Zeitschrift: Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse

Herausgeber: Schweizerische Botanische Gesellschaft

Band: 44 (1935)

Artikel: Beiträge zur Kenntnis der Pilzflora im Bienenstock. I. Die Pericystis-Infektion der Bienenlarven

Autor: Maurizio, Anna

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-29539

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 16.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Beiträge zur Kenntnis der Pilzflora im Bienenstock.

I. Die Pericystis-Infektion der Bienenlarven.

Von *Anna Maurizio.*

Eidg. milchwirtschaftliche und bakteriologische Anstalt Liebefeld-Bern.
Vorsteher Prof. Dr. R. Burri.
Abteilung für Bienenkrankheiten, Leiter Dr. O. Morgenthaler.

Eingegangen am 7. Februar 1935.

Inhalt.

	Seite
I. Verbreitung von *Pericystis* und der von ihr erzeugten Krankheit (Kalkbrut)	133
II. Zwei verschiedene *Pericystis*formen (Arten?) aus Bienenlarven	136
III. Vergleich der beiden *Pericystis*formen	138
A. Morphologie	138
1. Fruchtkörperbildung	138
2. Fruchtkörpergrösse	144
B. Physiologie	148
1. Temperatur und Wachstum	148
2. Temperatur und Fruchtkörperbildung	149
3. Temperatur und Fruchtkörpergrösse	152
4. Zuckervergärung	153
IV. Zusammenfassung	156
V. Literaturverzeichnis	156

I. Verbreitung von Pericystis und der von ihr erzeugten Krankheit (Kalkbrut).

Unter dem Namen *Pericystis*-Mykose oder Kalkbrut versteht man eine Erkrankung der Bienenlarven, die durch den Pilz *Pericystis apis* Maassen hervorgerufen wird. Die toten Larven, die sich meist im Streckmadenstadium befinden, werden dabei in den Wabenzellen in weisse, zuletzt steinharte Pilzmumien verwandelt. Oft findet man an der Oberfläche der Mumien eine dunkle Schicht von Fruchtkörpern des Pilzes. Die Krankheit lässt sich künstlich auf gesunde Bienenvölker übertragen, muss also wie die Faulbrut als ansteckende Brutkrankheit bezeichnet werden.[1] Für Einzelheiten über die Ansteckung, den Verlauf und die Epidemiologie der Kalkbrut sei auf die Arbeit « Über die

[1] Die systematische Stellung des Pilzes ist bis jetzt noch recht umstritten. Claussen (1921) stellt ihn mit Vorbehalt zu den *Entomophthoreen,* Gäumann (1926) ebenfalls mit Vorbehalt zu den *Endomycetaceen.* Varitschak (1932) bringt *Percystis* auf Grund der Kernverhältnisse bei den *Siphomyceten* (Phycomyceten) unter.

Kalkbrut (*Pericystis*-Mykose) der Bienen » (A. Maurizio 1934) verwiesen. Im Vergleich mit der Faulbrut tritt sie aber ziemlich selten auf (siehe Tab. I). Die schweizerische Krankheitsstatistik verzeichnet jährlich 10- bis 15mal mehr Faulbrut- als Kalkbrutfälle, und dieses Verhältnis dürfte nach den vorliegenden Berichten auch in anderen Ländern ähnlich sein.

Tabelle I.

Auszug aus der schweizerischen Krankheitsstatistik der Jahre 1932—34. (Nach den Jahresberichten Morgenthaler 1932—34).

	Bösartige Faulbrut	Gutartige Faulbrut	Kalkbrut
1932	59	73	11 (2)
1933	81	108	6 (6)
1934	65	120	8 (33)

(In Klammern sekundäre Fälle)

Die Kalkbrut tritt meist vereinzelt und spontan auf und verschwindet ebenso spontan wieder auf den befallenen Ständen, ohne grösseren Schaden zu verursachen. Dieses spontane und oft rätselhafte Auftreten und Wiederverschwinden der Krankheit, deren Erreger bisher nur aus dem Bienenstock und aus Bienenbrut bekannt ist, liess nun die Frage nach der Verbreitung des Pilzes *Pericystis apis* in den Vordergrund treten. Die Fragestellung für eine weitere Untersuchung der Kalkbrut lautete also : Tritt der Pilz *Pericystis apis* immer nur da im Bienenstock auf, wo auch die Kalkbrut auftritt, oder kann er vorhanden sein, ohne dass eine Erkrankung der Brut festzustellen ist. Auf den Gedanken, dass letzteres vielleicht möglich ist, brachten uns die sogenannten sekundären Kalkbrutfälle (in Tab. I in Klammern verzeichnet). Unter dieser Bezeichnung verstehen wir Waben, in welchen bei der Einsendung keinerlei Anzeichen einer Verpilzung festzustellen sind, in denen aber nach einer gewissen Zeit der Aufbewahrung ausserhalb des Bienenstockes der Pilz *Pericystis apis* aus den meist schon abgestorbenen Larven ausbricht. Ich habe die sekundären Kalkbrutfälle in meiner ersten Mitteilung (1934) kurz erwähnt, mit der Bemerkung, dass sie noch einer weiteren Bearbeitung bedürfen. Hier schloss nun die weitere Untersuchung über die Kalkbrut und ihren Erreger an, wobei die Verbreitung des Pilzes ausserhalb der diagnostizierten Kalkbrutfälle mit vermehrter Aufmerksamkeit verfolgt wurde.

Ich prüfte die unserer Anstalt im Laufe des Frühlings und Sommers 1934 zwecks Krankheitsdiagnose zugesandten Waben systematisch auf das Vorhandensein von *Pericystis apis*. Anstatt wie bisher die Waben einzeln in Papier gewickelt aufzubewahren bis die sekundären *Pericystis*mycelien an den Larven erschienen, legte ich sie jetzt in Glasschalen im Brutschrank bei 30° C aus. Es kamen dabei grosse Petrischalen zur Anwendung, welche zur Verhütung jeder nachträglichen

Infektion zuerst mit Alkohol ausgewaschen und dann ausflambiert wurden. Die Resultate liessen nicht lange auf sich warten. Ging es früher oft 3—4 Wochen bis zum Erscheinen der sekundären *Pericystis*mycelien, so brachen sie jetzt meist schon nach 2—3 Tagen aus den Larven hervor. Alle diese Mycelien wurden nun auf Bierwürzeagar reingezüchtet und weiter verarbeitet. Es gelang mir im Laufe des Jahres 1934, aus 35 verschiedenen Waben von 33 Bienenständen solche sekundären *Pericystis*mycelien zu isolieren (siehe Tab. I). Diese Zahl übertrifft bei weitem alle bisherigen Befunde und lässt die ganze Kalkbrutfrage in einem neuen Licht erscheinen.

Eine Ergänzung hat vor allem die geographische Verbreitung des Pilzes in der Schweiz erfahren. Noch vor einem Jahre, bei der Veröffentlichung meiner ersten Mitteilung, kannten wir einen einzigen sekundären Kalkbrutfall im Schweizer Mittelland und vermuteten einen Zusammenhang zwischen der Verbreitung der Krankheit und dem Einfluss von klimatischen Faktoren. Das Jahre 1934 brachte nun eine ganze Reihe von Kalkbrutfällen, allerdings auch jetzt ausschliesslich von sekundären, im Mittelland. Somit ist die Verbreitung des Pilzes *Pericystis apis* über die ganze Schweiz unabhängig von Klimaeinflüssen nachgewiesen (vgl. Tab. II).

Tabelle II.

Verteilung der Kalkbrutfälle auf die einzelnen Kantone (sek. Fälle in Klammern).

	Appenzell	Bern			St. Gallen	Glarus	Graubünden	Neuenburg	Obwalden	Thurgau	Tessin	Waadt	Wallis	Zürich
		Jura	Mittelland	Oberland										
1917—1933	6	9	(1)	1	1	2 (1)	10	10 (1)	—	—	1	3	9 (6)	—
1934 . . .	(1)	—	(7)	(3)	1 (3)	1	5 (8)	1	(1)	(1)	(1)	(1)	(6)	(1)

Die Verteilung der primären-, d. h. der eigentlichen Krankheitsfälle, hat aber auch im vergangenen Jahr keine Veränderung erfahren. Demnach scheint sich die Verbreitung der Kalkbrut und ihres Erregers wenigstens vorläufig nicht ganz zu decken. Interessant ist die Zusammenstellung der Waben, in welchen die sekundären *Pericystis*mycelien des Jahres 1934 gefunden wurden, nach ihrem Gesundheitszustand (vgl. Tab. III).

Tabelle III.

Sekundäre *Pericystismycelien* im Jahre 1934.

Waben mit gutartiger Faulbrut	21
Waben mit gesunder Arbeiterinnenbrut unter Krankheitsverdacht eingesandt	3
Waben mit gesunder Drohnenbrut unter Krankheitsverdacht eingesandt . .	2
Waben mit gesunder Drohnenbrut aus sicher kalkbrutfreien Ständen	2
Waben mit erkalteter Drohnenbrut	1
Waben mit zersetzter Buckelbrut	6

Die meisten sekundären *Pericystis*fälle wurden in Waben mit gutartiger Faulbrut und mit Buckelbrut[1] gefunden. Soweit waren die neuen Befunde in guter Übereinstimmung mit den bisherigen Erfahrungen. Stutzig machte uns erst das Auffinden des Pilzes in einer Wabe mit normaler Drohnenbrut, die zwar unter Krankheitsverdacht eingesandt war, sich aber als gesund erwies. Bald folgte ein zweiter ähnlicher Fall. Zur Kontrolle legte ich nun Wabenstücke mit normaler Drohnenbrut von drei Bienenständen aus der Umgebung von Bern im Brutschrank aus; weder auf den Ständen, noch in der Umgebung hatte jemals Kalkbrut geherrscht. Schon nach einigen Tagen erschien in allen drei Wabenstücken an mehreren offenen und verdeckelten Larven ein weisses, steriles Mycel. Zwei dieser Mycelien liessen sich auf Grund der Fruchtkörperbildung als *Pericystis apis* identifizieren, das dritte ist bis heute steril geblieben. Leider war unterdessen der Sommer so weit vorgeschritten, dass jüngere Drohnenbrut nicht mehr aufzutreiben war. Eine Nachprüfung dieser Beobachtung bleibt deshalb einer weiteren Untersuchung vorbehalten.

Die systematisch durchgeführte Wabenprüfung des vergangenen Sommers lässt den Schluss zu, dass der Pilz *Pericystis apis* eine viel weitere Verbreitung hat, als bisher angenommen wurde und dass er oft auch in Völkern zu finden ist, in welchen keine Kalkbrut herrscht. Eine Deutung des Auftretens des Pilzes in gesunder Drohnenbrut aus sicher kalkbrutfreien Ständen ist heute noch verfrüht.

Mit dem häufigen Auffinden sekundärer *Pericystis*mycelien trat die Frage nach ihrer Pathogenität auf. Ein Infektionsversuch mit einem solchen Mycel, das aus einer Wabe mit zersetzter Buckelbrut stammte und darin ganze Krusten von Fruchtkörpern gebildet hatte, verlief positiv, d. h. es gelang durch Verfütterung der zerriebenen Fruchtkörper an die Bienen eines Versuchsvolkes, eine teilweise Mumifizierung der Brut hervorzurufen. Weitere Versuche mussten leider wegen Räuberei abgebrochen werden, so dass die Frage nach der Pathogenität der sekundären *Pericystis*mycelien noch nicht gelöst ist. Immerhin hat es den Anschein, dass auch solche Mycelien die Krankheit hervorrufen können.

II. Zwei verschiedene Pericystisformen (Arten ?) aus Bienenlarven.

Neben neuen Erfahrungen über die Verbreitung von *Pericystis apis* förderte die Prüfung eines grösseren Wabenmaterials eine weitere Tatsache zutage. Es zeigte sich nämlich, dass zwei morphologisch

---

[1] Mit dem Namen « gutartige Faulbrut » wird eine Erkrankung der Bienenbrut bezeichnet, die auf eine Bakterieninfektion zurückzuführen ist. Buckelbrut ist Drohnenbrut in Arbeiterinnenzellen, was von Weisellosigkeit oder einem Fehler der Königin herrührt.

und physiologisch verschiedene *Pericystis*formen nebeneinander vorkommen.

Da *Pericystis apis* ein heterothallischer Pilz ist, d. h. zwei geschlechtlich verschieden orientierte Mycelien besitzt, kann es vorkommen, dass in einer Mumie oder Wabe nur das eine Geschlecht des Pilzes vorhanden ist. In diesen Fällen unterbleibt die Fruchtkörperbildung und die Diagnose muss mit Hilfe der Reinkultur durch Kreuzung mit zwei bekannten verschiedengeschlechtigen Mycelien, Testmycelien, gestellt werden. Diese Methode der Identifizierung steriler *Pericystis*mycelien, die Claussen (1921) in seiner Monographie (l. c. S. 519) beschreibt, hat sich auch bei uns gut bewährt.

Im Frühling 1934 isolierte ich nun aus einer Wabe mit zersetzter Buckelbrut ein steriles, weisses Mycel (Stamm 342), das äusserlich wie ein *Pericystis*mycel aussah, trotz wiederholter Kreuzungsversuche mit meinen beiden Testmycelien (Stamm 118 + und —), aber nicht zur Fruchtkörperbildung zu bringen war. Bald folgte ein zweites ähnliches Mycel (Stamm 450 A), das aus einer Wabe mit erkalteter Drohnenbrut stammte. Diese Beobachtung war um so merkwürdiger, als Claussen (l. c. S. 482) das Vorhandensein neutraler *Pericystis*mycelien bestreitet und auch in unserm Institut bisher nie solche gefunden worden waren. Ich versuchte, die beiden Stämme 342 und 450 A, mit allen aufzutreibenden *Pericystis*mycelien zu kreuzen, was aber vorläufig erfolglos blieb. Erst Ende Mai brachte die Einsendung einer primären Kalkbrutwabe die Lösung des Rätsels. Diese Wabe enthielt Larvenmumien, die von einer Schicht auffallend grosser, tiefschwarzer Fruchtkörper bedeckt waren. Eine Reinkultur daraus ergab zwei *Pericystis*stämme (132/1 und 132/2), die untereinander und mit den Stämmen 342 und 450 A, grosse schwarze Fruchtkörper bildeten, mit den Testmycelien 118 + und — und einer ganzen Reihe anderer Mycelien aber steril blieben. Damit kam die Vermutung auf, dass im Bienenstock unabhängig voneinander zwei verschiedene *Pericystis*formen bestehen, welche sich nicht kreuzen lassen. Alle im Sommer 1934 aus Waben isolierten *Pericystis*stämme wurden nun einer Prüfung mit den Testmycelien 118 + und — und 132/1 und 132/2 unterworfen, um ihre Zugehörigkeit zu einer der beiden Formen zu ermitteln. Von den 43 isolierten Mycelien gehörten 14 der alten, im weitern als « kleinfrüchtig » bezeichneten, 29 dagegen der neuen « grossfrüchtigen » Form an. Die Bezeichnung gross- und kleinfrüchtig haben wir gewählt, weil die Fruchtkörper der beiden Formen sich schon von blossem Auge in Grösse und Farbe unterscheiden lassen (vgl. Tafel 13, Fig. 1 und 2). Die beiden Formen scheinen in ihrer Fähigkeit, Fruchtkörper zu bilden, konstant zu sein, d. h. alle Kreuzungsversuche sind bis jetzt negativ verlaufen. Zu erwähnen ist noch die Tatsache, dass drei weitere Stämme bis heute weder mit der einen, noch mit der andern Form zur Fruchtkörperbildung zu bringen waren. Ob diese Mycelien

wirklich als neutral anzusprechen sind, oder ob mit der Zeit ein Stamm auftaucht, mit dem sie Fruchtkörper bilden können, bedarf einer weitern Aufklärung.

Sowohl die grossfrüchtige, wie die kleinfrüchtige *Pericystis*form kann primär oder sekundär auftreten. Allerdings stehen nach den bisherigen Erfahrungen bei der ersteren die sekundären, bei der letzteren die primären Fälle zahlenmässig im Vordergrund. Von den 33 sekundären *Pericystis*fällen des Jahres 1934 gehören nur 10 der kleinfrüchtigen, 23 dagegen der grossfrüchtigen Form an. Interessant ist, dass alle vier aus normaler Drohnenbrut isolierten Stämme zur grossfrüchtigen Form gehören.

III. Vergleich der beiden Pericystisformen.

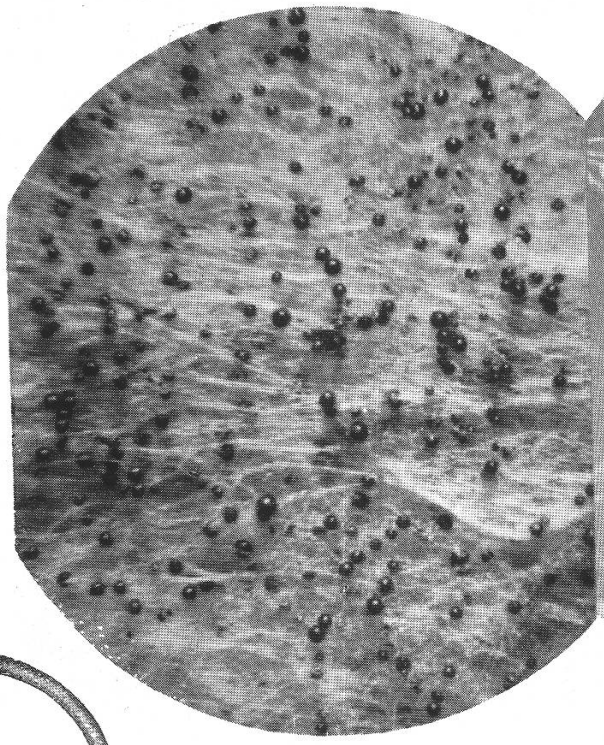
A. Morphologie.

1. Fruchtkörperbildung.

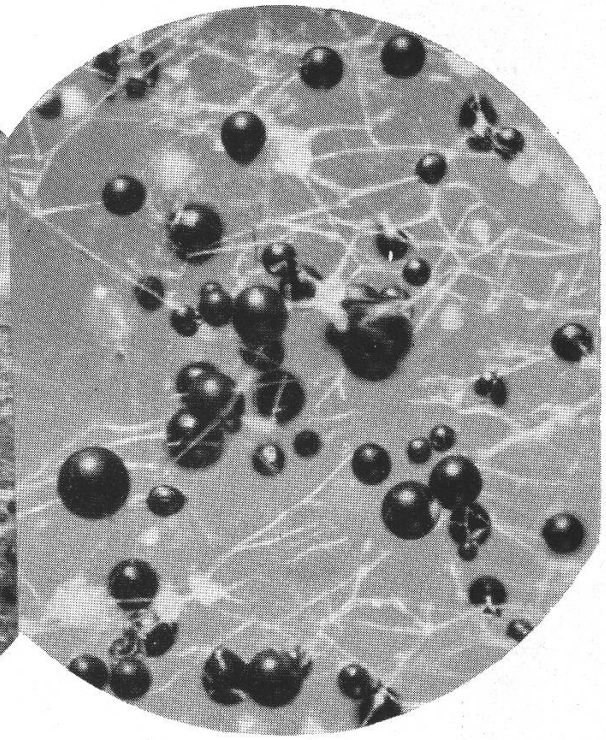
Claussen beschrieb in seiner Monographie eingehend die Entstehung der Fruchtkörper der kleinfrüchtigen *Pericystis*form, denn mit dieser hatte er es nach den Grössenangaben und Bildern zu tun. Es stellte sich nun die Frage, ob die grossfrüchtige Form irgendwelche Abweichungen von dieser Beschreibung in der Fruchtkörperanlage und der Morphologie des unreifen und reifen Fruchtkörpers zeigt. Um diese Frage zu beantworten, habe ich die grossfrüchtige Form in Deckglaskulturen in feuchten Kammern gezüchtet und sie so unter mikroskopischer Kontrolle ihre Fruchtkörper bilden lassen. In der Methodik stützte ich mich auf die Angaben von Claussen (l. c. S. 483), die ich in einigen Einzelheiten ergänzte.

Als feuchte Kammern kamen Glasringe von 25 mm Innendurchmesser und 5 mm Höhe zur Anwendung, die mit Canadabalsam auf grosse Objektträger geklebt wurden. Claussen liess seine Mycelstecklinge auf dem Deckglas zwischen zwei Agarstückchen in der Luft kopulieren. Bessere Erfahrungen machte ich mit einer etwas modifizierten sogenannten Tröpfchen-Plattenkultur nach Wichmann-Zikes. Man lässt dabei auf einem grossen, ausgeglühten Deckglas verflüssigten Agar in dünner Schicht erstarren und impft den zu untersuchenden Organismus darauf. Die Agarschicht muss aber so dünn sein, dass sie das Mikroskopieren mit stärkeren Objektiven zulässt. In meinem Fall wurden auf der dünnen Bierwürzeagarschicht zwei verschiedengeschlechtige Stecklinge der grossfrüchtigen *Pericystis*form geimpft, das Deckglas dann auf die feuchte Kammer gelegt und in eine sterile Petrischale eingeschlossen. Ein Abschliessen der feuchten Kammer mit Vaseline empfiehlt sich bei *Pericystis* nicht, denn der Pilz ist sehr sauerstoffbedürftig. Die Kulturen wurden dann bei Zimmertemperatur gehalten (20—22° C).

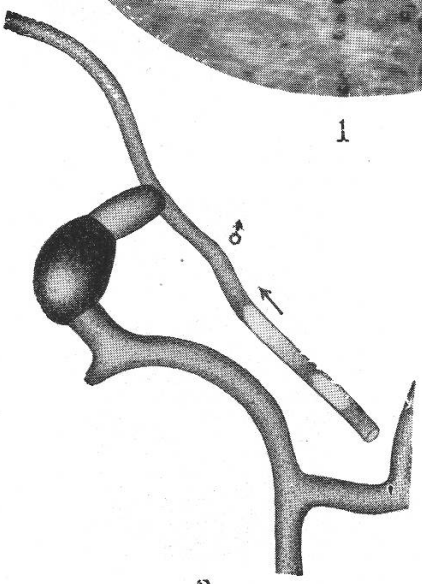
Tafel 13



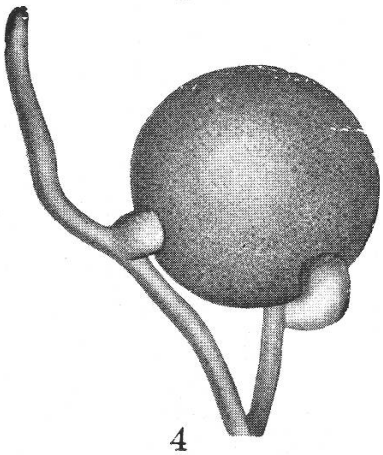
1



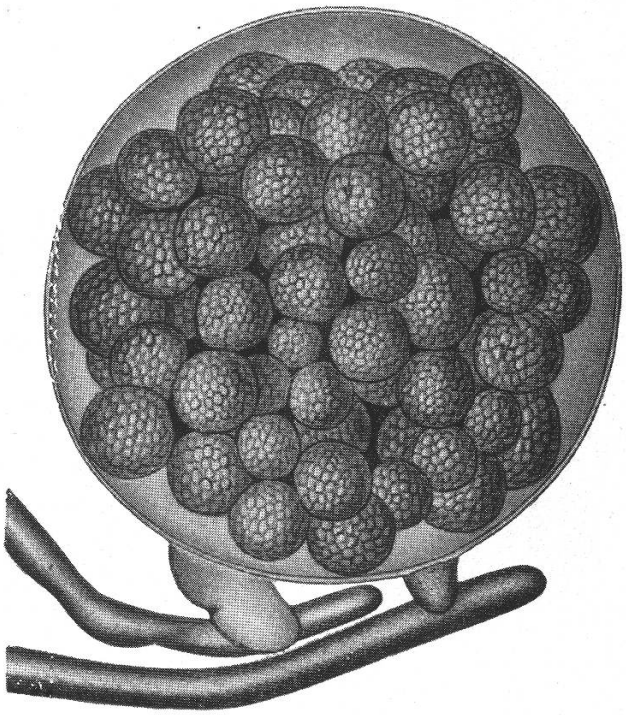
2



3



4



5

Fig. 1. Fruchtkörper der kleinfrüchtigen *Pericystis*form. Aus einer 10 Tage alten Kultur bei 30° C. Vergr. 22×. Phot. Dr. W. Staub.

Fig. 2. Fruchtkörper der grossfrüchtigen *Pericystis*form. Aus einer 10 Tage alten Kultur bei 15° C. Vergr. 22×. Phot. Dr. W. Staub.

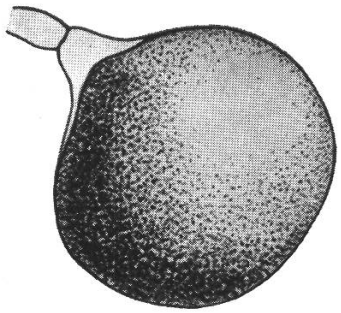
Fig. 3—5. Entwicklung eines Fruchtkörpers der kleinfrüchtigen *Pericystis*form, nach Claussen (1921).

Fig. 3. Verschmelzung von Oogonium und Antheridium. Vergr. ca. 550×.

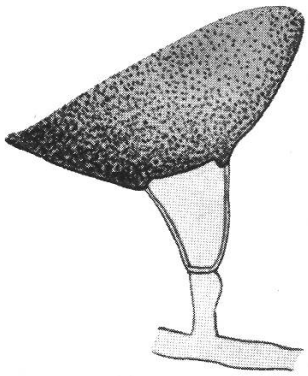
Fig. 4. Junger Fruchtkörper. Vergr. ca. 550×.

Fig. 5. Reifer Fruchtkörper. Vergr. ca. 800×.

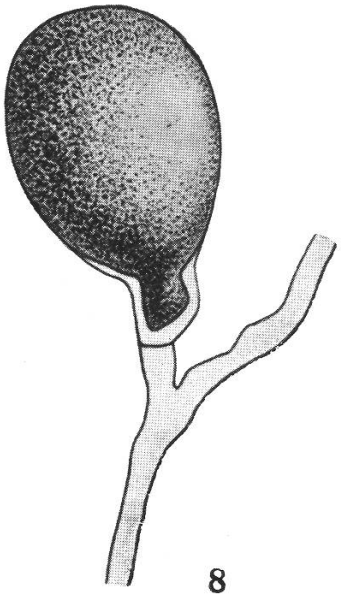
Tafel 14



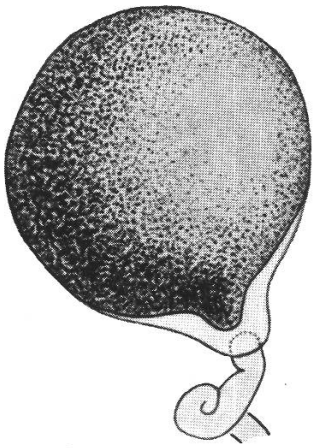
6



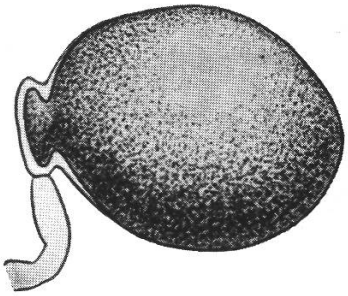
7



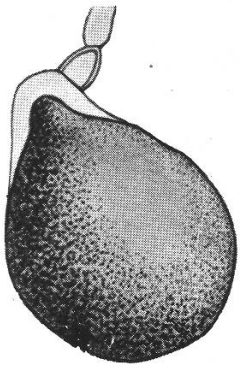
8



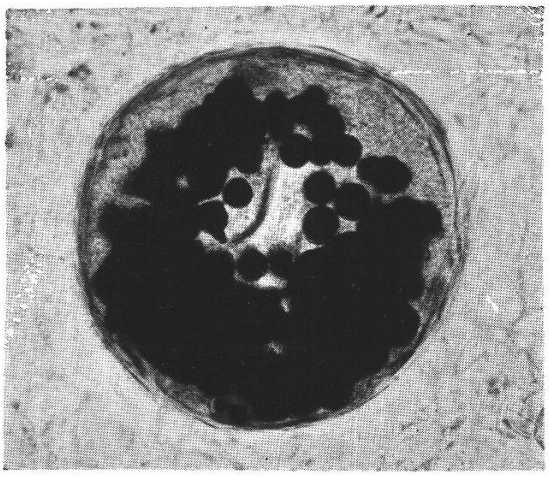
9



10



11



12

Fig. 6—11. Reife Fruchtkörper der grossfrüchtigen *Pericystis*-Form mit Anhängseln. Vergr. ca. 225×.

Fig. 12. Anomalie eines Fruchtkörpers der grossfrüchtigen *Pericystis*-Form.
Der noch unreife Fruchtkörper enthält anstatt Plasma- oder Sporenballen schwarze Gebilde unbekannter Natur. Vergr. 200×. Phot. Dr. W. Staub.

Die Fruchtkörperbildung beschreibt Claussen für die kleinfrüchtige *Pericystis*form wie folgt (l. c. S. 483—485):

«... Einige Zeit, nachdem die von den beiden Stecklingen verschiedenen Geschlechts gebildeten Hyphen zu gegenseitiger Berührung gelangt sind, beginnt die Anlage eines bestimmten Fruchtkörpers damit, dass zwei Hyphen verschiedenen Geschlechts an einer Berührungsstelle sich fest miteinander verbinden und dann an der Verbindungsstelle kurze Seitenhyphen hervorsprossen lassen, deren distale Enden also von vornherein fest aneinander haften. Während man auf den Beginn des Aussprossens der Aeste lange warten muss, offenbar deswegen, weil zur Herstellung der festen Verbindung längere Zeit nötig ist, wachsen sie von nun an rasch in die Länge und werden bald derart geteilt, dass in der Regel der eine, zylindrisch bleibende Ast an der Basis, dagegen der andere, an seinem distalen Ende anschwellende, in einiger Entfernung von seiner Basis eine Querwand erhält. Die abgeschnittenen, einander berührenden Zellen sind die Sexualorgane (Gametangien). Das eine zylindrische, meist sitzende, bleibt klein und wäre deshalb als Antheridium zu bezeichnen, während das grössere, angeschwollene, in der Regel gestielte, Oogonium zu nennen wäre (Taf. 13, Fig. 3). Das Oogonium entwickelt sich rasch weiter (Taf. 13, Fig. 4), so dass es nicht viel mehr als einen Tag dauert vom Erscheinen der Sexualorgane, bis das Oogonium erwachsen ist.» Claussen schreibt weiter: «... Sobald das Oogonium ausgewachsen ist, fängt seine Membran an, sich bräunlich-grün zu verfärben, also den Farbton anzunehmen, der vielen Sporen und manchen anderen Teilen der Pyrenomyceten eigen ist. Mit blossem Auge betrachtet erscheinen die Oogonien schliesslich schwarz. Etwa zur gleichen Zeit wie die Membranverfärbung setzt auch eine starke Membranverdickung ein. Durch Färbung, Membranverdickung, und Oogoniumvergrösserung wird die Möglichkeit, die Vorgänge, die sich nun im Oogoniuminnern abspielen, zu verfolgen, sehr erschwert.... Soviel ist aber klar, dass eine Zerlegung des Inhalts in etwa kugelige Plasmaballen stattfindet, die nach einiger Zeit in zahlreiche Sporen zerfallen (Taf. 13, Fig. 5). Das anfangs prall gefüllte Antheridium hat schon frühzeitig seinen Inhalt bis auf Spuren in das Oogonium hinein entleert und dabei an Grösse stark abgenommen.»

Bei der grossfrüchtigen Form verläuft die Anlage der Fruchtkörper ganz ähnlich. Sind die Hyphen der beiden verschiedengeschlechtigen Stecklinge auf der Agarschicht zusammengekommen, so erscheinen nach etwa 2—3 Tagen (also etwas später als bei der kleinfrüchtigen *Pericystis)* die Sexualanlagen (Fig. 1—4). Sie scheinen am Anfang ungefähr gleich gross zu sein (Fig. 3). Die eine Anlage (von Claussen als Oogonium angesprochen) wächst dann aber sehr schnell, während die andere (nach Claussen Antheridium) zuerst prall gefüllt, bald zusammenfällt. Das Oogonium trennt sich durch eine Querwand von seinem Stiel ab (Fig. 3, 7 *a*), beim Antheridium ist eine solche Querwand in manchen Fällen, aber nicht immer zu sehen (Fig. 5 *c*). Zwischen den beiden Sexualanlagen entsteht eine offene Verbindung (Fig. 3, 4, 5), durch welche augenscheinlich der Inhalt des Antheridiums ins Oogonium wandert, worauf das Antheridium zusammenschrumpft (Fig. 5 *c*, 7 *b—d*).

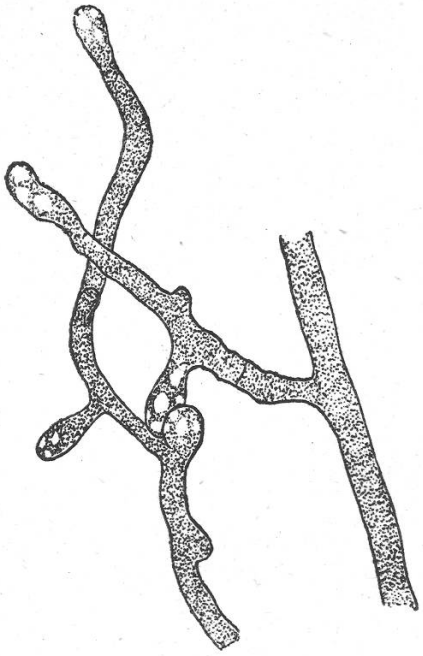


Fig. 1.

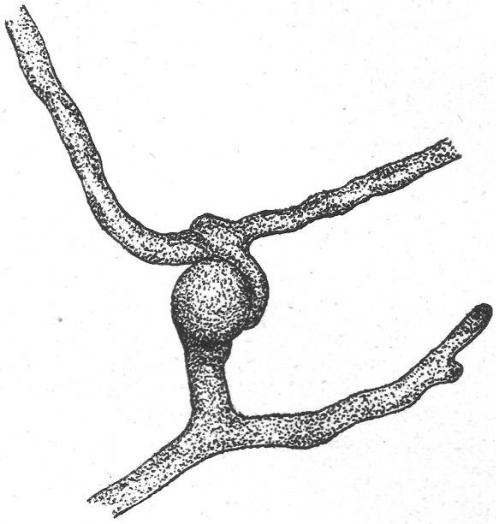


Fig. 2.

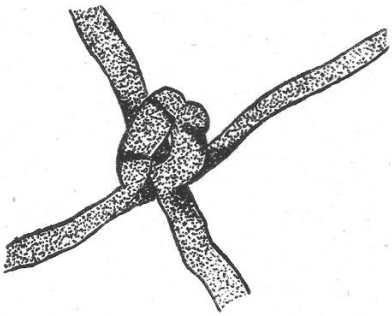


Fig. 3.

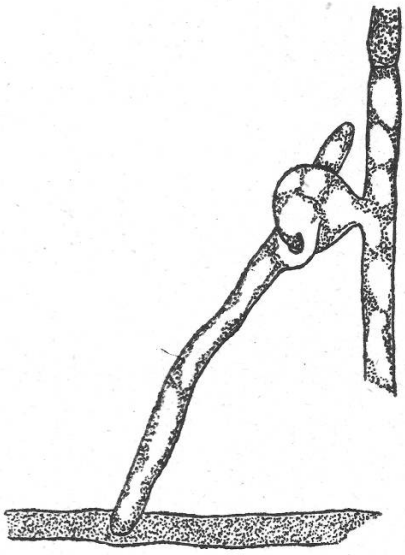
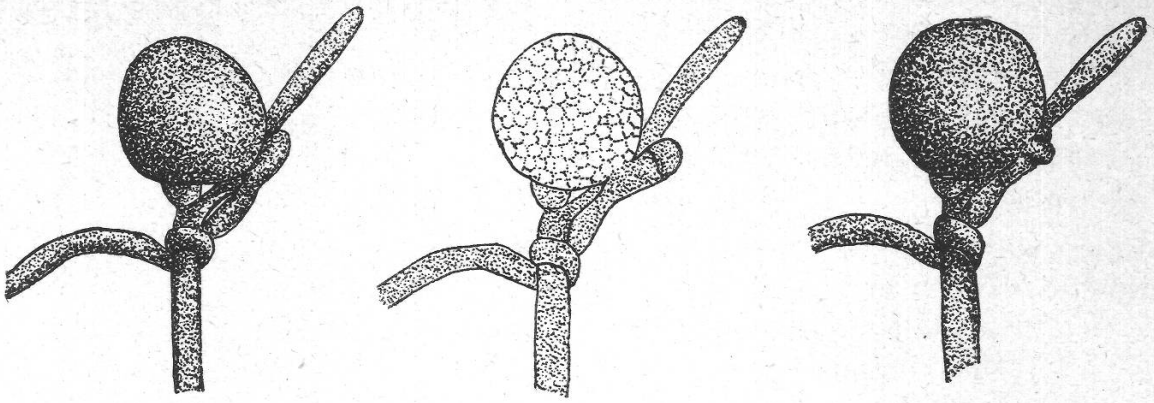


Fig. 4.

Fruchtkörperanlage bei der grossfrüchtigen *Pericystis*form.
Jüngste Stadien.

Fig. 1. Anlage der Sexualorgane.
Fig. 2. Oogonium etwas gewachsen, mit anliegendem Antheridium.
Fig. 3 und 4. Junge Fruchtkörperanlagen mit offener Verbindung zwischen Oogonium und Antheridium.

Vergr. in Fig. 1—4 ca. 450 ×.



a *b* *c*

Fig. 5.

Fruchtkörperanlage bei der grossfrüchtigen *Pericystis*form.

Fig. 5 *a)*. Oogonium ziemlich gross, Antheridium anliegend. Die Antheridiumhyphe ist um die Traghyphe des Oogonium geschlungen.

Fig. 5 *b)*. Optischer Querschnitt desselben Fruchtkörpers, 24 Stunden später. Plasma vakuolosiert, offene Verbindung zwischen Oogonium und Antheridium.

Fig. 5 *c)*. Derselbe Fruchtkörper nach weiteren 2 Tagen. Antheridium entleert und geschrumpft.

Fig. 5 *a), b), c),* Vergr. ca. 450 ×.

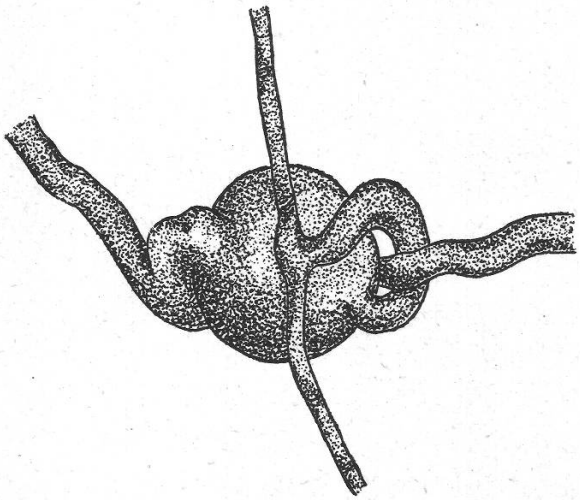


Fig. 6.

Fruchtkörper der grossfrüchtigen *Pericystis*form, bei dem das Antheridium ein Schlinge um die Traghyphe des Oogoniums bildet. Vergr. ca. 450 ×.

Wie es Claussen für die kleinfrüchtige Form beschreibt, sind auch bei der grossfrüchtigen oft mehr oder weniger abenteuerliche Bilder von Oogonien und Antheridien zu beobachten. So hat sich z. B. bei der Fruchtkörperanlage in Fig. 5 das Antheridium zuerst um die Traghyphe des Oogons geschlungen, bevor es mit diesem in Kontakt trat. Fig. 6 dagegen gibt einen Fruchtkörper wieder, bei welchem sich das Antheridium seinen Weg zum Oogonium unter dessen Traghyphe hindurch suchen musste, so dass diese wie durch eine Schlinge des Antheridiums gezogen erscheint.

Der Inhalt des Oogoniums ist schon frühzeitig vakuolisiert (Fig. 4 und 5 *b*). Die Weiterentwicklung des Oogons zum reifen Fruchtkörper lässt sich an Hand der Fig. 7 *a*—*d* verfolgen, wobei allerdings von den Vorgängen, die sich im Innern des reifenden Fruchtkörpers abspielen, wenig zu sehen war. Am Anfang der Beobachtung (31. Juli 1934, 11 Uhr) war der junge Fruchtkörper noch hyalin, birnförmig, von einem Längsdurchmesser von 40 μ (Fig. 7 *a*). Das Antheridium hatte sich augenscheinlich schon entleert, denn es sah ziemlich schlaff aus. Der Inhalt des Oogoniums war feinkörnig, ohne Vakuolen. Schon am Nachmittag desselben Tages (31. Juli, 17 Uhr) war das Oogon ganz abgerundet und stark gewachsen (68 μ Durchmesser). Seine Membran war noch farblos (Fig. 7 *b*). Am nächsten Tag (1. August) hatte der Fruchtkörper einen Durchmesser von 84 μ erreicht, worauf er das Wachstum einstellte. Nach weiteren 24 Stunden (2. August) wurde die Membran dick und fing an, sich zuerst gelblich, dann immer dunkler braun zu verfärben, so dass die beginnende Aufteilung des Inhaltes in Plasmaballen nur noch undeutlich zu erkennen war (Fig. 7 *c*). Der Fruchtkörper blieb nun mehrere Tage unverändert, sich nur immer dunkler färbend, bis am 7. August durch die dunkelbraune Membran deutlich Sporenballen mit anscheinend reifen Sporen sichtbar wurden (Fig. 7 *d*). Das Antheridium und auch seine Traghyphe waren nun ganz geschrumpft. Was im reifenden Fruchtkörper während der Entstehung der Plasmaballen und der Sporen vor sich geht, kann nur eine zytologische Untersuchung aufklären. Die vorläufige Mitteilung von Varitchak (1932) über die Kernverhältnisse bei *Pericystis apis* enthält einige Beobachtungen über diese Vorgänge.

Eine Eigentümlichkeit der Fruchtkörper der grossfrüchtigen Form sei noch erwähnt. Das Oogon trennt sich schon früh durch eine Scheidewand von seiner Traghyphe ab, so dass eine Art Stiel entsteht. Dieser Stiel bleibt nun bei der kleinfrüchtigen Form, nach den Angaben von Claussen und auch nach meinen Beobachtungen farblos, und trennt sich dann mit der Zeit wohl vom reifen Fruchtkörper ab. In Präparaten von reifen Fruchtkörpern aus älteren Kulturen und aus Waben ist wenigstens nichts mehr von diesem Stiel zu erkennen. Bei der grossfrüchtigen Form aber wird mit der fortschreitenden Braunfärbung des

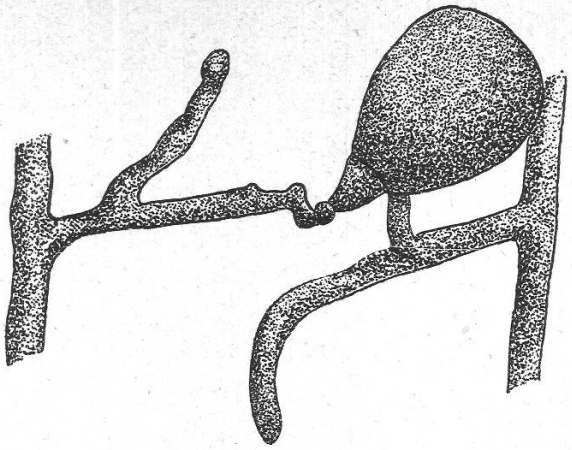


Fig. 7 *a*.

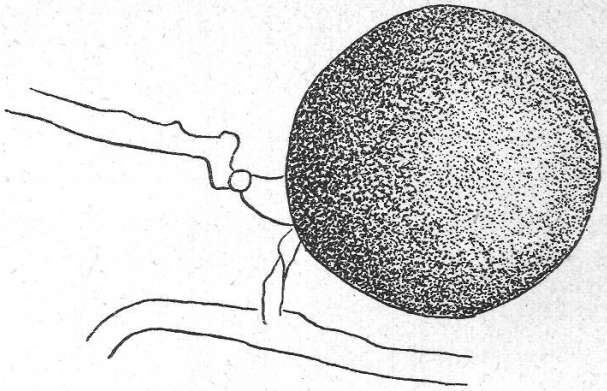


Fig. 7 *b*.

Fruchtkörperanlage bei der grossfrüchtigen *Pericystis*form.
Fig. 7 *a)*. Junger Fruchtkörper, birnförmig, Antheridium schon entleert. (31.VII.1934, 11 Uhr.) Vergr. ca. 450 ×.
Fig. 7 *b)*. Derselbe Fruchtkörper 6 Stunden später (31.VII., 17 Uhr). Fruchtkörper gewachsen, abgerundet, Antheridium geschrumpft. Vergr. ca. 450 ×.

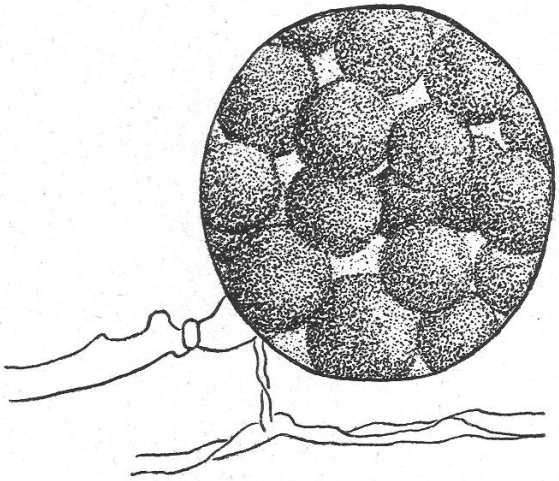


Fig. 7 *c*.

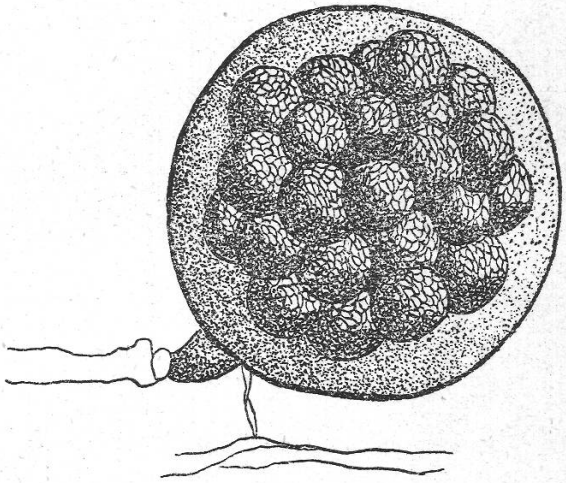


Fig. 7 *d*.

Weiterentwicklung desselben Fruchtkörpers.
Fig. 7 *c)*. Nach weiteren 48 Stunden (2.VIII.1934). Fruchtkörper weiter gewachsen. Das Plasma fängt an, sich in Ballen aufzuteilen. Vergr. ca. 450 ×.
Fig. 7 *d)*. Nach weiteren 5 Tagen (7.VIII.1934). Fruchtkörper reif. Membran dick und dunkel. Aus den Plasmaballen sind Sporenballen mit reifen Sporen entstanden. Vergr. ca. 450 ×.

reifenden Fruchtkörpers auch dieser Stiel dunkel. Manchmal ist es der ganze Stiel der eine Dunkelfärbung annimmt (Fig. 7 *d*), meist scheint sich jedoch nur die dunkle Membran des Fruchtkörpers in den leeren Stiel vorzuwölben, wodurch ein dunkler Zapfen an der Ansatzstelle des Fruchtkörpers entsteht. Wie die Abbildung in Tafel 14, Fig. 7, zeigt, beschränkt sich die Vorstülpung in gewissen Fällen auf kleine Zähnchen am Rande der Ansatzstelle, oft entstehen aber richtige Anhängsel, die von der farblosen, verdickten Membran des Oogoniumstieles überzogen

sind, an welcher noch Reste der Traghyphen hängen (Taf. 14, Fig. 6 bis 11). In Präparaten aus Waben und älteren Kulturen der grossfrüchtigen Form sind solche Zapfen wenigstens an einem Teil der Fruchtkörper zu finden, was ein Unterscheidungsmerkmal gegen die kleinfrüchtige Form zu bilden scheint. Unter den 37 im Jahre 1934 isolierten grossfrüchtigen *Pericystis*stämmen war allerdings einer, welcher anscheinend nie solche Anhängsel an seinen Fruchtkörpern trug, und merkwürdigerweise waren auch die Fruchtkörper, welche aus einer Kreuzung dieses Stammes mit anderen entstanden, glatt.

Diese an sich wohl nicht sehr wichtige Eigentümlichkeit der Fruchtkörper der grossfrüchtigen *Pericystis*form gewinnt an Interesse, wenn man den Pollenschimmel *Pericystis alvei* Betts (Betts 1912) mit in Betracht zieht. Dieser Pilz, welcher als saprophytischer Bewohner der Pollenvorräte im Bienenstock weit verbreitet ist, trägt nämlich an seinen Fruchtkörpern nicht nur ein, sondern bis zu vier solcher dunkler Anhängsel, die oft noch durch Querwände unterteilt sind, und wohl auch nichts anderes als dunkelgefärbte Reste der Oogonium- und Antheridiumtraghyphen sind. Diese Anhängsel dürften vielleicht als ein gemeinsames morphologisches Merkmal gedeutet werden, welches die oft angezweifelte Verwandtschaft zwischen *Pericystis apis* und *Pericystis alvei* wahrscheinlicher erscheinen liesse.

Die reifen Fruchtkörper der gross- und kleinfrüchtigen *Pericystis*form stimmen in ihrer inneren Struktur weitgehend miteinander überein. Bei beiden sind sie prall mit annähernd kugeligen Sporenballen ausgefüllt, wodurch sie sich schon auf den ersten Blick von den meist nur halbgefüllten Fruchtkörpern des Pollenschimmels *Pericystis alvei* Betts unterscheiden. In der äusseren Gestalt sind die Fruchtkörper der kleinfrüchtigen Form regelmässiger kugelig, während man bei der grossfrüchtigen neben kugeligen auch sehr viel birnförmige und ovale Fruchtkörper findet (vgl. Taf. 13, Fig. 2). Eine merkwürdige Anomalie eines Fruchtkörpers der grossfrüchtigen *Pericystis*form ist in Taf. 14, Fig. 12, abgebildet. Es ist ein noch unreifer Fruchtkörper der anstatt Plasma- oder Sporenballen scharf umrissene, schwarze Gebilde enthielt. Ich habe solche Fruchtkörper mehrmals in Präparaten der grossfrüchtigen Form gefunden, ohne dass ich mir diese Erscheinung zu erklären wüsste.

Der morphologische Hauptunterschied zwischen den beiden *Pericystis*formen besteht aber in der Grösse ihrer Fruchtkörper, was an Hand einer variationsstatistischen Untersuchung näher besprochen wird.

2. Grösse der Fruchtkörper.

In der Kultur auf künstlichen Nährböden wie auch an Mumien erscheinen die Fruchtkörper der grossfrüchtigen *Pericystis*form als tiefschwarze, von blossem Auge gut einzeln unterscheidbare Gebilde,

während diejenigen der kleinfrüchtigen Form in der Masse eine eher grünlich-graue Farbe haben, in welcher die einzelnen Punkte ohne Lupe nur schwer zu trennen sind. Die Mikroaufnahmen,[1] Taf. 13, Fig. 1 und 2, veranschaulichen den Eindruck, welchen Kulturen mit Fruchtkörpern der beiden *Pericystis*formen bei einer 22fachen Vergrösserung machen. Auf den ersten Blick scheint ein wesentlicher Grössenunterschied zwischen den beiden Formen zu bestehen, Mikroskopiert man aber viele Präparate von verschiedenen Stämmen der grossfrüchtigen Form, so findet man darin neben grossen auch mittlere und kleine Fruchtkörper. Um festzustellen, ob die Fruchtkörpergrösse wirklich ein Unterscheidungsmerkmal der beiden Formen des Pilzes sei, führte ich eine variationsstatistische Untersuchung an Hand einer grösseren Zahl von Messungen aus.

Alle Messungen wurden an Glycerin-Gelatine-Präparaten vorgenommen. Es wurden immer möglichst reife, d. h. dunkle Fruchtkörper gemessen, in denen die Sporenballen oft durch die Membran durchschimmerten. War ein Fruchtkörper anstatt rund birnförmig oder oval, so galt sein grösster Querdurchmesser. Die oben erwähnten zapfenförmigen Anhängsel wurden nicht mitgemessen. Die Messungen erfolgten mit einem Messokular 3 und Zeissobjektiv Apochromat 16 mm bei 240facher Vergrösserung. Nur für ganz grosse Fruchtkörper kam ein Zeissobjektiv 10 (60fache Vergrösserung) zur Anwendung. Die Messungen erfolgten in Serien von 25 und 50 pro Präparat, wobei eine möglichst grosse Anzahl von Stämmen verschiedener Herkunft berücksichtigt wurde. Für die kleinfrüchtige Form waren es 15, für die grossfrüchtige 30 Stämme verschiedener Herkunft, die z. T. in der Wabe, z. T. in der Kultur in verschiedenen Kreuzungskombinationen Fruchtkörper gebildet hatten. Im ganzen wurden von der kleinfrüchtigen Form 1000 Fruchtkörper (davon 500 von Mumien und 500 aus Kulturen bei 30 ° C. stammend), von der grossfrüchtigen 2500 (davon 500 aus Mumien und 2000 aus Kulturen bei Zimmertemperatur) gemessen. Die Berechnug von Mittelwert, Standardabweichung und Variationskoeffizient geschah nach Johannsen (1913). Ich möchte hier Herrn Dr. S. Blumer meinen besten Dank für seine immer freundliche Hilfe bei der variationsstatistischen Auswertung der Messungsresultate aussprechen.

Die Resultate der Messungen sind in Tab. IV und der graphischen Darstellung Fig. 8 zusammengefasst, und zwar in Klassen mit je 20 μ Abstand zusammengezogen. Die Messungen selber wurden mit einem Klassenabstand von 4 μ (= 1 Teilstrich des Messokulars) ausgeführt. Es ist jeweils die Mitte der Klasse in μ angegeben, so dass z. B. die mit 40 μ bezeichnete Klasse alle Fruchtkörper enthält, deren Durchmesser

[1] Alle Photographien verdanke ich Herrn Dr. W. Staub.

sich zwischen 8 und 12 Teilstrichen, d. h. zwischen 32 und 48 μ befand. Die Kurven sind auf Grund der Gesamtzahl der Messungen, für die grossfrüchtige Form auf 1000 reduziert, gezeichnet.

Tabelle IV.
Zusammenstellung der Fruchtkörpermessungen der beiden Pericystisformen.

Herkunft der Fruchtkörper	Zahl der Messungen	Fruchtkörperdurchmesser													
		20	40	60	80	100	120	140	160	180	200	220	240	260	280 μ
Kleinfrücht. Form															
Waben	500	1	79	235	138	34	12	1							
Kulturen	500	—	94	230	157	18	1	—							
Waben + Kulturen	**1000**	**1**	**173**	**465**	**295**	**52**	**13**	**1**							
Grossfrücht. Form															
Waben	500	—	1	18	65	77	61	79	60	69	35	24	6	5	—
Kulturen	2000	—	3	87	240	417	470	328	227	99	71	27	15	12	4
Waben + Kulturen	**2500**	—	**4**	**105**	**305**	**494**	**531**	**407**	**287**	**168**	**106**	**51**	**21**	**17**	**4**

	Mittelwert M. mit mittlerem Fehler	Standardabweichung σ mit mittlerem Fehler	Var. koeff. v
Kleinfrücht. Form Waben	67,04 $\pm$ 0,78 μ	17,33 $\pm$ 0,55 μ	25,85
„ „ Kulturen	64,4 $\pm$ 0,65 μ	14,63 $\pm$ 0,46 μ	22,71
„ „ **Waben + Kulturen**	**65,84 $\pm$ 0,51 μ**	**16,25 $\pm$ 0,36 μ**	**24,68**
Grossfrücht. Form Waben	138,91 $\pm$ 2,03 μ	45,49 $\pm$ 1.44 μ	32,75
„ „ Kulturen	125,78 $\pm$ 0,84 μ	37,38 $\pm$ 0,59 μ	29,72
„ „ **Waben + Kulturen**	**128,44 $\pm$ 0,80 μ**	**40,06 $\pm$ 0,58 μ**	**31,19**

Aus der Tabelle und der graphischen Darstellung (Fig. 8) geht nun vor allem hervor, dass die Fruchtkörper der grossfrüchtigen Form durchschnittlich wirklich grösser sind als diejenigen der kleinfrüchtigen. Allerdings greift die grossfrüchtige mit ihren niedrigsten Werten ziemlich weit in die oberen Werte der kleinfrüchtigen hinein, die Mehrzahl der Fruchtkörper beider Formen liegt aber ausserhalb dieser Überschneidungslinie. Am deutlichsten zeigt dies ein Vergleich der Mittelwerte und ihrer Standardabweichungen. Die kleinfrüchtige Form hat einen Mittelwert von 65,84 μ und eine Standardabweichung von $\pm$ 16,25 μ, so dass ihre « typischen Werte » zwischen 49,59 und 82,09 μ liegen. Der Mittelwert der grossfrüchtigen Form ist fast doppelt so gross, er beträgt 128,44 μ mit einer Standardabweichung von $\pm$ 40,06 μ, die « typischen Werte » liegen hier also zwischen 88,38 und 168,5 μ. Die typischen Werte der beiden *Pericystis*formen kommen somit nicht miteinander in Berührung (vgl. Fig. 8). Die Herkunft der Fruchtkörper, ob von Mumien oder aus Kulturen, scheint einen gewissen Einfluss auf ihre Grösse auszuüben. Bei beiden Formen haben die von Larvenmumien stammenden Fruchtkörper einen etwas höheren Mittelwert. Die Frucht-

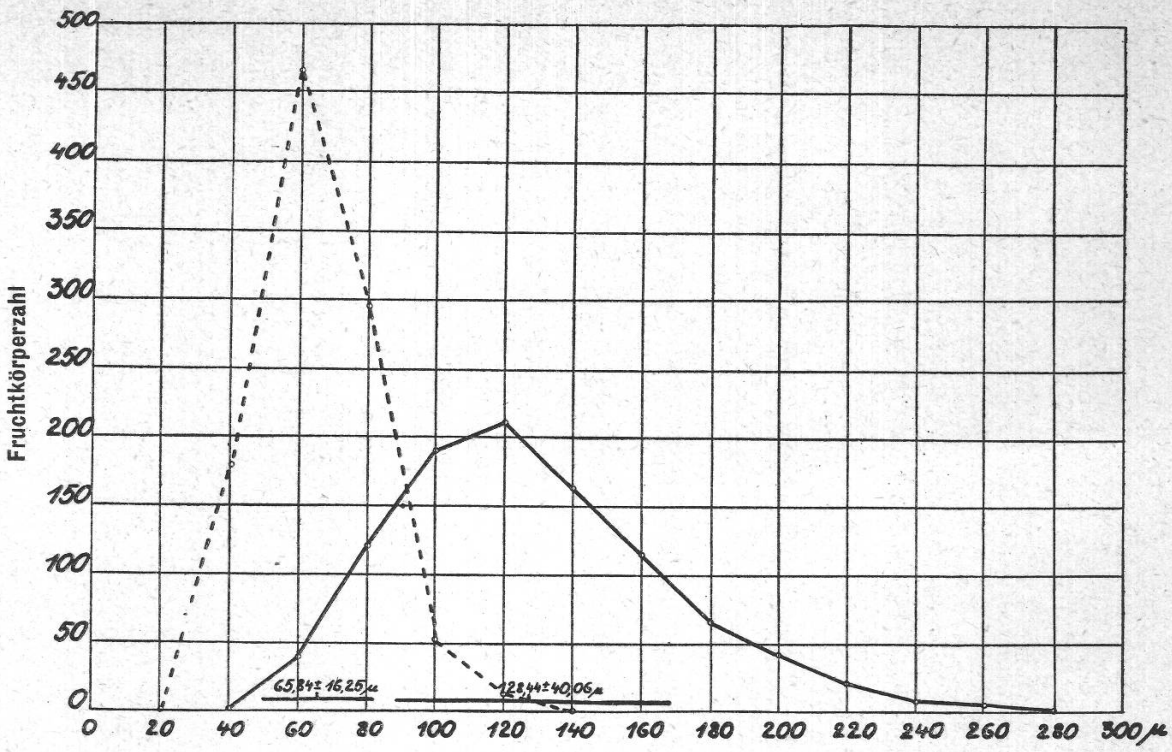


Fig. 8.

Fruchtkörpergrösse von *Pericystis apis*.

——————— grossfrüchtige Form.
— — — — — — kleinfrüchtige Form.

körper aus Kulturen (es wurden ausschliesslich Bierwürzeagarkulturen für die Messungen verwendet) sind dagegen in ihren Ausmassen ausgeglichener, d. h. sie besitzen eine kleinere Standardabweichung und einen niedrigeren Variationskoeffizienten. Die Ursache dafür ist wohl in den gleichmässigeren Wärme- und Nährbodenverhältnissen zu suchen. Interessant ist es, die allgemeine Variabilität der beiden Formen zu vergleichen. Bei Betrachtung der Kurven erhält man vorerst den Eindruck, dass die Streuung bei der kleinfrüchtigen Form viel geringer sei als bei der grossfrüchtigen. Berücksichtigt man aber den Variationskoeffizienten (Standardabweichung in Prozenten des Mittelwertes), welcher der eigentliche Ausdruck für die Variabilität eines Merkmals ist, so erscheint der Unterschied zwischen den beiden *Pericystis*formen gar nicht mehr so gross. Vollends verwischt er sich bei Fruchtkörpern beider Formen, die in Kulturen bei verschiedener Temperatur entstanden sind, was weiter unten näher besprochen wird.

Gestützt auf die Ergebnisse der Messungen und auf die Tatsache, dass bis jetzt eine Kreuzung der beiden *Pericystis*formen nicht gelungen ist, könnte man ohne weiteres die beiden « Formen » als zwei Arten trennen. Da jedoch die grosse Standardabweichung und der ebenfalls hohe Variationskoeffizient beweisen, dass wir es bei der Fruchtkörpergrösse von *Pericystis apis* mit einem Merkmal von sehr grosser

Variabilität zu tun haben, und da weiter die Rolle, welche die neue Form im Bienenstock spielt, wie überhaupt ihre Biologie, noch ganz unbekannt sind, verzichten wir vorläufig auf eine Artentrennung und führen die beiden *Pericystis* weiter unter der Bezeichnung klein- und grossfrüchtige « Form ».

B. Physiologie.

Der vorhergehende Abschnitt hat gezeigt, dass zwischen den beiden *Pericystis*formen wesentliche morphologische Unterschiede vorhanden sind. Es folgen nun einige Beobachtungen über die Physiologie des Pilzes, ohne dass dabei Anspruch auf die Vollständigkeit der physiologischen Untersuchung gemacht wird.

1. Temperatur und Wachstum.

Im Brutnest des Bienenvolkes, dem Aufenthaltsort von *Pericystis apis,* herrscht eine Temperatur von 32—35° C. Claussen hielt seine *Pericystis*kulturen im Brutschrank bei 30—36° C (l. c. S. 480 und 493). Um die Temperaturgrenzen und das Optimum für das Wachstum der beiden *Pericystis*formen zu ermitteln, machte ich eine Reihe von Parallelversuchen bei den Temperaturen 0, 11, 15, 20, 25, 30, 37 und 42° C. Die Kulturen wurden in Petrischalen in Form von Riesenkolonien angelegt, deren Zuwachs in cm gemessen wurde. Als Impfmaterial dienten kleine, rechteckige, aus andern (für alle geprüften Stämme gleich alten) Petrischalenkulturen ausgestochene Stückchen von Mycel. Es wurden nur Einzelstämme geprüft, um eventuell vorhandene Unterschiede zwischen den beiden Geschlechtern des Pilzes festzustellen. Alle Platten eines Versuches wurden gleichzeitig gegossen, und es kam immer Bierwürzeagar, der aus derselben Sterilisierungsserie stammte, zur Anwendung. Den durchschnittlichen täglichen Zuwachs errechnete ich, indem ich den Durchmesser der Riesenkolonie, wenn diese den Petrischalenrand etwa bis auf 5 mm erreicht hatte, durch die Anzahl Tage, welche das Wachstum gedauert hatte, dividierte. Tabelle V enthält den so berechneten mittleren Zuwachs in 24 Stunden bei variierender Temperatur, für die beiden Geschlechter einzeln und als Durchschnittswert beider Geschlechter angegeben. Alle Werte stützen sich auf Messungen von mehreren Stämmen, für die kleinfrüchtige Form : Geschlecht + [1]: Stamm 122 +, 380, 597 und 971; Geschlecht — : Stamm 122 —, 488 und 401; für die grossfrüchtige Form : Geschlecht 1 : Stamm 132/1, 823, 396/1 und 450 A; Geschlecht 2 : Stamm 132/2, 760 und 765/3.

---

[1] Die Bezeichnungen Geschlecht + und — bei der kleinfrüchtigen Form entsprechen denjenigen von Claussen, und zwar Geschl. + = ♀; Geschl. — = ♂. Für die grossfrüchtige Form ist es mir nicht gelungen, mit Sicherheit das ♀ u. ♂ Geschlecht festzustellen. Sehr wahrscheinlich entspricht das Mycel 1 dem ♂, Mycel 2 dem ♀ Geschlecht.

Tabelle V.
Durchschnittlicher täglicher Zuwachs der Pericystismycelien beider Formen in mm ausgedrückt.

	0° C.	11° C.	15° C.	20° C	25° C.	30° C.	37° C.	42° C.
Kleinfrücht. Form Geschlecht + . .	0	2,26	3,86	7,12	10,9	12,52	7,52	0
„ „ „ — . .	0	2,4	4,75	7,12	11,45	14,22	10,4	0
„ „ beide Geschlechter	**0**	**2,32**	**4,2**	**7,12**	**11,17**	**13,27**	**8,68**	**0**
Grossfrücht. Form Geschlecht 1 . .	0	3,2	4,9	8,94	11,3	11,96	1,3	0
„ „ „ 2 . .	0	3,15	4,8	9,4	10,25	11,—	2,45	0
„ „ beide Geschlechter	**0**	**3,17**	**4,86**	**9,14**	**10,88**	**11,56**	**1,76**	**0**

Die Ergebnisse lassen sich am besten an Hand der graphischen Darstellungen (Fig. 9 und 10) verfolgen. Betrachten wir zuerst die Kurven in Fig. 9. Sie stellen den mittleren täglichen Zuwachs der Mycelien beider Geschlechter der *Pericystis*formen dar. Der Verlauf der Kurven ist ähnlich, indem sie beide einen Gipfel bei 30° C. bilden. Das Optimum

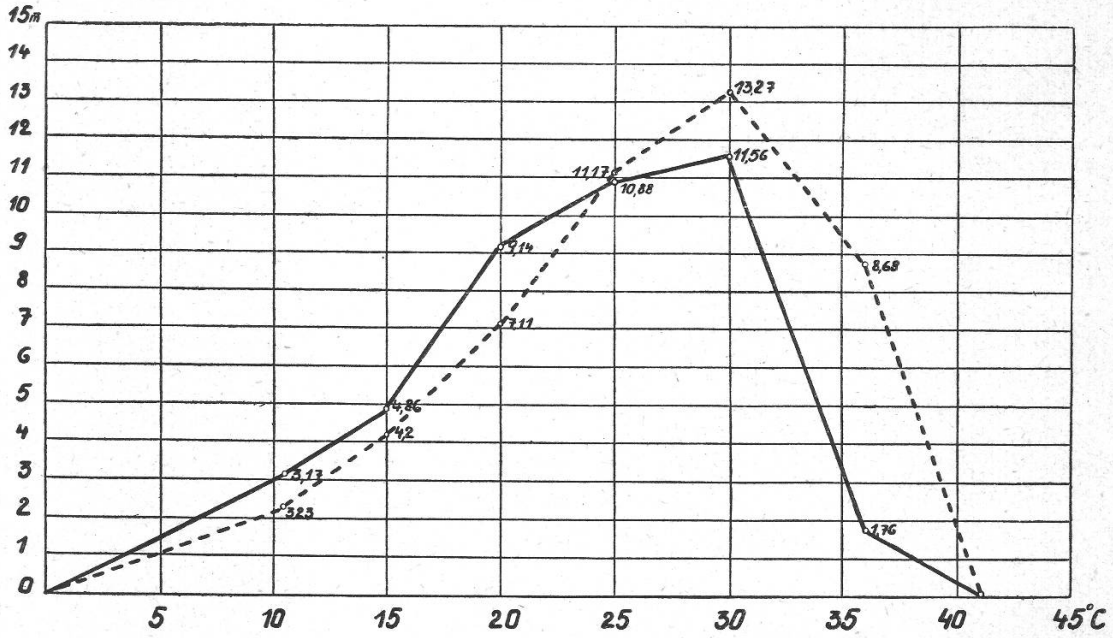


Fig. 9.
Einfluss der Temperatur auf die Wachstumsschnelligkeit des Mycels. Mittlerer Zuwachs in 24 Stunden in mm (beide Geschlechter zusammengezogen).
——— grossfrüchtige Form.
— — — — kleinfrüchtige Form.

der vegetativen Entwicklung liegt also für beide *Pericystis*formen bei dieser Temperatur. Die grossfrüchtige Form zeigt jedoch schon hier eine gewisse Vorliebe für niedrige Temperaturen, was noch deutlicher in den Kreuzungsversuchen bei variierender Temperatur zum Ausdruck kommt (vgl. den nächsten Abschnitt). In Fig. 10 sind die Wachstumskurven der beiden *Pericystis*formen für jedes Geschlecht getrennt verzeichnet. Es kommt darin die Beobachtung Claussens hübsch zum Ausdruck,

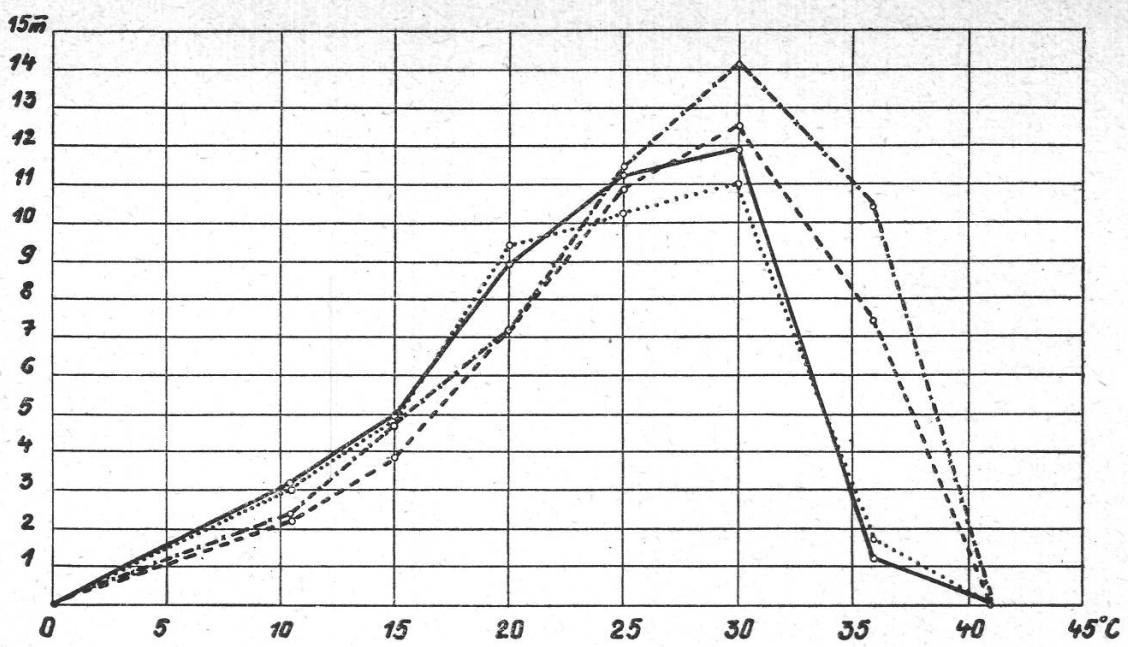


Fig. 10.

Einfluss der Temperatur auf die Wachstumsschnelligkeit des Mycels. Mittlerer Zuwachs in 24 Stunden in mm (beide Geschlechter getrennt).

——————— Geschl. 1 } grossfrüchtige Form.
..... Geschl. 2 }
— — — — — — Geschl. + } kleinfrüchtige Form.
—×—×—×—× Geschl. — }

dass bei der kleinfrüchtigen Form das Mycel des männlichen Geschlechts (bei mir Geschl. —) schneller wächst als dasjenige des weiblichen (Geschl. +). Bei der grossfrüchtigen Form scheint kein solcher Unterschied zwischen den beiden Geschlechtern vorhanden zu sein.

2. Temperatur und Fruchtkörperbildung.

Im vergangenen Sommer machte ich bei den Identifizierungsversuchen die Erfahrung, dass zwei verschiedengeschlechtige Mycelien der grossfrüchtigen Form, bei 30° C gehalten, auf der Agarschicht oft tagelang ineinander hineinwachsen können, ohne dass dabei Fruchtkörper entstehen. Nimmt man aber solche Kulturen aus dem Brutschrank heraus und hält sie bei Zimmertemperatur (20—22° C), so erscheinen schon nach 1—2 Tagen in der Berührungszone der beiden Geschlechter die dunklen Fruchtkörper. Die kleinfrüchtige Form dagegen fruktifiziert ohne Schwierigkeiten im Brutschrank bei 30° C. Diese Beobachtung brachte mich auf die Vermutung, dass die Fruchtkörperbildung bei der grossfrüchtigen Form in höheren Temperaturen gehemmt sein könnte. Um dies nachzuprüfen, habe ich eine Reihe von Kreuzungen der im Sommer isolierten Einzelstämme ausgeführt, in Parallelversuchen bei den folgenden Temperaturen : 0, 11, 15, 20, 25, 30, 37 und 42° C. Das Impfmaterial war auch in diesen Versuchsreihen möglichst gleich alt,

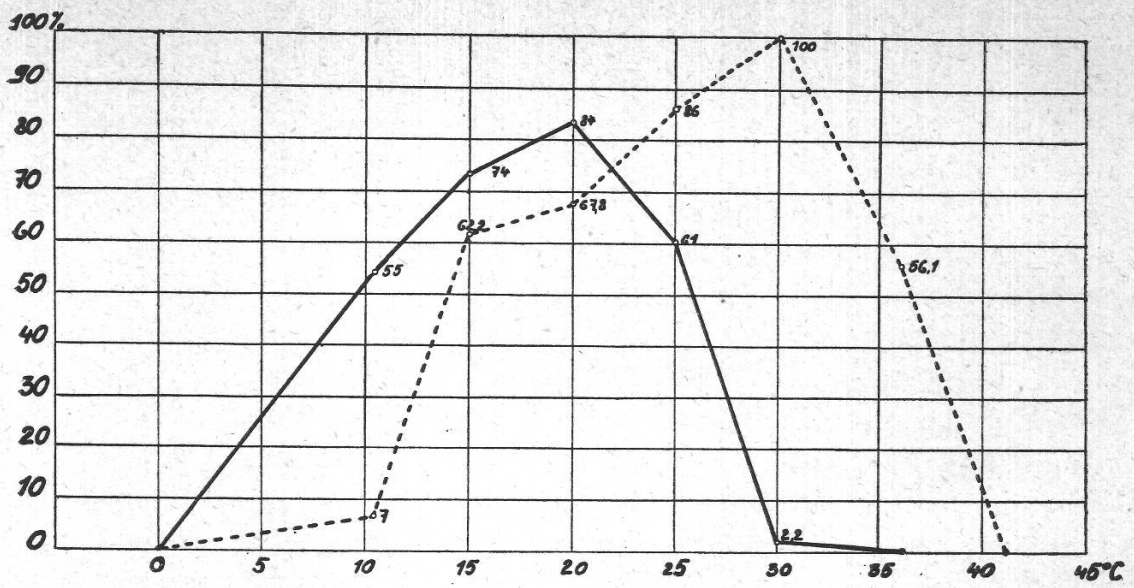


Fig. 11.

Einfluss der Temperatur auf die Fruchtkörperbildung. Prozente der Kulturen, in denen Fruchtkörper gebildet wurden.

——————— grossfrüchtige Form.
— — — — — — kleinfrüchtige Form.

und der Nährboden (Bierwürzeagar und C o o n agar [1]) stammte jeweils aus derselben Sterilisierungsserie. Auf der erstarrten Agarschicht wurden nun in Petrischalen je vier *Pericystis*stämme geimpft, und zwar jeweils in der Mitte ein Mycel des einen Geschlechts, gegen den Rand drei Mycelien des anderen. Alle Kulturen blieben bei 30° C bis die Mycelien auf zirka 5 mm Entfernung zusammengewachsen waren. Dann wurden sie zur Fruchtkörperbildung in Brutschränke zu den betreffenden Temperaturen gestellt. Im ganzen wurden auf diese Weise für die kleinfrüchtige Form 16, für die grossfrüchtige 24 Stämme verschiedener Herkunft, in 19 resp. 32 verschiedenen Kombinationen durcheinander gekreuzt. Es zeigte sich bald, dass die Fruchtkörperbildung von der Temperatur abhängig ist, d. h. dass sie bei gewissen Temperaturen entweder ganz unterbleibt oder mehr oder weniger gehemmt ist. Die Ergebnisse dieser Kreuzungsversuche fassen Tabelle VI und Fig. 11 zusammen.

Tabelle VI.

Einfluss der Temperatur auf die Fruchtkörperbildung bei den beiden *Pericystis*-Formen, ausgedrückt in Prozenten der geprüften Stämme.

	0° C.	11° C.	15° C.	20° C.	25° C.	30° C.	37° C.	42° C.
Grossfrücht. Form . .	0	55	74	84,2	61,4	2,2	0	0
Kleinfrücht. Form . .	0	7	62,2	67,8	86	100	56,6	0

Das Temperaturoptimum der Fruchtkörperbildung ist demnach für die beiden *Pericystis*formen verschieden. Die grossfrüchtige bevorzugt

[1] Die Zusammensetzung des verwendeten *Coon*agars ist weiter unten auf S. 154 angegeben.

niedrige Temperaturen 11—25° C mit einem Optimum bei 20° C, während die kleinfrüchtige ihre Fruchtkörper lieber in höheren Temperaturen bildet, 15—37° C mit einem Optimum bei 30° C. Am deutlichsten kommt der Unterschied in den Kulturen bei 30° C zum Ausdruck. Während alle (32) bis jetzt geprüften Stammpaare der kleinfrüchtigen Form hier Fruchtkörper gebildet haben (100 %), gelang es mir nur ein einziges Mal (von 45 geprüften Stammpaaren), Fruchtkörper der grossfrüchtigen Form bei dieser Temperatur zu erhalten (2,2 %).

Ein Vergleich der Wachstums- und Fruchtkörperbildungskurven (Fig. 9 und 11) zeigt, dass bei der kleinfrüchtigen Form Fruchtkörperbildungs- und Wachstumsoptimum bei 30° C zusammenfallen, während sie bei der grossfrüchtigen Form getrennt sind (20 und 30° C).

Die Kreuzungsversuche bei variierender Temperatur brachten die Erklärung der im Sommer gemachten Beobachtung, dass die grossfrüchtige Form erst bei Zimmertemperatur zur Fruchtkörperbildung zu bringen ist. In Zusammenhang damit steht vielleicht auch die Tatsache, dass in den eingesandten Waben verhältnismässig selten Fruchtkörper der grossfrüchtigen Form zu finden sind. Im Vergleich mit der kleinfrüchtigen Form kommen hier viel öfter sterile Mycelien vor, deren Identifizierung erst mit Hilfe der Kultur möglich ist. So waren im Jahre 1934 unter den 14 *Pericystis*fällen mit kleinfrüchtiger Form nur fünf sterile Mycelien vertreten (die übrigen neun hatten Fruchtkörper an den Mumien gebildet). Von den 29 Fällen mit grossfrüchtiger *Pericystis* dagegen waren nur in vier Fruchkörper an den Mumien zu finden. Beim Rest handelte es sich entweder um sterile eingeschlechtige Mycelien (24 Fälle), oder es waren zwar beide Geschlechter an getrennten Mumien in der Wabe vertreten, die Fruchtkörperbildung war jedoch unterblieben (zwei Fälle). Es ist deshalb denkbar, dass bei der grossfrüchtigen Form die Fruchtkörperbildung stark erschwert ist, auch wenn beide Geschlechter des Pilzes vorhanden sind, solange sich die Waben im Volk (Temperatur 32—35° C) befinden. Durch die Hemmung der Fruchtkörperbildung der grossfrüchtigen Form bei höheren Temperaturen erklärt sich vielleicht auch die Tatsache, dass die Existenz dieser Form bis jetzt übersehen wurde.

3. Temperatur und Fruchtkörpergrösse.

Die Fruchtkörper der beiden *Pericystis*formen, welche in den eben besprochenen Kreuzungsversuchen bei variierender Temperatur entstanden waren, wurden zu Messungen benutzt, die den Zweck hatten, einen eventuellen Zusammenhang zwischen Temperatur und Fruchtkörpergrösse festzustellen. Die in Serien gemessenen Fruchtkörper (je 100 pro Temperatur für die kleinfrüchtige Form und je 250 für die grossfrüchtige) entstammten jeweils dem gleichen Elternpaar und waren gleichzeitig auf demselben Nährboden entstanden. Tab. VII und die

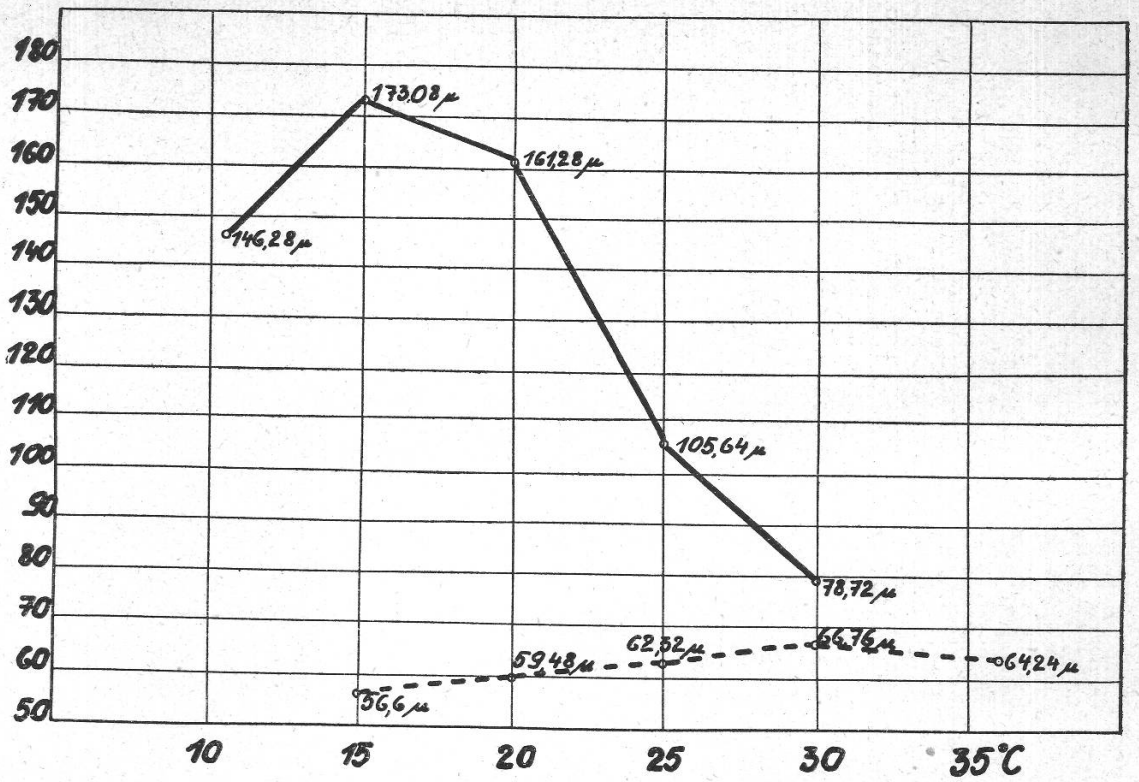


Fig. 12.
Einfluss der Temperatur auf die Fruchtkörpergrösse. Mittelwerte der Fruchtkörpergrösse von *Pericystis apis*.
——————— grossfrüchtige Form.
– – – – – – kleinfrüchtige Form.

graphische Darstellung in Fig. 12 enthalten die Ergebnisse dieser Messungen.

Tabelle VII.
Einfluss der Temperatur auf die Fruchtkörpergrösse der beiden *Pericystis*formen.

Temp.	Kleinfrüchtige Form			Grossfrüchtige Form		
	Mittelwert M. mit mittl. Fehler	Stand. abw. ς mit mittl. Fehler	Var. Koeff. v	Mittelwert M. mit mittl. Fehler	Stand. abw. ς mit mittl. Fehler	Var. Koeff. v
11° C.				146,28 ± 2,77	43,88 ± 1,95	29,99
15° C.	56,6 ± 1,71	17,16 ± 1,21	30,32	173,08 ± 3,23	51,28 ± 2,29	29,63
20° C.	59,48 ± 1,99	19,9 ± 1,33	33,46	161,28 ± 3,22	51,— ± 2,28	31,62
25° C.	62,32 ± 1,81	18,1 ± 1,27	29.05	105,64 ± 2,05	32,58 ± 1,4	30,84
30° C.	66,76 ± 2,38	23,83 ± 1,61	35,69	78,72 ± 2,42	19,66 ± 1,71	24,97
37° C.	64,24 ± 1,62	16,24 ± 1,14	25,28			

Der Mittelwert variiert bei beiden *Pericystis*formen mit der sich ändernden Temperatur, in dem Sinn, dass die grössten Fruchtkörper in der Nähe des Temperaturoptimums für Fruchtkörperbildung entstehen (bei 30° C für die kleinfrüchtige, bei 15° C für die grossfrüchtige Form). Je weiter sich die Temperatur von diesem Optimum entfernt, um so kleinere Fruchtkörper werden gebildet. Auch die auf S. 146 an-

gegebenen Mittelwerte des Fruchtkörperdurchmessers finden in der Kurve der Mittelwerte in Fig. 12 ohne weiteres den ihnen zukommenden Platz. Interessant ist ein Vergleich der Variationskoeffizienten der beiden *Pericystis*formen. Die scheinbar ausgeglichenere kleinfrüchtige Form weist hier nämlich Zahlen auf, welche diejenigen der grossfrüchtigen Form noch übertreffen. Es scheint auch ein gewisser Zusammenhang zwischen Temperatur und der Variabilität zu bestehen, denn der Variationskoeffizient ist bei beiden Formen bei optimaler Temperatur am grössten.

4. Zuckervergärung.

Neben dem Einfluss der Temperatur wurde noch das Verhalten der beiden *Pericystis*formen gegenüber verschiedenen Zuckerarten geprüft. Ich hatte zuerst ziemlich Mühe, einen geeigneten Nährboden zu diesem Zweck zu finden, denn der Pilz wächst im allgemeinen schlecht in synthetischen Nährlösungen. Die Coon-Lösung (Schopfer 1934) ergab schliesslich bei einer Zugabe von Hefeextrakt eine Nährflüssigkeit, in welcher beide *Pericystis*formen gut gediehen. Sie hatte folgende Zusammensetzung :

Asparagin	0,5 ‰
$MgSO_4$	0,5 ‰
KH_2PO_4	1,5 ‰
Hefe-Extrakt	1 ‰
Zucker	5 %

Als Hefeextrakt wurden zwei verschiedene Präparate ausprobiert : Bacto Yeast Extract der Difco Laboratories Detroit U. S. A. und « Cenovis » Hefeextrakt der Phag-Fabrik in Gland (Waadt). Letzteres erwies sich als günstiger für das Wachstum der *Pericystis*mycelien.

Die oben angeführte Nährlösung ohne Zucker wurde nun zu je 25 cm³ in 200 cm³ fassende Erlenmeyerkölbchen abgefüllt und im Autoklav sterilisiert. Die Zuckerlösungen (30 %) wurden für sich sterilisiert und dann steril zu je 5 cm³ in die Kölbchen abpipettiert, so dass diese schliesslich je 30 cm³ einer 5 % Zuckerlösung enthielten. Folgende Zuckerarten wurden auf ihre Vergärbarkeit geprüft : Arabinose, Mannit, Laevulose, Dextrose, Mannose, Galaktose, Saccharose, Maltose, Lactose, Dextrin und lösliche Stärke (alle Zucker waren von Merck bezogen worden). Als Impfmaterial diente eine Reihe von *Pericystis*-Stämmen beider Geschlechter und beider Formen, welche in Tab. VIII einzeln angeführt sind. Es stammte aus 3—4 Tage alten Kulturen auf Bierwürzeagar. Um eine eventuelle Beeinflussung des pH in den Kölbchen durch etwa mitgerissene Stückchen von Bierwürzeagar auszuschalten, wurde beim Abimpfen stets Sorge getragen, dass nur Luftmycel auf die Impfnadel kam. In jeder Zuckerreihe blieb ein Kölbchen unbeimpft als Kontrolle und wurde während der ganzen Dauer (ein

Tabelle VIII.

Zuckervergärung der beiden *Pericystis*formen.

Nummer	Stämme	Arabinose		Mannit		Laevulose		Dextrose		Mannose		Galaktose		Saccharose				Maltose		Lactose				Dextrin		Stärke		Nummer
														1		2				1		2						
		W.	pH	W.	pH	W.	pH	W.	pH	W.	pH	W.	pH	W.	pH	W.	pH	W.	pH	W.	pH	W.	pH	W.	pH	W.	pH	
1	450A	+++	5,1	++	6,8	+	3,1	++	3,0	++	5,1	+++	3,5	++++	6,2			+++	3,3	+++	6,8			0	6,0	0+	5,1	1
2	396/1	+	4,8	0	5,6	+	3,2	++	3,3	++	4,5	++	4,5	++	5,8			+++	3,5	infiziert				0	4,6	0	5,3	2
3	823	+++	3,9	0	5,7	0+	3,2	+	3,2	++	6,3	++	3,5	+++	6,3			+++	3,5	+++	3,8			0	4,6	0+	5,8	3
4	813															+	5,0					++++	3,8					4
5	132/1															++	6,4					+	6,5					5
6	765/3	+++	5—	+	6,9	+	3,5	+	3,5	++	6,3	++	3,5	++	3,5			++	3,5	++	6,8			+	4,3	+	5,4	6
7	184d	+++	4,5	++	6,5	+	3,5	++	3,4	++	6,3	+++	3,7	++	3,5			+++	3,4	++++	3,5			++	3,7	0	5,5	7
8	132/2															+	6,4					+	6,5					8
9	760															++	6,4					+	6,5					9
10	1130															+	6,4					++++	4,2					10
11	401	++++	4,5	++++	3,5	+	3,0	+++	3,0	+++	6,3	++++	3,8	++	2,8			++++	3,7	++	2,8			0	4,6	++++	4,4	11
12	488	++++	5,6	++++	3,7	+	2,8	++	2,8	++++	5,2	++++	3,5	+++	2,7			+++	4,2	+++	3,1			++++	3,5	++++	4,8	12
13	122—															++++	2,8					++++	3,2					13
14	77															++++	2,6					++++	3,1					14
15	788															++++	2,7					++++	3,1					15
16	791	++	6,5	++++	3,7	+	3,0	+++	3,0	+++	6,2	+++	3,5	++	3,0			++++	3,5	+++	2,9			++++	3,5	++++	3,8	16
17	597	+++	6,1	+++	4—	++	2,8	++	2,7	+++	6,3	+++	3,5	++	2,9			++++	4,3	+++	2,9			++	3,1	+++	3,2	17
18	122+															++++	2,8					++++	3,1					18
19	746									++++	5,9	++++	3,7			++++	2,8					++++	3,2					19
20	Kontr.		5,0		5,3		4,7		5,2		5,7		5,4		5,8		4,9		5,0		5,2		5,5		4,6		5,6	20

Wachstum: 0 = kein, 0+ = etwas, + = schwach, ++ = mittel, +++ = gut, ++++ = sehr gut.

Monat) des Versuches im Thermostaten (30° C.) mitbebrütet. Das pH der Nährlösung in diesen Kontrollkölbchen dient als Vergleichsbasis für die Beurteilung der Vergärung in den beimpften Kölbchen. Die pH-Bestimmung wurde nach einem einfachen kolorimetrischen Verfahren, das in unserer Anstalt von Karnicki und Dorner (1934) ausgearbeitet worden ist, ausgeführt. Die Einführung in diese Methode verdanke ich Fräulein M. Thöni. Es handelt sich dabei um einen kolorimetrischen Vergleich der zu untersuchenden Flüssigkeit mit Standardlösungen von bekanntem pH, in Tropfen auf einer weissen Glasplatte. Als Indikatoren wurden gebraucht: Thymolblau, Bromthymolblau, Bromkresolpurpur, Methylrot und Bromphenolblau. Das pH der Kontrollösungen wurde ausserdem noch elektrometrisch bestimmt. Die Resultate der Zuckervergärungsreihen enthält Tab. VIII. Neben dem pH ist für jeden Stamm auch die Intensität des Wachstums angegeben. Nummern 1—10 sind Stämme der grossfrüchtigen Form (und zwar 1—5 = Geschl. 1 und 6—10 = Geschl. 2). Nummern 11—19 sind Stämme der kleinfrüchtigen Form (11—15 = Geschl. —, 16—19 = Geschl. +), Rubrik 20 enthält die pH-Werte der Kontroll-Lösungen. Das Ergebnis des Zuckervergärungsversuches ist, dass von beiden *Pericystis*formen Laevulose, Dextrose, Galaktose und Maltose stark vergoren, dagegen Mannose nicht angegriffen wurde. Eine Ausnahmestellung scheinen Saccharose und Lactose einzunehmen. Von der kleinfrüchtigen Form stark vergoren, werden sie nur von einzelnen Stämmen der grossfrüchtigen angegriffen, von den meisten trotz gutem Wachstum gar nicht vergoren. Ist deshalb zwischen den beiden *Pericystis*formen in Hinsicht auf die Zuckervergärung ein Unterschied vorhanden, so ist er im Verhalten gegenüber diesen zwei Zuckern zu suchen.

Die Vergärung der übrigen Zucker hat schwankende Resultate ergeben, welche oft durch schlechtes Anwachsen der Stämme beeinflusst waren.

Zu erwähnen ist noch das Verhalten des Pilzes gegenüber Stärke. Die kleinfrüchtige Form wuchs in den Stärkekölbchen gut, und hatte auch eine merkliche Änderung des pH der Nährflüssigkeit hervorgerufen (Tabelle VIII). Die Stämme der grossfrüchtigen Form dagegen wuchsen sehr schlecht. Ich wiederholte deshalb den Versuch auf festem Nährboden. Zu der *Coon*lösung wurde ausser Hefeextrakt, 1,5 % Agar und 0,1 % löslicher Stärke zugesetzt. Die Kulturen wurden in Petrischalen als Riesenkolonien angelegt und wuchsen alle gut an. Nach 10 Tagen kontrollierte ich die Kulturen durch Übergiessen der Platten mit Lugolscher Lösung. Von allen geprüften Stämmen (5) der kleinfrüchtigen Form wurde die Stärke weitgehend abgebaut. In der Mitte der Platte zeigte sich keine Stärkereaktion mehr, sondern nur eine durch die Lugolsche Lösung gelblich gefärbte runde Fläche, an welche

sich nach aussen ein roter und weiter ein violettroter Ring anschlossen. Am Rand der Riesenkolonie ging dieser in die violette Färbung der unabgebauten Stärke über. Bei den Stämmen der grossfrüchtigen Form war der Stärkeabbau schwächer und ging nur bis zur Rotfärbung (Dextrine).

IV. Zusammenfassung.

1. Der Pilz *Pericystis apis* ist weiter verbreitet im Bienenvolk, als man bisher angenommen hatte. Seine Verbreitung deckt sich dabei nicht mit der Verbreitung der von ihm erzeugten Krankheit der Bienenlarven (Kalkbrut), d. h. er ist nicht nur im kranken, sondern auch im gesunden Volk zu finden.
2. Es bestehen nebeneinander zwei verschiedene Formen von *Pericystis apis,* deren Kreuzung bis jetzt nicht gelungen ist. Die beiden *Pericystis*formen unterscheiden sich morphologisch (Fruchtkörpergrösse, Anhängsel) und physiologisch (Temperaturoptimum der Fruchtkörperbildung) von einander. Von *Pericystis alvei,* dem Pollenschimmel, sind sie deutlich verschieden.
3. Wir bezeichnen diese beiden *Pericystis* als « klein- und grossfrüchtige Form » ohne vorläufig eine Artentrennung durchzuführen.

V. Literaturverzeichnis.

Betts, A. D., 1912. A bee hive fungus. Ann. of Bot. Vol. XXVI, No. CIII.

Claussen, P., 1921. Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen über den Erreger der als Kalkbrut bezeichneten Krankheit der Bienen. Arb. aus der Biol. Reichstanst. f. Land- und Forstwirtschaft, B. X., H. 6.

Gäumann, E., 1926. Vergleichende Morphologie der Pilze. Jena.

Johannsen, W., 1913. Elemente der exakten Erblichkeitslehre mit Grundzügen der biologischen Variationsstatistik. 2. Aufl., Jena.

Karnicki, F. und Dorner, W., 1934. Die Milchsäurebakterienflora der in der schweizerischen Käserei üblichsten Lab- und Kulturarten. Landw. Jahrbuch der Schweiz. S. 1079—1100.

Maurizio, A., 1934. Ueber die Kalkbrut (Pericystis-Mykose) der Bienen. Arch. f. Bienenkunde. B. XV., H. 5, S. 165—191.

Morgenthaler, O., 1932—1934. Jahresberichte über Bienenkrankheiten. Schweizerische Bienenzeitung.

Schopfer, W. H., 1934. Recherches sur les caractères physiologiques d'une Mucorinée. Les caractères sexuels secondaires d'ordre physiologique. Ber. der Schweiz. Bot. Ges. B. 43, H. 2, S. 157—172.

Varitchak, B., 1932. L'évolution nucléaire chez Pericystis apis Maassen. Comptes rend. de L'acad. des Sciences. Paris, T. 194, S. 300—302.