

(Aus dem Botanischen Institut in Münster i. W.)

## Beiträge zur Entwicklungsgeschichte von *Sphaerobolus*.

Von

**Franz Lorenz** (Gelsenkirchen).

(Hierzu 16 Textfiguren.)

---

Die Gattung *Sphaerobolus* hat wegen ihres eigenartigen anatomischen Baues und wegen ihres merkwürdigen Ausschleuderungsmechanismus schon früh ein besonderes Interesse gefunden.

Die erste Beschreibung dieser Gattung stammt von TODE (1806); die Entwicklungsgeschichte wurde aber erst 1884 von ED. FISCHER sorgfältig studiert. Die wichtigsten späteren Untersuchungen von LYDIA RABINOWITSCH (1894), T. P. PILLAY (1923) und L. B. WALKER (1927) sollen weiter unten berücksichtigt werden.

Das für diese Arbeit zur Verfügung stehende Material stammte teils aus der Umgebung von Münster und teils aus Wäldern bei Delden in Holland. Zwei amerikanische Arten aus Lincoln, Jowa, verdanke ich der Freundlichkeit L. B. WALKER'S.

### A. Systematische Verhältnisse.

1. Vergleich der in der Literatur beschriebenen Formen mit dem eigenen Material.

Bei den älteren Autoren wie TODE (1806), FRIES (1828) und CORDA (1842), der eine Übersicht der damals vorhandenen Literatur über *Sphaerobolus* gibt, sind nur Angaben über eine einzige Art zu finden. Erst SACCARDO (1882) gibt eine Zusammenstellung der mittlerweile beschriebenen Arten, die ich der Übersicht halber in Tabellenform gebracht habe (Tabelle 1). Die Unterscheidungsmerkmale sind teilweise recht unbedeutend; da überdies fast jede

Größenangabe fehlt, ist es zweifelhaft, ob den einzelnen Autoren wirklich verschiedene Arten vorlagen. Auf Grund eigener Beobachtungen an Kulturen von *Sphaerobolus* scheint mir die Annahme berechtigt, daß die verschiedenen Arten der Literatur in Wahrheit nur Modifikationen von *Sphaer. stellatus* sind, ausgenommen *Sphaer. tubulosus* und *Sphaer. cyclophorus*. Von dem rundlichen *stellatus* unterscheidet sich *Sphaer. tubulosus* durch seine verkehrt eiförmige Gestalt. *Sphaer. cyclophorus* ist durch auffallende Körpergröße genügend gekennzeichnet. Die für die übrigen Formen angeführten Unterscheidungsmerkmale sind systematisch kaum verwertbar, wie folgende Beobachtungen an *Sphaerobolus*-Kulturen ergeben:

Tabelle 1.

Autoren	TODE	B. et Br.	DESM.	FRIES	BERK-CURT	FRIES
<i>Sphaerobolus</i>	<i>stellatus</i>	<i>rubidus</i>	<i>cyclophorus</i>	<i>tubulosus</i>	<i>epigaeus</i>	<i>stercorarius</i>
Form	kugelig-rund	rund	rund	eiförmig-cylindrisch	rund	rund
Äußere Hülle	rötlich, gelb erblassend, anfangs zottig bis haarig, dann kahl, glatt, fleischig	rötlich	rotgelbbraun, eingedrückt	geglättet	gefurcht	gepolstert, inkrustiert
Innere Hülle	dünn-durchscheinend, weißlich schimmernd, mit orangefabigem Ring	—	mit rot-haarig-goldig-gelbem Ring, sonst weiß	—	—	wie <i>stellatus</i>
Zipfel	5—8 gleichmäßig zugespitzt	mit unregelmäßiger Öffnung	mit lanzettlich spitzen Zipfeln bis über die Mitte	mit unregelmäßiger zerrissener Hülle	—	Öffnung unregelmäßig gezähnt
Größe	—	—	doppelt so groß wie <i>stellatus</i>	—	größer	—
Gleba	fleischig, gelblich	rot	—	heller als <i>stellatus</i>	—	wie <i>stellatus</i>

## Fortsetzung der Tabelle 1.

Autoren	TODE	B. et BR.	DESM.	FRIES	BERK-CURT	FRIES
Sporen	elliptisch-rund, 8—9,6 $\mu$	länglich 7,5 $\mu$	—	—	—	—
Fundort	Auf Holz und Mist	Auf Elefantentmist	Auf Wurzeln abgestorbener Gramineen	Auf trockenen Fichtenzweigen	Auf dem Boden zwischen Moosen	Auf Dünger

1. Zwar besitzt *Sphaer. stellatus* (TODE) im Zustand der Reife gewöhnlich eine glatte äußere Hülle, doch finden sich in ein und derselben Kultur nicht selten Fruchtkörper mit eingedrückter oder gefaltet-gefurchter äußeren Hülle.

2. Ebenso variabel ist die Färbung. FISCHER (1884) gibt ein etwas ins Rötliche spielendes Weiß an. Ebenso häufig erscheint aber die äußere Hülle der Fruchtkörper gelborange.

3. Umgekehrt ist die Färbung der inneren Hülle, besonders des ihr ansitzenden Annulus ein sehr konstantes Merkmal; über dessen Beschaffenheit ist aber nur für *Sphaer. stellatus* und *Sphaer. cyclophorus* bei CORDA (1842): *intus albido vel annulo aurantiaco cincto* und bei FRIES (1828): *... medio circulo rufo-aurantiaco cincto* eine Beschreibung zu finden.

4. Auch die Form des Aufreißens der Fruchtkörper ist als Merkmal unbrauchbar: wiederholt konnte ich bei *Sphaer. stellatus* statt der für gewöhnlich gleichmäßigen Zipfel unregelmäßige Öffnung feststellen.

5. Ebenso wie die Form der Zipfel schwankt auch die Zahl der Zähne beträchtlich. Nach einer Zählung der Zipfel von je 100 Fruchtkörpern der von mir später untersuchten Arten erhielt ich folgende Tabelle 2.

Tabelle 2.

Anzahl der Zipfel	Anzahl der Fruchtkörper von		
	<i>Sphaer. stellatus</i>	<i>Sphaer. tubulosus</i>	<i>Sphaer. grandis</i>
3	0	0	15
4	0	3	30
5	1	25	49
6	5	47	5
7	21	19	0
8	58	6	1
9	15	0	0

*stellatus*: Mittelwert  $M = 7,81, \pm 0,66$ ; *tubulosus*: Mittelwert  $M = 6,00, \pm 0,89$ ;  
*grandis*: Mittelwert  $M = 4,48, \pm 0,87$ .

6. Charakteristisch für die einzelnen Arten ist die Form und Größe der Sporen, die auch bei starken Habitusänderungen konstant bleiben (Tabelle 3).

Tabelle 3.

Art	Sporenmaße	M-Wert aus je 30 Messungen
<i>Sphaer. stellatus</i>	7,5—9/5,5—6,5 $\mu$	9,0/5,7 $\mu$
<i>Sphaer. tubulosus</i>	8,7—10/5,5—7 "	9,6/6,5 "
<i>Sphaer. grandis</i>	9—11/4—5 "	10,6/4,7 "
<i>Sphaer. jowensis</i>	6—10/5—6 "	8/5,6 "

Die von früheren Autoren angegebenen Sporenmaße sind häufig widerspruchsvoll. Masse von 4,15  $\mu$ , wie sie CORDA (1842) für *Sphaer. stellatus* angegeben hat, hat kein späterer Autor bestätigen können.

7. Fundorte bzw. das Vorkommen auf besonderem Substrat sind nicht charakteristisch. *Sphaerobolus* gedeiht auf künstlichen wie auf den verschiedensten natürlichen Nährböden gut.

Die oben angegebenen Untersuchungsmerkmale für die Formen *rubidus*, *epigaeus* und *stercorarius* sind demnach systematisch unbrauchbar; sie liegen sämtlich in der Variationsbreite von *Sphaer. stellatus*.

## 2. Beschreibung der untersuchten Arten.

*Sphaer. stellatus* (Fig. 1) stand mir in vier Standortstrassen zur Verfügung. Die ersten Fruchtkörperanlagen dieser Art treten als weiße, zottig behaarte, mehr oder weniger kugelige Gebilde aus dem Substrat hervor. Unter stetiger Vergrößerung

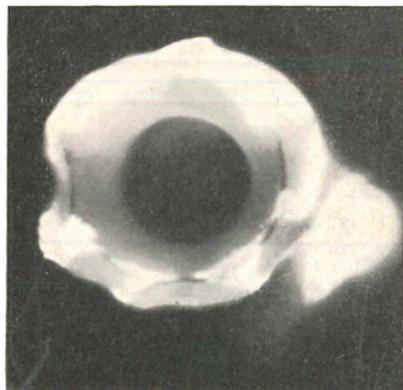


Fig. 1. *Sphaer. stellatus*.

erhebt sich der Fruchtkörper, die zottige Schicht durchbrechend, sodann deutlich über das Substrat und erreicht eine Größe von 1—1,6, 0,9—1,4 mm, wobei seine äußere Farbe ein etwas in rötlich spielendes Weiß (FISCHER, 1884) ist. Die ausgewachsenen kahlen, gewöhnlich glatten Fruchtkörper öffnen sich meist in den Morgenstunden (bis 9 Uhr), indem die Kugeln vom Scheitel her in 7—9, gleichmäßigen, spitzen Zipfeln aufbrechen, die sich nach auswärts umbiegen, wodurch die weißgraue Innenseite mit dem orangeroten Annulus und die in der Mitte gelegene braune (nach CORDA (1842) schwarze) Gleba sichtbar werden. In den Mittagsstunden stülpt sich die innere Peridie des geöffneten Fruchtkörpers nach außen um, wodurch die bloßgelegte Gleba in die Höhe geschleudert wird. Die Gleba enthält in einem formlosen Schleim eingebettet Sporen von elliptischer Form von 7,5—9/5,5—6,5  $\mu$

Größe. Diese häufigste Form wurde sowohl auf Dünger als auch auf den verschiedensten Holzarten gefunden. Die Fruchtkörper werden zerstreut über das Substrat verteilt angelegt. Die Art ist in Österreich, Deutschland, Holland, Frankreich, Schweiz und Amerika wiederholt gefunden worden.

Aus der Umgebung von Delden erhielt ich Fruchtkörper (Fig. 2), die eine verkehrt eiförmige-zylindrische Gestalt besaßen. Dieselbe Form trat auch in einem der Gewächshäuser des Botanischen Gartens in Münster auf Holzkörbchen auf, in

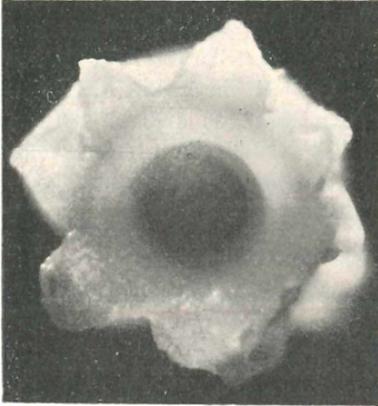


Fig. 2. *Sphaer. tubulosus*.

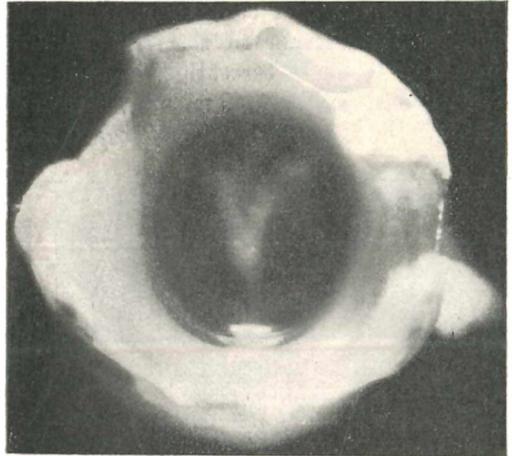


Fig. 4. *Sphaer. grandis* n. sp.

denen Orchideen kultiviert werden, ähnlich wie das Material wachsend, das PILLAY (1923) bei seinen Untersuchungen zur Verfügung stand. Die Fruchtkörper treten unter den gleichen Bedingungen wie *stellatus* auf künstlichem Substrat kultiviert

stets in zusammengeballten Gruppen, gleichsam in Haufen auf und sind mit der Spitze in das Mycel eingesenkt. Folgende Skizze (Fig. 3) stellt die verschiedenen Wachstumsformen von *stellatus* und der in Delden gefundenen Art dar. Die äußere Hülle ist anfangs weiß; sie zerreißt in viel früheren Stadien als bei *stellatus* und läßt einen oben abgerundeten kahlen und glatten Fruchtkörper mit 5–8 (gewöhnlich sechs) ungleichmäßigen Zipfeln sichtbar werden. Oft ist die Öffnung asymmetrisch und zum Teil gedreht, was wohl durch die gehäufte Fruchtkörperbildung bedingt ist. Die äußere Hülle ist dickfleischig, die innere dünn, weißgrau, mit einem orangeroten bis orangegelben Annulus versehen. Die Gleba ist gegenüber der von *stellatus* heller, von gelblichbrauner Farbe. Die Form ist mit 1,8–2,2/1,5–1,7 mm größer als die von *stellatus*. Auch in der Sporengöße ist diese Form mit 8,7–10,5/5,5–7  $\mu$  von *stellatus* verschieden. Die von SACCARDO (1882) gegebene Diagnose von *Sphaer. tubulosus* paßt auf diese Form.

Keine Identifizierung auf Grund der bei SACCARDO (1882) oder anderen Autoren sich findenden Beschreibung kann für eine weitere Form (Fig. 4) erreicht werden, die



Fig. 3. Fruchtkörperwuchsform von *Sphaer. stell. u. tubulosus*.

sich durch runde Fruchtkörper von 1,8—2,5/1,8—2,2 mm von allen erwähnten Formen unterscheidet. Die äußere, wenig fleischige Peridie von weißgelber Farbe ist behaart und mit oxalsaurem Kalk inkrustiert. Die innere Peridie ist schmutzig weiß gefärbt und hat am Grunde einen gelben bis gelbgrünen Annulus. Bei der Reife bricht der Fruchtkörper mit unregelmäßiger Öffnung auf. Die Peridie wird dabei gewöhnlich in 4—5 tiefen, weit über die Mitte reichenden Zipfeln gespalten, die ihrerseits ungespalten oder 1—2mal auf etwa die halbe Länge geschlitzt sind. Die Gleba ist von dunkel braunrot bis braunschwarzer Farbe; ihre Kammern sind im Gegensatz zu den anderen europäischen Formen auch im reifen Zustande noch zu erkennen. Diese Kammern sind mit zylindrischen Sporen von 9—11/4—5  $\mu$  Größe angefüllt. Wenn es berechtigt ist, *Sphaer. stellatus* und *tubulosus* als selbständige Arten anzusprechen, dann muß auch dieser neuen Form der Artcharakter zugebilligt werden. Die folgenden Untersuchungen zeigen, daß sie sich in ihrem Entwicklungsgang ebenso von den anderen Formen unterscheidet wie in ihrer morphologischen Beschaffenheit. Sie sei im folgenden als *Sphaer. grandis* bezeichnet.

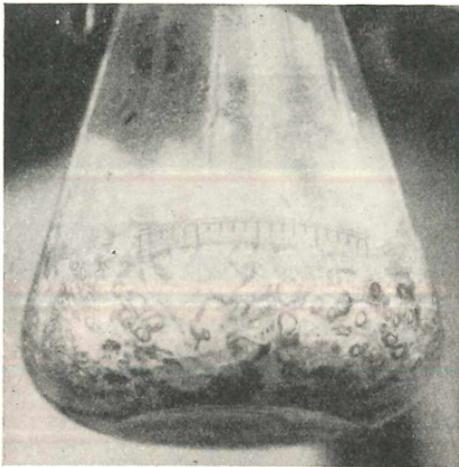


Fig. 5. Abnorme Fruchtkörperbildung von *Sphaer. stell.* Fundort Amerika.

Die europäischen Arten konnte ich mit drei amerikanischen vergleichen, die mir in liebenswürdiger Weise Prof. WALKER zusandte, wofür ich ihm auch an dieser Stelle danken möchte.

Die von ihm mit *Sphaer. stellatus* bezeichnete Form stimmt im wesentlichen mit der europäischen überein. Hinsichtlich der Farbe der Gleben ist ein Unterschied vorhanden; sie ist schwarzbraun bei der amerikanischen Form, gelbbraun bei der europäischen. Eine *gigas*-Mutante der amerikanischen Form trat in einer Kultur auf Pferde-

mist auf. Wie auf beigefügter Photographie (Fig. 5) sichtbar ist, zeichnen sich die Fruchtkörper durch besondere Größe mit 6—10 mm (gewöhnlich 7 mm) aus. Um diese abnorme Entwicklung zu veranschaulichen, füge ich folgende Tabelle 4 bei, die die Gewichte der einzelnen Gleben in mgr. wiedergibt, in der die abnorme Form mit *Maximus* bezeichnet ist. Beim Abimpfen bleibt der Riesenwuchs auch in der folgenden Generation erhalten. Cytologische Untersuchung auf eventuelle Polyploidie ist in Arbeit.

Tabelle 4.

<i>Sphaeropolus</i>	<i>stellatus</i>	<i>tubulosus</i>	<i>grandis</i>	<i>jowensis</i>	<i>Maximus</i>	
Variationsbreite	0,18—0,39	0,43—0,59	0,98—1,59	0,53—0,83	3,72—5,16	Gleba- gewichte in mgr.
Mittelwert aus 30 Messungen	0,25	0,48	1,26	0,64	4,18	

Die von WALKER (1927) bezeichnete Form *Sphaer.* var. *giganteus* ist mit der eben beschriebenen nicht identisch. Sie ist nur 3—4 mm groß und durch lange Entwicklungsdauer und spärliche Fruchtkörperbildung ausgezeichnet. Es ist wahrscheinlich, daß var. *giganteus* mit *Sphaer. cyclophorus* (DESMAZIERES, 1828—1830) identisch ist.

Eine gewisse Ähnlichkeit mit *Sphaer. grandis* zeigt die dritte amerikanische Form *Sphaer. jowensis*. In der Farbe der äußeren und inneren Peridie wie des Annulus stimmen beide überein. Die reifen Fruchtkörper brechen ebenso unregelmäßig in 3—8 (gewöhnlich vier) Zipfeln auf, und die Gleba zeigt stets die bleibende innere Kammerung. Jedoch ist *Sphaer. jowensis* viel kleiner (1—1,5 mm). Auch das Gewicht der Gleben ist deutlich verschieden (vgl. Tabelle 4). Ferner unterscheidet sich *Sphaer. jowensis*: by the entire absence of a gelatinous layer in its outer peridium. Seine elliptische Sporenform sowie die Sporengröße von 6—10/5—6  $\mu$  (gewöhnlich 8/5—6  $\mu$ ) genügt zur sichersten Abgrenzung gegenüber *Sphaer. grandis*. Weitere Unterscheidungsmerkmale treten in dem Entwicklungsgang auf, wie spätere Untersuchungen zeigen werden.

Zur Übersicht lasse ich die bis heute bekannten und gesicherten scheinenden Arten in einem Schema geordnet folgen, wobei ich *Sphaer. rubidus*, *epigaeus* und *stercorarius* ausscheide, *Sphaer. cyclophorus* gleich *stellatus* var. *giganteus* setze und die neue Form als *Sphaer. grandis* anführe. Die Eingliederung der Mutante *Maximus* bleibt vorbehalten.

Tabelle 5.

Autoren	TODE	DESM.	FRIES	WALKER	n. sp.
<i>Sphaerobolus</i>	<i>stellatus</i>	<i>cyclophorus</i> = var. <i>giganteus</i> (WALKER)	<i>tubulosus</i>	<i>jowensis</i>	<i>grandis</i>
Form	rund	rund	verkehrt eiförmig- cylindrisch	rund	rund
Außere Hülle	weißrötlich, fleischig, an- fangs haarig, dann kahl	weißrötlich wie <i>stellatus</i>	rötlichgelb- weiß, ge- glättet, kahl	weißgelblich kahl	weißgelblich haarig, wenig fleischig, inkrustiert
Innere Hülle	weißgrau mit orange- rotem Annulus	wie <i>stellatus</i>	wie <i>stellatus</i>	weiß mit gelbem An- nulus	weißgelb mit gelbgrünem Annulus
Zipfel	6—9 gew. 8 gleichmäßig, sehr spitz	lanzettlich, spitz 6—8	5—8 gew. 6 ungleich- mäßig, abge- stumpft	3—8 gew. 4—5 un- gleichmäßig, spitz	3—8 gew. 4—5 un- gleichmäßig, spitz
Größe in mm	1—1,6 /0,9—1,4	3—4	1,8—2,2 /1,3—1,7	1—1,5 /0,9—1,2	1,8—2,5 /1,8—2,2
Farbe der Gleba	gelblich- braun	wie <i>stellatus</i>	heller als <i>stellatus</i>	braun	dunkelbraun schwarzbraun
Sporengröße und Form	7,5—9 /5,5—6,5 $\mu$ elliptisch	6—8/5—7 $\mu$ fast rund	8,7—10 /5,5—7 $\mu$ elliptisch	6—10/5—6 $\mu$ oval	9—11/4—5 $\mu$ länglichlich- cylindrisch

## 3. Kulturversuche.

Um die Konstanz der Formen zu prüfen, ist es notwendig, sie unter gleichen Bedingungen zu kultivieren. Reinkulturen gelingen auf Malzagar (1 ccm Biomalz + 30fache Menge Aqua dest. + 1,8 bis 2% Agar-Agar).

Keimung setzt am Tage nach der Impfung bei den bei einer Durchschnittstemperatur von 19,8° gehaltenen Kulturen in allen Röhrcchen ein, wobei es gleichgültig ist, ob die ausgeworfene Gleba oder Mycelfäden übergeimpft werden. Es ist also keine Ruhepause der Gleba nötig. Im Wachstum des Mycels treten deutliche Unterschiede bei den einzelnen Arten zutage. Die Mycelien von *Sphaer. grandis*, *jovensis* und *cyclophorus* breiten sich viel langsamer in den ersten drei Tagen über den Nährboden aus als die von *stellatus* und *tubulosus*. *Sphaer. grandis* holt die Verzögerung auf, so daß er nach sieben Tagen die anderen erreicht oder sogar übertrifft. Die folgende Tabelle gibt die Mittelwerte der Mycel-Längendurchmesser, gewonnen aus je sieben Kulturen der fünf Arten während 40 Tagen wieder.

Tabelle 6.

Art	7	14	20	27	35	45	60	Anzahl der Tage
<i>stellatus</i>	0,5	2,4	3,1	4,0	5,6	7,0	9,2	Mycellänge in cm
<i>tubulosus</i>	0,7	2,5	3,3	4,1	5,5	6,6	7,9	
<i>grandis</i>	0,7	2,9	4,0	5,4	—	8,2	10,0	
<i>jovensis</i>	0,4	1,2	2,2	3,0	3,8	4,5	6,0	
<i>cyclophorus</i>	0,3	0,8	1,2	1,6	2,4	2,8	3,0	

Wie in der Ausbreitung so treten auch ganz besonders in der Beschaffenheit der Mycelhäute während der Entwicklung Unterschiede zutage. *Stellatus*, *tubulosus* und *cyclophorus* bilden Rasen von fädigem, netzartig aussehendem Mycel, das aus dünnen Fäden besteht, deren Durchmesser zwischen 1,5 und 4  $\mu$  Breite variiert, Maße, die auch FISCHER (1884) für den Hyphendurchmesser angibt. Die Impfstelle stellt einen kleinen Sockel dar, um den

Fig. 6. Mycelwuchsform von *stell.*

sich das Mycel flächenförmig ausbreitet (Fig. 6). In den ersten acht Tagen nach der Impfung zeigt *Sphaer. grandis* ebenfalls diese Form der Mycelbildung. Doch werden die Hyphen in geringer Entfernung von der Impfstelle dichter und zahlreicher angelegt, so daß sich ein Wall von ineinander verflochtenen Hyphen bildet und die erhöhte Impf-

stelle in einer Art Mulde liegt. Solche Mycelhäufung = Wallbildungen (Fig. 7) wiederholen sich in ungleichen Abständen, und ich konnte 3—4 solcher Zonen häufig, einmal sechs derselben zählen. Diese Wälle treten in den Kulturen der anderen Formen niemals auf; sie sind nicht mit den Ringen oder

Fig. 7. Mycelwuchsform von *grandis*.

Zonen zu verwechseln, welche periodisch in allen Kulturen auf Nähragar auftreten. Die Hyphen selbst unterscheiden sich im Durchmesser nicht von denen der anderen. Bei *jowensis* sind die Hyphen auffallend eng miteinander verflochten und mehr in die Luft gewachsen, so daß ein watteähnlicher Belag mit flockiger-gekröseartiger Oberfläche entsteht (Fig. 8).

Fig. 8. Mycelwuchsform von *Sphaer. jowensis*.

Zeitlich bei den einzelnen Formen verschieden treten in dem Mycel Fruchtkörper auf. Wie man aus folgender Tabelle 7 sieht, bleibt *grandis* und *jowensis* zwei bis drei Monate hinter den anderen Arten zurück.

Tabelle 7.

Art	Anfänge von Fruchtkörperbildung	Beginn des Ausschleuderns der Gleben
<i>stellatus</i>	in 23 Tagen	in 60 Tagen
<i>tubulosus</i>	„ 12—16 „	„ 23—30 „
<i>grandis</i>	„ 70 „	„ 120 „
<i>jowensis</i>	„ 120 „	„ 192 „

Dieses Verhalten gilt jedoch nur für Malzagar-Nährböden, während auf Holz die einzelnen Arten sich verschiedenartig verhalten, was später ausführlicher behandelt werden soll. Die Entwicklung der Fruchtkörperanlagen vollzieht sich bei *tubulosus* innerhalb einer Woche, während *stellatus* und *grandis* mehr als fünf Wochen bis zur Reife benötigen. Bei *stellatus* sind die Fruchtkörper stets über die gesamte Mycelfläche unregelmäßig verteilt und treten in großer Anzahl auf; ich zählte gleichzeitig in einem Röhrchen bis 130, gewöhnlich 80—100 Fruchtkörper. Bei *grandis* und *jowensis* sind die Fruchtkörper ebenso unregelmäßig auf der Mycelfläche verstreut, jedoch werden bedeutend weniger, nur 8—25 Fruchtkörper gebildet. Bei *tubulosus* treten die Fruchtkörper in zusammengeballten Gruppen,

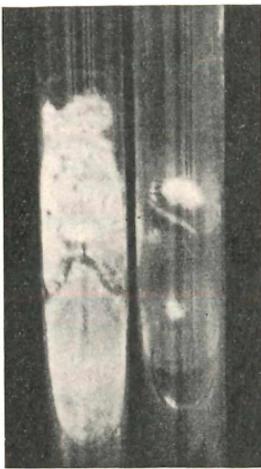
gleichsam in Haufen auf. Nicht selten entsteht eine große Gruppe, die 40—50 Fruchtkörper enthält, daneben bilden sich kleinere Gruppen aus 10—20 Fruchtkörpern. Die Angaben von WALKER (1927) über die spärliche Fruchtkörperentwicklung bei *Sphaer. cyclophorus* kann ich bestätigen; nur in drei Kulturen erhielt ich überhaupt Fruchtkörper und stets in geringer Anzahl (5—7); aus diesem Grunde ist *cyclophorus* in obiger Tabelle nicht berücksichtigt.

Das Öffnen der Fruchtkörper geschieht stets in den Morgenstunden; in der Mittagszeit stülpt sich die innere Hülle nach außen, wodurch die Gleba fortgeschleudert wird. In den meisten Fällen vergeht zwischen dem Vorgang des Öffnens der Fruchtkörper bis zum Ausschleudern eine Zeit von 2—2,5 Stunden.

Ich fasse zusammen: Die Entwicklungsgeschichte der fünf Arten zeigt Unterschiede:

1. in der Mycelbildung,
2. in der Fruchtkörperbildung.

Auch auf Grund dieser Differenzen erscheint die Annahme, *Sphaer. grandis* als Art den anderen gegenüber zu stellen als berechtigt.



a            b

Fig. 9. a) Trennungszone von Mycelien verschiedener Arten.

b) Überwachsungszone von Mycelien beim Zusammenimpfen gleicher Arten.

Bei Beimpfung eines Röhrchens erhielt ich folgende Verhältnisse: Impft man zwei Gleben derselben Form zusammen, so wachsen die Mycelien ineinander über, wobei die Überwachsungszone durch größere Dichte erkennbar wird (Fig. 9 b). Verwendet man jedoch zwei verschiedene Arten beim Zusammenimpfen, so tritt eine feine Trennungszone in den Mycelflächen auf (Fig. 9 a), die auch in späteren Entwicklungsstadien noch wahrnehmbar ist. Die Mycelien verschmelzen nicht miteinander. Das Verhalten von *Sphaer. grandis* bei Zusammenimpfung mit den anderen Arten stützt die Berechtigung, dieselbe als besondere Art aufzufassen.

## B. Physiologisch-ökologische Verhältnisse.

### 1. Einwirkung von Temperatur und Licht.

Stets ist nach KLEBS (1896) die Fruchtkörperbildung eines Organismus abhängig von einer Reihe äußerer Faktoren.

Bezüglich ihrer Abhängigkeit vom Licht unterscheidet BREFELD (1889) im wesentlichen drei Pilzgruppen:

Zur ersten Gruppe gehören die Pilze, die ohne Einwirkung von Licht Fruchtkörper entwickeln. Zur zweiten Gruppe rechnet er die Formen, die im Dunkeln Fruchtkörper anzulegen vermögen, aber nicht bis zur Reife bringen. Ihre normale Entwicklung soll an die Einwirkung blauen Lichtes gebunden sein. Die Pilze der dritten Gruppe zeigen in Dunkelheit stets ein steriles Mycel. Ihre Fruchtkörperbildung soll von dem Zutritt weißen oder roten Lichtes abhängig sein. *Sphaerobolus* gehört zur letzten Gruppe, deren Mycelien im Dunkeln ganz steril bleiben. ED. FISCHER (1884) zeigte bereits, daß durch Lichtabschluß das Wachstum der Fruchtkörper vollständig gehemmt wird, daß aber für das Öffnen derselben das Licht nicht notwendig ist.

Während die Fruchtkörperbildung bei Lichtabschluß unterbleibt, zeigt das Mycel ein erhöhtes Wachstum, das bei Temperatursteigerung noch gefördert wird. Einen Vergleich der Kulturen, gehalten bei 19,8° und 29° und gewöhnlichem Licht oder Dunkelheit nach 40 Tagen Versuchsdauer gestattet nachstehende Tabelle 8. In dieser Tabelle sind die unter normalen Verhältnissen erreichten Durchschnittsradien der Mycelien gleich 100 gesetzt und die in Dunkelheit bzw. erhöhter Temperatur erhaltenen in Prozenten der Normalradien ausgedrückt.

Tabelle 8.

<i>Sphaerobolus</i>	gew. Licht	Dunkelheit	gew. Licht	Dunkelheit
	19,8°	19,8°	29°	29°
	%	%	%	%
<i>stellatus</i>	100	112	63	130
<i>tubulosus</i>	100	120	87	143
<i>grandis</i>	100	129	116	181

Unter Lichtabschluß nimmt das Mycel absonderliche Formen an. Es bilden sich besonders aus dem Substrat hervorwachsende Luftmycelien in Form von starken Bändern, bei *stellatus* meist spitzdreieckig oder hirschgeweihförmig, während bei *tubulosus* und *grandis* am Rande der Kulturflächen sich lange unverzweigte Fäden bilden (Fig. 10).

Ganz enorm gesteigert wird das Wachstum in den bei Dunkelheit und erhöhter Temperatur gehaltenen Kulturen. Doch lassen die drei Arten graduelle Unterschiede in ihrem Verhalten erkennen; bei *stellatus* und *tubulosus* tritt eine Wachstumsteigerung um 30 bis

40 Proz. auf, dagegen wird bei *grandis* die Mycelbildung sogar um 80 Proz. gefördert.

Gerade entgegengesetztes Verhalten aber zeigen die drei Arten in Kulturen bei gewöhnlichem Licht und erhöhter Temperatur: Starke Hemmung in der Mycelentwicklung bei *stellatus* und *tubulosus*, dagegen Förderung bei *grandis*.

Ähnlich wie das Wachstum der Hyphen verhält sich die Fruchtkörperbildung. Nachstehende Tabelle 9 stellt die Ergebnisse einer Kultur dar, die nach 120 Tagen abgebrochen wurde. Es ist einerseits die Zeit bis zum Beginn der Fruchtkörperbildung und bis zum Ausschleudern der Gleben, andererseits die Anzahl der ausgeschleuderten Gleben berücksichtigt.

Tabelle 9.

Art	Temperatur	Anfänge der Fruchtkörperbildung	Ausschleudern der Fruchtkörper	Anzahl nach 120 Tagen
<i>stellatus</i>	19,8°	in 26 Tagen	in 40 Tagen	98 66 121 285
	29°	„ 40 „	—	0
<i>tubulosus</i>	19,8°	„ 16—19 „	„ 23—30 „	139 158 166 463
	29°	„ 30—33 „	„ 50 „	58 26 46 130
<i>grandis</i>	19,8°	„ 75 „	„ 120 „	2 6 11 19
	29°	„ 50 „	„ 75—80 „	62 40 78 180

Bei erhöhter Temperatur werden demnach bei *stellatus* Fruchtkörper nach einer Verzögerung von zwei Wochen angelegt; doch nicht nur die Zeit bis zur Fruchtkörperentwicklung wird verlängert, auch zeigt sich die hemmende Wirkung der erhöhten Temperatur darin, daß die in geringer Anzahl (6, 13, 9) angelegten Fruchtkörper nicht bis zur Reife kommen. Sie sehen stark gerunzelt wie vertrocknet aus, obwohl die Kulturen in einem sehr feucht gehaltenen Gewächshaus stehen. Eine Verzögerung sowohl in der Bildung als auch in der Reifung der Fruchtkörper tritt auch bei *tubulosus* auf. Während ich in den bei einer Durchschnittstemperatur von 19,8° gehaltenen Kulturen in einem Röhrchen z. B. 158 ausgeworfene Gleben

zählte, hatten sich bei einer Temperatur von 29° in demselben Zeitabschnitt nur 42 Fruchtkörper geöffnet. Günstig beeinflußt erhöhte Temperatur die Fruchtkörperbildung von *grandis*. Während unter gewöhnlichen Verhältnissen in 120 Tagen sich nur eine geringe Anzahl von Fruchtkörpern öffnet, wird durch Temperaturerhöhung einerseits die Anzahl der Fruchtkörperanlagen bedeutend vermehrt, andererseits vollzieht sich ihre Reife in einer weit kürzeren Zeit. Offenbar ist *Sphaer. grandis* höheren Temperaturen angepaßt, denn sowohl in der Mycelentwicklung als auch in der Fruchtkörperbildung wird diese Art durch Temperatursteigerung günstig beeinflußt, während unter denselben Bedingungen in dem Wachstum der Mycelien wie der Fruchtkörper bei den Arten *stellatus* und *tubulosus* eine Hemmung eintritt.

## 2. Einfluß der Reaktion des Nährsubstrates.

Es wurden im folgenden Kulturen angelegt, um zu prüfen, welchen  $p_H$  *Sphaerobolus* bevorzugt. Biomalznährböden werden mittels 2proz. Schwefelsäure und 2proz. Natronlauge so eingestellt, daß sich ihr  $p_H$  von Stufe zu Stufe um 0,3 Einheiten unterscheidet, und hierauf gleichzeitig beimpft. In der folgenden Tabelle ist der Mittelwert des Myceldurchmessers von *Sphaer. tubulosus* für jeden  $p_H$ -Wert aus je 4 Kulturen nach 60 Tagen Versuchsdauer angegeben (Reihe 1); Reihe 2 und 3 stellen 2 Wiederholungen des Versuches zu späteren Zeitpunkten dar.

Tabelle 10.

	pH-Wert														Mycel- länge in cm nach 60 Tagen
	3,7	4,0	4,3	4,6	4,9	5,2	5,5	5,8	6,1	6,4	6,7	7,0	7,3	7,6	
Reihe 1	6,6	8,2	8,1	9,0	9,9	9,9	10,5	9,5	10,2	10,0	10,3	10,1	9,6	8,8	
Reihe 2	7,8	8,9	8,3	9,0	9,2	8,5	10,0	9,6	10,2	10,1	10,1	10,3	8,8	7,0	
Reihe 3	7,8	8,6	7,8	8,8	9,1	9,5	9,8	10,0	10,7	10,3	10,2	10,1	9,2	8,2	
M-Wert	7,4	8,57	8,07	8,93	9,4	9,3	10,1	9,7	10,4	10,1	10,2	10,2	9,2	8,0	

Von der stark sauren Seite bis zur neutralen Reaktion findet eine stete Wachstumsteigerung statt. Das Optimum liegt in der schwach sauren bis neutralen Zone; gegen die alkalische Seite hin wird die Mycelentwicklung spärlicher. Unterschiede in der Beschaffenheit und Wuchsform des Mycels treten nicht auf.

Um den  $p_H$ -Einfluß auf die Fertilität zu ermitteln, wird die Anzahl der im Verlauf von 120 Tagen ausgeschleuderten Gleben festgestellt. Tabelle 11.

Tabelle 11\*).

	pH-Wert														Anzahl der gebildeten Fruchtkörper
	3,7	4,0	4,3	4,6	4,9	5,2	5,5	5,8	6,1	6,4	6,7	7,0	7,3	7,6	
Reihe 1	112	152	195	203	181	208	247	228	243	225	198	133	19	0	
Reihe 2	80	119	127	146	158	146	187	194	236	291	244	99	24	4	
Reihe 3	94	148	123	195	163	191	222	207	286	288	282	110	27	2	
M-Wert	95,3	139,6	161,7	181,3	167,3	181,7	218,7	209,7	282,3	268	241,3	114	23,3	3	

\*) Versuchsanordnung wie für Tabelle 10.

Wie bei dem Mycelwachstum liegt auch hier das Optimum in der schwach sauren Zone. Nimmt der Säuregehalt des Nährsubstrates zu, so nimmt die Fruchtkörperbildung ab. Bei pH 7,6

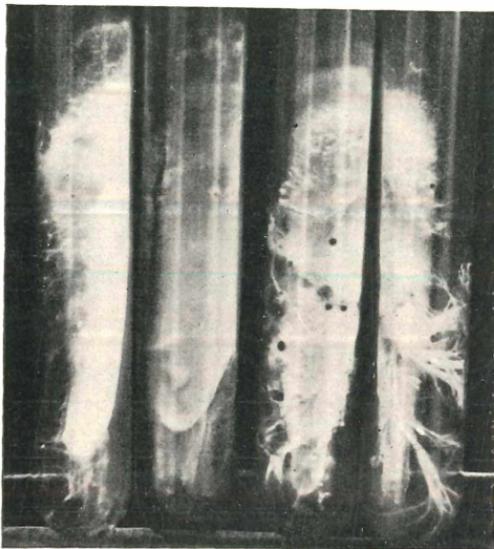


Fig. 10. Mycelwachstum bei Dunkelheit.

werden noch zahlreiche Fruchtkörper als kleine, weiße Kugeln angelegt, bleiben aber auf dieser Entwicklungsstufe stehen. Bei pH 8,2 sind keinerlei Fruchtkörperbildungen mehr zu beobachten. Fig. 11.

Während auf der sauren Seite die Anzahl der ausgeschleuderten Gleben mit der Zunahme des Aziditätsgrades allmählich abnimmt, verringert sich ihre Menge von der neutralen bis schwach alkalischen Reaktion plötzlich.

### 3. Wachstum auf Holz.

Da *Sphaerobolus* in der Natur auf Holz oder Mist wachsend gefunden wird, liegt es auf der Hand, Vergleichskulturen auf solchen natürlichen und künstlichen Nährböden anzusetzen.

Die Eignung eines Substrates wurde beurteilt;

1. Auf Grund der Zeit, die bis zur Fruchtkörperbildung verstreicht;
2. auf Grund der Zahl der gebildeten Fruchtkörper.

Gleichmäßig zugeschnittene Stückchen von frischen oder morschen abgestorbenen Hölzern werden in Reagenzgläsern, die eine genügende Menge Aqua dest. enthalten, bei 130° sterilisiert und sodann mit frisch ausgeworfenen Gleben von *Sphaer. grandis* beimpft. Keimung ist nach 2 Tagen in allen Röhren zu beobachten. Im weiteren Verlauf der Entwicklung bilden sich auf den frischen Holzstückchen dichte, weitausgebreitete Mycelflächen, während auf den morschen Hölzern dünne fädige Mycelrasen entstehen. Die Abhängigkeit des Wachstums vom Nährboden tritt noch deutlicher bei der Fruchtkörperbildung zutage, wie folgende Tabelle 12 zeigt.

Tabelle 12.

Holzart	Zustand	Anfänge von Fruchtkörperbildung	Beginn des Ausschleuderns	Anzahl der Gleben	Verhältnis
<i>Abies cephalonica</i>	frisch	nach 40 Tagen	nach 61 Tagen	68	5/1
	morsch	„ 55 „	„ 89 „	13	
<i>Larix decidua</i>	frisch	„ 38 „	„ 66 „	17	2/1
	morsch	„ 56 „	„ 86 „	9	
<i>Ulmus campestris</i>	frisch	„ 43 „	„ 72 „	106	2/1
	morsch	„ 56 „	„ 94 „	69	
<i>Fagus silvatica</i>	frisch	„ 36 „	„ 50 „	192	3/1
	morsch	„ 56 „	„ 94 „	61	
<i>Quercus rubra</i>	frisch	„ 30 „	„ 52 „	178	3/2
	morsch	„ 42 „	„ 79 „	118	

Die Fruchtkörper bilden sich auf frischem Holz zeitlich eher als auf morschem; entsprechend reifen dieselben auf frischem Holz früher. Außerdem besteht ein Unterschied vom Beginn der Fruchtkörperbildung bis zum Beginn des Ausschleuderns.

Nach 7 Monaten Versuchsdauer werden die ausgeworfenen Gleben gezählt; das Ergebnis zeigt die dritte Rubrik der obigen Tabelle. Es sind im Durchschnitt ungefähr doppelt so viel Fruchtkörper in den auf frischem Holz gezogenen Kulturen zur Reife gekommen wie in denen auf morschem Holz. Offenbar ist eine Verarmung an denjenigen Nährstoffen eingetreten, deren *Sphaerobolus* bedarf. Mag auch die Summe organischer Substanz im frischen und morschen Holz nicht sehr verschieden sein, so scheinen doch solche Veränderungen in der Form dieser Substanzen sich abgespielt zu haben, daß dadurch für *Sphaerobolus* Mangel an erschließbaren Nährstoffen aufgetreten ist. Wenn trotzdem *Sphaerobolus* im Freien nur auf abgestorbenem Holz gefunden wird, so liegt der Grund hierfür also

nicht darin, daß der Pilz bestimmter, beim Absterben gebildeter Abbauprodukte des Holzes bedürfe, sondern darin, daß lebende Gewebe dem Pilzeintritt Widerstand entgegensetzen.

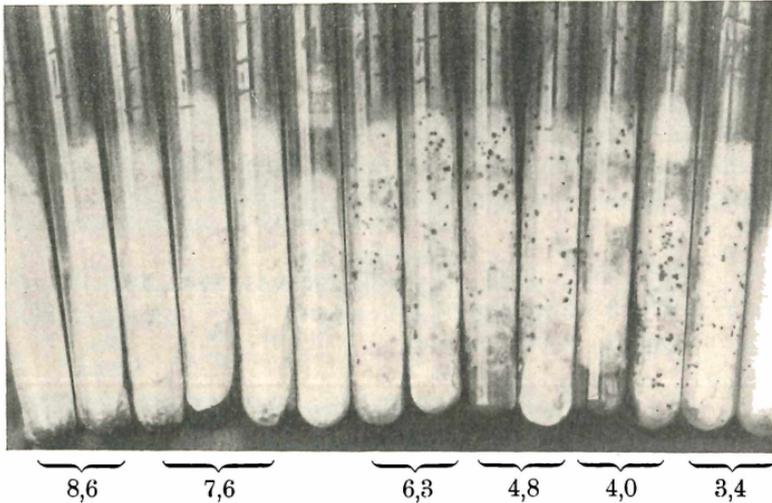


Fig. 11. Fruchtkörperbildung bei verschiedenen pH-Werten.

Die Eignung verschiedener Holzarten als Nährsubstrate ergibt sich aus der folgenden Versuchsreihe, bei der nur frisches Holz zur Verwendung kam.

Tabelle 13.

Art	Anfang der	<i>Picea excelsa</i>	<i>Larix decidua</i>	<i>Abies cephalonica</i>	<i>Abies pectinata</i>	<i>Pinus silvestris</i>	<i>Quercus rubra</i>	<i>Alnus glutinosa</i>	<i>Ulmus campestris</i>	<i>Fagus sylvatica</i>	M-Wert
<i>stellatus</i>	Fruchtkörperbildung	112	56	68	59	75	32	60	58	58	64
	Ausschleuderung	148	86	96	97	85	57	84	84	77	90
<i>tubulosus</i>	Fruchtkörperbildung	99	24	34	25	42	26	48	22	28	38
	Ausschleuderung	121	46	56	59	56	43	60	47	44	59
<i>grandis</i>	Fruchtkörperbildung	96	38	44	46	56	38	79	33	35	51
	Ausschleuderung	114	63	61	88	78	67	92	54	56	75

(Die eingetragenen Zahlen geben an, wieviel Tage nach der Impfung Fruchtkörperbildung zuerst beobachtet wurde.)

Zunächst ergibt sich, daß *Sphaer. tubulosus* auch auf natürlichen Nährböden eine kürzere Generationsdauer hat als die anderen Arten; zweifellos ist also die Generationsdauer als genotypisch bedingtes Merkmal zu werten. Ein Unterschied im Verhalten auf natürlichem

und künstlichem Nährboden tritt bei *stellatus* und *grandis* auf; der erstere zeigt geringeres Mycelwachstum auf Holz und dementsprechend geringere Fruktifikation. Ein sehr dichtes, weit verbreitetes Mycel entwickelt dagegen *Sphaer. grandis*. Er gelangt auf Holz viel früher zur Fruchtkörperbildung und die Anzahl der ausgeschleuderten Gleben beträgt das Vielfache von der auf Malzagar. Auf Nadelholz zeigt *Sphaerobolus* ein wenig entwickeltes Mycel; dichtflockige, weit ausgebreitete Mycelien enthalten dagegen die Kulturen auf Laubhölzern. Entsprechendes Verhalten tritt bei der Fruchtkörperbildung auf.

Tabelle 14.

Art	<i>Picea excelsa</i>	<i>Larix decidua</i>	<i>Abies cephalonica</i>	<i>Abies pectinata</i>	<i>Pinus silvestris</i>	<i>Quercus rubra</i>	<i>Alnus glutinosa</i>	<i>Ulmus campestris</i>	<i>Fagus sylvatica</i>	Holzart
<i>stellatus</i>	2	23	18	4	5	69	177	40	123	Anzahl der ausgeschleuderten Gleben
<i>tubulosus</i>	11	56	124	126	31	167	69	201	126	
<i>grandis</i>	12	17	63	54	18	165	24	103	176	

Die Gesamtzahl der in 120 Tagen auf Laubholz und auf Nadelholz gebildeten Fruchtkörper verhält sich wie  $360 : 113 = 3 : 1$ .

*Stellatus* entwickelt die größte Anzahl Fruchtkörper auf *Alnus glutinosa*, während *tubulosus* und *grandis* auf dem gleichen Substrat zurückbleiben. Günstig für alle drei Arten erweist sich *Fagus sylvatica*. *Quercus rubra* und *Ulmus campestris* sind geeignet für *tubulosus* und *grandis*; der erstere zeigt auch gefördertes Wachstum auf *Abies*.

Als Nährböden von mittlerer Güte erweisen sich die in der Tabelle nicht angeführten Hölzer: *Salix alba*, *Populus tremula* und *Tilia vulgaris*.

#### 4. Wachstum auf Pferdemist.

Ein Gemisch von Pferdemist und Sägemehl oder nur Pferdemist erweist sich als besonders günstiger Nährboden für *Sphaerobolus*. Es setzt zunächst eine stärkere Mycelentwicklung ein, wobei sich aber Eigentümlichkeiten der Arten wie Muldenbildung von *Sphaer. grandis* als konstant erweisen. Die vegetative Entwicklung wird mächtig gefördert, der Anfang der Fruchtkörperbildung hinausgeschoben. Ich habe bei *Sphaer. tubulosus* in vier ERLÉNMEYER-Kolben mit Biomalzagar bereits 514 ausgeschleuderte Gleben gezählt, während in gleich-

alterigen Kolben mit Pferdemist die Fruchtkörperanlagen eben sichtbar aus den Mycelflächen heraustreten. *Sphaer. tubulosus* zeigt auf diesem Nährboden die für ihn typische gehäufte Fruchtkörperbildung, während bei *stellatus* und *grandis* wie auf Biomalz-Nährböden die Fruchtkörper zerstreut auf den Mycelflächen auftreten.

Obwohl die Mycelien in Dunkelheit gut gedeihen, so erweisen sie sich bei Licht deutlich positiv phototropisch; daß sie trotzdem ins Substrat eindringen, ist auf das Überwiegen des positiven Hydro- und Chemotropismus zurückzuführen. Auch auf die Achse der Fruchtkörperanlagen ist, wie schon WALKER bemerkt hat, die Lichtrichtung von Einfluß.

Die Fruchtkörper sind zum Lichte hin gerichtet, und ihre Gleben werden in der Lichtrichtung ausgeschleudert. Sind die Fruchtkörper einmal angelegt, so läßt sich ihre Richtung nicht mehr ändern. Dreht man die ERLLENMEYER-Kolben, nachdem genügend Fruchtkörper angelegt sind, um 180°, so ändern nun die Fruchtkörper ihre eingenommene Lage nicht mehr, sondern es werden jetzt die Gleben auf die dem Lichte abgewandte Seite geschleudert.

### C. Morphologie und Entwicklungsgeschichte.

Ich wende mich nun der Morphologie und Anatomie des einzelnen Fruchtkörpers zu. Beide sind bereits von ED. FISCHER (1884), RABINOWITSCH (1894), PILLAY (1923) und WALKER (1927) untersucht worden, bedürfen aber in einigen Einzelheiten der Ergänzung.

Der reife Fruchtkörper zeigt eine Differenzierung in eine Anzahl von äußeren Hüllen und einen zentralen Teil. Aus fünf aufeinanderfolgenden Schichten setzt sich die Peridie zusammen. Die äußere Schicht schon von PITRA (1870) untersucht und Mycelialschicht genannt, vergleicht RABINOWITSCH (1894) mit der Volva der Phallaceen, da diese, bestehend aus eng verflochtenen und durch eine gallertartige Zwischensubstanz verquollenen Hyphen gleichsam wie ein Becher den Fruchtkörper von der Basis aus umfaßt. Durch eine Zone von parallel zur Oberfläche gelegenen Hyphen geht die Mycelialschicht in eine gallertfreie, luftinterstitienreiche Hülle über, die sog. Pseudoparenchymsschicht. Durch auffallend eng verflochtene Hyphen ist die nach innen folgende dritte Schicht = Faserschicht charakterisiert, welche am Scheitel nur ganz schwach entwickelt ist, an der Basis aber eine Dicke von 30—40  $\mu$  erreichen kann. Gegen innen folgt der Faserschicht die Kollenchymsschicht aus radial gestellten und eng aneinander schließenden Hyphen. Sie macht

während der Entwicklungszeit die bedeutendsten Veränderungen durch, da sie in frühen Stadien wenig ausgeprägt, in entwickelten Fruchtkörpern dagegen die durch ihre Dicke auffälligste Schicht ist. Durch das starke Flächenwachstum dieser Hülle wird das sternförmige Aufreißen des Fruchtkörpers bedingt. Ausführliche Untersuchungen über das Öffnen der Peridie und den Ausschleuderungsmechanismus liegen von ED. FISCHER (1884) und neuerdings von WALKER (1923 und 1925) vor, auf deren Veröffentlichungen hingewiesen sei. Ohne auffallenden Unterschied geht die Kollenchymschicht in die Sporangialwand über, die den zentralen Teil = Gleba umgibt.

Morphologisch durch ihre braune Farbe und anatomisch durch die an der Peripherie liegenden Cystiden ist die Gleba scharf von der Peridie getrennt. Mit der fortschreitenden Entwicklung findet in der Gleba eine Differenzierung in ihre Elemente, Cystiden, Gemmen, Basidien und Sporen statt.

Es gelingt sehr leicht, Gleben auf natürlichen und künstlichen Nährböden zur Keimung zu bringen. Gleichsam die Rolle einer einzigen Spore übernehmend treibt die Gleba eine große Anzahl von Hyphen aus, die bereits nach 24 Stunden einen zarten, weißlichen Saum an ihrer Oberfläche bilden. Wegen des undurchsichtigen Schleimes, der die Gleba anfüllt, war es FISCHER (1884) nicht möglich, sich darüber zu unterrichten, ob das auf der Gleba auswachsende Mycel seinen Ursprung aus Gemmen oder Sporen nahm. Zur Beantwortung dieser Frage werden Gleben aus jungen, noch geschlossenen Fruchtkörpern herauspräpariert, diese mit der Nadel zerrissen und in Tropfenkulturen beobachtet. Die innerhalb zweier Tage gut gekeimten Glebateilchen werden nun mit Anilinblau gefärbt und mikroskopiert. In diesen jungen Gleben sind weder ausgebildete Sporen noch Gemmen vorhanden, vielmehr zeigt sich der Inhalt noch als ein eng verflochtenes Hyphengeflecht mit Anfängen von Basidienbildungen. Solche Hyphen wachsen in hängenden Tropfen aus und verzweigen sich. Stets sind diese Hyphen paarkernig und besitzen typische Schnallenbildungen. Auch in eben ausgeworfenen, älteren Gleben konnte ich stets noch intakte Hyphen besonders an der Peripherie beobachten. Ob diese Hyphen sich noch an der Bildung des Keimmycels beteiligen können, läßt sich an reifen Gleben dagegen nicht mehr mit Sicherheit feststellen, denn jetzt sind große Sporenmassen und bereits keimende Gemmen vorhanden, wodurch das Bild zu kompliziert geworden ist.

Als Gemmen bezeichnet ED. FISCHER (1884) keulenförmig angeschwollene und sich später ablösende Hyphenenden. In Quetschpräparaten sehen wir Hyphen, deren Ende prall mit Plasma angefüllt ist (Fig. 14, 1—3), während der rückwärtige Teil kollabiert; offenbar hat sich der größte Teil des Plasmas der Hyphe apical angesammelt. Häufig treten unterhalb der bald sich abschnürenden noch seitliche, armartige Ausstülpungen auf, die ebenfalls Plasma in großer Menge enthalten (Fig. 14, 4). Auch an diesen kleinen Verzweigungen wird wie am Hyphenende durch Querwandbildung eine zylindrische, oft nur halbkreisförmige Zelle abgeschnürt, die sich in der Folge vergrößert und eine schlauchförmige bis elliptische Gestalt annimmt. Sie entziehen dabei offenbar der jetzt permeabel werdenden Traghyphe Wasser und Nährstoffe, so daß diese inhaltsleer wird und allmählich degeneriert. Dadurch werden die Gemmen frei und liegen als selbständige Gebilde von verschiedenartiger Form in der Gleba (Fig. 14, 5).

Schon in der Gleba gehen die Gemmen in Keimung über, sogar in Leitungswasser keimen sie gut. Die weiteren Vorgänge verlaufen bei allen Arten so, wie ED. FISCHER (1884) und PILLAY (1923) es für *stellatus* beschrieben haben. Die Keimschläuche der Gemmen wachsen sehr schnell, Verzweigungen treten häufig auf; sie sind wie die Gemmen zweikernig und tragen an den Querwänden deutlich Schnallenbildungen (Fig. 14, 6—10). Sicherlich sind Gemmen bei der normalen Keimung der gesamten Gleba in großer Anzahl beteiligt.

### 3. Basidientwicklung.

Über die Entstehung und Entwicklung der Basidien schreibt ED. FISCHER (1884). „Von der Trama gehen Zweige verschiedener Länge ab, welche häufig stark lichtbrechenden Inhalt führen und ihrerseits verzweigt sind. An ihren Enden tragen sie Basidien.“ Auch PILLAY (1923) sieht die Basidien endständig entstehen.

Ich habe hingegen mit wenigen Ausnahmen, in denen die Frage nicht eindeutig zu entscheiden war, keine Basidienbildung an den Hyphenenden beobachten können. WALKER (1927) geht auf diese Frage selbst nicht ein, aber seine Zeichnungen (Tafel 25 Fig. 5) kann ich zur Bestätigung meiner Beobachtungen heranziehen. An gefärbten Quetschpräparaten wie an Mikrotomschnitten läßt sich die Basidienbildung gut verfolgen.

Als Material wird zunächst nur *Sphaer. tubulosus* in allen Entwicklungsstadien teils in FLEMMING'scher teils in CARNOY'scher Lösung fixiert. Bei Behandlung mit FLEMMING schrumpfen die Objekte leicht, und es treten in den Basidien häufig Ver-

klumpungen auf; daher wird CARNOY'sche Fixierung vorgezogen. Auch mit dem Gemisch nach BOUIN werden keine besseren Ergebnisse erzielt. Als Färbemethode wird HEIDENHAIN'sche Hämatoxylin-Färbung mit gutem Erfolg angewandt, wobei durch eine Nachfärbung mit Lichtgrün eine besondere Klarheit der Bilder erzielt wird. Vor der Färbung erweist sich Beizung der Schnitte in 1proz. Chromsäure

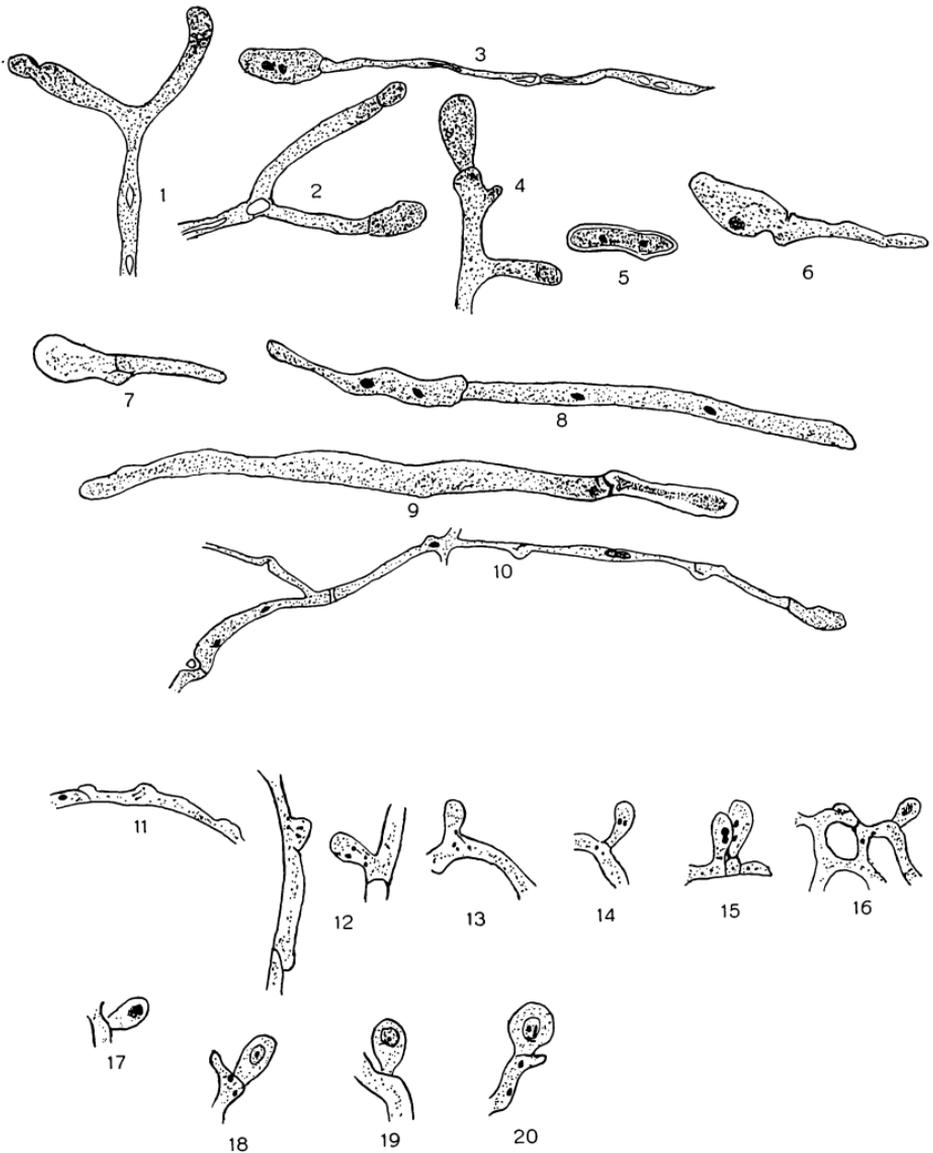


Fig. 14. 1, 2, 4 Gemmenentwicklung. 3 Junge Gemme mit degenerierenden Hyphenfäden. 5 Reife, abgelöste Gemme mit zwei Kernen. 6—7 Anfang der Gemmenkeimung. 8—9 Gemmenkeimschläuche. 10 Gemmenmycel (1 : 450). 11—13 Stadien der Basidienbildung. 14—15 Basidien mit zwei Kernen. 16—20 Basidie mit dem diploiden Kern.

als vorteilhaft. Auch die Färbung nach MAN ist brauchbar, vor allem anzuwenden, um die verschiedenen Schichten der Peridie klarzustellen.

An den Wandungen der Tramazellen, die Paarkernigkeit und häufig eine deutliche Schnallenbildung zeigen, werden kleine seitliche Ausstülpungen beobachtet (Fig. 14, 11—14). Besonders deutlich sind solche Bilder in jungen Gleben zu sehen. Mit der Bildung der Ausstülpung setzt gleichzeitig eine Kernteilung ein, wodurch die Ähnlichkeit des Bildes mit der Vorstufe der Schnallenbildung sehr groß ist. Jedoch erfolgt keine Querwandbildung senkrecht zur Hauptachse der Hyphe, sondern die sich vergrößernde Ausstülpung oder junge Basidie, in welche zwei Kerne wandern, wird durch eine Basalwand abgeschnürt. Stadien von jungen Basidienbildungen stellen Fig. 14, 15—16 dar. Durch das Auftreten der Basidien seitlich an den Trama-hyphen ist die Möglichkeit der nesterweisen Anordnung der Basidien gegeben. In älteren Fruchtkörperstadien sind die Trama-hyphen sehr verkürzt, und fast jede Zelle ist an der Basidienbildung beteiligt, wie es Fig. 14, 16; Fig. 15, 61, 62 anschaulich zeigen. In den jungen Basidien treten, wie bereits erwähnt, zwei Kerne auf, die sich mit dem Heranwachsen nähern, um zu verschmelzen. Der Fusionskern ist von beträchtlicher Größe (3—4  $\mu$ ) (Fig. 14, 16—20). PILLAY (1923) vertritt die Ansicht, daß der Fusionskern kein Ruhestadium durchmacht, sondern sich sofort weiter teilt. WALKER (1927) ist entgegengesetzter Meinung: „In all four forms examined in these studies the fusion nucleus persists a considerable time and is the most conspicuous stage observed.“ Da in meinen Präparaten die Basidien mit Fusionskernen Größenunterschiede von 3,5  $\mu$  (kleinste Basidie 5  $\mu$ , größte 8,5  $\mu$ ) aufweisen, so scheint der Schluß naheliegend, daß das Fusionsstadium längere Zeit erhalten bleibt, während welcher die Basidien an Größe zunehmen. Über das weitere Schicksal des Fusionskernes eine Aussage zu machen, ist schwierig, da Schnitte durch die reife Gleba Bilder von verwirrender Mannigfaltigkeit geben. Ein Fruchtkörper enthält ja zahlreiche Basidien verschiedener Entwicklungshöhe, die sich färberisch ganz verschieden verhalten, und die beim Schnitt in den verschiedensten Winkeln zu ihrer Achse getroffen werden. WALKER (1927) erwähnt das Vorhandensein von drei Teilungsschritten, welche der Fusionskern in der Basidie durchmacht. Dadurch komme es zur Ausbildung von vier bzw. acht Kernen, deren Größe im Falle der höheren Anzahl auf die Hälfte reduziert ist. Bei meinen Beobachtungen fallen unter den vielen, häufig kaum deutbaren Bildern einige dadurch auf, daß sie in charakteristischer Weise immer wiederkehren. Diese Bilder, für deren zeitliche Ordnung

allein die Größenverhältnisse der betreffenden Basidien und Kerne einen Hinweis geben, stehen zum mindesten mit WALKERS Interpretation seiner Präparate nicht im Widerspruch und geben keinen Anlaß, dem Normaltypus entsprechend an drei aufeinander folgenden Teilungsschritten in der Basidie zu zweifeln (MAIRE, 1902; KNIEP, 1913—1919; HANNA, 1929; KÜHNER, 1927).

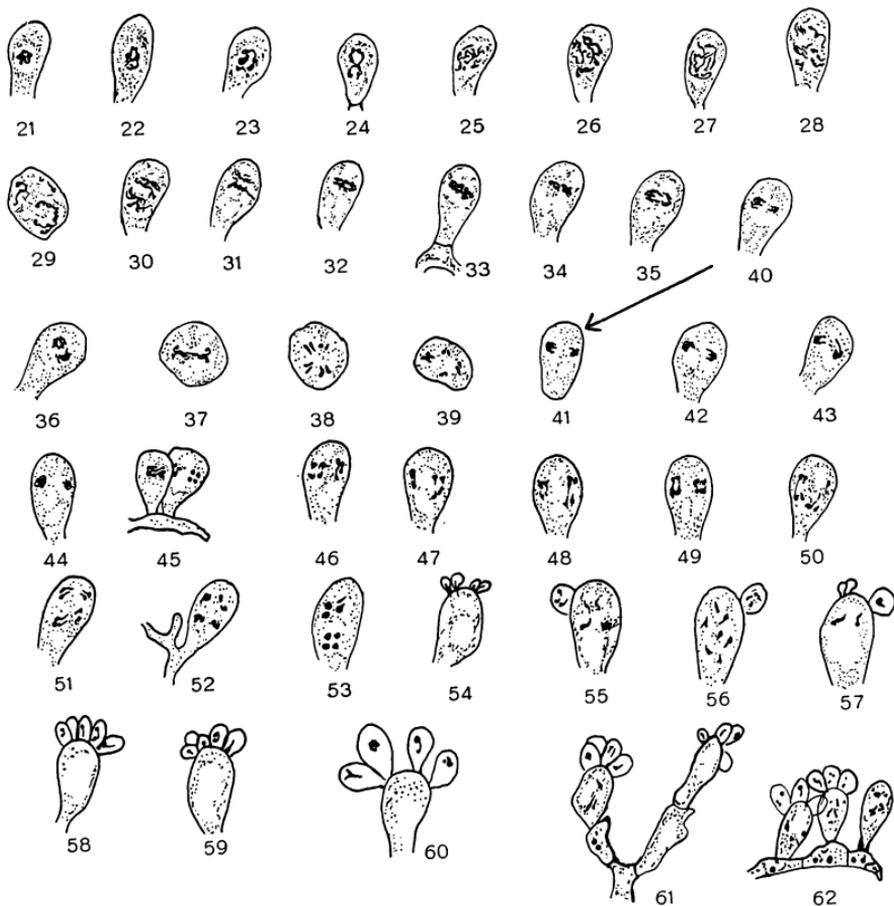


Fig. 15. 21—30 Verschmelzungskern im Spiremstadium. 31—36 Äquatorialplatten. 37—39 Aufsichtsbild der Äquatorialplatte. 40—43 Anaphase. 44—45 Vier Tochterkerne. 46—50 Zweiter Teilungsschritt. 51—52 Dritter Teilungsschritt. 53 Basidie mit acht Tochterkernen. 54—60 Stadien der Sporenbildung. 61—62 Sporentragende Basidien (1 : 450).

Fig. 15 (21—60) zeigt die beobachteten Bilder in der vermutlichen Reihenfolge ihrer Entwicklung. Es lassen sich die in Fig. 15, 21—30 wiedergegebenen Bilder als verschiedene Stadien des Kernzerfalles deuten; der zunächst einheitlich erscheinende Faden

wird bald unregelmäßig und scheint sich in fortschreitender Entwicklung in kommaförmig verdickte Einzelstücke aufzulösen, die in einigen Bildern (Fig. 15, 25—30) unregelmäßig in der gesamten Basidie, in anderen (Fig. 15, 31—39) äquatorialplattenartig angeordnet sind, wobei undeutlich bleibt, ob 6 oder 8 solcher Chromatinkörper vorhanden sind. Häufig findet man Bilder (Fig. 15, 40—43) mit einer quer in der Basidienspitze liegenden Spindel. Fig. 15, 44—45 zeigen Zusammenballungen der stark gefärbten Teilchen, jedoch scheinen sie in diesem Zustand nicht sehr lange zu verharren, da sie nur selten zu finden sind, sondern unternehmen vermutlich weitere Teilungen. So lassen sich die in Fig. 15, 46—50 wiedergegebenen Bilder als anschließende Teilungsphasen und ebenso die Fig. 15, 51—53 als Stadien einer dritten Teilung deuten. Infolge der Vielzahl der auftretenden Chromatinpartikel waren diese Bilder nie recht deutlich. Von den acht so gebildeten Tochterkernen liegen vier im unteren und vier im oberen Basidienteil (Fig. 15, 53) von zunächst rundlicher Gestalt. Fig. 15, 54—60 scheinen die Einwanderung der nun spindelstäbchenförmig werdenden Kerne in die sich bereits ausstülpenden Sporen darzustellen.

Ob die beschriebenen Chromatinkörper als Chromosomen aufzufassen sind, muß bei ihrer, vielleicht nur durch Verklebung bedingten, schwankenden Zahl offengelassen werden.

#### 4. Sporenentstehung.

Die Angaben über die Anzahl der sich an einer Basidie bildenden Sporen sind bei den früheren Autoren (FISCHER, 1884, LADISLAUS HOLLOS, 1904, MIGULA, 1910, PILLAY, 1923, WALKER, 1927) sehr verschieden; die Erklärung dafür liegt im folgenden. Die einzelnen Sporen an einer Basidie entwickeln sich nicht gleichzeitig, sondern nacheinander. Dabei trifft man häufig Sporen verschiedenen Entwicklungszustandes an derselben Basidie, und es kommt vor, daß die erst entwickelten, reifen Sporen bereits abgelöst sind, während die anderen noch nachreifen. So erhält man Bilder von Basidien mit 4, 5, 6, 7 oder 8 Sporen, am häufigsten 4—5. Es werden aber entsprechend den acht Basidienkernen stets acht Sporen an einer Basidie gebildet. PILLAY (1923) glaubte festzustellen, daß junge, noch an der Basidie sitzende Sporen einen einzigen Kern besitzen, dagegen reife stets zwei Kerne enthalten. WALKER (1927) bestätigt die Angaben von PILLAY: „The spores remain uninucleate for some time but many old spores seen in mature basidiocarps have two nuclei.“ In die junge Spore tritt nur ein stäbchenförmiger Kern, der in der rasch wachsenden Spore einige Zeit erhalten bleibt (Fig. 16,

63—67). In der Folge treten Kernveränderungen auf, die, wie sich durch Vergleich der Größenverhältnisse ergibt, wohl nicht als Kernteilungen sondern als Auflösung des Kerns in Teilstücke zu deuten sind. Daß diese Deutung berechtigt ist, dafür sprechen noch mehr als die rein optischen Bilder die weiter unten mitzuteilenden Studien an Einspormycelien, welche sich stets als einkernig erweisen. Fig. 16, 64—67 stellen Sporen mit stäbchenförmigen Kernen dar, die mit zunehmender Größe (bis  $5\ \mu$ ) in ihren Enden punktförmige Verdickungen aufweisen. Größere Sporen ( $5—8,5\ \mu$ ) zeigen dann die eben erwähnten Zerfallsbilder (Fig. 16, 68—92) des Kernes in Einzelstückchen, wobei sich zwei bis vier Teilstücke erkennen lassen und oft ein Kernteilchen die anderen an Größe übertrifft. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die kleineren Kernfragmente schließlich vom Plasma aufgenommen werden. Zur Zeit der Ablösung bleibt nur ein relativ großer Kern in der reifen Spore übrig. In Fig. 16, 93—96 sind solche ausgewachsene, unzweifelhaft einkernige Sporen wiedergegeben.

## D. Sexualität.

### 1. Sporenkeimung.

Besonderes Interesse bietet die Frage nach der Anzahl der Kerne in der keimenden Spore. Nach vergeblichen Versuchen mit Dekokten von verschiedenen Hölzern, Pferdemit + Sägemehl und je mit Extrakten, die aus *Sphaerobolus*-Fruchtkörpern gewonnen waren, wie auch mit Lösungen verschiedener Konzentrationen von Pepton und Pepsin wurde schließlich befriedigende Keimung auf Biomalzagar, dessen Oberfläche mit einer Pepsinlösung benetzt wird, erzielt. Die Kulturen werden zum Zweck direkter Beobachtung im hängenden Tropfen oder in PETRI-Schalen, sonst in ERLÉNMEIER-Kölbchen gehalten. Durch Schlemmen in Pepsinlösung wird Sporenmaterial isoliert und mit Hilfe einer sterilen Pipette auf Biomalzagar ausgesät. Keimungsversuche werden mit allen *Sphaerobolus*-Arten ausgeführt, wobei sich keinerlei grundsätzliche Unterschiede ergeben.

Von früheren Autoren liegen bereits Beobachtungen über Sporenkeimung vor, auf deren Ergebnisse zunächst eingegangen sei.

ED. FISCHER (1884) konnte schon eigentümliche Veränderungen an den in der Gleba liegenden Sporen feststellen. So fand er solche mit zahlreichen Vakuolen, solche mit stark gequollener Membran, wobei dann der Inhalt entweder ganz oder teilweise verschwunden war, und endlich andere, die nur aus einer dünnen Haut oder

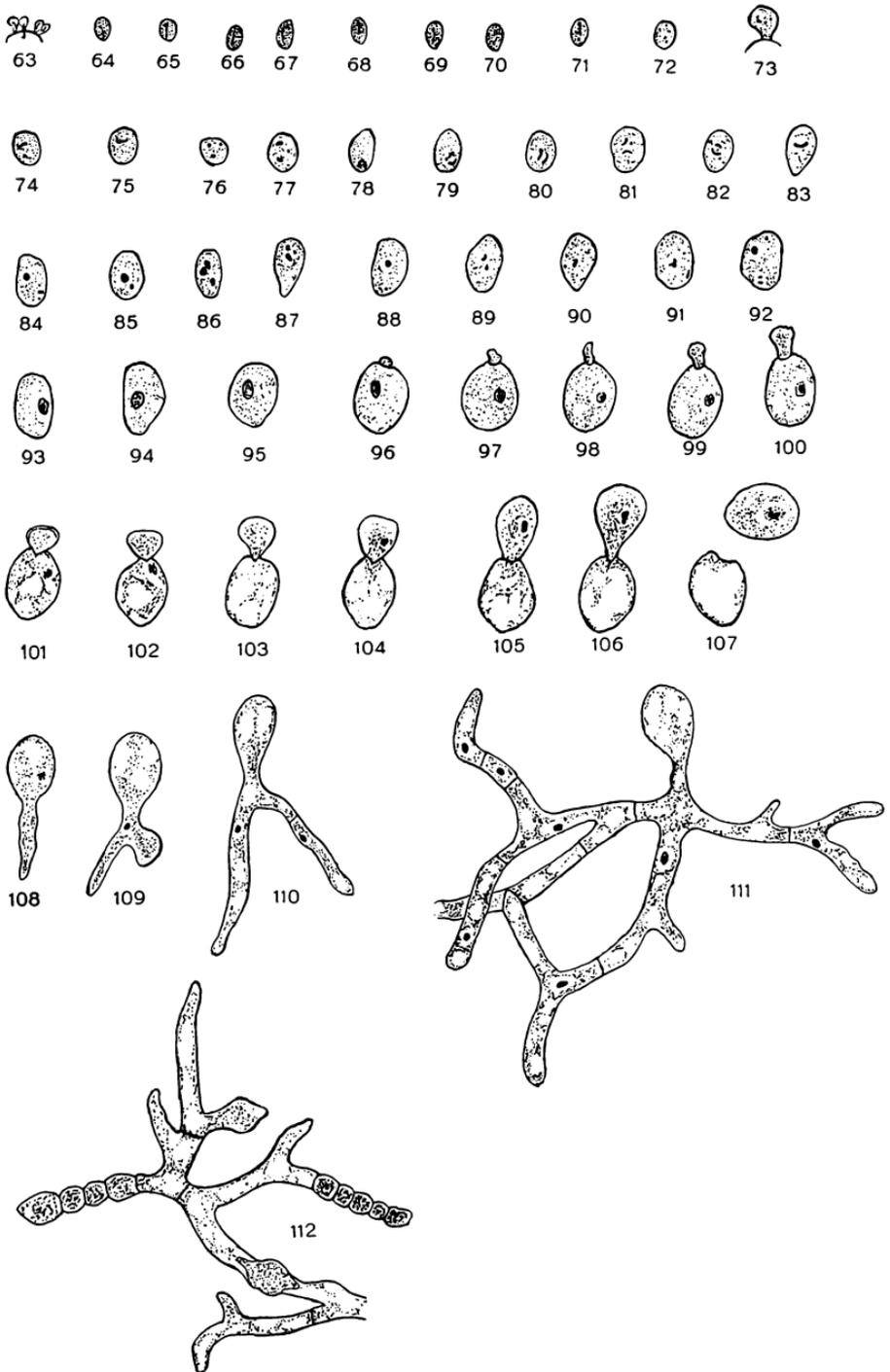
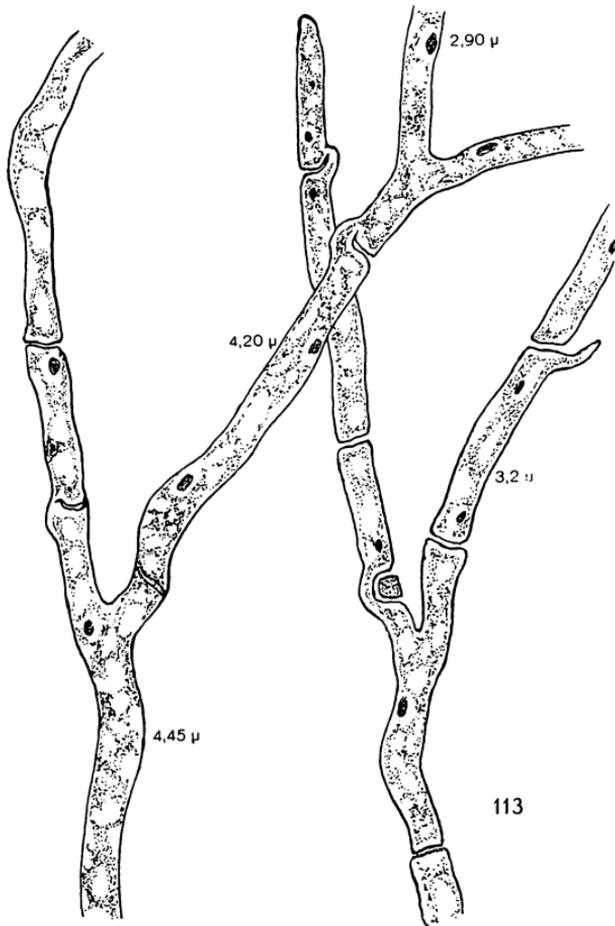


Fig. 16. 63 Eintritt der Kerne in die Sporen. 64—69 Sporen mit stäbchenförmigem Kern. 70—91 Kerndegeneration in der Spore. 92—95 Einkernige, reife Sporen. 96—106 Bildung der sekundären Spore. 107 Abgelöste, reife Spore. 108—110 Sporenkeimung. 111 Einspormycel. 112 Einspormycel mit Conidien. 113 Diplomycel.

aus Fetzen einer solchen bestanden. Alle diese Zustände sieht er als Symptome eines sekundären Zersetzungs- oder Zerstörungsprozesses der Sporen an; er ist der Ansicht, daß die Substanz der Sporen zum Aufbau der heranwachsenden Hyphen Verwendung fände. In keinem Zustande der eigentümlichen Sporenveränderungen beobachtete er einen Keimschlauch. Um zu prüfen, ob die Sporen überhaupt keimfähig seien, säte er sie auf Mistdekot aus. Nach 24 Stunden hatten sich be-



Zu Fig. 16.

reits Keimschläuche von „beträchtlicher“ Länge gebildet. Querwandbildung sah er nur in einem Fall, das Auftreten von Schnallen ist von ihm nicht erwähnt. Als weitere Eigentümlichkeit gibt er an, daß auf günstigem Nährsubstrat wie Sägemehl Zersetzungserscheinungen der Sporen sehr häufig auftreten und am schönsten zu sehen sind, während solche auf ungünstigem Nährboden nur spärlich oder überhaupt nicht beobachtet wurden. PILLAY (1923) bestätigte, daß fast alle in der Gleba befindlichen Sporen degenerieren, sehr häufig auch isolierte Sporen in Tropfenkulturen keine Kei-

mung zeigten. Indessen gelang es ihm doch, verschiedentlich Keimungen in Pepsinlösung zu erhalten. Wenn PILLAY (1923) an einer anderen Stelle erwähnt, daß er unzweifelhaft am Keimschlauch der Sporen Schnallenbildung feststellen konnte, so liegt der Verdacht nahe, daß ihm doch die so leicht mögliche Verwechslung einer Spore und Gemme unterlaufen ist. Die Schwierigkeit der

Unterscheidung von Gemmen und Sporen verschwindet in dem Augenblick, wo als Unterscheidungsmerkmal nicht die äußere Form, sondern die Alternative der Ein- oder Paarkernigkeit benutzt wird.

WALKER (1927) brachte von drei verschiedenen Arten, die auch mir zur Verfügung standen, Sporen zur Keimung. Seine Art SI (*stellatus*) zeigt Schnallen und Querwände. Jedoch zweifelt WALKER selbst, ob er es mit Sporen und nicht mit Gemmen zu tun hatte. Nie konnte derselbe Verf. bei SII (*stellatus* var. *giganteus*) Schnallen noch Querwände an jungen Keimhyphen beobachten; bei Anastomosen älterer Hyphen ist er nicht sicher, ob Schnallenbildungen auftreten. Über seine letzte Art schreibt er: „Clamps were usually absent at the cross walls but in one instance a clamp was clearly seen.“

In meinen Kulturen keimen die Sporen drei bis sechs Tage nach der Aussaat. Gewöhnlich apikal, manchmal auch seitlich stülpt sich aus der Spore ein stark lichtbrechender erst unregelmäßig konturierter, später rundlicher Körper hervor (Fig. 16, 96—107). Allmählich wird dieser größer; das Plasma tritt aus der dunkel erscheinenden primären Spore in einen helleren, zartwandigen Körper über, den ich als sekundäre Spore bezeichnen möchte; entsprechend erscheint die primäre Spore mehr und mehr entleert. Ein Rest von Plasma scheint an der Sporenwand zu bleiben und in der Folge mit der entleerten Sporenmembran zugrunde zu gehen. Dabei kollabiert die Sporenwand in charakteristischer Weise, wobei Bilder entstehen, die auch ED. FISCHER (1884) gesehen und als degenerierte Sporen gedeutet hat. Es handelt sich nicht um eine Degeneration ganzer Sporen, sondern um den natürlichen Zerfall der leeren Sporenmembran nach Austritt des Inhaltes im Verlaufe des normalen Keimungsprozesses. Diese Vorstellung wird durch Dauerbeobachtung an isolierten Sporen, die einer noch nicht ausgeschleuderten Gleba entnommen sind, in Tropfenkulturen gewonnen. Bei manchen Sporen sah ich schon nach zwei Tagen, bei einigen erst nach zehn Tagen das Austreten der sekundären Sporen. Nach 14 Tagen waren von 30 ausgesäten Sporen 20 in der geschilderten Weise gekeimt. Die sekundären Sporen keimen sofort oder nach kurzer Ruhepause, einzelne aber wiesen nach 20 Tagen keine Veränderung auf. In anderen Fällen kommt es gar nicht erst zu einer typischen Bildung solcher kugeligen Sporen, sondern es entsteht sogleich ein Keimschlauch, der sich bald verzweigt. Der sich bildende Keimschlauch besitzt eine gleichmäßige Dicke von 0,8—1,2  $\mu$ . Ziemlich zahlreich treten Querwände auf, doch nie entstehen Schnallen (Fig. 16, 108—111).

## 2. Geschlechtsbestimmung.

Die Tatsache, daß die Sporenkeimschläuche keine Schnallen aufweisen, während in durch Aussaat ganzer Gleben erhaltenen Mycelien ebenso wie an den Gemmenkeimschläuchen Schnallen zu finden sind, verlangt die weitere Beobachtung isolierter Einspormycelien und macht Einsporkulturen unerlässlich.

Da bei *Sphaerobolus* die Sporen in der Gleba eingeschlossen liegen, konnte das von KNIEP (1920) beschriebene Verfahren natürlich nicht angewandt, und es mußte deshalb ein anderer Weg eingeschlagen werden: Mit einem Platindraht wird eine eben freigelegte Gleba in einem Uhrglasschälchen zerquetscht und mit einer stark verdünnten Pepsinlösung aufgeschwemmt. Um die Sporen von den größeren Gemmen und Hyphenfragmenten zu trennen, wird ein Tropfen des Materials durch dünne, steril in Alkohol aufbewahrte Holundermarkscheiben, deren Ränder mit harten Paraffin durchtränkt sind, filtriert. Das Filtrat wird nach Bedarf weiter verdünnt und auf Petrischalen mit einer dünnen Schicht Biomalznährboden gegossen und dort gut verteilt. Stellen, wo sich bei mikroskopischer Beobachtung Keimung zeigt, werden mittels eines Markierapparates gekennzeichnet und sodann mit Hilfe eines sterilen Skalpels mit etwas Agar herausgeschnitten und als Deckglaskultur weiter beobachtet, wobei gleichzeitig festgestellt werden konnte, ob wirklich nur eine Spore herauspräpariert worden ist. Setzt weiteres Wachstum ein, wird die junge Kolonie auf neues Substrat in Reagenzröhrchen geimpft. Auf diese Weise erhielt ich im ganzen acht Einspormycelien.

Wie zu erwarten, bestehen die Einspormycelien aus einkernigen Zellen, deren Durchmesser von  $0,4-2,0\ \mu$  variiert, sie sind also bedeutend englumiger als die Paarkernmycelien. Deshalb ist schon auf Grund der Differenz der Mycelienbreiten in vielen Fällen eine Entscheidung möglich, welcher von beiden Typen vorliegt. Auch die Wuchsform ist verschieden. Diplomycelien wachsen strahlig nach allen Seiten gleichmäßig von der Impfstelle (Fig. 16, 113), dagegen besitzen die Einspormycelien gekrümmte und unregelmäßig gewundene Hyphen (Fig. 16, 111). An den Haplomycelien, besonders an ihren Enden treten bauchige bis kugelförmige Anschwellungen auf, die prall mit Plasma gefüllt sind, wogegen die anliegenden Zellen häufig plasmaarm oder kollabiert erscheinen. Oft zerfällt ein Teil eines Fadens in mehrere (4—12), wohl als Conidien zu deutende Gebilde (Fig. 16, 112). Die Haplomycelien machen den Eindruck eines im Wachstum gehemnten Myceliums. Sie sind kurzgliedrig

und weisen in großer Anzahl kurze, mit zahlreichen Querwänden versehene Verzweigungen auf. Außer den so gearteten Verzweigungen treten häufig an der Peripherie der Mycelflächen lange wenig untergeteilte Hyphen (Suchfäden?) hervor.

Die Annahme, daß wirklich Einspormycelien vorliegen, findet darin eine Bestätigung, daß bei ungeschlechtlicher Vermehrung innerhalb von 18 Monaten der einmal gegebene Zustand erhalten blieb und Fruchtkörperbildungen in keinem Falle eingetreten sind. Dagegen traten in einigen Mycelien gelb-orangefarbige Flecken auf, eine Verfärbung, wie sie auch den Fruchtkörperbildungen vorherzugehen pflegt.

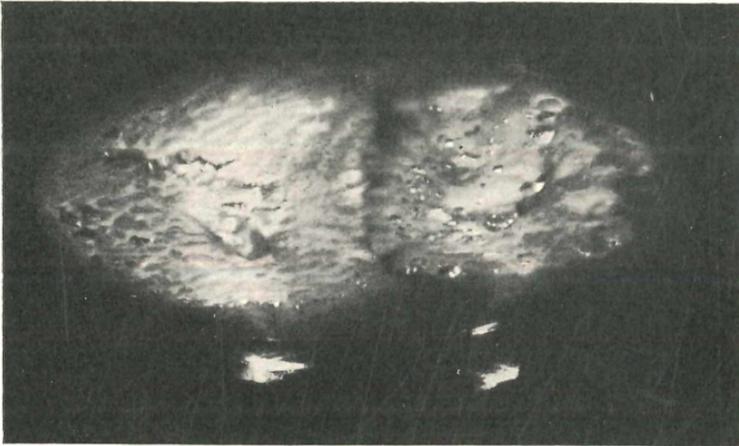


Fig. 12. Einspormycelien mit gleicher sexueller Tendenz.

Um zu erkennen, welche Einspormycelien aufeinander reagieren und somit über den Aufspaltungsmodus bei der Geschlechtsverteilung Aufschluß zu erhalten, werden alle herstellbaren paarweisen Kombinationen durchgeführt. Die Mycelien verhalten sich in ihrer geschlechtlichen Tendenz verschieden. Treffen zwei Mycelien mit gleichen Tendenzen zusammen, stoßen sie einander ab; es wird kein Mischmycel gebildet, sondern, wie auf Fig. 12 sichtbar, bleibt eine deutliche Trennungszone bestehen. Werden Mycelien mit verschiedener sexueller Tendenz kombiniert, tritt sexuelle Reaktion ein, die zur Paarkernphase führt: die Mycelien wachsen übereinander und bilden eine deutliche Überwachsungszone (Fig. 13). An dieser Stelle werden Mycelproben herauspräpariert und auf Schnallenbildung untersucht. Das Ergebnis zeigt die folgende Tabelle 15.

Aus dem Verhalten der Einspormycelien beim Zusammenimpfen folgt, daß die einkernigen Sporen geschlechtlich differenziert sind, und daß aus ihnen geschlechtlich verschiedene Mycelien entstehen. Da sich innerhalb je eines Einspormyceliums Schnallenbildung niemals hat nachweisen lassen, ist genotypische Geschlechtsbestimmung



Fig. 13. Einspormycelien mit verschiedenartiger sexueller Tendenz.

wahrscheinlich und die Annahme naheliegend, daß durch die Reduktionsteilung die Scheidung der beiden Geschlechter erfolgt, wie es bei haploheteröcischen-diplosynöcischen Pilzen (Bezeichnung nach

Tabelle 15.

	5	3	11	6	8	10	7	12	
5	—	—	—	+	+	+	+	+	$\alpha$
3	—	—	—	—	+	+	+	+	$\alpha'$
11	—	—	—	—	+	+	+	+	$\alpha'$
6	+	—	—	—	—	—	+	+	
8	+	+	+	—	—	—	—	—	$\gamma'$
10	+	+	+	—	—	—	—	—	$\gamma'$
7	+	+	+	+	—	—	—	—	$\gamma$
12	+	+	+	+	—	—	—	—	$\gamma$
	$\alpha$	$\alpha'$	$\alpha'$		$\gamma'$	$\gamma'$	$\gamma$	$\gamma$	

HARTMANN, 1928) durch die Tetradenanalyse wiederholt nachgewiesen werden konnte (KNIEP, 1922, FUNKE, 1924, HANNA, 1929, BRUNSWIK, 1924, 1926, NEWTON, 1926<sup>11</sup>). Eine Tetradenanalyse ist für *Sphaerobolus* aber schlechterdings unmöglich, da 1. diese Spezies wie oben erwähnt acht zu ungleicher Zeit reifende Sporen auf der Basidie erzeugt und 2. es technisch unmöglich ist, die Sporen einer Basidie aus der schleimigen Gleba herauszuoperieren.

Bei Betrachtung der acht isolierten Haplomycelien fallen zunächst die beiden Gruppen 5, 3, 11 und 8 10, 7, 12 ins Auge. Sie reagieren miteinander völlig eindeutig, es erfolgen bei Kombinationen jedes Stammes der einen Gruppe mit jedem Stamme der anderen geschlechtliche Reaktionen, und es unterbleibt die Reaktion jeweils bei den Kombinationen innerhalb jeder der beiden Gruppen.

Man würde nicht das geringste Bedenken tragen, die Stämme 5, 3, 11, im folgenden mit  $\alpha$  bezeichnet, etwa durch das männliche Geschlecht und entsprechend die Stämme 8, 10, 7, 12, im folgenden mit  $\gamma$  bezeichnet, als das weibliche anzusehen, ergebe sich nicht aus dem verschiedenen Verhalten des Stammes 6 gegenüber einzelnen Stämmen jeder Gruppe die Notwendigkeit, die Vorstellung von absoluter Geschlechtsdetermination fallen zu lassen. Dieser Stamm 6 verhält sich ja gegenüber den  $\alpha$ -Stämmen (3 und 11) ebenso indifferent wie gegenüber den  $\gamma$ -Stämmen (8 und 10) und zwingt demnach zu der Annahme, daß der  $\alpha$ -Stamm 5, mit dem er positiv reagiert, stärkere männliche Tendenz besitzt als die  $\alpha$ -Stämme (3 und 11) und entsprechend die  $\gamma$ -Stämme (7 und 12) stärkere weibliche als die  $\gamma$ -Stämme (8 und 10). Mit dieser Annahme gelingt es, das beobachtete Verhalten befriedigend auszudeuten.

Setzt man für die einzelnen Stämme entsprechend der hypothetischen Stärke der sexuellen Tendenz Zahlenwerte ein und zwar

für die  $\alpha$ -Stämme 3 und 11 den Wert  $-1$ ,

für den  $\alpha$ -Stamm 5 den Wert  $-2$ ,

für den nach beiden Seiten reagierenden

Stamm 6 den Wert  $0$ ,

für die  $\gamma$ -Stämme 8 und 10 den Wert  $+1$ ,

für die  $\gamma$ -Stämme 7 und 12 den Wert  $+2$ ,

so ergibt sich als Minimum der eine positive Reaktion auslösenden Differenz der Wert 2. Jeder höhere Wert (3 und 4) bewirkt natürlich ebenfalls positive Reaktion, während unterhalb der Differenz 2 die Reaktion unterbleibt. In folgender Tabelle sind die sich bei den verschiedenen Kombinationen aller Einspormycelien ergebenden Differenzen angeführt.

Tabelle 16.

	- 2	- 1	- 1	0	+ 1	+ 1	+ 2	+ 2
- 2	0	1	1	2	3	3	4	4
- 1	1	0	0	1	2	2	3	3
- 1	1	0	0	1	2	2	3	3
0	2	1	1	0	1	1	2	2
+ 1	3	2	2	1	0	0	1	1
+ 1	3	2	2	1	0	0	1	1
+ 2	4	3	3	2	1	1	0	0
+ 2	4	3	3	2	1	1	0	0

Ein Vergleich der beiden Tabellen 15 und 16 überzeugt von der rein theoretischen Brauchbarkeit dieser Annahme für die Interpretation des tatsächlichen Verhaltens.

Es darf natürlich nicht vergessen werden, daß die Annahme verschiedener Valenzen in jedem der beiden Geschlechter bis jetzt einzig durch die auffälligen Reaktionen zum Stamme 6 veranlaßt und im übrigen rein hypothetisch ist. Da die acht Sporen an einer Basidie nicht gleichzeitig reifen, so könnte man immerhin daran denken, daß die Valenz der ersten vier Sporen in beiden Geschlechtern eine andere wäre, als die der später ausgebildeten, so daß also die Sporen  $\alpha$  und  $\gamma$  der ersten,  $\alpha'$  und  $\gamma'$  der zweiten Ausbildungsperiode entstammten. Schwierig bleibt aber auf alle Fälle die Deutung des Verhaltens von Stamm 6.

Würde dieser Stamm nicht derselben Gleba entstammen wie die sieben anderen, so käme man auf der Basis multipler Allelomorphie ähnlich wie bei anderen Pilzen (KNIEP, 1920, 1922, 1923; BRUNSWIK, 1924; VANDENDRIES 1924<sup>I</sup>, 1927; BAUCH, 1930, 1931) unschwer zu einer Erklärung. Der naheliegende Einwand, daß bei der Impfung eine fremde Spore eingeschleppt sei, muß leider, so sehr er die Deutung erleichtern würde, abgelehnt werden, da bei der schleimig-klebrigen Beschaffenheit der Gleba das selbständige Herauslösen einer Einzelspore nicht vorkommt. Gegen die etwaige Annahme einer an sich möglichen Zwitternatur des Stammes 6 spricht die Feststellung, daß die Mycelien dieses Stammes miteinander selbst nicht zu reagieren vermögen; es kommt in diesem Stamm ebensowenig zur Bildung von Paarkernmycelien wie in den übrigen 7.

So bleibt nur die Annahme übrig, daß entweder in der Spore 6 selbst oder in der Basidie, der sie ihre Entstehung verdankt, oder aber in einem kleinen Bezirk der Gleba eine Mutation stattgefunden hat, durch die die Wirkung eines ursprünglich vorhanden gewesenen Geschlechtsfaktors oder Realisators zum Verschwinden gebracht wird.

Die Entscheidung kann nur mit Hilfe weiterer Einspormycelien erbracht werden.

Lassen die bisher erzielten Resultate auch keine ganz eindeutige Darstellung der Geschlechtsverhältnisse von *Sphaerobolus* zu, so gestatten sie wenigstens, genotypische Verschiedengeschlechtlichkeit der Sporen einer Gleba und ungleiche Valenz innerhalb der einzelnen Geschlechter als gesichert und relative Sexualität als wahrscheinlich vorliegend anzunehmen.

Die Weiterentwicklung der Paarkernmycelien verläuft in eigentümlicher Weise: An der Überwachsungszone (vgl. S. 391), also dort, wo die Haplomycelien unter Bildung von Paarkernmycelien zusammenzutreten, erscheinen etwa im 8. Monat kugelförmige Mycelknäuel. Es muß natürlich Sorge getragen werden, daß der Agar bei der langen Kulturdauer nicht zu stark beitrocknet, was z. B. durch gelegentliche Zugabe eines Tropfen sterilen Wassers oder aber durch wiederholte Überimpfung von Mycelstücken aus der Überwachsungszone erreicht werden kann. Die Gebilde nehmen in der Folge einen gelb-rötlichen Farbton an und erweisen sich in Mikrotomschnitten bei den Kombinationen 3/10, 3/8 und 5/8 als rudimentäre Fruchtkörperanlagen. Nur in einem Falle, nämlich bei der Kombination 3/10, gelangten diese Fruchtkörperanlagen zur Reife, während in gleichzeitig angesetzten Kontrollkulturen bei Rohaussaaten von ganzen Gleben oder Glebenfragmenten derselben Spezies reife Fruchtkörperbildung wie gewöhnlich schon Ende des 2. Monats eingetreten war. Alle übrigen Kombinationen haben es bis heute, also im Verlaufe von 15 Monaten nicht zur Fruchtkörperreife gebracht. Die in der Kombination 3/10 gebildeten Fruchtkörper weisen zwar normalen Bau auf, doch bleibt ihre Größe mit etwa 0,4—0,6 mm Durchmesser weit hinter dem Normalmaß der Vergleichskulturen (1,8—2,2 mm) zurück. Die Zahl der Fruchtkörperanlagen beträgt nur etwa den 5.—9. Teil der Vergleichskultur, und von den 20—30 Fruchtkörperanlagen brechen überhaupt nur 8 in 6—7 gleichmäßigen Zipfeln auf und schleudern kleine, gelbbraun gefärbte Gleben aus.

Es besteht also offenkundlich eine Hemmung, die sich darin äußert, daß künstlich synthetisierte Paarkernmycelien entweder überhaupt es nicht zur Fruchtkörperbildung bringen oder rudimentäre, sich nicht öffnende, im günstigsten Falle aber normale, jedoch verzweigte Fruchtkörper erzeugen. Bei völliger Übereinstimmung der Kulturbedingungen besteht in der Entwicklung normaler und durch Kombinationen erhaltener künstlicher Mycelien ein Unterschied: Die Geschlechtsreaktion erfolgt im normalen Falle kurz nach der Sporen-

keimung in der ausgeworfenen Gleba, in den synthetischen Mycelien hingegen frei umspült von dem künstlichen Nährsubstrat. Es erscheint nicht ausgeschlossen, daß die Fruchtkörperbildung abgesehen von den beiden konjugierenden Mycelien auch noch eines von der Gleba erzeugten Stoffes von hormonaler Wirkung bedürfe, von dessen Menge das Maß der Fruchtkörperbildung abhängt und dessen gänzlich Fehlen sie vollständig vereitelt. Ob dieser Erklärung mehr als hypothetische Bedeutung zukommt, müssen weitere Untersuchungen lehren. Ist sie richtig, so müßte vermutlich bei wiederholtem Überimpfen der Kombination 3/10 infolge zunehmender Verdünnung des hypothetischen Hormons die Fruchtkörperbildung eine weitere Schwächung erfahren. Ein Beweis für die Richtigkeit dieser Hypothese wäre aber erst dann erbracht, wenn es gelänge, durch Zusatz eines sterilen, aus den Gleben gewonnenen Präparates zu den synthetischen Paarkernmycelien die Hemmung der Fruchtkörperbildung aufzuheben.

Sehr nahe liegt es, in der Hemmung der synthetischen Paarkernmycelien eine phylogenetisch spät erworbene Eigentümlichkeit dieses höchst entwickelten Pilzes zu sehen, eine Eigentümlichkeit, die mit der Verbreitungsweise des *Sphaerobolus* durch ganze, unzählige, miteinander verklebte Sporen enthaltende Gleben im Zusammenhang stehen mag.

### Zusammenfassung.

1. Kulturversuche mit *Sphaerobolus*-Formen von zehn verschiedenen Standorten ergaben:

a) daß einige von früheren Autoren als Merkmale für verschiedene Arten angegebene Charaktere innerhalb der Modifikationsbreite einer einzigen Art liegen;

b) daß sich unter den zehn untersuchten Formen fünf Arten befinden, die in der Mycelbildung, in der Fruchtkörperbildung und in der Entwicklungsdauer der Fruchtkörper konstante Unterschiede zeigen. Dabei erwies sich eine Art als bisher noch nicht beschrieben, *Sphaer. grandis* nova species, für die folgende Diagnose aufzustellen ist:

Peridio externo flavo, villosocrustaceo; peridio interno albido-cano, medio circulo flavo-viridi cincto; osculo irregulari in laciniis inaequales 4—7 (plerumque 4—5) dehiscente; Sporangio colore obscuro-bruneo; sporis oblongis-cylindricis, 9—11/4—5  $\mu$ .

2. Beim Zusammenimpfen wachsen gleiche Arten ineinander, dagegen bleiben verschiedene durch eine freie Zone getrennt.

3. Dunkelheit fördert die Mycelbildung, hemmt dagegen die Fruchtkörperbildung vollständig.

4. Erhöhte Temperatur beeinflusst bei *Sphaer. grandis* und *jowensis* sowohl die Mycelentwicklung wie auch die Fruchtkörperbildung günstig, während bei *stellatus* und *tubulosus* gesteigerte Temperatur Hemmungen hervorruft.

5. *Sphaerobolus* kann die verschiedensten Hölzer befallen; auf Laubhölzern erfolgt jedoch besseres Wachstum als auf Nadelhölzern.

6. Fruchtkörperbildung verlangt schwachsaures Nährsubstrat, das Optimum liegt bei  $p_H$  6,1—6,7.

7. An den Wandungen der Tramahyphen treten Anfänge von Basidienbildungen als seitliche Ausstülpungen auf.

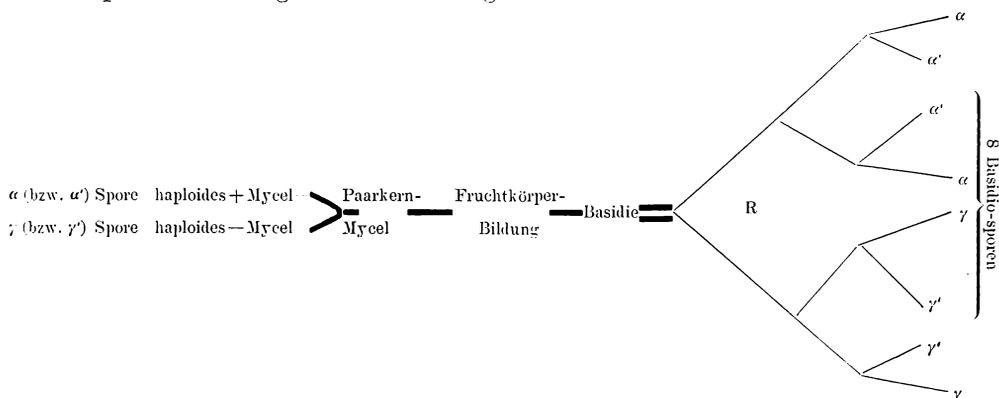
8. Entgegen der bisherigen Ansicht sind die Sporen einkernig und genotypisch verschieden. Bei einsetzender Keimung bildet sich in der Regel aus der primären Spore eine sekundäre Keimspore, während die Membran der ersteren degeneriert; der nun sich bildende Keimschlauch ist schnallenlos.

9. Die erhaltenen Einspormycelien lassen sich in zwei Geschlechtsgruppen unterteilen, die bei Kombinationen paarkernige, schnallentragende Mycelien bilden.

10. Das Verhalten eines nach beiden Seiten hin reagierenden (vermutlich mutierten) Stammes läßt sich auf der Basis relativer Sexualität unter Annahme verschiedener Valenz der  $\alpha$  und  $\alpha'$ ,  $\gamma$  und  $\gamma'$ -Stämme ausdeuten.

11. Die Fruchtkörperbildung aus synthetisierten Paarkernmycelien wird stets stark verzögert; die Fruchtkörper zeigen Zwergwuchs und öffnen sich nur ausnahmsweise.

12. Unter Vorbehalt ergibt sich von dem Entwicklungsgang von *Sphaerobolus* folgende Darstellung:



Vorliegende Arbeit, welche als Dissertation von der Philosophischen und Naturwissenschaftlichen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster in Westfalen angenommen wurde, habe ich im Botanischen Institut in den Jahren 1929—1932 angefertigt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. HEILBRONN, unter dessen Anleitung diese Arbeit ausgeführt ist, für seine lebenswürdige Hilfe und vielen Ratschläge, sowie für die Überlassung einiger Versuchsergebnisse meinen ergebensten Dank auszusprechen. Desgleichen fühle ich mich verpflichtet, Herrn Prof. Dr. BENECKE für das freundliche, meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse und für die Gewährung eines Arbeitsplatzes im Botanischen Institut zu danken.

### Literaturverzeichnis.

- BAUCH, R. (1930): Über multipolare Sexualität bei *Ustilago longissima*. Arch. f. Protistenk. Bd. 70 p. 417—466.
- (1931): Geographische Verteilung und funktionelle Differenzierung der Faktoren bei der multipolaren Sexualität von *Ustilago longissima*. Ibid. Bd. 75 p. 101—132.
- BREFELD, O. (1889): Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. Heft 8 p. 286.
- BRUNSWIK, H. (1924): Untersuchungen über die Geschlechts- und Kernverhältnisse bei der Hymenomycetengattung *Coprinus*. Bot. Abh. Bd. 5 p. 1—152.
- (1924): Die Reduktionsteilung bei den Basidiomyceten. Zeitschr. f. Bot. Bd. 18 p. 481—498.
- CORDA, J. (1842): Icones Fungorum huiusque cognitorum Bd. 5.
- DESMAZIERES, J. B. H. J. (1828—1830): Notice sur les Lycoperdon et Carpobolus.
- FISCHER, ED. (1884): Zur Entwicklungsgeschichte der Gastromyceten. Bot. Zeitung Bd. 28—31 p. 433—468.
- FRIES, E. (1828): Elenchus fungorum, sistens commentarium in systema mycologicum Vol. 2 p. 52.
- FUNKE, F. L. (1924): Die Isolierung von Basidiosporen mit dem Micromanipulator von JANSE und PETERFI. Zeitschr. f. Bot. Bd. 16 p. 619.
- HANNA, W. F. (1929): Studies in the physiology and cytology of *Ustilago Zeae* and *Sorosporium Reilianum*. Phythopathology Vol. 19 p. 415—442.
- HARTMANN, M. (1929): Verteilung, Bestimmung und Vererbung des Geschlechtes bei Protisten und Thallophyten. Handb. d. Vererbungswiss. Bd. 2, 2.
- HOLLOS, L. (1904): Gasteromycetes Hungariae.
- KLEBS, G. (1896): Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. p. 448.
- KNIEP, H. (1913): Beiträge zur Kenntnis der Hymenomyceten. I. u. II. Zeitschr. f. Bot. Bd. 5 p. 593.
- (1920): Über die morphologische und physiologische Geschlechtsdifferenzierung. Verh. Phys.-mediz. Ges. Würzburg Bd. 46 p. 1—18.

- KNIEP, H. (1922): Über Geschlechtsbestimmung und Reduktionsteilung. *Ibid.* N. F. Bd. 47 p. 1—29.
- KUHNER, R. (1927): Etude cytologique de l'hyménium de *Mycena galericulata* (Scop.). *Le Botaniste*, Bd. 18 p. 169—176.
- MAIRE, R. (1902): Recherches cytologiques et taxonomiques sur les Basidiomycètes. *Bull. Soc. Sci. Nancy Série 3*, 2.
- MIGULA, W. (1910): *Kryptogamenflora*. Bd. 3, Pilze, Teil 1 b.
- NEWTON, D. E. (1926): The distribution of spores of diverse sex on the hymenium of *Coprinus lagopus*. *Ann. of Botany* Vol. 40 p. 105.
- PILLAY, T. P. (1923): Zur Entwicklungsgeschichte von *Sphaerobolus stellatus*. *Jahrb. d. phil. Fakultät II. der Universität Bern*. Bd. 3 p. 197—219.
- PITRA, A. (1870): Zur Kenntnis des *Sphaerobolus stellatus*. *Bot. Zeitung* p. 681—713.
- RABINOWITSCH, L. (1894): Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Fruchtkörper einiger Gastromyceten. *Flora* Bd. 79 (Ergänzungsbd.) p. 414.
- SACCARDO, P. A. (1882): *Sylloge Fungorum*. Bd. 7 p. 42.
- TODE, J. H. (1790): *Fungi Meckl. selecti, Luneburgi*.
- VANDENDRIES, R. (1924): Recherches expérimentales sur la bipolarité sexuelle des Basidiomycètes. *Bull. Soc. roy. bot. Belg.* Vol. 57.
- (1927): Les mutations sexuelles, l'hétérohomothallisme et la stérilité entre races géographiques de *Coprinus micaceus*. *Mém. Acad. Belg. Cl. des Sci.* 8<sup>o</sup> Vol. 9 p. 50.
- WALKER, L. B. (1922): The forceful ejection of the glebal mass by *Sphaerobolus*. *Proc. Nebr. Acad.* Vol. 10 p. 154—159.
- (1927): Development and mechanism of discharge in *Sphaerobolus jowensis* n. sp. and *Sphaerobolus stellatus* TODE. *Journ. of the ELISHA MITCHELL Sci. Soc.* Vol. 42 p. 151—178.
- WALKER, L. B. and ANDERSEN, E. N. (1925): Relation of glycogen to spore-ejection. *Mycologia* Vol. 17.

—

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1934

Band/Volume: [81\\_1934](#)

Autor(en)/Author(s): Lorenz Fr.

Artikel/Article: [Beiträge zur Entwicklungsgeschichte von Sphaerobolus. 361-398](#)