

## Spaltpilzflechten.

Von Dr. E. Zederbauer (Wien).

(Mit Tafel V.)

In einer Abhandlung<sup>1)</sup> „*Myxobacteriaceae*, eine Symbiose zwischen Pilzen und Bakterien“, wurden vom Verfasser zwei Organismen, *Myxococcus incrustans* und *Chondromyces glomeratus* beschrieben, die auf Grund wiederholter genauer Experimente und einwandsfreier Kulturversuche aus Pilzen und Bakterien zusammengesetzt sich erwiesen. Es wurde zu wiederholtem Male *Myxococcus* und *Chondromyces* auf verschiedene Nährböden übertragen und jedesmal trat dasselbe Bakterium in den verschiedenen Kulturen auf. Es wurde ferner *Chondromyces glomeratus* an verschiedenen Orten gesammelt und jedesmal ein und derselbe Bazillus als Symbiont gefunden. Daraus folgerte der Verfasser, daß beide, Pilz und Bakterium, in einem gewissen Verhältnisse stehen, das als symbiotisches Verhältnis im weitesten Sinne angesprochen werden kann.

Damit ist allerdings nichts weiter als das Zusammenleben beider zum Ausdruck gebracht, und die weiteren Erklärungen waren rein hypothetisch, wie an Ort und Stelle hervorgehoben ist<sup>2)</sup>, da ja jedes Experiment zur Klärung dieser Frage fehlt.

Diese beiden Organismen sind in eine Gruppe, Spaltpilzflechten genannt, gestellt worden, die aus Spaltpilzen (Schizomyceten) und Pilzen (Fungi) zusammengesetzt sind.

Auf Grund dieser Untersuchungen hatte der Verf. die von Thaxter und Zukal beschriebenen Myxobakterien zum Teil als den Spaltpilzflechten gleichwertige Organismen interpretiert, wozu ihn hauptsächlich die zwei von verschiedenen Gesichtspunkten ausgehenden Beschreibungen Thaxters und Zukals führten. Es ist auffallend, daß drei Forscher ein und denselben Organismus, *Chondromyces crocatus*, in drei verschiedene Pflanzengruppen einreichten, nämlich in die Fungi<sup>3)</sup>, Schizomyceten<sup>4)</sup> und Myxophyten<sup>5)</sup>.

Die Folge war eine verschiedene Deutung ein und derselben Dinge. Die Ursache liegt wohl hauptsächlich in dem sehr komplizierten Aufbau.

Bei den beiden ersten Forschern Berkley und Curtis lag die Ursache in den damals noch unausgebildeten optischen Instrumenten, bei Zukal mehr infolge seiner vielfachen Beschäfti-

<sup>1)</sup> Sitzungsberichte der k. k. Akademie der Wissenschaften in Wien. Math.-nat. Kl. Bd. CXII. Abt. I. Juni 1903.

<sup>2)</sup> l. c. p. 25, 28.

<sup>3)</sup> Berkley et Curtis, North Amer. Fungi n. 600 Berk. Intr. Bot. Crypt. p. 313 f. 70 a.

<sup>4)</sup> Thaxter R. On the *Myxobacteriaceae*, a new order of *Schizomycetes*. Bot. Gazette 1892, Vol. XVII. p. 389.

<sup>5)</sup> Zukal Hugo. *Myxobotrys variabilis* Zuk. als Repräsentant einer neuen Myxomycetenordnung. Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XIV. 1896.

gung mit Myxophyten, obwohl gerade aus seinen Beobachtungen der richtige Sachverhalt am meisten herausleuchtet.

Die drei verschiedenen Beschreibungen führten den Verfasser auf die Interpretation, die wiederholt angegriffen wurde.

Solms-Laubach hat sie in einem Referat auf das heftigste angegriffen und durch Betrachten eines in Weingeist konservierten Materiales von *Chondromyces crocatus* die Frage zu entscheiden geglaubt. Daß eine derartige Untersuchung des „Bakterienbaumes“, wie ihn Solms-Laubach nennt, nicht zu sicherem Resultate führen kann, werden spätere Ausführungen zeigen. Baur<sup>1)</sup> sagt dasselbe wie Solms-Laubach, obwohl auch er über keine Versuche oder Experimente verfügt und der neu beschriebene *Myxococcus ruber* hier nicht in Betracht kommt.

Thaxter hat auf diese Interpretation in einer Abhandlung<sup>2)</sup>, worin auch einige neue Myxobakterien beschrieben werden, geantwortet und zugleich auch seine Untersuchung über *Myxococcus incrustans* und *Chondromyces glomeratus* veröffentlicht. Letzteren hält er für die bereits beschriebene *Coryne sarcoides* oder *Tremella sarcoides* und glaubt mit dieser Bestimmung die Entscheidung getroffen zu haben. Daß dieser Organismus aus Pilzen und Bakterien zusammengesetzt sein könnte, hielt er nicht für notwendig zu untersuchen. Die Experimente an Material von *Coryne sarcoides* von verschiedenen Standorten beweisen, daß *Coryne sarcoides* aus Bakterien und Pilzen zusammengesetzt ist. Es ist also die systematische Auffassung zu ändern, die Resultate der vom Verf. gemachten Untersuchungen hat Thaxter nicht widerlegt. *Coryne sarcoides* besteht aus Pilzen und Bakterien und ist den „Spaltpilzflechten“ zuzuzählen.

*Myxococcus incrustans* hat Thaxter gleichfalls untersucht, aber ebenfalls ohne Kulturversuche oder Experimente. Er erklärte ihn als einen Schleimpilz mit Pilzhyphen einer *Torula* vereinigt, eine Beobachtung, die jeder beim ersten Betrachten macht. Wenn man ihn aber genauer ansieht und auf verschiedenen Nährboden kultiviert, so kommt man zu einem anderen Urteile.

Der Verf. ist überzeugt, daß Thaxter bei näherer Untersuchung zu demselben Resultate gekommen wäre, wenngleich das ihm gesandte Material nicht mehr ganz jung war.

Die andere Hälfte des Schwammstückchens, das Thaxter gesandt wurde, ist gleichzeitig vom Verf. untersucht worden und zeigte dasselbe Bakterium, teilweise im Sporenstadium (wie Abbild. 5, Tafel II l. c.)

In beiden Fällen sind die Beobachtungen und Untersuchungen des Verf. nicht widerlegt worden, außer man läßt die Untersuchungen mit dem Mikroskop, wie Solms-Laubach, als hinreichend gelten,

<sup>1)</sup> Baur E. Myxobakterien-Studien. Arch. f. Protistenkunde 1904. V. Bd.

<sup>2)</sup> Notes on the *Myxobacteriaceae*. Botanical Gazette. 1904. Nr. 6, V. XXXVII.

um jahrelange und öfters wiederholte Experimente als unrichtig hinstellen.

*Myxococcus incrustans* ist also auch zu den Spaltpilzflechten zu zählen. Daß eine nicht geringe Anzahl von anderen Pilzen, besonders *Fungi imperfecti*, zu den Spaltpilzflechten zu zählen sein werden, scheint sehr nahe zu liegen und ist bei einigen schon nachgewiesen, worüber an anderer Stelle berichtet wird.

Der Zweck dieser Zeilen ist aber, die Untersuchungen über *Chondromyces crocatus* und andere Myxobakterien zu veröffentlichen.

Durch die Güte der Herren Prof. Fr. v. Höhnel und Prof. L. Hecke hatte der Verf. die Möglichkeit, die von Zukal gesammelten Myxobakterien zu untersuchen, doch schien ihm das tote Material nicht genügend beweiskräftig für die Entscheidung der Frage zu sein. Der Verf. ist daher Herrn Prof. R. Thaxter für die Sendung lebenden Materials von *Chondromyces crocatus* sehr dankbar, da Kulturversuche angestellt werden konnten, um so der Lösung der Frage näher zu treten. Die Darlegung dieser Experimente erfolgt am besten und anschaulichsten an der Hand der Abbildungen.

Fig. 1 stellt einen noch nicht ganz reifen *Chondromyces crocatus* dar. Der lange Stiel, von langen, dünnen, fadenartigen Gebilden durchzogen, trägt am Ende drei kugelige Gebilde, wo die von einer schleimigen, glänzenden Masse umgebenen Cysten bereits angedeutet sind. In der feuchten Kammer zerquollen sogleich die drei kugeligen Gebilde, sowie die Cysten, so daß die Enden der Fäden sichtbar wurden (wie Fig. 2, die erst später gezeichnet wurde) und ringsherum eine schleimige Masse lag, worin zweierlei stäbchenförmige Gebilde zu beobachten waren: sehr lebhaft bewegliche, welche  $2-3\ \mu$  lang und  $0.6\ \mu$  dick waren, und gänzlich unbewegliche,  $5-6\ \mu$  lang und  $1.5-2\ \mu$  dick, im Innern einige lichtbrechende Körperchen enthaltend.

In Fig. 4 sind sowohl große wie kleine Stäbchen bei gleicher Vergrößerung abgebildet. Nach der raschen Bewegung zu urteilen, scheinen die kleinen Stäbchen Geißeln zu besitzen<sup>1)</sup>.

Die großen Stäbchen haben ungefähr dieselbe Dicke wie die Fäden, die  $1.5-2\ \mu$  dick sind. In Fig. 3 ist ein Stadium abgebildet, wo die großen Stäbchen noch in unmittelbarer Nähe der Fäden liegen, mit denen sie früher in Verband zu sein schienen.

Dieselben beiden Formen konnten in Gelatine- und Agarkulturen beobachtet werden, doch waren die kleineren immer in größerer Mehrzahl, so daß die großen in den Hintergrund traten und in älteren Kulturen überhaupt schwer oder gar nicht zu finden waren. Ähnliche Erfahrungen wurden bei Kultur von *Coryne sarcoides* auf Agar oder Gelatine gemacht.

<sup>1)</sup> Vergl. Zukal H. Über die Myxobakterien. Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XV. 1897. p. 542-552.

Nach Thaxters Angaben sind die Stäbchen  $2.5-6\ \mu$  lang,  $0.6-0.7\ \mu$  dick, welche mit Messungen des Verf. ziemlich übereinstimmen, wenn man beide Stäbchenarten als zusammengehörig betrachtet. Daß dies fehlerhaft wäre, zeigen spätere Beobachtungen. Thaxter hat also ganz übersehen, daß zwei verschiedene Stäbchen vorhanden sind, die sich sowohl durch Größe wie Verhalten auffallend unterscheiden.

Nach Verlauf von drei Wochen hatten die kleinen Stäbchen, die nach weiteren Untersuchungen und einwirkenden Anilinfarben zweifellos Bakterien sind, ihre Gestalt nicht verändert, die großen Stäbchen hingegen trieben lange, dünne Fäden, die sich auch verzweigten (Fig. 8, 9), vielfach aber unverzweigt blieben und bei einer Länge von  $40-100\ \mu$  das Wachstum einstellten. Querwände konnten sehr selten beobachtet werden. In einer anderen feuchten Kammer hatte der Verf. zufällig keimende Sporen von *Physcia stellaris*. Die dünnen, aus der Spore tretenden Fäden, die sich hie und da verzweigten und fast keine Querwände zeigten, waren den Fäden der großen Stäbchen sehr ähnlich oder fast gleich. In einer anderen Kultur von *Ch. crocatus* waren derartige Fäden aus dem abgeschnittenen Stiel (Fig. 7) herausgewachsen und erreichten eine Länge von  $100\ \mu$ . In der Umgebung wimmelte es von zahlreichen beweglichen Bakterien. Solche lange Fäden, in denen ab und zu Querwände sichtbar waren, wurden auch in Nährgelatine und Agarkulturen beobachtet.

Bei Einwirkung von Farbstoffen (Methylenblau) verhielten sich die Bakterien verschieden von den großen Stäbchen und den kurzen Fäden, die sich wie Pilzhypen färbten. Wenn bei der Betrachtung der erstern Stadien der Kulturversuche der Einwand hätte gemacht werden können, es seien zwei verschiedene Bakterien, so zeigt gerade das weitere Verhalten, daß wohl die kleinen Stäbchen Bakterien sind, die großen Stäbchen aber mit Bakterien nichts gemein haben. Wenn man auch die Evolutionsformen der Bakterien in Berücksichtigung zieht, so findet man keinerlei Übereinstimmung mit ihnen. Gegen die Auffassung der Evolutionsformen spricht auch das verschiedene Verhalten der kleinen Stäbchen von den großen Stäbchen und den Fäden gegen Farbstoffe, die, wie schon erwähnt, sich unregelmäßig intensiv färben wie die meisten Pilzsporen und Pilzhypen. Der Einwurf, fremde, zufällig in die Kultur geratene Pilze beobachtet zu haben, wird hinfällig, da die ganze Entwicklung der Fäden aus dem Stäbchen und deren Wachstum genau verfolgt wurde.

Wie aus diesen Kulturversuchen hervorgeht, besteht *Chondromyces crocatus* aus einem Pilze, der als Träger fungiert und gleichsam das Gerüst darstellt, ausgefüllt und umgeben von Bakterien, die auf dem Stiele Cysten bilden. Die Hypen werden von einer Schleimmasse umgeben, die bisweilen erhärtet und das Freilegen der Hypen sehr erschwert. Der beteiligte Pilz zeigt ein abnormes Verhalten, was im Vergleich mit dem Aussehen der Flechtenhypen

nicht Wunder nehmen darf, sowie die Pilzhyphen einer anderen Spaltpilzflechte, *Coryne sarcoides*, wo die Hyphen ebenfalls sehr dünn ( $2-4\ \mu$ ) sind, und selten Querwände beobachtet werden können. An reifen Exemplaren, die die Cysten schon verloren haben, werden herausragende Fäden (Hyphen) beobachtet. (Fig. 6, vergl. Thaxter l. c. Plate XXIII. Fig. 8, 9.)

Die Cysten stellen eine Masse von Bakterien, deren Schleim an der Luft erhärtet ist, und einigen Pilzsporen dar, die hier und da in den Cysten zu finden sind (Fig. 5). Soweit die Untersuchungen über *Chondromyces crocatus*, der zu den Spaltpilzflechten zu zählen ist.

*Chondromyces lichenicolus*, wovon R. Thaxter ebenfalls lebendes Material sandte, besteht nach Untersuchungen des Verf. nur aus Bakterien und hat mit *Ch. crocatus* gar keine Ähnlichkeit und auch dem Wesen nach mit ihm nichts zu tun.

Die Untersuchungen über die Gattung *Myxococcus* stützen sich nur auf Präparate von Zukal und Thaxter, der eine Reinkultur von *Myxococcus rubescens* sandte.

Fig. 10 zeigt einzelne Stäbchen und kugelige Gebilde von *Myxococcus rubescens*. Die kleinen Stäbchen sind  $1-2\ \mu$  lang,  $0.7\ \mu$  dick. Die größeren Stäbchen  $5-6\ \mu$  lang,  $1.5\ \mu$  dick<sup>1)</sup>. Ob letztere mit den rundlichen Gebilden im Zusammenhange stehen, konnte nicht festgestellt werden. Die rundlichen Gebilde ( $1.5$  bis  $2\ \mu$ ) sind meist in Ketten angeordnet, von denen Seitenzweige abgehen.

Es ist ganz merkwürdig, daß weder von Thaxter noch von Zukal diese Erscheinung, eine Teilung nach zwei Richtungen, wie sie hier vorliegt, beobachtet wurde, obwohl sie in jedem Präparate (auch in dem von Thaxter geschickten Präparate einer Reinkultur) beobachtet werden konnte.

Fig. 10 und 11 sind nach Präparaten von Zukal gezeichnet; damit nicht der Vorwurf gemacht werden kann, es seien verunreinigte Präparate benützt worden, wurde ein Teil eines Präparates einer Reinkultur (wie Thaxter selbst angibt) mikrophotographiert (Fig. 12). Die genaue Untersuchung zeigt also im Wesen etwas ganz anderes, als Thaxter beobachtete. Der Gedanke, daß *Myxococcus rubescens* nichts anderes ist als *Micrococcus fulvus* (Cohn: Beiträge zur Biologie der Pflanzen I. 3, p. 181), drängt sich immer mehr auf und wird durch die Beobachtungen Thaxters nur genährt. *Myxococcus macrosporus* verhält sich in bezug auf die Teilung wie *M. rubescens*, soweit aus den Präparaten Zukals zu ersehen ist. *Myxococcus incrustans* steht in keiner Beziehung zu den Myxobakterien.

*Myxococcus rubescens* und *M. macrosporus* dürften jedoch zu den echten Bakterien zu zählen sein oder stellen ein Gewirr von stäbchenförmigen und kugeligen Schizomyceten dar.

<sup>1)</sup> Nach Thaxter,  $3-7\ \mu$  lang,  $0.4\ \mu$  dick.

Der Verfasser muß gestehen, daß der Titel seiner Arbeit über Myxobakterien („*Myxobacteriaceae*, eine Symbiose zwischen Pilzen und Bakterien“) zu weitgehend war und daß derselbe, wenngleich im Texte hauptsächlich nur *Chondromyces crocatus*, *Myxococcus rubescens* und *M. macrosporus* zur Interpretation herangezogen wurden, zu irrtümlichen Auffassungen und heftigen Angriffen führen konnte.

Die Interpretation, daß *Chondromyces crocatus* aus Bakterien und Pilzen besteht, wurde durch Kulturversuche bestätigt, hingegen führten die Untersuchungen des *Myxococcus rubescens* zur Anschauung, daß er vielleicht zu den Bakterien gerechnet werden muß. *Chondromyces lichenicolus* besteht aus Bakterien, *Myxococcus incrustans* aus Bakterien und Pilzen, sowie die Tremellinee *Coryne sarcoides*, die Verfasser irrtümlich als *Chondromyces glomeratus* beschrieben hat.

Die von Thaxter, Baur und Quehl (Quehl A.: Untersuchungen über die Myxobakterien. Zentralbl. f. Bakt. XVI. B. 1906, Nr. 1/3) beschriebenen Myxobacteriaceen dürften wohl teilweise zu den Bacteriaceen, teilweise zu den Myxobacteriaceen Thaxters und zu den Spaltpilzflechten zu zählen sein, worüber nur Kulturversuche und Experimente Klarheit bringen werden.

### Erklärung der Abbildungen<sup>1)</sup>.

(Taf. V.)

#### Fig. 1—9. *Chondromyces crocatus*.

Fig. 1. Ein noch nicht ganz reifes Exemplar. Vergr. 650.

Fig. 2. Der obere Teil des vorigen Exemplares, 14 Tage in der feuchten Kammer. Vergr. 800.

Fig. 3. Ein Teil davon etwas stärker vergrößert. Vergr. 900.

Fig. 4. Einzelne Stäbchen bei sehr starker Vergrößerung (1000).

Fig. 5. Eine Cyste. Vergr. 800.

Fig. 6. Der obere Teil eines Exemplares, das die Cysten bereits abgeworfen hat. Vergr. 800.

Fig. 7. Ein Teil eines Stieles in Kultur in feuchter Kammer. Vergr. 800.

Fig. 8. Ein keimendes großes Stäbchen (Pilzsporen) in der feuchten Kammer. Vergr. 900.

Fig. 9. Pilzhyphen aus einem großen Stäbchen (Pilzspore) in der feuchten Kammer hervorgegangen. Vergr. 900.

Fig. 10. *Myxococcus rubescens*, nach einem Präparat von Zukal. Vergr. 1000.

Fig. 11. *Myxococcus macrosporus*, nach einem Präparat von Zukal. Vergr. 1000.

Fig. 12. *Myxococcus rubescens*, nach einem Präparat von Thaxter, phot. von H. Hinterberger und E. Zederbauer. Vergr. ca. 1000.

<sup>1)</sup> Wurden mit Zeichenapparat hergestellt.