellen, am Rande die kleineren und kleinsten; ihr Durchmesser ist bisweilen so gering, daß man sie für Bakterien halten könnte. Bei der Züchtung im hängenden Tropfen entstehen daraus wieder größere Zellen und unter diesen auch vereinzelt kleine gracile Tetraden, deren Zellen wie Stäbchen aussehen.

Andere sehr bizarre Formen erhielt ich aus einer Reagenzglaskultur. Als Nährlösung wandte ich die von SCHUSTER und ULEHLA[2]) angegebene Lösung an, ließ aber das Pepton fort und setzte dafür 10% Traubenzucker. Eingeimpft wurden einige ovale Zellen aus einer Würze-Agar-Reinkultur. Die Lösung stand vom 14. 11. 1916 bis 31. 11. 1917. Von den mycelartig ausgewachsenen Hefen habe ich zwei in den Fig. 19 und 20 abgebildet. In dem in Fig. 20 dargestellten Mycelfaden habe ich durch eine besondere Methode, die ich in der ausführlichen Schrift mitteilen werde, die Zellkerne k gefärbt. An dem Faden (Fig. 20) zeigt eine sich abzweigende Zelle die stielförmige Insertion S. Am andern Mycelfaden fanden sich in dem blasenförmigen Ast kleine Kügelchen, die nicht Fetttropfen waren. Ob dies keimfähige Sporen waren, habe ich nicht mehr untersuchen können.

Schließlich konnte ich noch eine monströse Form, die ich als „überschlank" bezeichnen möchte, aus einer Blüte von *Delphinium elongatum* beobachten. Sie ist in Fig. 13a dargestellt. Eine ähnliche überschlanke Form wurde unter anderen weniger schlanken Zellen in einer Kultur im *Linaria*sporn angetroffen, in welchen einige ovale Hefen eingeimpft worden waren. Die Blüte stand 3 Tage im Glasröhrchen mit dem Sporn in einem Wassertropfen.

Die Anpassung des Pilzes an den Bienenrüssel.

Der Rüssel der Biene ist etwa 5 mm, der der Hummel 8 mm lang. Die für uns in Betracht kommende Teile sind die beiden

1) l. c.
2) l. c.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Nebenzungen und die Hauptzunge, welche seitlich eingerollt ist und am Ende ein Löffelchen trägt. Die Oberfläche ist mit parallelen Leisten besetzt, auf denen die schwach gekrümmten Härchen aufsitzen, die sich zumeist kreuzen, so daß ein förmliches Haarsieb gebildet wird. In der Mittellinie der Zunge bleibt ein feiner Kanal frei, durch welchen kleinere Pollenkörner und auch die ovalen Hefezellen mit dem Honig in den Vormagen mitaufgesaugt werden können.

Dagegen werden die Triaden und Tetraden in den Maschen dieses Haarnetzes vollkommen zurückgehalten. Gewöhnlich wird die voluminösere Mutterzelle zwischen den Härchen verankert, und die Tochterzellen ragen frei heraus (Fig. 21).

In dem Vor- oder Honigmagen habe ich nie Tri- und Tetraden angetroffen, wohl aber die ovalen Einzelzellen und vereinzelt auch Biaden. Die Hefen gehen in diesem Mageninhalt in den Dauerzustand über: es bilden sich in ihnen die Fetttröpfchen, und ihre Membran verschleimt. Für die Verbreitung des Pilzes sind diese Zellen nunmehr wertlos geworden. Bei den Hummeln werden sie mit dem Honig alsbald an die Larven verfüttert, und bei den Bienen gelangen sie schließlich in die gedeckelten Zellen.

Ganz anders verhalten sich die im Haarsieb der Zunge verankerten Tri- und Tetraden. Sobald der Rüssel in den Sporn eingeführt wird, stoßen sich die herausragenden Tochterzellen an den Sperrvorrichtungen ab und bleiben an ihnen haften. Dies wird leicht dadurch bewirkt, daß ihre Membran etwas verschleimt ist, und daß die Sperrvorrichtungen, die aus Papillen und Härchen bestehen, eine rauhe, mit kleinen Spitzen und Höckern besetzte Oberhaut besitzen. (Vgl. Fig. 23.)

Hat eine Biene oder Hummel eine Blüte besucht, in deren Sporn sich der Pilz zahlreich entwickelt hatte, so kann man regelmäßig auf dem Haarsieb der Zunge die verankerten Tetraden auffinden; aber auch Einzelzellen werden zurückgehalten. Um sie aufzufinden, schneidet man mit dem Scalpell die Zunge ab und bringt sie in den hängenden Tropfen einer Nährlösung, in der sich an den betreffenden Stellen bald Kolonien ausbilden.

Wird der Bienen- oder Hummelrüssel in den Sporn hineingeführt, so greifen die etwas gekrümmten, nach unten gerichteten Borstenhärchen wie ein Gabelsystem die ankerförmigen Tetraden förmlich heraus und umgekehrt halten die Sperrvorrichtung der noch nicht inficierten Blüten eine oder die andere der aus dem Haarsieb herausragenden Zellen leicht zurück. Auf diese Weise ist die Verbreitung des Pilzes gesichert.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Hieran schließt sich die Frage: Auf welche Weise gelangt der Pilz in die ersten Blüten? — Nur durch den Bienen- oder Hummelrüssel! Die Aussaat für das nächste Jahr findet sich stets im Haarsieb dieser Insekten. Bei den Hummeln ist es bekanntlich nur das befruchtete Weibchen, die Königin, die in einem Schlupfwinkel überwintert.

Im Jahre 1916 war der Winter schon ziemlich früh eingetreten, und am 15. Oktober kam in unserer Gegend (Friedrichshagen) ein plötzlicher Frost, der aller Blütenherrlichkeit ein Ende machte. Kurz darauf fand ich auf einem *Helianthus*kopf eine Hummelkönigin, auf deren Zunge ich den Pilz in 6 Tetraden auffand. Auch mehrere kleine Weibchen waren inficiert, doch kommen diese für die Verbreitung des Pilzes nicht in Betracht.

Leider trat in diesem Jahre (1917) der Frühling sehr spät ein. Erst am 5. Mai gelang es mir, die ersten Hummeln einzufangen: es waren 6, von denen 4 im Haarsieb ihrer Rüssel mit dem Pilz behaftet waren.

Die Hummeln flogen auf einen Stachelbeerstrauch, den sie bald ganz inficiert hatten. Schon am 7. Mai wurden über demselben Strauch 4 Hummeln eingefangen, von denen 3 den Pilz hinwegtragen wollten. Bemerkt sei noch, daß alle diese Hummeln Königinnen waren, die also den Winter überdauert hatten.

Diese Tatsachen können uns unzweifelhaft ein vollständiges Bild davon geben, wie es dem Pilz gelingt, von einer Vegetationsperiode zur anderen, lückenlos sein Dasein hinüberzuführen.

Man könnte nun die Frage stellen: Warum hat hier die natürliche Zuchtwahl nicht zur gänzlichen Ausschaltung der Einzelzellen geführt, die man häufig im Grunde des Sporns auffindet, wo sie von dem Bienenrüssel nicht so leicht erreicht werden? Auch diese Frage zu beantworten liegt im Bereich der Möglichkeit. Kultiviert man nämlich im hängenden Tropfen Tetraden und Einzelzellen nebeneinander, so bemerkt man, daß sich diese viel leichter als jene vermehren. Demnach wird auch ihre Ernährung, mithin ihr Stoffwechsel, energischer vor sich gehen. Um so zu sagen, dürfte daher der Organismus ein Interesse daran haben, diese Zellform zu erhalten, umsomehr, als die Entwicklungsperiode von Beginn der Infizierung bis zum Abfall der Blüte nur kurz ist. Deswegen ist schnelle Vermehrung erforderlich.

Anpassung an den Blütenbau.

Wie bereits im vorhergehenden Teil darauf hingewiesen ist, besitzen die Blütensporne und auch die Blumenkronröhren Sperr-

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

vorrichtungen, an denen die aus dem Haarsieb der Bienenzunge herausragenden Zellen abgefangen werden. Was zunächst den Sporn von *Linaria vulgaris* anbetrifft, so sind die sperrenden Papillen kegelförmig, mehrzellig und haben eine rauhe Cuticula.

Weiter kann man leicht erkennen, daß die ganze Epidermis mit parallel laufenden, dünnen Falten oder Leisten bedeckt ist, die unter einander anastomosieren (Fig. 22 u. 23).

Wie sich der Pilz dieser Blüteneinrichtung angepaßt hat, konnte ich bei einem Züchtungsversuch durch Autopsie erkennen: In die Höhlung des Objektträgers wurden Stücke der inneren Oberhaut des Sporns übertragen und *Linaria*honig zugegeben. Ausgesät wurden ovale Zellen aus einer Reinkultur im hängenden Tropfen. Aus einer dieser Zellen m (Fig. 22) entstanden durch Aussprossung zwei Tochterzellen, von denen sich die größere zu einer Tetrade entwickelte, die sich schon vor ihrer Ausbildung bei der Streckung ablöste. Während die Mutterzelle noch eine dritte Tochterzelle aussprossen ließ, streckte sich die Tetradenzelle noch weiter, und dadurch wurde ihre eine Seitenzelle und von der Mutterzelle auch die zweite Tochterzelle an den Leisten l der Oberhautzelle abgestoßen (Fig. 22). Diese Ablösung von seitlich entspringenden Zellen infolge von Streckungen konnte ich mehrfach beobachten. Die Anpassung liegt nun darin, daß durch diesen Vorgang eine gewisse Konstanz der Tetraden erzeugt wird, denn diejenigen, welche den Gleitprozeß, überstehen, haben ein so festes Gefüge, daß sie auch durch den Bienenrüssel nicht zum Zerfall gebracht werden.

Etwas anders liegen die Verhältnisse bei *Delphinium elongatum*, dessen Sperrvorrichtungen aus längeren, dünneren Härchen bestehen, die mit kleinen Spitzen besetzt sind. Manche tragen am Ende eine drüsige Zelle, die wahrscheinlich eine klebrige Flüssigkeit absondert. Von ihrer Insertion aus verlaufen radiär die gleichen Cuticularleisten wie im *Linaria*sporn. Außerdem ist die Cuticula mit kleinen Knötchen übersät. Man ist daher nicht überrascht, daß die langen, zerbrechlich aussehenden Formen des sich in diesen Blüten findenden Pilzes (Fig. 13) ein genügend festes Gefüge haben, das auch durch Druck auf das Deckglas nicht zerstört wird.

Die lichte Weite des Sporns ist viel größer als wie bei *Linaria*, und weiter ist zu bedenken, daß die dünnen Härchen sich leicht der Wandung des Sporns anlegen.

Diese Verhältnisse machen es erklärlich, daß hier durch natürliche Zuchtwahl diese überschlanken Zellformen (Fig. 13a—g)

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

erzeugt wurden. Sie fanden sich in allen Blüten desselben Stockes und zeigten einen völlig formenreinen Bestand, es kamen darunter keine ovalen Einzelzellen noch andere fremde Formen vor. Daß es sich um keine fremde Art handelte, erwies sich durch die Aussprossung im hängenden Tropfen.

Wir sind daher wohl berechtigt, diese Formen als besondere Rasse aufzufassen: sie sei bezeichnet als *Anthomyces Reukaufii*, Rasse *gracillima*.

Den Gegensatz hierzu bildet eine Zwergform, die ich auf dem Rüssel einer Hummel fand, welche ich auf einem *Helianthus*-kopf eingefangen hatte (Fig. 25). Als die Zunge dieser Hummel in den hängenden Tropfen gebracht worden war, entwickelte sich daraus eine sehr zahlreiche Kolonie, deren Zellen alle die gleiche Größe hatten, so daß ich sie anfangs für eine andere Art hielt. Nach mehreren Monaten erschienen aber bei Zusatz von neuer Nahrung vereinzelte größere Zellen, die sich von den normalen nicht unterscheiden ließen. Bemerkenswert war, daß auch die gracilen Zellen, die in dieser Kolonie zu finden waren, entsprechend klein waren. Diese Hefe möge *Anthomyces Reukaufii*, Rasse *minor*, genannt sein, sie ist gleichfalls eine Anpassungsform, die durch natürliche Zuchtwahl entstanden ist (Fig. 25, mit Zeiß E. gezeichnet.) Die Blüten von *Helianthus* haben eine geringe lichte Weite, und durch ihre Staubbeutelröhre werden vollends die Zugänge zu dem Honigbehälter stark eingeengt. Der Honig ist also wie auch bei anderen Kompositen schwer zugänglich. Dementsprechend würden die längeren Pilzzellen nicht dorthin gelangen, sondern schon an der Staubbeutelröhre haften bleiben.

Zuchtversuche in Blüten.

Aus der Mykologie der Hefen ist bekannt, daß man diese Organismen sogar an Flußsäure gewöhnen kann, und so stellte ich mir die Aufgabe, eine Form heranzuzüchten, welche auch im hängenden Tropfen die Netzkolonie ausbilde.

Diese Versuchsreihe wurde folgendermaßen ausgeführt:

Am 16. 8. 1917 wurden mehrere intakte *Linaria*blüten aus einer Reinkultur geimpft, die nur aus ovalen Zellen bestand. Nach 2 Tagen hatten sich in 3 der Blüten eine große Anzahl Tetraden entwickelt.

Auf dem Objektträger wurde ein Sporn in einem Tropfen verdünnten *Linaria*honigs zerrissen und die Tetraden in der Flüssigkeit verteilt. Auf einen anderen Objektträger, der an der einen schmalen Seite so zugeschnitten war, daß er in eine Spitze auslief,

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

wurden nach LINDNERs Vorgang mit der Ziehfeder kleine Tröpfchen aufgetragen, von denen eins ausgewählt wurde, welches 6 Tetraden enthielt. Dieses wurde über die an der Seite des Objektträgers auslaufende Spitze in den Sporn einer gut entwickelten *Linaria*-blüte gespült.

Auf diese Weise wurden mehrere *Linaria*blüten mit Tetraden inficiert. Tröpfchen, die mehr als 10 Tetraden hatten, wurden nicht verwendet. Für diese Impfversuche eignet sich mit gleichem Erfolge auch ein feiner, steril gehaltener Haarpinsel.

Die geimpften Blüten wurden nach 2—3 Tagen untersucht und, wenn sie geeignet waren, in der gleichen Weise, wie vorher angegeben, behandelt.

Nach jeder Impfung wurden einige der neugebildeten Tetraden im hängenden Tropfen auf ihre Sproßeigenschaften untersucht. Bis zur 10. nach einander fortgesetzten Impfung änderte sich das Bild nicht: es entwickelten sich Strauchkolonien. Mit der elften und zum Teil auch mit der zehnten Impfung aber trat eine Aenderung ein: es erschienen Netzkolonien, von denen die meisten dadurch merkwürdig waren, daß die Zellen viel kleiner waren als die der normalen Tetraden; nur einzelne Zellen waren auch größer (Fig. 24).

Es sei noch dazu bemerkt, daß sich nach den Impfungen stets mehr oder weniger Einzelzellen einstellten. Selten war einer der geimpften Sporne ganz frei davon.

Die so durch willkürliche Zuchtwahl neu entstandene Rasse sei als *Anthomyces Reukaufi*, Rasse *retiformis* bezeichnet.

Darnach bestehen in der Konstitution des Hefeplasmas zwei Bildungsprinzipien, die zur Ausbildung der ovalen oder der gracilen Form führen können. Diese bedingt schon aus mechanischen Gründen den Aufbau der Netzkolonie, jene läßt durch ihre Aussprossung die Strauchkolonie entstehen.

Bei dem Formenreichtum des Pilzes ist in der freien Natur für das DARWIN-HÄCKELsche Gesetz der natürlichen Zuchtwahl ein großer Spielraum gegeben; bei der Rassenbildung dürften aber auch äußere Einflüsse mitbeitragen: Die physikalischen und chemischen Eigenschaften der Nährlösung, Blüteneinrichtungen, Durchlüftungen, Temperatur u. a.

Die vorstehende Arbeit entstand auf Anregung von Prof. Dr. LINDNER, der mir auch eine Reinzucht des Pilzes übergab, wofür ich ihm hier meinen verbindlichsten Dank ausspreche.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Erklärung der Tafel.

Fig. 1—4. Zellen von *Anthomyces Reukaufii* in der Perigonröhre von *Fritillaria imperialis* aussprossend. Vergr. 300.

Fig. 5—7. Die Pilzzellen erst in der *Fritillaria*blüte, dann in hängenden Tropfen gesproßt.

Fig. 8a, b, c. Zellen aus einer Rohrzuckerkultur.

Fig. 9a, b, c. Zellen aus einer Rohrzucker-Leucinkultur.

Fig. 10a—d. Zellen im hängenden Tropfen kultiviert.
d Strauchkolonie.

Fig. 11a—c. Zellen im *Linaria*sporn kultiviert.

Fig. 12a—e. Zellen im hohlen Objektträger in *Linaria*honig kultiviert.

Fig. 13a—g *Anthomyces Reukaufii*, Rasse *gracillima*.

Fig. 14, 15, 16. Seltsame Formen des Pilzes aus einer Kultur im ausgehöhlten Objektträger.

Fig. 17. Aus demselben Präparat eine Netzkolonie.

Fig. 18. Ein Cumulus von verschieden großen Zellen einer Kultur im hängenden Tropfen.

Fig. 19. Mycelartig ausgewachsene Hefe aus einer Reagenzglaskultur.

Fig. 20. Die gleiche Hefe.

Fig. 21. Rand der Zunge einer Hummel mit verankerten Pilzzellen.

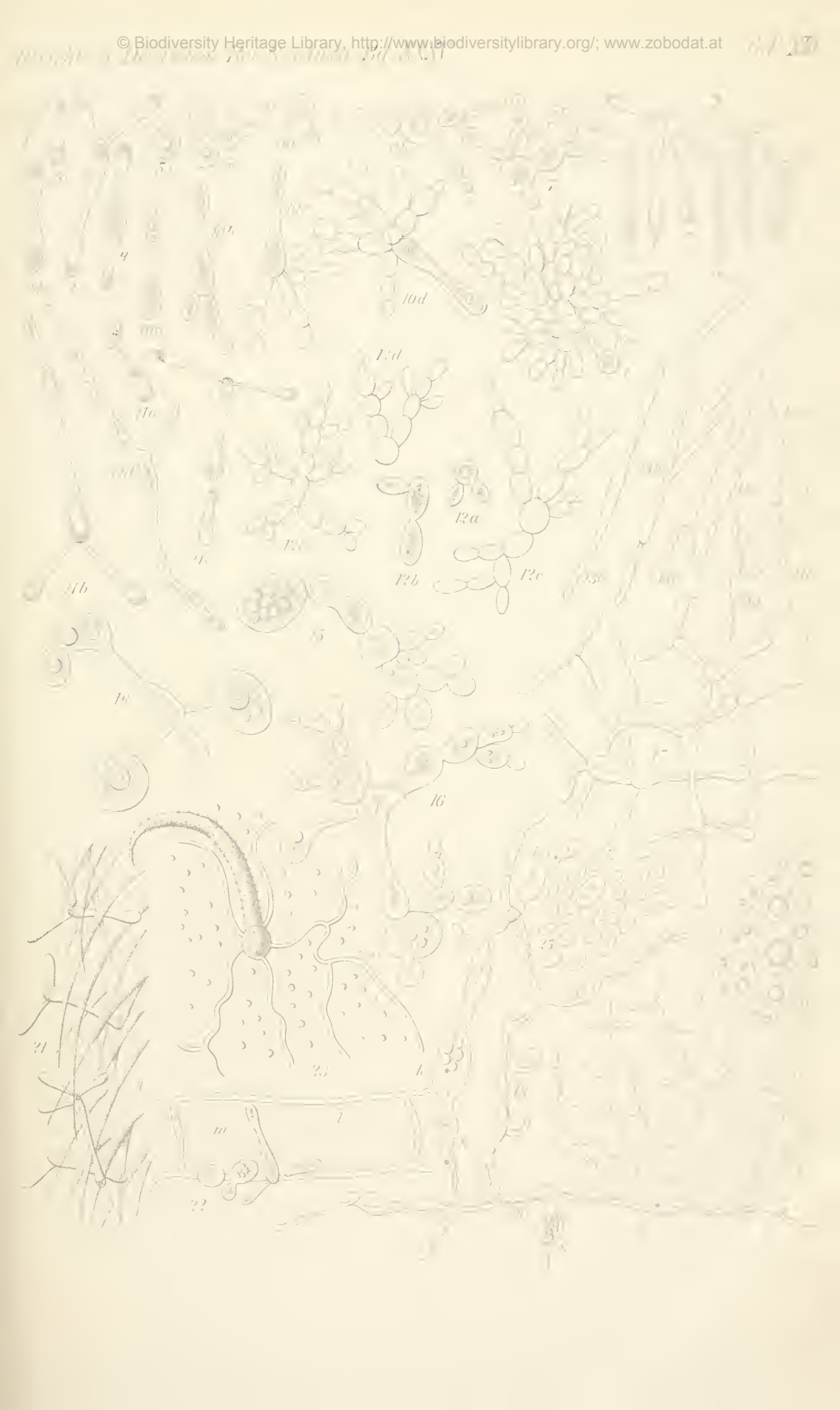
Fig. 22. Eine Oberhautzelle aus dem *Linaria*sporn mit den Cuticularleisten und darauf einige Zellen, die sich aus der Mutterzelle m entwickelt haben.

Fig. 23. Oberhautzelle aus dem *Delphinium*sporn mit den Sperrvorrichtungen: rauhe Cuticula und Härchen.

Fig. 24. *Anthomyces Reukaufii* Rasse *retiformis*.

Fig. 25. *Anthomyces Reukaufii* Rasse *minor*. Ver. Zeiß E, Okular II.
Ver. der übrigen Fig. 300.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft

Jahr/Year: 1917

Band/Volume: 35

Autor(en)/Author(s): Grüss(Grüß) J.

Artikel/Article: Die Anpassung eines Pilzes (Anthomycees Reukaufii) an den Blütenbau und den Bienenrüssel 746-761