©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.a

Zur Methodik der Aufbewahrung saprophytischer Hyphomyzeten im Herbarium

Von Harald Riedl, Wien.

Will man Hyphomyzeten in Herbarien aufbewahren, ergibt sich in den meisten Fällen die Schwierigkeit, sie vor Abreibung und mechanischer Zerstörung zu schützen, der sie keinerlei Widerstand entgegenzusetzen imstande sind. Dementsprechend ist das in den Herbarien vorhandene Material auch fast immer für weitere Untersuchungen unbrauchbar. Besonders unangenehm macht sich dies bei systematischen Arbeiten an den Typusexemplaren bemerkbar. Es hat daher nicht an Versuchen gefehlt, andere Formen der Aufbewahrung zu finden und die Methode sogenannter Typuskulturen gewinnt immer mehr an Bedeutung. Es finden sich darüber genug Angaben in der einschlägigen Literatur, sodass ich nicht näher darauf einzugehen brauche. Zur Haltbarmachung der üblichen Plattenkulturen auf festen Nährmedien wurden dabei die verschiedensten Konservierungsmittel gefunden und mit mehr oder weniger guten Erfolgen angewandt. Alle diese Methoden haben aber den gemeinsamen Nachteil, dass sie kompliziertere Verfahren und meist nicht ganz unbeträchtliche finanzielle Aufwendungen notwendig machen, sei es wegen der Apparaturen, sei es wegen der Beschaffung der Chemikalien. An Instituten, die mit Pilzkulturen arbeiten, fällt dieser Nachteil nicht ins Gewicht. Anders liegt der Fall etwa an Museen, wo Einrichtungen für Kulturen nicht vorhanden sind oder bei privaten Mykologen, die mit Hyphomyzeten arbeiten wollen. Abgesehen von dieser praktischen Schwierigkeit lassen sich auch verschiedene Einwände prinzipieller Natur vorbringen. Die natürliche Wuchsform, die für verschiedene Pilze sehr charakteristisch ist, wird auf künstlichen Nährböden aufgegeben und durch eine andere, oft von der natürlichen sehr abweichende Verhaltensweise ersetzt. Ich habe mich über diesen Punkt schon andernorts (Riedl 1959) eingehender geäussert. Man hat vielfach versucht, aus der Not eine Tugend zu machen und gerade das Verhalten in Kulturen zur systematischen Umgrenzung von Rassen und Arten herangezogen. Damit entfernt man sich aber immer mehr in oft nicht ungefährlicher, weil unbewusster Weise von dem eigentlichen Zweck der systematischen Botanik, nämlich in der Natur auftretende Phänomene in ihrer ursprünglichen Form begrenzend und deutend zu ordnen. Man ist oft nicht mehr in der Lage, den im natürlichen Biotop gefundenen Organismus nach seinen unmittelbar, d. h. ohne Zuhilfenahme ± naturfremder Methoden, erkennbaren Eigenschaften zu identifizieren, weil man ihnen bisher nur in künstlich

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.a

veränderter Form begegnet ist. Bei Bakterien ist dies aus technischen Gründen, vor allem aber wegen ihrer ausserordentlichen Merkmalsarmut bei grosser Veränderlichkeit nicht zu vermeiden. Bei Pilzen aber liegen die Verhältnisse keineswegs so extrem.

Ein nach meinen Erfahrungen gangbarer Mittelweg ist nun die Verwendung von Pilzkulturen auf Filtrierpapier, die allerdings bei Parasiten kaum möglich sind, und wahrscheinlich in erster Linie für Bewohner toter Pflanzenteile in Frage kommen. Die Methodik dieser Kulturen habe ich schon früher (1959) kurz erörtert, will sie aber hier im einzelnen, soweit sie für Herbarzwecke wichtig ist, noch ausführlicher darlegen. Als Kulturgefäss benützt man die üblichen Petrischalen, auf deren Boden man das kreisförmig zugeschnittene Filtrierpapier breitet. Die Sterilisation kann in einem gewöhnlichen Dampfkochtopf geschehen, falls kein Heissluftsterilisator zur Verfügung steht. Vermutlich sind auch chemische Kaltsterilisationsmethoden anwendbar, doch habe ich selbst sie nicht ausprobiert und kann daher nicht darüber urteilen. Absolute Keimfreiheit ist selbstverständlich wünschenswert, aber deshalb nicht von so ausschlaggebender Bedeutung, weil einzelne Sporen auf Filtrierpapier nur sehr langsam zur Entwicklung kommen und von dem angesetzten Pilz bald überwuchert würden, andererseits durch Herausnehmen der betreffenden Stelle aber auch leicht zu isolieren sind. Das Filtrierpapier wird mit einer Nährlösung durchtränkt, für deren Sterilisation länger andauerndes oder mehrmaliges Kochen gewöhnlich ausreicht. Als Nährlösung erwiesen sich besonders Kartoffeldekokt und ähnliche natürliche Kulturflüssigkeiten als günstig. Genannt seien Pflaumendekokt und Erd- oder Dungabkochungen, die je nach der Herkunft des Pilzes grössere oder geringere Eignung zeigen. Aber auch einfachere künstliche Medien sind ohne Gefahr für die natürliche Entwicklung des Pilzes anwendbar. Leicht auszuführende Versuche geben in jedem einzelnen Fall Aufschluss über das optimale Substrat. Geimpft wird am besten etwas von dem Myzel des Pilzes, von dessen Einheitlichkeit man sich durch mikroskopische Untersuchung überzeugt. Das Wachstum ist in den Anfangsstadien ein rascheres, als wenn man von den Konidien ausgeht. Bakterielle Verunreinigungen spielen keine Rolle, da sich Bakterien unter diesen Bedingungen kaum in schädlichem Masse vermehren. Ob hellere oder dunklere, wärmere oder kühlere Aufstellung günstiger sind, läßt sich meist aus den Bedingungen ableiten, unter denen man den Pilz in der Natur fand, ist aber auch durch Versuche leicht zu ermitteln. Man halte sich dabei stets vor Augen: es geht für systematische Zwecke nicht um die maximale Entfaltung von Myzel oder Konidien, sondern um eine möglichst der in der Natur gegebenen entsprechende. Die Flüssigkeit verdunstet auch in geschlossenen Petrischalen verhältnismässig rasch und muss von Zeit zu Zeit erneuert werden, wozu man am besten destilliertes Wasser oder auch

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.a

nur abgekochtes Leitungswasser verwendet. Von einer Schädigung durch die in letzterem enthaltenen Ionen konnte ich nie etwas bemerken. In grösseren Abständen wird wieder von der Nährflüssigkeit zugesetzt. Man achte aber stets darauf, dass nicht mehr als ein ganz feiner Flüssigkeitsfilm über dem Filtrierpapier stehen darf, da sonst leicht anaerobe Bedingungen eintreten, die zu einer Schädigung oder Veränderung im Verhalten des Pilzes führen können. Man kann auf diese Weise auch sehr geringe Mengen von Ausgangsmaterial wesentlich vermehren und dadurch eine breitere Basis für Untersuchungen schaffen. Nach einer gewissen Zeit treten in den Kulturen Degenerationserscheinungen auf, die auf die Ansammlung von toxischen Stoffwechselprodukten zurückzuführen sind. Daher breche man die Kulturen nach etwa einem Monat bis 6 Wochen ab. Es muss nun eine möglichst rasche (allerdings nicht plötzliche) Austrocknung erfolgen, damit sich keine unnatürlichen Mangelerscheinungen zeigen können, die bei langsamer Austrocknung auftreten. Ist das Filtrierpapier völlig trocken, klebt man an zwei gegenüberliegenden Seiten des Filtrierpapieres am Rand je einen Streifen von dickerem Karton oder ein dünnes Holzleistchen, was verhindern soll, dass ein Umschlag unmittelbar mit dem Pilz in Berührung kommt. Damit dies durch Verbiegen nicht doch noch geschieht, klebt man am besten das Ganze auf eine steife Kartonunterlage. Um tierische Schädlinge fernzuhalten, muss vergiftet werden. Das ist aber bei allen Herbarbelegen nötig und die einzelnen Institute haben dafür ohnehin ihre eigenen Methoden, die sämtlich auch für unseren Fall angewendet werden können. Will man ein Übriges tun, kann man einen enganliegenden Plastiküberzug zum Schutze des Pilzes verwenden. Zur weiteren Aufbewahrung dienen die üblichen Papierkapseln.

Die Vorteile der Methode sind offenkundig: sie erfordert fast keine kostspieligen Hilfsmittel, führt, wie ich mich aus eigener Erfahrung an mehreren Objekten überzeugen konnte, zu einer viel natürlicheren Entwicklung als andere Kulturverfahren und ist für eventuellen Versand der Probe durchaus geeignet. Auch Institute, die üblicherweise mit Agarkulturen etwa zur Gewinnung von Pilzen aus verschiedenen Böden arbeiten, können sie besonders dann anwenden, wenn die systematische Zugehörigkeit des Gefundenen festgestellt oder dieses an andere Institute weitergegeben werden soll.

Zum Abschluss teile ich noch meine Beobachtungen an solcherart kultiviertem und aufbewahrtem Material der Nebenfruchtform von *Nectria inventa* Pethybridge mit, die in der Literatur vor allem unter dem Namen *Acrostalagmus cinnabarinus* Corda — richtiger *Verticillium cinnabarinum* (Corda) Rke. et Berth. —, *Sporotrichum lateritium* Ehrenb., *Verticillium lateritium* (Ehrenb. ex Fr.) Rabh. bekannt ist. Valenta (1948) hat in einer sehr eingehenden Studie ihre Entwicklung (auch in Kultur) und systematische Stellung dargelegt, während

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.a

Hughes (1951) vor allem die Synonymieverhältnisse geklärt hat.

Das Ausgangsmaterial für meine Versuche stammte von einem Strohhalm auf einem Komposthaufen, der schon leicht faulte und war zur Zeit, da ich es sammelte, mit Schnee bedeckt (30. Dezember). Das Myzel war z. T. watteartig, dazwischen anliegend, orange-braun. Daran entstanden entweder kurze Seitenzweige, die endständig 3 flaschenförmige Konidien trugen, oder längere Seitenzweige, die ihrerseits sekundäre Verzweigungen in ± wirteliger Anordnung hervorbrachten, an deren Enden in der Regel 3 (seltener nur 1), flaschenförmige Konidienträger gebildet wurden und ausserdem seitenständige Konidienträger an den Septen. Auch unmittelbar an den Haupthyphen fanden sich einzelne, seltener 2 bis 3 Konidienträger. Auch Konidien waren reichlich vorhanden. Als Nährlösung diente Kartoffeldekokt nach dem Rezept für Kartoffelagar von Gwynne-Vaughan und Barnes (1927), mit der das Filtrierpapier durchtränkt wurde. Die Aufstellung geschah an einem dunklen Ort im geheizten Zimmer. Beimpft wurde mit Teilen des Myzels samt Konidien.

30. XII. Kultur angesetzt.
2. I. Von der Impfstelle gehen feine, anliegende Hyphen aus.
3. I. Deutliche Ausbreitung des bereits gefärbten Myzels. Wo die Hyphen dichter liegen, Ausscheidung von Guttationstropfen.
4. I. Durchmesser des grössten Myzels etwa 2 mm.
5. I. Weitere Ausbreitung und Flockigwerden des Myzels; möglicherweise schon Konidienbildung.
6. I. Längsdurchmesser der Myzelien 5—7 mm, flockige Stellen punktförmig im übrigen Myzel sitzend, vermutlich durch Konidienträger entstehend.
7. I. Nahezu ausgetrocknet, daher kein weiteres Wachstum. Befeuchtet mit abgekochten Leitungswasser. Neben dem gefärbten z. T. auch ungefärbtes Myzel.
8.—11. I. Keine merkbaren Veränderungen, vielleicht ganz unwesentliche Ausbreitung der Hyphen.
12. I. Im Umkreis der bisherigen Flöckchen noch weitere sehr kleine.
13. I. Weiteres Wachstum des Myzels.
14. I. Starke Ausbreitung des allerdings nur an wenigen Punkten flockigen Myzels.
15.—16. I. Geringe Veränderung; Durchmesser des grössten Myzels 12 mm.
17. I. Die einzelnen Punkte werden flockiger und grösser, die Myzelien im ganzen sind kaum gewachsen.
18. I. Weitere Verdichtung des flockigen Myzels, scheinbar ziemlich starke Entwicklung.
19.—20. I. Keine merkliche Veränderung.
21. I. Nährlösung zugesetzt. Kein weiteres Wachstum, doch deutlich aufrechte Konidienträger.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.a

22.—24. I. Keine Veränderung.
25. I. Deutlicher Rückgang, trotz nur geringer Austrocknung.
26. I. Eine Kolonie wieder reichlich mit flockigen Stellen, vermutlich von Konidienträgern.
27. I. Keine wesentliche Veränderung.
28. I. Mikroskopische Untersuchung zeigt, dass alle aufrechten Hyphen Konidienträger besitzen. Kein Unterschied in ihrer Ausbildung am Ausgangsmaterial.
29. I.—1. II. Nur unwesentliche Veränderungen im Vorhandensein einer grösseren oder geringeren Menge von Konidienträgern.
2.—3. II. Schwaches, aber deutliches Wachstum.
4. II. Starkes weiteres Wachstum.
5.—8. II. Keine wesentliche Veränderung.
9.—10. II. Schwaches weiteres Wachstum. Genaue mikroskopische Untersuchung.

Hyphen: Gefärbte, ziemlich starre Hyphen, die vor allem die aufrechten Zweige mit Konidienträgern (in diesem Falle Phialiden) hervorbringen, sind 2,75—3,75 μ dick bei einer durchschnittlichen Zellänge von 23 μ. Wo sie in den dünnfädigen Hyphentypus übergehen, kürzere Zellen. Durchschnittliche Wanddicke 5 μ. Dringen nicht ins Substrat ein. Daneben sehr feine, hyaline schlängelige Hyphen, die ins Substrat eindringen und reichlich Öltropfen enthalten. Phialiden flaschenförmig, 16—16,5 μ lang, die breite Basis manchmal scheinbar durch eine Wand von dem feinen Schnabel getrennt. Konidien wenig länger als breit oder deutlich ellipsoidisch, 3,8—4,5/2,5—2,75 μ. Bleiben häufig durch den anhaftenden Schleim in Ballen verbunden, die von sehr verschiedener Grösse sein können. Maximale Dicke der Schleimschicht um die Konidien 0,5—0,7 μ, meist aber nicht gesondert zu erkennen. Manchmal sind in den Konidien einzelne sehr kleine Öltropfen zu erkennen.

Nochmaliger Vergleich mit dem Rest des aufbewahrten Ausgangsmaterials ergab völlige morphologische Übereinstimmung. Dies ist wohl vor allem darauf zurückzuführen, dass die Struktur des Nährsubstrates dem natürlichen viel ähnlicher ist als etwa bei Agarplatten und dass in beiden Fällen Zellulose den Hauptbestandteil bildet.

11. II. Weiteres Wachstum.
12.—15. II. Keine weitere Entwicklung.

Die Kulturen wurden nun abgebrochen und das Material für die Einordnung ins Herbarium in der geschilderten Weise behandelt. Die Haltbarkeit erwies sich als eine ausgezeichnete, doch wäre es vielleicht vorteilhafter gewesen, mit der Kultur schon etwas früher aufzuhören.

Besonders auffallend war bei meinem Versuch der Wechsel der Wachstumsperioden mit solchen scheinbarer Ruhe. Dies dürfte auf

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.a

ähnliche Ursachen zurückzuführen sein wie die Ausbildung von Ringen dichteren und aufgelockerteren Myzels in Pilzkolonien, wie ich sie etwa (1959) in Kulturen der Nebenfruchtformen von *Pleospora flavofusca* (Feltg.) H. Riedl fand und abbildete. Diese Ursachen bestehen vor allem in Hemmstoffen, die von dem Pilz selbst ausgeschieden werden und entweder unschädlich gemacht oder überwachsen werden müssen, was in beiden Fällen zu einer zeitweisen Bremsung im Tempo der Entwicklung führt.

Literatur.

Gwynne-Vaughan, H. C. I., and B. Barnes: Structure and Development of Fungi. Cambridge 1927.

Hughes, S. J.: Studies on Microfungi. XI. Some Hyphomycetes which produce phialides. The Commonwealth Mycological Inst. Kew, Mycological Papers 45, 1951.

Riedl, H.: Kulturversuche zum Pleomorphismus einiger Pyrenomyzeten. Österr. Bot. Zeitschr. 106, 1959, p. 477—545.

Valenta, V.: Notes on *Verticillium cinnabarinum*. Studia Bot. Čechoslov. IX, 1948, p. 160—172.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Sydowia

Jahr/Year: 1962/1963

Band/Volume: 16

Autor(en)/Author(s): Riedl Harald

Artikel/Article: Zur Methodik der Aufbewahrung saprophytischer Hyphomyzeten im Herbarium. 254-259