

Untersuchungen über Variabilität, Sexualität und Erbllichkeit bei *Phycomyces nitens* Kunze.

I.

Von **H. Burgeff.**

(Mit Tafel XIV—XVII und 20 Abbildungen im Text.)

Den Anlaß zu Studien in der Richtung obenerwähnten Gegenstandes gaben Versuche zur künstlichen Erzeugung von Modifikationen und Mutanten im Pflanzenreich, wie solche im letzten Jahrzehnt besonders bei Schmetterlingen und Käfern erfolgreich gewesen sind. Da Ruhestadien im allgemeinen wegen ihrer relativen Widerstandsfähigkeit gegen extreme Temperaturen besonders geeignet erschienen, und es sich auch womöglich um rasch wachsende und leicht kultivierbare Organismen handeln mußte, lag es nahe, Pilze, und gerade die formenreiche Gruppe der Mucorineen, zu wählen. Dabei war es denn u. a. *Phycomyces nitens*, der Riese in dieser Familie und das Versuchskaninchen der Physiologen, der zuerst in Kultur genommen wurde. Die Größe seiner Sporen, die sich besonders leicht einzeln isolieren ließen, die seiner Zygoten, welche man Stück für Stück mit der Pinzette in jede gewünschte Situation bringen kann, die gut bestimmbare Form und Größe seiner vegetativen Teile, die sich durch unvergrößerte Photographie jederzeit festhalten läßt, bestimmten ihn dazu.

Die unerwartet große Mannigfaltigkeit an Formen, die unter der früher für konstant gehaltenen Art aufgefunden wurden, veränderten das Arbeitsprogramm von Grund aus. Statt der beabsichtigten Erzeugung von Zwangsmutanten mußten alle Bedingungen, die eine solche hätten veranlassen können, nach Möglichkeit ausgeschaltet werden, um die im bereits vorhandenen liegenden Gesetzmäßigkeiten festzustellen.

Statt des ihn zwingenden Experimentators übernahm der *Phycomyces* die Führung; jenem blieb nur die Aufgabe genauester durch Protokoll und Photographie durchgeführter Kontrolle und er muß um Entschuldigung bitten, wenn manche der folgenden Kapitel infolge der eingehenden Detailschilderung keine anregende Lektüre bilden.

I. Die normale Entwicklung des Pilzes.

Die länglich ovalen Sporen des *Phycomyces* keimen wie die anderen *Mucorineensporen*. Kommen sie frisch, ohne eine Eintrocknung erlitten zu haben, auf ein geeignete organische Nährstoffe enthaltendes Substrat, so keimen sie sofort. In reinem Leitungswasser und in mineralischer Nährlösung bleiben sie unverändert. Frische erzeugen in 24 Stunden bei Zimmertemperatur Mycelien mit etwa 1,5—1,8 mm Durchmesser. *Phycomycens nitens* Cl. + keimt etwas rascher als *nitens* St. —¹⁾.

Ausgetrocknete Sporen brauchen etwa 6—8 Stunden länger. In einem Alter von etwa 35 Stunden entstehen an den Mycelien die ihnen eigentümlichen Blasen, die der vorübergehenden Ansammlung von Reservestoffen zu dienen scheinen.

Isoliert man aus der Aussaat auf einer Petrischale ein junges Mycelindividuum und bringt es in eine Kulturröhre von etwa 18 mm Durchmesser, so wächst es in den nächsten 24 Stunden über die horizontal erstarrte Oberfläche des Agars, bildet während des 3. Tages hier eine dichte Decke und erzeugt die ersten Sporangienträger.

Die Zeit, die zwischen der Aussaat und der Entstehung der ersten Sporangienträger verläuft, variiert mit der Größe des dem Pilzindividuum zur Verfügung stehenden Agarstückes und wächst bis zu einem Grenzwert mit dem Radius desselben.

Wählt man Kulturröhren, deren Durchmesser sich fortlaufend wie 2:3 verhalten und impft man in jede auf den horizontal erstarrten Agar eine Spore resp. ein Keimmycel von Cl. +, so erhält man die Trägerbildung nach folgenden Zeiten²⁾:

Durchmesser der Röhre	Verstreichende Zeit bis zur Ausbildung der ersten Träger
0 mm ³⁾	45 Stunden
5,5 „	58 „
8 „	63 „
12 „	69 „
18 „	71 „
27 „	72 „
40 „	72½ „

1) Cl. + und St. — bezeichnen die von den Herren Professoren Claußen und Stahl mir seinerzeit überlassenen Ausgangskulturen.

2) Das Kulturmedium in diesem, sowie in allen Fällen, in denen nichts besonderes vermerkt ist, ist stets ein 1,7% iger Agar aus einem Teil heller Löwenbräuhierwürze und 2½ Teilen Wasser.

3) Theoretischer Grenzwert.

Bei noch größerem Durchmesser der Röhre tritt kein Unterschied mehr auf, weil schon bei der 40 mm-Röhre das Mycel erst 3 Stunden vor der Trägerbildung die Glaswand erreicht, beide Ereignisse also annähernd koinzidieren.

Nach unten, unter weiterer Verkleinerung des Durchmessers, ließ sich das Experiment leider nicht fortsetzen, weil in zu engen Röhren Wasser über der Agaroberfläche dem Pilz das Wachstum an den Wänden hinauf ermöglichte, dieses also nicht an der Wand abschließt, was einen späteren Eintritt der Trägerbildung herbeiführt.

Mit einer anderen Methode, bei der die Mycelindividuen in regelmäßigen, sich immer im Verhältnis 3:2 verkleinernden Abständen auf eine offene Platte geimpft wurden, ergab sich ebenfalls kein Resultat, weil die Mycelien einander zwar an der Oberfläche beim Zusammenwachsen aufhalten, unter dieser aber durcheinander wachsen, so daß jedem ein größerer Raum als der zugedachte zur Verfügung steht. Durch eine direkte, sehr dichte Aussaat der Sporen kann jedoch noch eine bedeutende Abkürzung der Zeitdauer bis zur Trägerbildung erreicht werden.

Impft man den Inhalt mehrerer Sporangien in einen kleinen Tropfen der Platinöse und verdünnt durch Übertragung einer Öse in den nächsten Tropfen, und fährt so fort, so erhält man am Tropfen 1 nach 45 Stunden in der Mitte einen weißen Filz und am Rand die ersten normalen Träger, bei Tropfen 2 in annähernd derselben Zeit in der Mitte ebensolche. Der dritte Tropfen mit der dritten Verdünnung ergibt erst Träger nach 48½ Stunden. Die 45 Stunden im ersten Fall sind in gleicher Weise ein absolutes Minimum, wie die 72½ Stunden bei der 40 mm-Röhre ein absolutes Maximum sind.

Trüge man die Zeiten von 45—75 Stunden auf eine Ordinatenachse und die Durchmesserwerte von 0—50 auf die Abszissenachse und zeichnete die Werte ein, so erhielte man eine sich allmählich von der Ordinatenachse entfernende Kurve, die nach und nach der Abszissenachse fast parallel wird, um bei dem Durchmesserwert 40 plötzlich fast im rechten Winkel parallel zur Ordiantenachse umzubiegen.

Die Träger wachsen zunächst vom Substrat aufwärts, das Wachstum setzt jedoch in dem Augenblick aus, in dem an der Trägerspitze die erste Andeutung der kugeligen Anschwellung entsteht, aus der das Sporangium hervorgeht. Die Auslösung der Sporangienbildung an den Trägern geschieht durch das Tageslicht. Nachmittags entstehen regelmäßig die jungen gelblichen Köpfe, die während der Nacht in die Dicke wachsen. Am nächsten Morgen beginnen sie sich über braun nach schwarz zu ver-

färben, eine Erscheinung, die die Reife der Sporen andeutet. In diesem Moment, d. h. im ersten Beginn der Verfärbung, setzt eine anfänglich langsame, dann rascher werdende interkalare Streckung des Sporangienhalses ein, die das reife Sporangium mit einer durchschnittlichen Geschwindigkeit von 3,5—4 mm pro Stunde höher hebt, bis der Träger nach etwa 2 Tagen die übliche Länge erhält und das vorher mit einer widerstandsfähigen Membran versehene Sporangium leicht zerfließbar wird.

Die Reihenfolge in der Entstehung der Träger und Sporangien hält einen bestimmten Rhythmus ein, der im folgenden an einem Beispiel geschildert sei.

Sporen von Cl. + und St. — werden an 8 aufeinanderfolgenden Tagen (vom 15.—22. II. 14) und jeweils am Tage nach der Aussaat als junge Keimmycelien in 180:18 mm-Röhren mit horizontal erstarrtem Bierwürzagar pikiert. Die Kulturen stehen aufrecht in einem Gestell und sind bis 110 mm über der Agaroberfläche mit schwarzem Papier abgedeckt, so daß sie das Licht nur von oben bekommen. Sie stehen am hellen Ostfenster in einer durchschnittlichen Temperatur von 20°.

Die am 25. II. vormittags 10 Uhr zusammengestellten Kulturen ergeben nun alle Entwicklungsstadien nebeneinander.

- 3 × 24 Stunden: Träger erster Serie 1,2 mm lang.
- 4 × 24 Stunden: Träger erster Serie 25—30 mm lang, mit Köpfen im Beginn der Streckung. Träger zweiter Serie 3—18 mm lang.
- 5 × 24 Stunden: Träger erster Serie gestreckt bis 93 mm lang, Träger zweiter Serie zwischen 35 und 55 mm mit Köpfen im Beginn der Streckung. Taf. XIV, Fig. 1 (in 40 mm-Röhre).
- 6 × 24 Stunden: Träger erster und zweiter Serie gestreckt 70 bis 120 mm lang. Nachzügler bei 50 mm mit Köpfen im Beginn oder vor der Streckung.
- 7 × 24 Stunden: Frühere Träger gestreckt, 90—120 mm lang. Nachzügler bei 65—75 mm mit jungen Köpfen im Beginn oder vor der Streckung.
- 8 × 24 Stunden: Nachzügler bei 80—90 mm mit jungen Köpfen im Beginn der Streckung.
- 9 × 24 Stunden: Nachzügler bei 100 mm mit jungen Köpfen im Beginn der Streckung.
- 10 × 24 Stunden: Nachzügler zwischen 90 und 120 mm mit jungen Köpfen oder noch ohne solche usw.

Aus diesem Versuch läßt sich entnehmen, daß einmal zwei getrennte Trägerserien ausgebildet werden, die am 4. und 5. Tage zur Fruktifikation kommen, zum anderen an den folgenden Tagen einzelne Träger als Nachzügler emporwachsen, die vor der Fruktifikation mit dem zunehmenden Alter der Kultur eine immer größere Länge erreichen, deren Ausbildung aber keinem Rhythmus mehr unterliegt, so daß man nicht von Trägerserien höherer als zweiter Serie reden kann. Was den Ausbildungsgrad der Köpfe anbetrifft, so befinden sie sich bei allen Kulturen vormittags 10 Uhr im gleichen Stadium, d. g. gerade verfärbt und im Beginn der Streckung, stehen also in unmittelbarem Zusammenhang mit der täglichen Beleuchtung. Wesentliche Unterschiede zwischen Cl + und St. — sind außer der etwas größeren Höhe des ersteren nicht vorhanden.

Bei im Dunkeln gehaltenen Kulturen lassen sich die beiden Trägerserien ebenfalls unterscheiden, die Sporangienbildung erfolgt aber in ganz unregelmäßiger Reihenfolge und sehr viel später als im Licht. St. — erzeugt im Dunkeln meist nur einzelne oder keine Sporangien, die etiolierten Träger werden sehr lang und stellen schließlich das Wachstum ein.

II. Die Gewinnung der Varianten.

Ehe man daran denken konnte, Zwangsmutationen bei *Phycomyces* zu erzeugen, mußte man sich natürlich über die natürlichen Variationsgrenzen des Ausgangsmaterials orientieren. Zu diesem Zweck wurden die von der Zentralstelle in Amsterdam und die von den Herren Professoren Stahl und Claußen erhaltenen Kulturen vergleichender Beobachtung unterworfen. Sporenaussaaten vieler Sporangien wurden auf Bierwürzagar hergestellt und Regelmäßigkeit der Keimung und Variabilität der Keimmycelien festgestellt. Ganz regelmäßig keimend erwiesen sich nur die von Herrn Professor Stahl stammende — - Kultur, die dort fast ausschließlich auf Brot kultiviert worden war. Sie wurde später nebst einem aus einer normalkeimenden Spore der Claußen-schen + - Kultur erhaltenen konstanten Stamm als Vergleichskultur verwandt.

24 Stunden nach der Aussaat lassen sich die Keimmycelien auf der Agarplatte bequem bei schwacher Vergrößerung unter dem Präpariermikroskop auf ihre Wuchsform und Wuchsgeschwindigkeit vergleichen und abweichende Individuen gut isolieren.

An abweichenden Mycelien kommen vor:

- a) Mycelien langsameren Wuchses bei meist stärkerer Verzweigung,

- b) Mycelien sehr langsamen Wachses bei stärkster Verzweigung,
- c) dünne Mycelien normaler oder schwächerer Verzweigung,
- d) dicke Mycelien normaler oder schwächerer Verzweigung.

Von einer Aussaat von Sporen der Original-Cl. — Kultur seien einige Beispiele angeführt:

Normale Mycelien haben nach 28 Stunden einen Durchmesser von 1,8—2,2 mm. Langsamer wachsende Mycelien gab es eine größere Anzahl, von denen die wichtigsten Typen im folgenden beschrieben seien.

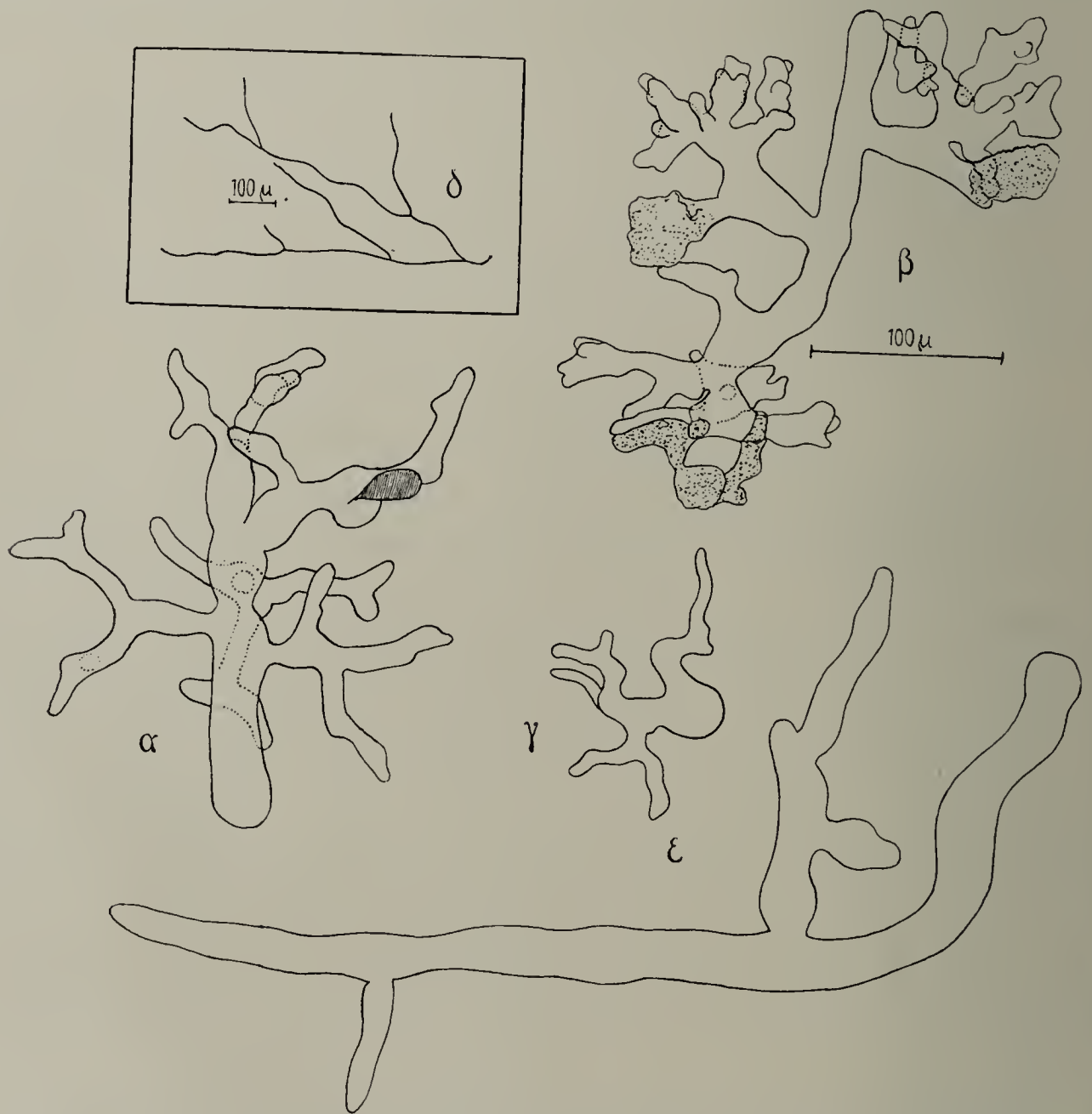


Fig. 1. Aberrative Keimmycelien von Cl. — 28 (δ 44) Stunden nach der Aussaat.

Mycel α (Fig. 1) ist eine der häufigeren Formen, mit dickem Keimschlauch aus einer großen Spore hervorgegangen, hat sich nach allen Richtungen stark verzweigt. An einer Stelle ist nach einem Bruch der Wandung Plasma ausgetreten.

Mycel β (Fig. 1) variiert noch weitergehend nach derselben Richtung. Daß es nicht dauernd lebensfähig ist, zeigen die zahlreichen Plasmaergüsse in den Nährböden.

Mycelien wie α und β bleiben meist stationär, können aber gelegentlich aus auswachsen. Einer der Hyphenäste geht dann spontan in eine langwachsende, mehr oder weniger normale Hyphe über, die meist sprunghaft, von Stufe zu Stufe die Entwicklungshemmung überwindet und schließlich ein normales Mycel erzeugt.

Mycel γ (Fig. 1) ist ein noch auf jüngerem Stadium stationär gewordenen; es gehört zum dünnen Typus.

Mycel δ (Fig. 1) ist ein 44 Stunden altes auswachsendes dünnes und wenig verzweigtes Mycel (bei schwacher Vergrößerung abgebildet). Es kann mehrere Zentimeter im Durchmesser erreichen, kommt aber meistens nicht zur Trägerbildung, sondern geht zugrunde.

Mycel ε (Fig. 1) ist der Typus des „dicken“ Mycels, das, wenn auch zunächst langsam, auswächst und besonders kräftige normale Mycelien liefert; durch Auswahl solcher Mycelien lassen sich aus der — -Kultur Stämme gewinnen, die dem + -Mycel nur sehr wenig an Wuchskraft nachgeben.

III. Die Geschichte der Varietas plicans.

Varietas plicans wurde aus einer von Herrn Professor Dr. Claußen stammenden, seit längerer Zeit im Laboratorium durch Umimpfen je zahlreicher Sporen weitererhaltenen + -Kultur als abweichendes Keimmycel isoliert. Über die Methode ist schon gesprochen. Während andere abweichende Mycelien normale nitens ergaben, entstand aus dem langsam wachsenden, stark verzweigten Mycel in diesem Falle eine gut charakterisierbare Form:



Fig. 2. Var. plicans IV, α , β 11 Tage alt.

Aus dem jungen Mycel entwickelte sich eine kleine, ziemlich stark über das Substrat hervorragende und mit weißem Hyphenfilz bedeckte Kultur, die erst nach etwa 8 Tagen die ersten noch kopflosen Träger erzeugt; diese sind häufig stark schraubig verkrümmt (Fig. 2). Die Wuchsgeschwindigkeit ist zwischen verschiedenen, denselben Sporangien entstammenden Mycelien sehr verschieden, aber meistens bedeutend geringer

als bei *nitens*. So sind die Mycelien auf Fig. 2, Fig. 3 und Fig. 5 gleichalterig. Schon bei jungen Kulturen fällt die durch den außerordentlich dichten Wuchs des Mycels verursachte Faltung des Agars auf, die bei dem



Fig. 3. Var. *plicans* IV, 1, a 11 Tage alt.

normalen *nitens*-Mycel vollständig fehlt. Die Entstehung der Köpfe ist gegen die von *nitens* ebenfalls erheblich verzögert (Fig. 2, 3). Die Träger werden in periodisch wiederkehrenden, anfangs regelmäßigen, später



Fig. 4. Var. *plicans* III, 1, 7 Tage alt.

unregelmäßigen Ringen erzeugt (Fig. 4). Die Sporangienträger besitzen eine mehr oder weniger ausgeprägte Anschwellung ein oder mehrere Millimeter unter dem Kopfe, die sich in ein dünnes Stielchen verschmälert,

auf welchem dieser aufsitzt (Fig. 6). Gewöhnlich entsteht nach der Ausbildung des Kopfes unter diesem ein neuer Träger, der unter seinem Sporangium den gleichen „Kropf“ aufweist (Fig. 7).



Fig. 5. *Var. plicans* III, 1, 11 Tage alt.



Fig. 6.

Fig. 6. Sporangienträger der *Var. plicans*.

Fig. 7. Sympodial verzweigt.

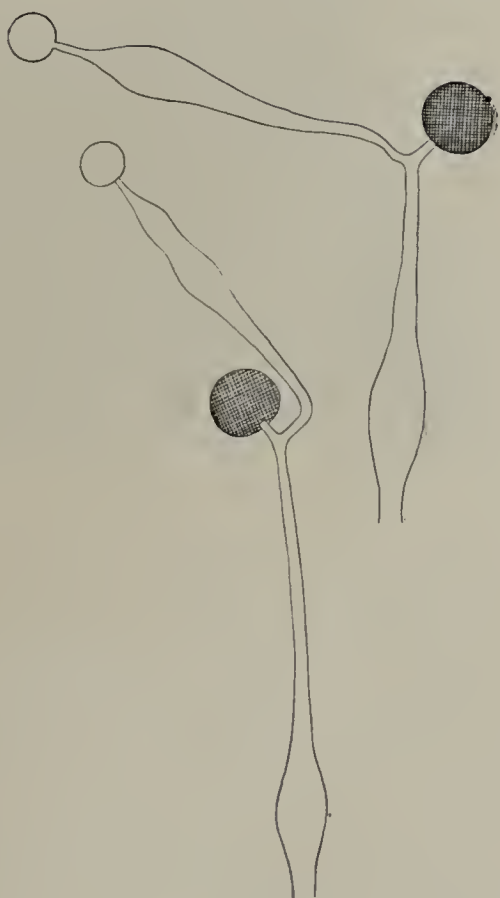


Fig. 7.

Die im Sporangium entstehenden Sporen sind vollkommen rund und gleichen den bei *nitens* in den Pseudophoroidsporangien¹⁾ gebildeten. Sie keimen bereits in mineralischer Nährlösung oder in Leitungswasser, worin sich *nitens*-Sporen nicht verändern.

Verfolgt man die Entwicklung eines aus einer Spore eines *plicans*-Sporangiums stammenden Mycelindividuums eine längere Zeit, indem



Fig. 8. Alte *Plicans*-Kultur in Erlenmeyer-Kolben.

man ihm etwa in einem Erlenmeyerkolben ein dauerndes Wachstum ermöglicht, so bemerkt man gegen Ende des Wachstums der Kultur bei den zuletzt gebildeten Sporangienträgern eine deutliche Abnahme des *plicans*-Typus und eine Annäherung an *nitens*. Die Träger werden länger und entbehren schließlich der charakteristischen Verdickungen (Fig. 5). Ehe das Wachstum

1) So nenne ich die 200—500 μ langen, mit Köpfen von 50—100 μ Durchmesser versehenen Sporangien, die an alten Kulturen auf oder in der Nähe des Substrats vorkommen.

keit ihres Eintretens kann als der Wachstumsgeschwindigkeit der Variante direkt proportional bezeichnet werden.

Zuweilen zeigen sich analoge Erscheinungen, die durch ihr spontanes Auftreten noch mehr zu denken geben. So kommt es vor, daß an irgend einer Stelle einer typischen *plicans*-Kultur ein Bündel normaler *nitens*-Sporangien auftritt, das der Kultur ein besonders charakteristisches Bild verleiht (Tafel XV, Fig. 1).

Sowohl bei der normalen langsamen Umformung des *plicans*, wie im letzten Fall bei dem fast explosiven Auftreten von *nitens* kann man von einer Rückschlagserscheinung reden.

Deutlicher als am vegetativen Mycel zeigen sich solche bei der Sporenbildung. Sät man die Sporen eines charakteristischen *plicans*-Sporangiums aus, so erhält man nach der Isolierung einzelner Keimmycelien (die Isolierung der einzelnen Sporen ist technisch weniger bequem) eine Anzahl absoluter Reinkulturen, die nur zum Teil den *plicans*-Typus repräsentieren. Neben Übergangsformen treten reine *nitens*-Mycelien auf. Es hat also bei der Sporenbildung ein Rückschlag zur Stammform stattgefunden.

Sät man statt der des *plicans*-Sporangiums Sporen eines an einem *plicans*-Mycel entstandenen *nitens*-Sporangiums aus, so zeigen sich bei getrennter Kultur der Individuen eine relativ größere Zahl von *nitens*-Mycelien als Rückschläge, daneben aber noch Übergangsformen und reine *plicantes*.

Die Erklärung dieser Vorgänge liegt nahe, wenn man sie mit den cytologischen Verhältnissen bei der Sporenbildung in Beziehung setzt. Die im jungen Kopf des Sporangiums durch die Plasmazirkulation durcheinander gemischten Kerne des polyenergiden Mycels werden bei dem zwecks Entstehung der Sporen erfolgenden Zerfall des Protoplasmas in einzelne Portionen nach den Gesetzen des Zufalls auf die einzelnen Sporen verteilt. Machen wir jetzt die allerdings unbewiesene Annahme, daß die Eigenschaften des *plicans*-Typus in den Kernen fixiert sind, und zwar nicht in allen, sondern nur in einer gewissen Anzahl von ihnen, so können wir in demselben Mycel jetzt das Vorhandensein von *plicans*- neben *nitens*-Kernen voraussetzen. Wir haben unter Zuziehung einer zweiten Annahme, nämlich der, daß sich die *nitens*-Kerne rascher teilen und vermehren als die *plicans*-Kerne — entsprechend dem Wachstum der *plicans*- und der *nitens*-Form des Pilzes — eine Arbeitshypothese, die uns alle bisher geschilderten Verhältnisse verstehen läßt:

1. Allmählicher Rückschlag eines plicans-Myceles zu nitens. In der Spore sind überwiegend plicans-Kerne vorhanden. Die zunächst wenig zahlreichen nitens-Kerne vermehren sich während des Wachstums des Myceles rascher als sie. Es tritt ein Gleichgewichtszustand und endlich ein Überwiegen von nitens ein. Das Resultat ist die Ausbildung eines nitens-ähnlichen und endlich reinen nitens-Typus mit den entsprechenden Sporangien.

2. Spontanes Herausspalten der Stammform an einer Stelle der Kultur erklärt sich durch die Möglichkeit, daß in eine Seitenhypse des Myceles überwiegend nitens-Kerne gelangen, deren Mischung mit den Kernen des übrigen Myceles aus irgendeinem Grunde erschwert sein könnte.

3. Auftreten von Rückschlagsformen unter den Sporen des Sporangiums der Variante, wird verständlich durch die zufällige Verteilung der Kerne auf die einzelnen 6-, 7-, 8-, 9- oder 10kernigen Sporen. Nitens-Übergangs- (plicans- & nitens-) und plicans-Sporen entstehen, je nachdem eine Kernsorte überwiegt oder der anderen das Gleichgewicht hält.

Theoretisch müßten dann auch Sporen auftreten, die mit nur einheitlichen plicans-Kernen eine konstante Variante darzustellen hätten. Es lag also nahe, eine Selektion der Sporen resp. Keimmycelien vorzunehmen und während einer Reihe von Sporengenerationen durchzuführen, zumal man annehmen konnte, daß bei selektionsloser Übertragung von jeweils ausgesäten Sporen die plicans-Form in Anbetracht der langsamen Vermehrung ihrer Kerne hätte verloren gehen können.

Um diese gleichkernige oder **homokaryotische** aus der ungleichkernigen oder **heterokaryotischen** Form abzuleiten, wurde folgendermaßen verfahren. Sporen eines plicans-Sporangiums wurden in steriliertem mineralischer Nährlösung oder sterilisiertem Leitungswasser auf Bierwürzagar in Petrischalen ausgesät. Nach 2 Tagen (bei nitens nach einem Tage) wurde die Oberfläche des Agars unter dem binokularen Mikroskop durchmustert und die Keimmycelien miteinander verglichen. Typische, langsam wachsende plicans-Keimmycelien wurden in Röhren mit Bierwürzagar übertragen. In ähnlicher Weise wurde auch die Nachkommenschaft von nitens-Rückschlägen untersucht, nur daß hier natürlich eine Selektion beim Aussuchen der auszukündernden Mycelien unterblieb.

Zur besseren Charakterisierung der Zwischenstufen zwischen nitens und plicans und einer noch über plicans hinausgehenden Form des plicans extremus seien hier die einzelnen, meist durch alle Übergänge verbundenen Formen in kurzer Diagnose angeführt.

1. *nitens*. Lange Sporangien ohne Anschwellung unter den Köpfen (Kröpfe), rascher Wuchs des Mycels.
2. *cymonitens* (erst von der vierten Generation an unterschieden). Wie *nitens*, aber mit mehr oder weniger regelmäßiger sympodialer Verzweigung der Sporangienträger. Köpfe sehr dick, Träger unter ihnen ohne Kropf, Wuchs langsamer, als bei *nitens* (entspricht etwa *nitens* & *plicans* der ersten Generationen).
3. *plicans* & *nitens* (resp. *cymonitens*). Sporangien teilweise mit *plicans*-Kropf und sympodial verzweigt, andere ohne Kropf, verzweigt oder unverzweigt. Wuchs langsamer als *cymonitens*.
4. *plicans*. Alle Sporangien der jungen Kultur mit Kröpfen, mehr oder weniger verzweigt. Wuchs sehr langsam.
5. *plicans-extremus*. Meist aus aberrativen Keimmycelien entstehend. Wuchs noch langsamer als bei *plicans*. Dichtes Mycelpolster mit Hemmungslinien des Wachstums. Träger meist ohne Köpfe, wenn solche vorhanden nur als Rückschlagsformen nach *plicans* oder *cymonitens*.
6. Aberrative Mycelien. („ab. Mycel“). Spore abnorm groß, kugelig oder normal. Mycel sehr stark verzweigt, erweist sich als nicht wachstumsfähig und stirbt wenige Tage nach der Keimung ab, ohne einen den Bruchteil eines Millimeters überschreitenden Durchmesser zu erreichen. Zuweilen wächst ein solches ab. Mycel zu einem Mycel von *plicans-extremus* oder zu einem *plicans*-Mycel aus. Eine besondere Form aberrativer Mycelien bilden die Blasenmycelien, an denen relativ große, sich nach der Anlage schwärzende Bläschen auftreten, die vielleicht den Mycelbläschen der Stammform homolog sind.

Zu den folgenden Kulturprotokollen, deren Anführung sich nicht umgehen läßt, ist folgendes zu bemerken. Die hinter dem Namen *plic.* (*plicans*) stehende römische Ziffer bezeichnet bei ihnen wie im Stammbaum die Sporengeneration; die hinter ihr stehende arabische Ziffer das betreffende abgeimpfte Sporangium, deren mehrere meist verschiedenen Kulturen und damit Individuen angehören. Die Betrachtung des Stammbaums dürfte das Verständnis der Zusammenhänge erleichtern.

Kulturprotokolle der Varietas *plicans*.

plic. 0. Am 22. XI. 1911 aus Cl. + als Spore isoliert.

plic. I, 1 aus *plic.*-Sporangium von *plic.* 0. Ausgesät Anfang Dezember; 15 junge Mycelien pikiert, davon 3 aus besonders dicken kugeligen

Sporen; die Beobachtung der ausgewachsenen Mycelien ergibt: 1 nitens, 9 plicans, 1 plic.-extremus & plicans, 1 plic. extremus & nitens, 3 plic.-extremus aus dicken Sporen; letztere bilden nur einige Sporangienträger ohne Köpfe; einer regeneriert, abgerissen, wieder plic.-extremus.

- plic. II, 1:** Sporen eines nitens-Sporangiums von nitens aus plic. I, 1, ausgesät am 11. XII. 11. Keimung regelmäßig, unter ca. 500 Stück nur 2 aberrierende Keimmycelien. 18. XII. Erste Beobachtung: 15 nitens, 1 nitens & plicans, 2 plicans. 22. XII. Zweite korrigierte Beobachtung: 5 nitens & plicans (einzelne Träger, sympodiale Verzweigung mit einzelnen unverdickten Ästen), 9 plicans & nitens (meist plic.-Sporangien, einzelne nitens-Sporangien, gelegentlich mit plic.-Ästen, hoher Wuchs), 4 plicans (alle Träger dick und tief gekropft, Wuchs niedriger und sehr langsam). 8. I. 12. Dritte Beobachtung: Sporangienträger vertrocknet.
- plic. II, 2:** Sporen eines nitens-Sporangiums von plic.-extremus aus plic. I, 1, ausgesät am 11. XII. 11. Keimung etwas unregelmäßig. Keimmycelien am 13. XII. 0,5—1—1,5 mm Durchmesser. Keine aberrativen Mycelien. 18 Stück pikiert. 18. XII. Erste Beobachtung: 8 nitens (& plicans?), 9 plicans, zum Teil extremus. 22. XII. Zweite korrigierte Beobachtung. 5 nitens & plicans; 2 plicans & nitens, 2 plicans-extremus & nitens (mit je 1—2 normalen feinen nitens-Sporangien an langem Träger), 8 plicans-extremus. 8. I. 12. Sporangienträger in den Kulturen vertrocknet, ausgenommen einige des plicans extremus.
- plic. II, 3:** Sporen eines plicans-Sporangiums von plicans aus plic. I, 1, am 11. XII. 11 ausgesät. Keimung unregelmäßig. Zahlreiche ungewöhnlich große kugelige Sporen, die aberrative Mycelien liefern. 13. X. 11. 18 Mycelien pikiert. 18. XII. Erste Beobachtung: 1 plicans (nitens-ähnlich), 12 plicans, 5 plicans-extremus. 22. XII. Zweite korrigierte Beobachtung: 1 plicans & nitens, 10 plicans (teilweise mit besonders großen Köpfen), 7 plicans-extremus (ohne normale Sporangienträger). 8. I. 12. Träger in den Kulturen ausgetrocknet, nur bei plicans-extremus noch jüngere am Leben.

Die von plicans 0 abstammende Generation plic. I, 1 zeigt eine große Mannigfaltigkeit von den vorher beschriebenen Variationsstufen des plicans, wobei nicht immer die aufeinander folgenden Variationsstufen in demselben Individuum vertreten sein müssen, so kann aus plicans-extremus direkt ein nitens-Sporangium abspalten. An den Aus-

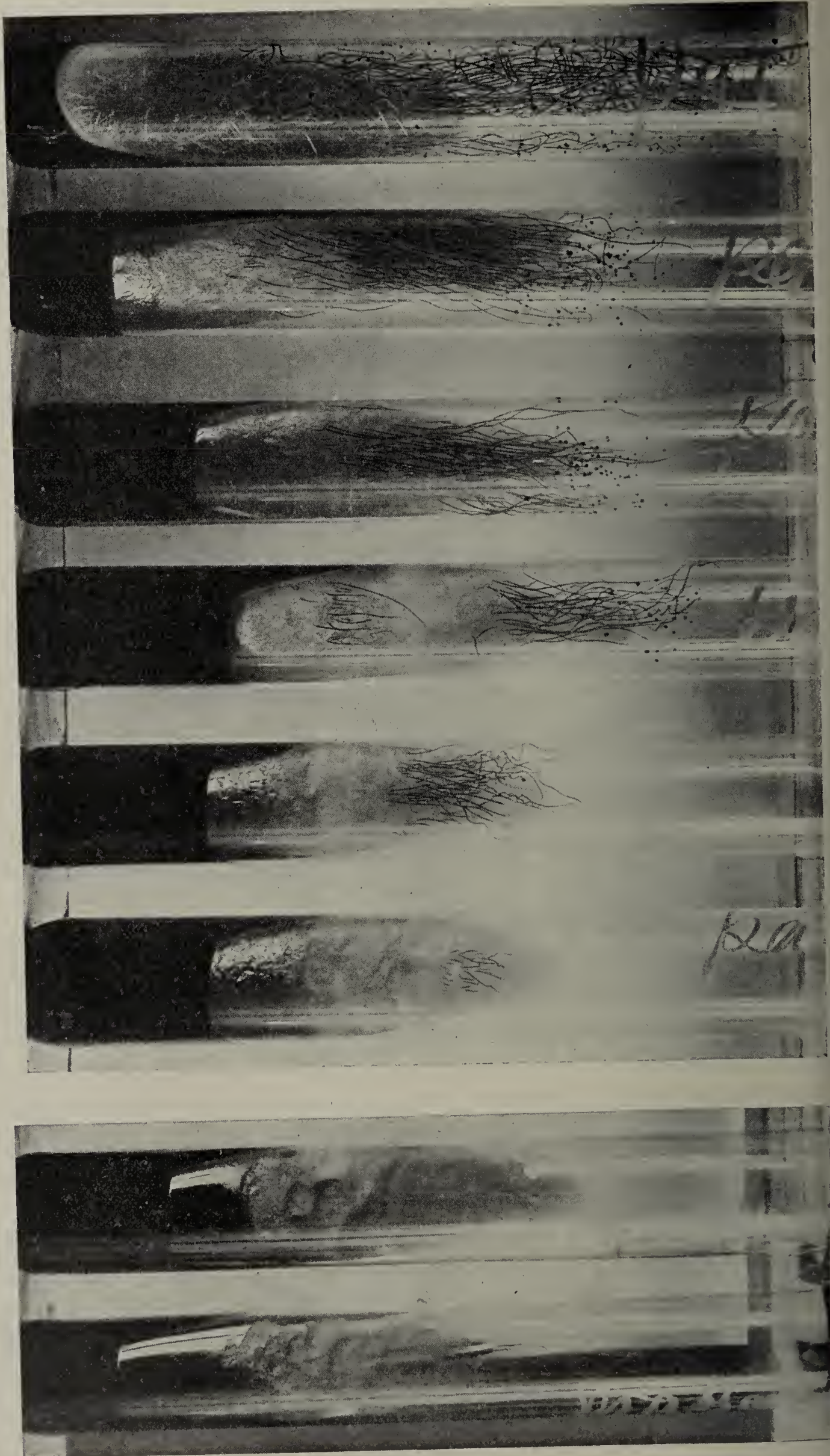
saaten von Sporen der nächsten Generation läßt sich indessen sehen, daß die Herkunft eines solchen nitens-Sporangiums doch einen Einfluß auf die in ihm entstandenen Sporen besitzt. So entstehen aus dem Sporangium des aus plic. 0 als Spore isolierten nitens-Myceles plic. I, 1 nur 4/18 reine plicans-Mycelien; aus dem aus plic.-extremus I, 1 aber 8/17 plicans-extremus. In beiden Fällen ist jedoch die Zahl der nitens-ähnlichen Formen größer als bei der in zweiter Generation aus einem plicans-Sporangium abgeimpften plic. II, 3-Aussaats, die auf 17 scheinbar reine plicans und plicans-extremus nur noch eine stark nitens-haltige Spore besaß.

Diese drei Serien der zweiten Generation wurden nicht weiter kultiviert, statt dessen wurde noch einmal bei plic. 0 begonnen mit der Absicht, durch fortgesetzte Auswahl reiner plicans-Sporangien einen womöglich konstanten plicans zu erzeugen, was nach den bisherigen Feststellungen möglich schien.

plic. I, 2: Sporen vieler plicans-Sporangien aus plic. 0. Aussaat 11. XII. 11. Keimung etwas unregelmäßig. Mycelien nach 30 Stunden 0,5—1—2 mm Durchmesser. Wenige aberrative Mycelien aus großen blasigen Sporen. 14. XII. unter etwa 80 Mycelien 10 rasch wachsende nitens-Mycelien auf der Platte. 13. XII. 25 Mycelien pikiert. 18. XII. Erste Beobachtung: 2 nitens, 7 nitens & plicans, 12 plicans (& nitens?), 4 plicans-extremus. 21. XII. Zweite korrigierte Beobachtung: 2 nitens & plicans (Fig. 9, 1), 7 plicans & nitens (Fig. 9, 2), 12 plicans (Fig. 9, 3, 4), 4 plicans-extremus (Fig. 9, 5—8). 8. I. 12 Dritte Beobachtung: Träger vertrocknet, nur plicans-extremus noch mit jungen Trägern.

plic. II, 4: Sporen eines plicans-Sporangiums aus plic. I, 2. Aussaat am 19. XII. Am 20. XII. vorhanden überwiegend plicans-Mycelien (runde Sporen und starke allseitige Verzweigung der Keimmycelien). Normale (nitens-) Mycelien auch aus runden Sporen, aber von rascherem Wuchs und gewöhnlicher Form der Verzweigung. 21. XII. Extreme plicans-Keimmycelien mit Blasen lösen sich häufig in weniger extreme auf. Echte plicans-Mycelien haben 2—4 mm Durchmesser. 8. I. 12. Von 18 am 20. XII. 11 auspikierten Keimmycelien sind 15 gewachsen: 10 plicans & nitens, 5 plicans.

plic. III, 1: Sporen eines etwas eingetrockneten plicans-Sporangiums aus plic. II, 4. Am 11. I. 12 Aussaat. 12. I. Höchstens $\frac{1}{10}$ plicans-Keimmycelien, meist aberrative Mycelien mit degenerierenden Ästen. 12. I. 3 langsam wachsende Mycelien mit gesunden Ästen.



1
2
3
4
5
6
7
8
Fig. 9. Var. plicans I, 2; Individuen 1—8, Erklärung p. 273.

und 8 rascher wachsende Mycelien pikiert. 23. I. 12 1 nitens & plicans, 6 plicans & nitens, 3 plicans (1 in Erlenmeyer-Kolben, Fig. 4 u. 5, photographiert am 19. und 23. I. 12).

plic. IV, 1: Sporen eines plicans-Sporangiums von plic. III, 1. Aussaat am 18. I. 12. Am 19. I. Sporen gleichmäßig etwas oval, keimen zum Teil mit nitens-ähnlichen Mycelien, daneben kommen echte plicans-Mycelien und einige wenige aberrative vor. Nur plicans-Mycelien pikiert (18). 31. I. 1 plicans & nitens, aber mit besonders starker sympodialer Verzweigung und sehr dicken Köpfen. Für diese Form wird der Ausdruck *cymonitens* eingeführt. 17 plicans verschiedener Schnelligkeit des Wuchses. 7 davon hatten am 23. I. Träger mit Köpfen. Diese werden weiterhin (7. II.) immer mehr nitens-artig. Auch die echten plicans spalten einzelne *cymonitens*-Träger ab. Die typischen primären plicans-Sporangien enthalten unvollkommen ausgebildete Sporen, die in den luftfeuchteren Erlenmeyer-Kulturen in den Sporangien keimen und diese mit Hyphen unwachsen lassen. In den trockneren Röhrenkulturen verlieren diese Sporen ihre Keimfähigkeit (vgl. plic. V, 2), so daß die Nachkommenschaft von einem *cymonitens*-Sporangium (plic. V, 1) zur Weiterkultur der Variante verwandt werden muß.

Mit plic. IV, 1 befindet sich der Gang der Selektion an einem Wendepunkt. Von plic. 0 bis plic. IV, 1 ist immerhin eine, wenn auch schwache Steigerung des plic.-Charakters zu bemerken gewesen. Bei plic. IV, 1 scheint diese Steigerung am Ende zu sein. Die erzeugten plicans-Formen sind nicht mehr in genügendem Maße fortpflanzungsfähig. Die reine konstante plicans-Form scheint nicht für sich selbst existenzfähig, sondern nur mit nitens gemischt sich durch Sporen fortpflanzen zu können. Da eine Weiterkultur durch Mycelübertragung unfehlbar zu nitens führt, muß jetzt von der weniger weitgehenden plicans & nitens-Mischform „*cymonitens*“ abgeimpft werden.

plic. V, 1: Sporen eines *cymonitens*-Sporangiums aus plic. IV, 1, ausgesät am 31. I. Am 1. II. Mycelien auf der Platte überwiegend aberrativ. 7. II. aus 19 normalen langsamen Mycelien erhalten: 9 *cymonitens*, 2 plicans & *cymonitens*, 8 plicans; aus 9 aberrativen: 1 *cymonitens*, 6 plicans; 2 nicht gewachsen.

plic. VI, 1: Am 12. II. Sporen eines plicans-Sporangiums aus plic. V, 1 ausgesät. 15. II. 3 Stück in Erlenmeyer pikiert. 25. II. 12. Typische plicans mit am Rande der Kultur abspaltendem *cymonitens*.

- plic. VII, 1:** Am 1. III. Aussaat von Sporen eines plicans-Sporangiums von plic. VI,1 (relativ alte Erlenmeyer-Kultur!). 2. III. ca. 1000 Mycelien auf der Platte, davon ca. 20% aberrativ. 9 Stück pikiert. 5. III. Fast nur nitens-Sporangien auf der Platte, wenig plicans. 15. III. in den Röhren erhalten: 6 cymonitens, 3 plicans & cymonitens.
- plic. VIII, 1:** Am 18. III. Aussaat eines dicken cymonitens-Sporangiums aus plic. VII, 1. Am 20. III. 8 Stück pikiert. Keimung der Sporen war unregelmäßig. Viele extrem aberrative und steckenbleibende Mycelien; viele scheinbar charakteristische plicans-Mycelien; wenige nitens-ähnliche; alle verlangsamten Wuchses. 23. III. Fast ausschließlich cymonitens auf Aussaatschale. 2. IV. In den Röhren 8 Stück fast reine nitens, nur etwas stärker gekräuselt und mit etwas dickeren Köpfen.
- plic. IX, 1:** Am 11. IV. Aussaat der Sporen eines cymonitens-Sporangiums aus plic. VIII, 1. Am 13. III. Keimung unregelmäßig, etwa die Hälfte aberrative Mycelien. Nur aberrative Mycelien mit „durchwachsenden“ Ästen auspikiert. Resultat am 18. IV.: 1 cymonitens, 4 plicans & cymonitens, 3 plicans.

Bei den Generationen V u. VI scheint sich der plicans-Charakter noch zu erhalten. Bei VII wird er bedeutend schwächer, bei VIII scheint die Variante bereits verloren, da nur fast reine nitens aus den pikierten Mycelien hervorgehen. Bei IX gelingt es, aus weitgehend aberrativen Mycelien, die an einer Seite auswachsen (durchwachsende Mycelien) wieder plicans zu erhalten.

Wegen einer Ende April und Anfang Mai unternommenen Reise konnte die Selektion nicht weitergeführt werden. Die nach der Rückkunft 49 Tage alten Kulturen ergaben nur noch reine nitens-Mycelien. Der plicans-Charakter trat nicht einmal mehr in der cymonitens-Form auf. Die bei den Aussaaten noch hin und wieder beobachteten aberrativen Mycelien sind reine Blasenmycelien, die nicht auswachsen; die übrigen nitens-Keimmycelien ergeben in mehreren weiteren Generationen

plic. X (20. V.) bis plic. XII (6. VI.) nur reine nitens mit normalen länglich-ovalen Sporen.

Die Hoffnung, die Var. plicans aus Zygoten mit dem Cl. — Mycel zu erhalten, erwies sich als trügerisch. Plicans kopulierte mit Cl. — nur in einzelnen Fällen und lieferte einige wenige Zygoten. Von diesen wurde nach halbjähriger Ruhe eine einzige zur Keimung gebracht. 28. VI. 12. Die Sporen eines normalen nitens-Keimsporangiums lieferten alle dünne, wenig verzweigte Mycelien, welche, ohne Träger oder gar Köpfe zu be-

kommen, zugrunde gingen. Eine Ähnlichkeit mit der verlorenen Varietas *plicans* wiesen sie nicht auf.

Stammbaum der Var. *plicans*.

plie. 0 aus Cl + als Spore isoliert (22. XI, 11).....	$\left\{ \begin{array}{l} \text{plie. I, 1} \\ \text{plie. I, 2} \\ \text{plie. I, 3} \end{array} \right.$		
plie. I, 1 (Anfang Dezbr.) <i>plicans</i> -Sporangium).....		$\left\{ \begin{array}{l} 1 \text{ nit.} \dots\dots\dots \text{plie. II, 1} \\ 9 \text{ plie.} \dots\dots\dots \text{plie. II, 3} \\ 1 \text{ plie.-extr. \& plie.} \\ 1 \text{ plie.-extr. \& nit.} \dots\dots\dots \text{plie. II, 2} \\ 3 \text{ plie.-extr. (aus dicken Sporen)} \\ \text{(Sporangientr. regeneriert plie.-extr.)} \end{array} \right.$	
plie. II, 1 (11. XII) (nitens-Sporangium).....			$\left\{ \begin{array}{l} 5 \text{ nitr. \& plie.} \\ 9 \text{ plie. \& nit.} \\ 4 \text{ plie.} \end{array} \right.$
plie. II, 2 (12. XII.) (nitens-Sporangium).....	$\left\{ \begin{array}{l} 5 \text{ nit. \& plie.} \\ 2 \text{ plie. \& nit.} \\ 2 \text{ plie.-extr. \& nit.} \\ 8 \text{ plie.-extr.} \end{array} \right.$		
plie. II, 3 (12. XII.) (plie.-Sporangium).....			$\left\{ \begin{array}{l} 1 \text{ plie. \& nit.} \\ 10 \text{ plie.} \\ 7 \text{ plie.-extr.} \end{array} \right.$
plie. I, 2 (11. XII.) (plie.-Sporangium).....			
plie. I, 3 (11. XII.) (plie.-Sporangium).....	1 Spore in Erlenmeyer-Kolben phot. 19. XII.		
plie. II, 4 (19. XII.) (plie.-Sporangium).....	$\left\{ \begin{array}{l} 10 \text{ plie. \& nit.} \\ 5 \text{ plie.} \dots\dots\dots \text{plie. III, 1} \end{array} \right.$		
plie. III, 1 (11. I. 12) (plie.-Sporangium).....		$\left\{ \begin{array}{l} 1 \text{ nit. \& plie.} \\ 6 \text{ plie. \& nit.} \\ 3 \text{ plie.} \dots\dots\dots \text{plie. IV, 1} \end{array} \right.$	
plie. IV, 1 (19. I.) (plie.-Sporangium).....	$\left\{ \begin{array}{l} 1 \text{ cymonit.} \dots\dots \text{plie. V, 1} \\ 17 \text{ plie.} \dots\dots\dots \text{plie. V, 2} \end{array} \right.$		
plie. V, 1 (31. I.) (cymonit.-Sporang.).....			$\left\{ \begin{array}{l} 9 \text{ cymonit.} \\ 2 \text{ plie. \& nit.} \\ 8 \text{ plie.} \dots\dots\dots \text{plie. VI, 1} \\ 2 \text{ nicht gewachsen} \\ 1 \text{ cymonit.} \\ 6 \text{ plie.} \end{array} \right.$
plie. V, 2 (31. I.) (plie.-Sporangium).....	Sporen keimen nicht		
plie. VI, 1 (12. II.) (plie.-Sporangium).....	3 plie. plie. VII, 1		

plic. VII, 1 (1. III.) (plic.-Sporangium).....	{	6 cymonit.
		3 plic. & cymonit... plic. VIII, 1
plic. VIII, 1 (18. III.) (cymonit.-Sporangium)...		8 cymonit. & nit. plic. IX, 1
plic. IX, 1 (11. IV.) (cymonit.-Sporangium).....	{	1 cymonit.
		4 plic. & nit.
		3 plic. plic. X, 1
plic. X bis plic. XII (20. V.—6. VI.).....		alles nitens.

IV. Varietas piloboloides. (Taf. XV, Fig. 2.)

Allgemeines.

Unter einer größeren Zahl von abweichenden Keimmycelien der Claußenschen \pm -Kultur, die einzeln in Röhren auspikiert waren, entstand aus einem Mycel eine Variante, die den Namen piloboloides erhielt. Die Wichtigkeit, die diese Form im Laufe meiner Arbeit erhielt, macht

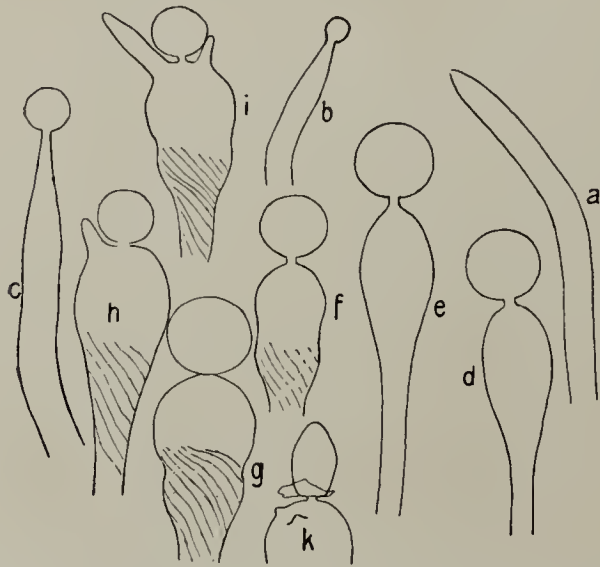


Fig. 10. Entwicklung der piloboloides-Träger, Erklärung p. 279. *a* Träger vor der Sporangienbildung; *b*, *c* Träger mit jungen Sporangien; *d*, *e* Träger mit Kröpfen kurz nach der Ausbildung; *f* Träger mit älterem in der Mitte eingeschnürtem Kropf; *g* Sporangium ohne Stiel auf dem Kropf aufsitzend; *h*, *i* Beginn der sympodialen Verzweigung des Träger; *k* Columella.

eine besonders eingehende Beschreibung nötig. Als Typus sei hier die hochselektionierte, aber noch nicht ganz rückschlagsfreie (also noch heterokaryotische) Form beschrieben, die bereits nach wenigen Generationen bestimmt gerichteter Selektion entstand und von der homokaryotischen, die später aus der auf geschlechtlichem Wege erhaltenen Nachkommenschaft hervorging, nicht im wesentlichen abweicht.

Die Sporen des piloboloides sind normal gestaltet und verhalten sich physiologisch bei der Keimung wie die von nitens. Die aus ihnen entstehenden Keimmycelien lassen sich von denen des nitens manchmal

habituell unterscheiden, doch gestatten die Unterschiede, die in der etwas schwächeren Verzweigung und in dem etwas größeren Durchmesser der Hyphen des piloboloides bestehen, nicht immer eine sichere Diagnose.

Die Wuchsgeschwindigkeit war bei der eben isolierten Variante etwas geringer, als bei dem \pm Mycel der Ausgangskultur. Im Laufe der Kultur steigerte sie sich. Bei piloboloides XXI ist sie um ein unbedeutendes größer als die von Cl \pm .

Die Sporangienbildung der Var. *piloboloides* weicht nach zwei Richtungen von *nitens* ab, in der Form und in der Entstehungsfolge der Träger.

Während bei *nitens* nach dem in der Nacht erfolgten Ausreifen der Sporen im Kopfe des Sporangiums gegen Morgen eine längere Zeit anhaltende, auf intercalarem Wachstum beruhende Streckung des Sporangienhalses eintritt, setzt diese bei *piloboloides* aus, ein analoger Vorgang tritt an ihre Stelle: Es entsteht unter einer Dehnung der Membran eine blasige Anschwellung unter dem Sporangium, auf der der Kopf auf einem Stielchen, seltener auch direkt aufsitzt (Taf. XIV, Fig. 2; Fig. 10).

Während dieser Dehnung erleidet der blasig werdende Teil des Trägers eine Torsion von links nach rechts, die an den in ihm spiralig ausgespannten Plasmafäden sichtbar wird (Fig. 10).

Eine Streckung des Halses unterbleibt normalerweise vollkommen¹⁾. Mit der Bildung des „Kropfes“ ist das Wachstum des Trägers aber noch nicht abgeschlossen, besonders wenn er relativ frühzeitig durch intensive Belichtung zur Fruktifikation gezwungen wurde. Meist entstehen am oberen Teil des Kropfes neben dem Sporangium (Fig. 10) 1—4 junge Träger, die, an ihm vorbei wachsend, gewöhnlich in kürzerem Abstand Köpfe ausbilden und ihrerseits eine dritte Serie von Sympodialästen erzeugen können (Taf. XIV, Fig. 3; Fig. 11). Jeder dieser Äste hat unter seinem Sporangium einen Kropf, der aber meistens etwas weniger regelmäßig ausfällt wie der des Hauptsporangiums.

In der Zahl der Sympodialäste, ihrer Länge und der Art ihrer Bekropfung treten sowohl bei dem primären *Pilobolus* unter verschiedenen äußeren Bedingungen, als auch bei verschiedenen später zu beschreibenden, aus der Zygote stammenden *piloboloides*-Rassen unter gleichen Bedingungen Unterschiede auf.

Bei früh fruktifizierenden Trägern kann der Druck während der Dehnung des Kropfes so stark werden, daß dieser auf einer Seite platzt



Fig. 11. *Piloboloides*-Träger, cymös verzweigt, stärker vergrößert.

1) *Piloboloides* verhält sich hier zu *nitens* wie *Pilobolus* zu *Pilaira* und *Mucor* (vgl. Brefeld, Schimmelpilze, IV, pag. 67). Von einer Torsion ist indessen bei *Pilobolus* nichts bekannt.

und der Kopf einseitig am Träger herunterhängt. Ein Abschleudern des Kopfes oder von Stücken der Sporenmasse konnte nie beobachtet werden. Hierzu müßte der Riß in horizontaler Richtung um den ganzen Hals herum erfolgen. Es handelt sich also wohl bei diesem Prozeß um einen rein pathologischen.

Die Sukzession der Sporangien ist nitens gegenüber eine stark modifizierte. Impft man, wie es zu vergleichenden Kulturen am günstigsten ist, auf den in der Röhre horizontal erstarrten Agar ein Mycelindividuum, so daß ihm nur eine kreisförmige Oberfläche von 17—18 mm Durchmesser zur Verfügung steht, so bedeckt sie sich in den ersten 3 Tagen mit einer zuerst lockeren, später dichten Myceldecke. Am Ende des 3. und am 4. Tage erfolgt die Trägerbildung; es entsteht eine Trägerserie, die, wenn man den unteren Teil der Röhre verdunkelt, gerade aufwärts wächst, ohne Köpfe auszubilden. Auf die tägliche, wenn auch schwache Beleuchtung von oben reagieren die Träger, besonders solange sie kurz sind, durch periodische Verkrümmungen ihrer Spitzen, die den Tageszuwachs an den Trägern leicht erkennen lassen. Die Ausbildung der Köpfe ist nitens gegenüber stark, häufig um viele Tage verzögert. Sie tritt als Reaktion auf die tägliche Beleuchtung erst ein, wenn die Spitzen der wachsenden Träger in größere Nähe des Randes des die Kulturen unten bedeckenden schwarzen Papierses und damit in größeren Lichtgenuß kommen, was erst 8—14 Tage nach der Aussaat der Fall sein kann. Gewöhnlich zeigen sich nachmittags die ersten Kopfanlagen, meist an einem kleineren Teil der Träger. Am folgenden Tage sind sie geschwärzt und bekropft. Die Hauptmasse der Träger bildet dann Köpfe, die um eine Tageslänge höher zu stehen kommen. Ein dritter Teil kann seine Köpfe am 3. Tage noch um eine Etage höher schieben.

Der Hauptwuchs der Kultur ist damit beendet. Nur wachsen noch einzelne neue Träger von unten auf, die den „Nachzüglern“ bei nitens entsprechen und die an immer höherer Stelle zur Fruktifikation kommen. Die große Trägerserie des piloboloides muß im Vergleich zu nitens als die zweite bezeichnet werden, da sie dieser in der Zeit der ersten Entstehung am Ende des 3. Tages entspricht. Das ist um so naheliegender, als auch bei nitens die erste Trägerserie bei Kulturen mit Durchmessern unter 40 mm häufig ausbleibt und auch bei piloboloides in seltenen Fällen einzelne, meist sehr frühzeitig fruktifizierende und kurz bleibende Träger erster Ordnung vorkommen.

Regelmäßig erscheinen sie bei dichten Sporenaussaaten auf der Platte (Fig. 12).

Die Hauptunterschiede bei der Träger- und Kopfbildung beider Formen am Licht liegen also, um es noch einmal kurz zusammenzufassen, darin, daß *nitens* mindestens zwei Trägerserien erzeugt, die nacheinander an aufeinander folgenden Tagen zur Fruktifikation kommen, *piloboloides* nur eine einzige, der zweiten des *nitens* entsprechende, deren Träger viel später fraktioniert, an verschiedenen Tagen Köpfe ausbilden, so daß man hier von Kopfserien¹⁾ sprechen kann. Kompliziert wird das Verhalten des *piloboloides* noch durch die Entstehung der Sympodialäste der Köpfe der einzelnen Serien, die gewöhnlich erst mehrere Tage nach dem Hauptkopf fruktifizieren.

Was das Verhalten des *piloboloides* im Dunkeln betrifft, so soll es hier nur ziemlich summarisch geschildert werden, handelt es sich doch noch um den zwar hochselektio- nierten, aber immer noch hetero- karyotischen *piloboloides*, der nicht so entschieden auf die Verdunkelung reagiert wie die hemokaryotische Form. Die Folgen des Wuchses im Dunkeln bei *nitens* sind schon besprochen. Bei *piloboloides* tritt nun die Vermehrung der Träger, ihre Verdünnung und ihr Etiolement in viel höherem Grade auf; die Variante kommt erst sehr spät zur Fruktifikation und erzeugt winzig kleine, an *Mucor mucedo* erinnernde, aber mit schwachen Kröpfen versehene Köpfe. Fig. 13 zeigt *piloboloides* + und *nitens* Cl. +, hell und dunkel kultiviert²⁾.

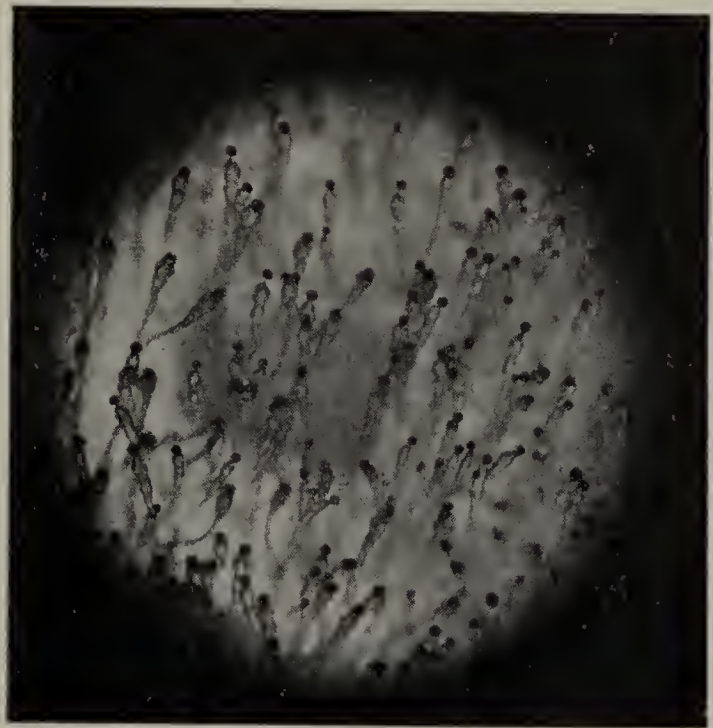


Fig. 12. Bild einer dichten Plattenaussaat von *piloboloides* mit der ersten Trägerserie und in der Mitte eingeschnürten Kröpfen.

Die Erscheinung der Heterokaryose ist bei *piloboloides* wie bei *plicans* vorhanden. Es macht aber keine Schwierigkeiten, den *piloboloides* in Kultur zu halten, da ein gänzlichliches Aufgehen eines Mycels in *nitens*

1) Auch bei *nitens* können an Trägern, die aber hier der zweiten Serie nachfolgen, Kopfserien an verschiedenen Tagen in verschiedener Höhe auftreten (vgl. pag. 262).

2) Die Aufnahme ist eine der ersten und nicht besonders günstig. Die Kulturen sind so weit am Licht nicht regelmäßig von oben beleuchtet und wiederholt gedreht worden, woraus sich der unregelmäßige Wuchs erklärt.

nie vorkommt. Fig. 14 und Taf. XVI stellen eine Kulturserie unreinen piloboloides dar, deren Mycelindividuen in den einzelnen Röhren Nachkommen eines piloboloides-Sporangiums sind (pil.' IX, 1).

Die Mycelien sind entsprechend ihrem nitens-Gehalt verteilt, links scheinbar reiner piloboloides, rechts scheinbar reiner nitens.



Fig. 13. Var. piloboloides: *a, a* Individuen am Licht; *b, b* Individuen dunkel; *c* nitens am Licht; *d* nitens im Dunkeln.

Die Kulturen *a* und *b* spalten keine nitens-Sporangien mehr ab. Die Kopfbildung beginnt gerade. Ihr verhältnismäßig frühes Auftreten dürfte durch die in dem Mycel noch enthaltenen nitens-Kerne veranlaßt sein. Kultur *c* enthält ein Individuum von höherem Wuchs, 2 Tage

später herausgespaltene *nitens*-Träger. Die Mycelien d und e erzeugen schon am 6. Tage *nitens*- neben *piloboloides*-Trägern. f ist rein *nitens*, bei Fig. 14 ist die zweite Trägerserie schon gestreckt (die erste, die aus wenigen Trägern besteht, nicht mehr erkennbar), die dritte kurz, aber schon mit Köpfen. Bei Taf. XVI ist auch die dritte gestreckt.

Bei den *nitens* & *piloboloides*- und den *piloboloides* & *nitens*-Individuen kommen intermediäre Sporangien vor (Taf. XVI c), die trotz einer deutlichen Streckung nach der Kopfanlage einen merklichen, aber verlängerten Kropf aufweisen, jedoch sind diese verlängerten Kröpfe niemals geschwärzt. Sympodialäste von *pilo-*

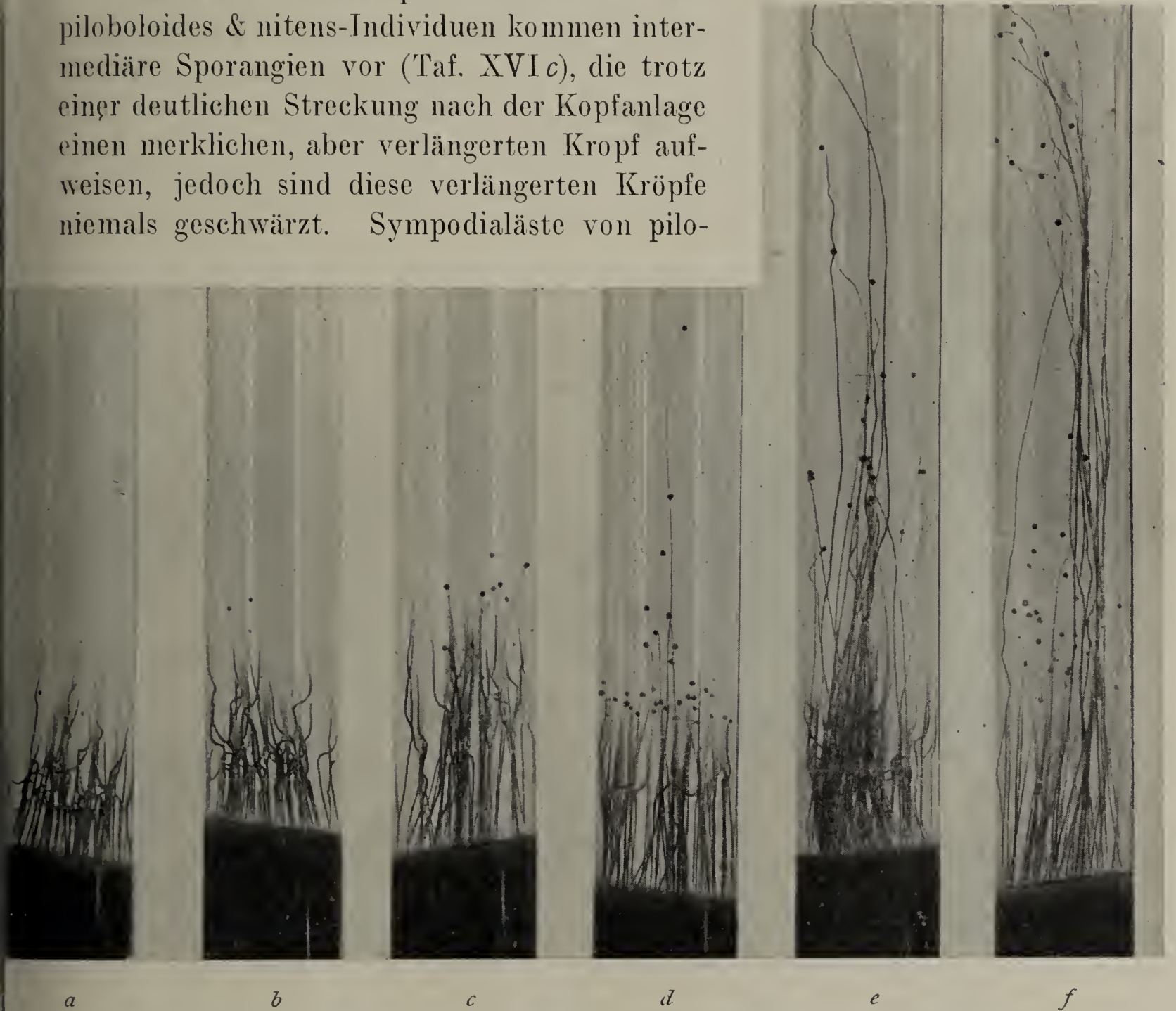


Fig. 14. Var. *piloboloides*' IX, 1 Heterocaryotische Individuen in verschiedenen Graden der *piloboloides*-Mischung mit *nitens*. Erklärung p. 282, 283; 6 Tage alt.

boloides-Trägern können als *nitens*-Träger auswachsen. Der *nitens*-Charakter der gemischten Individuen (Zahl der *nitens*-Kerne) nimmt, wenigstens scheinbar mit dem Alter der Kultur zu, jedoch nur in so geringem Grade, daß die Anwendung der bei *plicans* gegebenen Erklärung der rascheren Teilung der *nitens*-Kerne hier bei *piloboloides* gewagt wäre.

Während der später zu beschreibenden Selektionsversuche, die durch Abimpfen typischer piloboloides- resp. nitens-Sporangien während 34 absoluter Reinkulturgenerationen vorgenommen wurden, sind eine Reihe von Modifikationen der Variante aufgetreten, denen einige Zeilen gewidmet werden müssen.

Es kommen vor:

1. Dünne Mycelien, d. h. Sporen, die nach Ausbildung eines kurzen Keimschlauches absterben oder, wenn sie auswachsen, scheinbar reine nitens-Mycelien ergeben.



Fig. 15. Var. piloboloides IV, 3: „piloboloides - nanus“, Mycelien von langsamem plicans-ähnlichem Wachstum. Kulturen mit erster Trägerserie (etwa 10—12 mm lang) und reifen Sporangien, dazwischen die nicht fruktifizierenden Träger der zweiten Serie und Sympodialäste der Träger der ersten.

2. Nitens-Mycelien, deren Nachkommen wieder einen gewissen Prozentsatz piloboloides oder Mischmycelien ergeben.

3. Nitens & piloboloides- und
4. piloboloides- & nitens-Mycelien, je nach dem Überwiegen der einen oder anderen Form: also piloboloides mit überwiegend piloboloides-Sporangien und einigen nitens-Köpfen und nitens-Individuen mit wenigen piloboloides-Köpfen.

5. Piloboloides-Mycelien, scheinbar reine Formen ohne nitens-Sporangien auch in alter Kultur, die durch die unter ihren Nachkommen auftretenden nitens-ähnlichen Individuen als unrein erkannt werden können. Ihre Charaktere sind bereits geschildert bis auf einen, der als Reaktion auf die Wasserabnahme im Nährboden einzutreten pflegt: die elongaten Kröpfe. Sie entstehen meist an den letzten Trägern der Kultur; wie bei den Trägerverzweigungen kommt es hier meist nicht mehr zur Ausbildung eines regelmäßigen Kropfes. Das Wachstum hört nach der Reife der Sporen nicht völlig auf, sondern wird interkalar und ruft unregelmäßig aufgeblähte, langgezogene Kröpfe hervor, die zum Unterschied von ähnlichen nitens-piloboloides-Mischkröpfen (pag. 283) immer stark schwarz pigmentiert erscheinen.

Bei später zu besprechenden Untervarietäten des reinen piloboloides wird uns diese elongate Kropfform weiter beschäftigen. Sie stellt keinen

nitens-Übergang dar, sondern ihre Sporangien enthalten Sporen von dem der ganzen Kultur entsprechenden Reinheitsgrad im Gehalt von piloboloides-Kernen.

6. *Piloboloides-nanus*-Mycelien (Fig. 15) werden zuweilen aus abweichenden Keimmycelien erhalten. Sie stellen nanistische Hemmungsformen dar, die in ihrem Sporangien keine normalen Sporen erzeugen, und entsprechen bei plicans den plicans-extremus.

7. Aberrative und Blasenmycelien (Fig. 16) erinnern stark an die Bildungen, die Pilzsporen auf saurem Substrat erzeugen¹⁾, sind aber hier von dem Stand der Alkaleszenz des Substrates unabhängig. Nach Ausbildung der auf Fig. 16 sichtbaren Blasen bleiben die Mycelien vollkommen stationär; nur schwärzt sich meistens der Inhalt der Blasen, die dann eine äußerliche Ähnlichkeit mit kleinen Azygosporen haben. Eine Keimung dieser Gebilde unter Entstehung normaler Mycelien konnte nie erzielt werden.

Die Deszendenz dieser sieben Formen auseinander wird aus folgendem von Text und Stammbaum begleiteten Protokoll hervorgehen:

Protokolle zu *piloboloides*.

pil. 0: Aus Cl + als Spore isoliert Anfang Dez. 1911.

pil. I, 1: Anfang Dez. 1911 erzeugen 3 Sporen einer Aussaat 2 piloboloides, 1 piloboloides & nitens.

pil. I, 2: Sporen eines pil.-Sporangiums am 11. XII. ausgesät. Am 12. XII. Keimung nicht ganz gleichmäßig, Durchmesser der jungen Mycelien nach 28 Stunden 1,5—2 mm. 18 Mycelien auspikiert, darunter 2 aberrative. 14. XII. Ziemlich zahlreiche nitens-Sporangienträger auf der Platte. 18. XII. Die auspikierten Mycelien ergeben: 2 nitens, 4 nitens & pil., 2 pil. & nitens, alle mit zahlreichen Sporangien, 8 pil. und 1 aberratives Mycel noch ohne Sporangien, das zweite nicht gewachsen. 21. XII. Köpfe bei piloboloides gebildet. 8. I. 12 Sporangienträger vertrocknet.

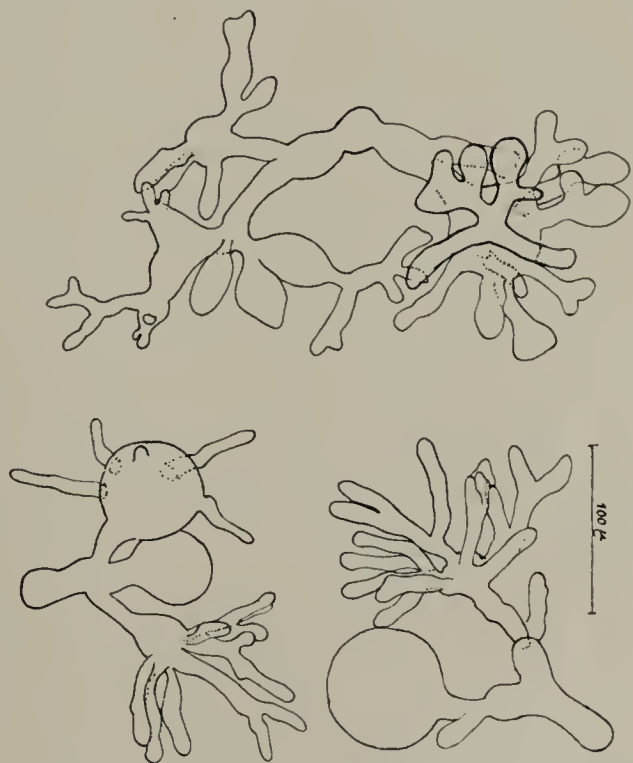


Fig. 16. Blasenmycelien des piloboloides.

1) Vgl. Ritter, Jahrb. f. wiss. Bot., 1913, Bd. LII.

- pil. II, 1:** 11. XII. Sporen eines nitens-Kopfes von pil. & nitens-Individuum aus pil. I, 1 ausgesät. 12. XII. Keimung sehr regelmäßig, keine aberrativen Mycelien. Mycelien nach 28 Stunden mit 2—3 mm Durchmesser. 17 Mycelien auspikiert. 18. XII. 6 nitens, 2 nitens & pil., 4 pil. & nitens mit Sporangien, 5 pil. noch ohne Sporangien. 21. XII. pil. mit Sporangien. 8. I. 12. Träger bis auf die letzten von piloboloides vertrocknet.
- pil. II, 2:** Am 11. XII. Sporen eines pil.-Sporangiums von pil. & nitens-Individuum aus pil. I, 1 ausgesät. 12. XII. Keimung gleichmäßiger wie pil. I, 2. Mycelien nach 28 Stunden mit 2—3 mm Durchmesser. 14. XII. Ziemlich zahlreiche nitens-Träger auf der Platte. 18. XII. Von 16. auspikierten Mycelien sind: 1 nitens & pil., 4 pil. & nitens, mit Sporangien, 1 pil. mit einzelnen Sporangien, 10 pil. ohne Sporangien. 21. I. 12. Sporangien bei pil. gebildet. 8. I. Träger vertrocknet.
- pil. II, 3:** Am 19. XII. Sporen eines pil.-Sporangiums von pil.-Individuum Nr. 1 aus pil. I, 1. Am 20. XII. Keimung sehr unregelmäßig. Etwa die Hälfte aller Sporen gibt Blasenmycelien mit teilweise platzenden Blasen. 8. I. 12. 13 auspikierte Mycelien ergaben: 5 nitens & pil., 3 pil. & nitens, 5 pil.
- pil. II, 4:** Am 19. XII. Aussaat von Sporen eines pil.-Sporangiums von pil.-Individuum Nr. 2 aus pil. I, 1. Keimung unregelmäßig, zahlreiche Blasenmycelien. 21. XII. gezeichnet (Fig. 16). pil.-Mycelien haben in 43 Stunden 5—8 mm Durchmesser. 31. XII. 20 auspikierte Mycelien ergeben: 2 pil. & nitens, 18 pil. (darunter zwei Kulturen mit besonders dicken Köpfen und wenig verzweigten Trägern. Eine nach der Richtung dieser Eigenschaften durch mehrere Generationen fortgeführte Selektion hatte keinen Erfolg.

In einer Kultur aus pil. I, 1 (pil. & nitens) entstand auf eine nicht näher beobachtete Weise (wohl durch irgend eine mechanische Beeinflussung der wachsenden Spitze des Trägers, wie sie gelegentlich die Reibung an der Wand der Kulturröhre mit sich bringt) eine Dichotomie. Ein Ast lieferte ein piloboloides-, der andere ein langes nitens-Sporangium. Die Deszendenz der beiden Sporangien pil. II, 1 (nitens) und pil. II, 2 (piloboloides) entspricht der Form der Muttersporangien. pil. II, 1 besteht hauptsächlich aus nitens und nitens-ähnlichen, pil. II, 2 vorwiegend aus piloboloides und pil.-ähnlichen Mycelien (vgl. auch Stammbaum). Eine Abimpfung der Originalkultur pil. 0 (pil. I, 2) ist ungefähr intermediär. Abimpfungen scheinbar reiner piloboloides-Mycelien aus pil. I, 1 (pil. II, 3 und pil. II, 4) ergeben einen ungleich

höheren Prozentsatz scheinbar reiner piloboloides. Die aus diesen Verhältnissen abzuleitende Regel läßt sich folgendermaßen formulieren: Ein heterokaryotisches, aus Stammform und Variante zusammengesetztes Mycel erzeugt Sporangien, deren Form durch die in ihnen jeweils überwiegende Kernart bestimmt wird. Auf die Deszendenz kann bis zu einem gewissen Grade aus der Form der Sporangiums geschlossen werden, wenn der Gesamtcharakter des Muttermycels berücksichtigt wird.

So ist es nicht einerlei, ob ein abgeimpftes nitens-Sporangium aus einer nitens- & pil.-Kultur oder aus einer pil. & nitens-Kultur stammt. Im ersteren Fall wird die Deszendenz mehr nach nitens, im letzteren mehr nach piloboloides fallen.

Diese Feststellungen an den Generationen pil. 0 bis pil. II, 4 ließen eine Selektion zum absoluten piloboloides, d. h. einem nur pil.-Kerne enthaltenden, homokaryotischen Mycel möglich erscheinen. Es wurde daher in der Folge immer von charakteristischen pil.-Sporangien abgeimpft. Die Sporen ergaben in fast jedem Falle die scheinbar reine Variante. Zur Kritik des Selektionsgrades mußten daher die einige Hunderte bis Tausende von Mycelien enthaltende Aussaatplatte, resp. die auf ihr entstehenden Sporangien dienen. Daß die Schätzung der Sporangienzahl auf der Platte ungefähr der der Mycelien entspricht, geht daraus hervor, daß die einzelnen Mycelien bei genügend dichter Aussaat nur je ein primäres Sporangium erzeugen. Nitens ist dabei durch seine frühzeitige Sporangienbildung begünstigt und auch wegen der die pil.-Sporangien weit überragenden Träger nicht zu übersehen.

pil. III, 1: Am 8. I. Aussaat von Sporen eines besonders großen Sporangiums von pil. II,4. Am 9. I. Keimung regelmäßiger, wie bei pil. II,4. Blasenmycelien seltener. Am 12. I. Aussaatplatte mit Sporangien. Einige Mycelien mit nitens-Trägern. Von den am 9. I. pikierten 32 Mycelien wird die eine Hälfte im diffusen Tageslicht, die andere dunkel kultiviert.

Am Licht:

Dunkel:

12. I. Einzelne primäre Träger mit Köpfen.

Bei einigen Kulturen einzelne primäre Träger mit Köpfen.

14./15. I. Erste Kopfserie der sekundären Träger.

Nur einzelne Köpfe.

Am Licht:	Dunkel:
16. I. Zweite Kopfserie an den dicken wenig zahlreichen Trägern.	An sehr zahlreichen langen und dünnen Trägern wenige Köpfe. 1 Mycel noch ohne solche.
23. I. Endresultat: Zahlreiche sehr dicke, meist nicht verzweigte, stark pigmentierte Träger, meist mit dicken Köpfen. 18 pil. (Fig. 13 a).	Sehr zahlreiche, sehr dünne und stark verzweigte, schwach pigmentierte Träger mit sehr kleinen Köpfen. 15 pil. (Fig. 13 b).

23. I. Um das Resultat einer Mycelabimpfung zu prüfen, werden die am Licht gewachsenen 18 pil.-Mycelien durch ausgestochene Mycelstücke in neue Röhren übertragen. Dabei keimen auch zahlreiche mit übertragene Sporen, so daß sich um die ausgestochenen Stücke der Muttermycelien ein feiner Filz von Sporangien bildet. Das Resultat ist ein fast allgemeiner Rückschlag zu nitens-ähnlicher Form:

Am 9. II.: 18 pil. & nitens und 2 piloboloides-Kulturen.

pil. III, 2: Am 9. 1. Aussaat eines (kleinen) pil.-Sporangiums von pil. II, 3, verläuft genau wie pil. III, 1 (und erzeugt eben so große Sporangien wie diese Generation). Resultat: 32 piloboloides.

pil. IV, Vorkultur: Sporangien aus 5 Mycelien von pil. III, 1 abgeimpft und ausgesät. Mycelien: a, b, d, e, f.

25. I. b und f wenig, e sehr wenig, a, d viel aberrative Mycelien.

26. I. Sporangien gebildet.

a) 9 nitens-, viele Tausend pil.-Sporangien auf der Platte.

b) Einige 100 nitens, viele Tausend pil.-Sporangien.

d) Etwa 100 nitens, viele Tausend pil.-Sporangien.

e) Einige 1000 nitens, mehrere 1000 pil.-Sporangien.

f) 6 nitens-, 1000—2000 pil.-Sporangien.

pil. IV, 1 (a): Am 26. I. Aussaat der Sporen eines pil.-Sporangiums aus pil. III, 1 a. Am 27. I. Wenig aberrative Mycelien. Am 29. I. Auf dichter Plattenaussaat sehr wenig nitens-Träger. Am 7. II. 9 piloboloides aus 9 auspikierten Mycelien.

pil. IV, 1 (f): Am 26. I. Aussaat von Sporen eines pil.-Sporangiums aus pil. III, 1, Mycel f. Am 27. I. ca. 1400 Mycelien auf der Platte, davon etwa 20 % aberrative. Am 30. I. 1 normales nitens-, 2 Übergangssporangien, sonst nur pil.-Sporangien. Am 27. I. 9 normale und

9 aberrative Mycelien auspikiert. Normale Mycelien ergeben 9 pil. Aberrative (3 nicht auswachsend, Blasenmycelien), 2 pil., 4 piloboloides-nanus (Fig. 15).

pil. IV, 3: Aussaat von Sporen eines pil.-Sporangiums von pil. III, 1. 20. I. 4 Sporen in Erlenmeyer-Kolben pikiert: 4 piloboloides (Taf. XV, Fig. 2).

pil. V, 1: Am 16. II. Aussaat eines pil.-Sporangiums aus pil. IV, 2. Eine vorher ausgeführte Sporenstrichkultur hatte sehr wenig nitens-Sporangien ergeben. Am 17. II. ca. 4500 Mycelien auf der Platte, davon 70—80% aberrativ. Am 20. II. Nur wenige nitens-Träger an besonders dichter Stelle der Aussaat. 9 Mycelien auspikiert, ergeben 9 piloboloides.

pil. V, 2: Am 16. II. Sporen eines pil.-Sporangiums aus pil. IV, 2 (b) (Strichkulturen von pil. IV, 2 b hatte fast keine nitens-Sporangien). Am 17. II. ca. 6500 Mycelien auf der Platte. Keimung regelmäßig, nur etwa 5% aberrative. Am 20. II. Kulturschale ganz ohne echte nitens-Träger; nur mit wenigen nitens-ähnlichen Trägern mit am Grunde verdicktem Schaft (elongate Form?); 9 piloboloides pikiert.

Folgt ein Versuch der Selektion nach nitens:

pil. VI, 1: Am 26. II. Aussaat der von Sporen von 25 Stück solcher oben-erwähnter nitens-ähnlicher Sporangien auf eine Schale. Resultat: ca. 1400 echte pil.-Träger und 29 echte nitens-Träger.

pil. VI, 2: Am 26. II. Sporen eines Sporangiums von pil. V, 2 (a) gemischt mit Sporen von St.—ausgesät. 2. III. Zygoten gebildet.

pil. VI, 3: Aussaat am 1. III. von Sporen eines Sporangiums von pil. V, 2 (b). 6. III. pil.-Träger auf der Platte. Keine nitens- oder nitens-ähnlichen Träger mehr; 6 piloboloides auspikiert.

pil. VII, 1: Aussaat am 18. III. von Sporen eines Sporangiums von pil. VI, 3. Relativ regelmäßige Keimung, wenig aberrative Mycelien. Keine nitens-Träger auf der Platte, nur wenig nitens-ähnliche an dichter Stelle der Aussaat; 6 pil. pikiert.

Während der Generationen pil. III bis pil. VII ist die Selektion von piloboloides mit Erfolg fortgeführt worden. Die Methode, die auspikierten Mycelien durch Strichkulturen ihrer Sporen vor der definitiven Abimpfung auf die Reinheit ihrer Deszendenz zu prüfen, hat sich bewährt. Trotzdem ist die Selektion zum absoluten piloboloides noch nicht gelungen. Die Generationen pil. V, 2 und pil. VI, 1 zeigen deutlich, daß die Selektion nach der umgekehrten Richtung, nach nitens, sofort Erfolg

hat. Wenn bei pil. VI, 3, unter 600 Trägern, keine nitens-ähnlichen mehr auftreten, so liegt das nur an der relativ geringen Zahl der auf der Platte vorhandenen Mycelien.

Die Abimpfung der aberrativen Mycelien, deren Prozentsatz unter den einzelnen Saaten stark schwankt, ergab in einigen Fällen, wo sie auswuchsen, den piloboloides-nanus, den man als eine der Var. plicans-extremus ähnliche Hemmungsform betrachten kann. Ihre Kultur wurde nicht fortgesetzt, weil die Sporangien keine keimfähigen Sporen enthielten. Daß piloboloides-nanus vielleicht die gesuchte homokaryotische piloboloides-Form darstellen könnte, ist aus später zu erörternden Gründen sehr unwahrscheinlich. Vielmehr scheinen neben gesunden auch degenerierte piloboloides-Kerne vorzukommen, die durch die in dieser Richtung zufällige Auswahl der Sporangien in größerer oder kleinerer Zahl auftreten können. Von der möglichen Qualität der echten Blasenmycelien wird später zu sprechen sein.

In der Folge wurde der Versuch weiterer Selektion des piloboloides mangels einer Unterscheidungsmöglichkeit der mehr oder weniger nitens-freien Formen (reine nitens-Sporangien traten nicht mehr auf und nitens-ähnliche sind kaum von elongaten pil.-Sporangien zu unterscheiden) aufgegeben und die Variante in der bisherigen Form durch Abimpfen und Aussäen je eines Sporangiums und Auspikieren von je 6 Keimmycelien weiter erhalten.

pil. VIII, 1 (11. IV.) bis **pil. XIII, 1** (? VI. 12) vgl. Stammbaum.

Pil. VIII bis pil. XIII ergeben nichts Neues. Neben pil.-Mycelien entstehen $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{5}$ aberrative, die aber von nun an nie mehr auswachsen, sondern stets Blasenmycelien ergeben. An dichten Stellen der Aussaaten treten zuweilen einige nitens-ähnliche Träger auf. pil. IX, 1 mußte, weil sich an der eingetrockneten Kultur kein einzelnes Sporangium mehr abimpfen ließ, einmal durch Mycel übertragen werden.

pil. XIV, 1 (24. VI.) bis **pil. XVII, 1** (26. XI. 12) vgl. Stammbaum.

Die Periode pil. XIV bis pil. XVII ist charakterisiert durch das in drei Reihen beobachtete Anwachsen des nitens-Charakters, resp. der Vermehrung der nitens-Kerne, die dadurch zum Ausdruck kommt, daß bei pil. XV, 1 und pil. XVII, 1 wieder richtige Mischmycelien unter den wenigen auspikierten auftreten. Von einer ausführlichen Angabe der Protokolle konnte abgesehen werden, da nichts prinzipiell Neues be-

obachtet wurde. Die wesentlichen Angaben sind dem Stammbaum beigegeben. Auffallend ist die hohe Zahl der bei den Aussaaten vorgefundenen Blasenmycelien, die bei pil. XVI, 1 auf $\frac{3}{4}$ der Gesamtzahl stieg. Die Deszendenz von pil. XVI, 1, pil. XVII, 1 produziert nichtsdestoweniger Mischmycelien. Es zeigt sich hier, wie auch anderen Orts, daß die Zahl der auftretenden Blasenmycelien der Selektionshöhe des piloboloides nicht jeweils proportional ist.

pil. XVII, 1 (26. XI. 12) bis **pil. XXVII, 2** (14. II. 14) vgl. Stammbaum.

Nachdem die Kultur pil. XVI, 1 etwa 3 Monate nach einmaliger Mycelabimpfung (20. VIII. 12) geruht hatte, wurde mit pil. VII, 1 ein neuer Selektionsversuch begonnen. Von pil. XVII, 1 wurden zum erstmaligen trockene Sporen vieler Sporangien ausgesät, wodurch eine Reinigung der Rasse eintrat. Die Zahl der Blasenmycelien sank bei pil. XVIII, 1 auf ca. $\frac{1}{5}$ der Gesamtmenge der keimenden Sporen.

Bei pil. XXI bis pil. XXVI traten wieder einmal keine nitens-Mycelien mehr auf. Diese Generationen wurden fast immer von trockenen Sporen abgeimpft, ausgesät und auspikiert, aber anderer dringender Arbeiten wegen nicht mehr protokolliert und nur auf den Röhren selbst mit fortlaufenden Generationszahlen versehen. Mit den ihnen folgenden Generationen wurden wieder einige Versuche angestellt, so mit pil. XXV, 1 (13. V. 13), bei dem festgestellt wird, daß die Mycelien auf dem gewöhnlichen nicht neutralisierten Bierwürzagar etwas stärker verzweigt erscheinen als auf genau neutralisiertem. Auf die Blasenmycelien hat aber der geringe Unterschied in der Alkaleszenz keinen Einfluß. Bei pil. XXVII, 1 (aus frischem Sporangium einer Mycelabimpfung von pil. XXVI) (14. II. 14) treten an dichter Stelle der Aussaat einige nitens-Sporangien auf. Blasenmycelien etwa 10%; 5 auspikierte Mycelien sind piloboloides. Von pil. XXVII, 2 (aus zweitem frischem Sporangium einer Mycelabimpfung von pil. XXVI) (14. II. 14) finden sich keine Blasenmycelien, dafür hat die Aussaatplatte etwa 20% nitens-Träger und 7 auspikierte Individuen ergeben (23. II.), 1 nitens & pil., 1 pil. & nitens, 5 piloboloides¹⁾.

1) Eine zweite Selektionsreihe nach piloboloides begann ich am 27. VII. 12. In 10 Generationen konnte keine etwa der pil. XXII in ihrer Reinheit nahekommende Form erzielt werden. In zwei Serien wurde dabei der Versuch gemacht, einerseits immer von normalen pil.-Sporangien, andererseits von elongaten Endsporangien der Mycelindividuen abzuimpfen. Die Nachkommenschaft der zwei Reihen blieb sich aber gleich. Elongate Endsporangien und normale pil.-Sporangien sind also in ihrer

Erfahrungen mit heterokaryotischen Mycelien der 1. Zygotengeneration veranlaßten mich, die bisher nach Analogie mit plicans angenommene Reinheit der im Anfang der Selektion herausgespaltenen nitens-Mycelien in Zweifel zu ziehen und, mit pil. XXVIII beginnend, durch fortlaufendes Abimpfen der nitens-Sporangien eine Selektion nach nitens, also in umgekehrter Richtung, zu versuchen.

pil. XXVIII, 1, 2, 3: aus pil. XXVII, 2 (nitens-Sporangien). Am 8. III. 1914 ausgesät, am 9. pikiert; am 15. vorhanden.:

1. 6 pil.

2. 7 pil.

3. 3 pil., 1 pil. & nit., 2 nit. & pil.

pil. XXIX, 1, 2: aus pil. XXVIII, 3 (nitens-Sporangien). Am 22. III. ausgesät; am 23. pikiert. Am 24. bei regelmäßiger Keimung auf der Platte $1:\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{10}$ der Mycelien auffallend dünn, wenig verzweigt. Am 29. etwa die Hälfte nitens-Sporangien. Platte 2: etwa $\frac{1}{20}$ der Mycelien dünn und wenig verzweigt. Am 29. etwa die Hälfte nitens-Sporangien. Am 30. sind an auspikierten Mycelien vorhanden:

1. 10 pil., 3 pil. & nit., 2 nit. & pil., 1 nitens.

2. 5 pil., 7 pil. & nit., 9 nit. & pil.

pil. XXX, 1: aus pil. XXIX, 1 (nitens-Sporangium des nitens-Individuums). Ausgesät am 30. III. Mycelien auf der Platte nicht klassifizierbar, weil (in zu feuchter Aussaat?) direkt ins Substrat wachsend. Am 12. IV. vorhanden: 3 pil. & nit., 2 nit. & pil. (je 1 pil.-Sporangium), 1 nitens.

pil. XXXI, 1, 2, 3: aus pil. XXX, 1 (nitens-Sporangien der nitens-Kultur). Ausgesät am 12. IV, pikiert am 13.

1. Dicke und dünne Mycelien auf der Platte schwer unterscheidbar, wahllos auspikiert. Am 24. IV: 2 pil. & nit., 1 nit. & pil., 6 nitens.

2. Überwiegend dünne Mycelien auf der Platte von dicken beim Auspikieren unterschieden. Am 24. vorhanden: 6 dicke Keimmycelien: 3 pil. & nit., 3 nitens. 11 dünne Keimmycelien: 1 pil. & nit., 2 nit. & pil., 8 nitens. Summa: 4 pil. & nit., 2 nit. & pil., 11 nitens.

Deszendenz identisch. Die Beobachtung wird später bei den reinen piloboloides bestätigt werden.

Aus der Nachkommenschaft eines Sporangiums des unreinen pil.' IX, 1 : pil.' X, 2 wurden eine Anzahl Individuen photographiert (19. II. 13 und 21. II. 13), um das Auseinanderspalten von nitens und pil. zu illustrieren (Fig. 14; Taf. XVI). Die Kulturen sind bereits besprochen (vgl. pag. 282, 283).

3. Dicke und dünne Mycelien schwer unterscheidbar ohne Wahl auspikiert: am 24.: 2 pil. & nit., 3 nit. & pil., 3 nitens.

pil. XXXII, 1, 2: aus pil. XXXI, 2. Am 24. IV. ausgesät, am 25. pikiert.

1. Mycelien sehr scharf unterschieden: dicke stark verzweigt, dünne schwach. Daneben zahlreiche dünne Mycelien nach Entwicklung eines kurzen Keimschlauches absterbend. Zählung: 50 dicke, 105 intermediäre und dünne, nicht gerechnet die abortiven.

Am 3. V. vorhanden:

Dicke Mycelien: 3 pil. & nit., 2 nit. & pil., 1 nitens.

Dünne Mycelien: 1 nit. & pil., 7 nitens.

2. Keimung regelmäßig, wenig abortive Mycelien. Alle stark verzweigt, dicke und dünne schwer unterscheidbar, deshalb wahllos pikiert. Am 3. V. vorhanden: 4 nit. & pil., 9 nitens.

pil. XXXIII, 1, 2, 3, 4: aus pil. XXXII, 1. Am 3. V. ausgesät, am 4. pikiert.

1. Dicke und dünne Mycelien gut unterscheidbar, auf 12 dicke 50 dünne und etwa ebensoviel stecken bleibend. Auspikiert:

Dicke Mycelien: 1 pil. & nit., 2 nit. & pil., 1 nitens.

Dünne Mycelien: 1 nit. & pil., 7 nitens, 2 nicht gewachsen.

Summa: 1 pil. & nit., 3 nit. & pil., 8 nitens, 2 nicht gewachsen.

2. Auf 50 dicke 34 dünne, nicht pikiert.

3. Auf 34 dicke 50 dünne, nicht pikiert.

4. Dicke und dünne schwer unterscheidbar, nicht pikiert. 2, 3, 4 mit zahlreichen steckenbleibenden Mycelien.

pil. XXXIV, 1, 2: aus pil. XXXIII, 1. Am 25. V. ausgesät, am 26. pikiert.

1. Dicke und dünne Mycelien schwer unterscheidbar. 6 nit. & pil., 6 nitens.

2. Dicke und dünne Mycelien schwer unterscheidbar. 2 pil. & nit., 7 nit. & pil., 9 nitens.

Die im vorhergehenden geschilderte Selektion nach nitens verläuft also ganz ähnlich, wie die nach piloboloides; allerdings gelingt es nur, die nitens-Form im Einzelindividuum scheinbar rein zu erhalten. Auf Aussaatplatten sind die nitens-Sporangien immer wieder mit einer relativ großen Anzahl von pil.-Sporangien gemischt. Eine Schätzung der Aussaatplatten auf ihren piloboloides-Gehalt ist wegen des besseren Wachstums der pil.-Mycelien und ihres Überwiegens den „dünnen“ nitens-Mycelien gegenüber wertlos. Es muß das Resultat abgewartet werden,

das sich aus den Zahlen der auspikierten Einzelindividuen ergibt. Zwischen einzelnen scheinbar reinen nitens-Individuen ist eine Selektion nur in der Weise möglich, daß man von ihnen Aussaaten herstellt (Sporenstrichkulturen sind aus denselben Gründen, wie die Aussaatplatten mit Sporangien nicht unterscheidbar), an denen es manchmal möglich ist, das Verhältnis der „dünnen“ Mycelien zu den „dicken“ festzustellen. Die dünnen Mycelien ergeben, wie es besonders bei pil. XXXI, 2 und pil. XXX, 1 sichtbar ist, fast stets nitens-Individuen, die dicken piloboloides-Mischungen, wenn auch fast nie mehr reine, piloboloides. Außerdem scheint es mit der Selektion der dünnen Mycelien und des nitens zum selben Ende zu führen, wie bei der des hochselektionierten piloboloides mit Hilfe der Aussaatplatten. Auch hier treten aberrative Mycelien auf, die abortiven, die nach Ausbildung eines kurzen Keimschlauches stationär werden. Sie entsprechen den Blasenmycelien auf der anderen Seite, ihre Anzahl steht ebenfalls in keinem direkten Verhältnis zur Reinheit des nitens, wie das jener zu der des piloboloides.

Überblickt man die vorher geschilderten Selektionsversuche, so ergeben sich unter Voraussetzung der dauernden Identität der nitens und piloboloides-Kerne — die Möglichkeit der Mutation von nitens aus piloboloides mag als ausgeschlossen gelten — eine Reihe von Folgerungen, die hier, obgleich teilweise erwähnt, zusammengestellt seien:

Die einfachen Mischungen pil. & nitens und nitens & pil., sowie das Abspalten scheinbar reiner nitens- und pil.-Mycelien ergeben sich einfach aus der Annahme der Heterokaryose des Mycels. Im folgenden Kapitel werden Analoga an künstlich heterokaryotischen Mycelien geschildert werden. Schwieriger ist die Frage nach dem Nichtauftreten des homokaryotischen piloboloides und nitens. Ein geringer Unterschied in der Schnelligkeit des Wachstums schien anfangs bei piloboloides, nitens gegenüber, vorhanden. Piloboloides wuchs etwas langsamer. Leider versäumte ich die Größe des Unterschiedes genau festzustellen. Für die jüngeren Generationen gilt das Verhältnis aber nicht mehr. Bei pil. XXI ist die Wachstumsgeschwindigkeit sogar etwas größer als bei nitens¹⁾.

Es ist nicht sicher, ob der eben aus der Claussen'schen Kultur isolierte, langsamer als nitens wachsende piloboloides noch wie die plicans fähig war, reine nitens abzuspalten. Wäre das der Fall, und sein langsameres Wachstum sprach dafür, so wäre der ursprüngliche labile piloboloides in eine stabil-heterokaryotische Form übergegangen.

Das Nichtauftreten der reinen Formen könnte nun mit der Bildung der beiden Formen von abortiven Keimmycelien (Blasenmycelien bei

1) Siehe Note pag. 295.

piloboloides und „dünne“ Mycelien bei *nitens*) in Zusammenhang stehen. Sollten sie nicht etwa die herauspaltenden homokaryotischen *piloboloides* und *nitens* darstellen, die eben in der reinen Form nicht existenzfähig wären? Dafür spräche die Tatsache, daß die Blasenmycelien bei stärker mit *nitens* gemischten *piloboloides* ebensowenig wie die dünnen Mycelien bei mehr mit *piloboloides* gemischtem *nitens* auftreten und die größten Grade ihrer Häufigkeit bei relativ hochselektionierten Formen erreichen.

Diese Erklärung klingt sehr plausibel, doch spricht gegen sie die außerordentliche Unregelmäßigkeit im Prozentsatz der Abortivmycelien, der nur sehr schwer mit dem Gehalt des Muttermycels an *nitens*- und *piloboloides*-Kernen in Beziehung zu setzen wäre. Unsere bereits pag. 290 gegebene Erklärung aus der zufälligen und ungewollten Mitselektion sekundärer Charaktere in gewissen degenerierten Kernen würde den Tatsachen wohl mehr entsprechen.

Wir müssen also damit rechnen, daß bei der heterokaryotischen *piloboloides*-Form andere Verhältnisse vorliegen, als bei der ebenfalls heterokaryotischen Var. *plicans*. Insbesondere stellt sich uns die Frage vor, ob nicht eine Art von Anziehung zwischen den *piloboloides*- und *nitens*-Kernen existiert, die der Selektion nach der *piloboloides*- und der *nitens*-Seite entgegenwirkt. Eine solche Anziehungskraft müßte sich mit der Ungleichheit der Mischung beider Kernsorten steigern und mit ihrer Gleichheit eine Ruhelage einnehmen. Man könnte versucht sein, in diesen Verhältnissen eine Art von Symbiose zu sehen.

Trotz alledem bin ich zu einer konstanten und augenscheinlich homokaryotischen Form des *piloboloides* gelangt, und zwar auch ohne die Variante durch die Zygote zu führen, also auf vegetativem Wege.

1) Versuch, angestellt am 11. I. 13, 10 Uhr.

Von Aussaaten werden einzelne Mycelien auf Petrischale in die Mitte pikiert.

Durchmesser der Kulturen in mm:

		12. I. 13	13. I. 13	14. I. 13.
		10 Uhr	10 Uhr	10 Uhr
<i>pil.</i> XXI, 1	am Licht	30	60	91
<i>pil.</i> XXI, 1	dunkel	32	61	90
St. — III	am Licht	27	57	88 (Stufenwachstum)
St. — III	dunkel	28	57	89 (Stufenwachstum)
Cl. + III	am Licht	29	59	87
Cl. + III	dunkel	30	61	87

(Am 14. I. ist das Wachstum der Kulturen in der Nähe des Randes der Petrischalen teilweise schon verzögert. Am stärksten bei Cl. +, schwächer bei St —, fast nicht bei *piloboloides*.)

Diese von piloboloides etwas abweichende Varietas piloboloides-elongatus wird später besprochen werden, wenn die Versuche bekannt sind, die zu ihrer Entstehung führten, aber anderes zum eigentlichen Ziel hatten.

Stammbaum der Var. piloboloides.

pil. 0 (Aus Cl + als Spore isoliert Anf. Dez. 1911) ..	{ 1 pil.	pil. I, 1
	{ 1 pil.	pil. I, 2
pil. I, 1 (Anf. Dez. 1911).	{ 1 pil.	pil. II, 3
	{ 1 pil.	pil. II, 4
	{ 1 pil. & nit.	{ (nit.-Spor.) .. pil. II, 1
		{ (pil.-Spor.) .. pil. II, 2
pil. I, 2 (11. XII. 11) ...	{ 2 nit.	
	{ 4 nit. & pil.	
	{ 2 pil. & nit.	
	{ 8 pil.	
	{ 1 aberratives Mycel	
pil. II, 1 (11. XII. 11) ..	{ 6 nit.	
(nitens-Sporangium)	{ 2 nit. & pil.	
	{ 4 pil. & nit.	
	{ 5 pil.	
pil. II, 2 (11. XII. 11) ..	{ 1 nit. & pil.	
(pil.-Sporangium)	{ 4 pil. & nit.	
	{ 11 pil.	
pil. II, 3 (19. XII. 11) ..	{ 5 nit. & pil.	
	{ 3 pil. & nit.	
	{ 5 pil.	
pil. II, 4 (19. XII. 11) ..	{ 2 pil. & nit.	
	{ 18 pil.	{ pil. III, 1
		{ pil. III, 2
pil. III, 1 (8. I. 12)	33. pil.	{ pil. IV, 1
		{ pil. IV, 3
pil. III, 2 (8. I. 12)	32 pil.	pil. IV, 2
pil. IV, 1 (26. I. 12)	{ normale Keimmycelien ... 9 pil.	
	{ aberrative Keimmycelien .	{ 3 nicht gewachsen
		{ 2 pil.
		{ 4 pil.-nanus
pil. IV, 2 (26. I. 12)	9 pil.	{ pil. V 1
		{ pil. V, 2
pil. IV, 3 (26. I. 12)	4 pil.	
pil. V, 1 (16. II. 12)	9 pil.	
pil. V, 2 (16. II. 12)	9 pil.	{ pil. VI, 1
		{ pil. VI, 2
		{ pil. VI, 3
pil. VI, 1 (26. II. 12)	6 pil. [Platte ca. 1400 pil., 29 nit.]	
pil. VI, 2 (26. II. 12)	Sporen + Sporen von St —: Zygoten am 2. III. 12	

pil. VI, 3 (26. II. 12)	6 pil.	6 pil.	6 pil. VII, 1
pil. VII, 1 (18. III. 12) ..	6 pil.	6 pil. [Platte wenig nitens-ähnliche Träger]	6 pil. VIII, 1
pil. VIII, 1 (11. IV. 12) ..	6 pil.	6 pil.	6 pil. IX, 1
pil. IX, 1 (? IV. 12)	6 pil.	6 pil. — pil. IX, 1 (Mycelabimpfung)	6 pil. X, 1
pil. X, 1 (20. V. 12)	6 pil.	6 pil.	6 pil. XI, 1
pil. XI, 1 (? V. 12)	6 pil.	6 pil.	6 pil. XII, 1
pil. XII, 1 (6. VI. 12) ...	6 pil.	6 pil.	6 pil. XIII, 1
pil. XIII, 1 (? VI. 12) ...	6 pil.	6 pil.	6 pil. XIV, 1 6 pil. XIV, 2 6 pil. XIV, 3
pil. XIV, 1 (24. VI. 12) ..	6 pil.	6 pil. [Platte mit einigen nitens-ähnlichen Trägern. $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$ Bl.-Myc.]	6 pil. XV, 1
pil. XV, 1 (12. VII. 12) ..	6 pil.	6 pil. & nit. [Platte mit sehr zahlreichen nitens-Trägern]	
pil. XIV, 2 (24. VI. 12) ..	6 pil.	6 pil. [Platte mit einigen nitens-Trägern, sehr wenige Bl.-Myc.] . . .	6 pil. XV, 2
pil. XV, 2 (12. VII. 12) .	6 pil.	6 pil. [Platte mit zahlreichen nitens-ähnl. Trägern, $\frac{1}{2}$ Bl.-Myc.]	6 pil. XVI, 1
pil. XVI, 1 (16. VII. 12) .	6 pil.	6 pil. [$\frac{3}{4}$ Bl.-Myc.]	6 pil. XVII, 1
pil. XIV, 3 (24. VI. 12) ..	6 pil.	6 pil. [Platte mit einigen nitensähnlichen Trägern über $\frac{1}{2}$ Bl.-Myc.] . .	6 pil. XV, 3
pil. XV, 3 (12. VII. 12) .	6 pil.	6 pil. [Platte mit ziemlich vielen nitens-ähnl. Trägern, ca. $\frac{1}{2}$ Bl.-Myc.]	6 pil. XVI, 2
pil. XVI, 2 (16. VII. 12) ..	6 pil.	6 pil. [ca. $\frac{1}{2}$ Bl.-Myc.] — Mycelabimpfung (20. VIII. 12)	6 pil. & nit. 6 pil. XVIII, 1
pil. XVII, 1 (26. XI. 12) ..	3 pil. 1 pil.	3 pil. 1 pil. & nit. [zahlreiche nitens-Träger auf Platte]	
pil. XVIII, 1 (5. XII. 12) .	4 pil.	4 pil. [Platte ohne nitens]	4 pil. XIX, 1
pil. XIX, 1 (18. XII. 12) ..		[Platte mit wenigen nit.-Trägern]	4 pil. XX, 1
pil. XX, 1 (30. XII. 12) ..		[Platte mit wenigen nit.-Trägern]	4 pil. XXI, 1
pil. XXI, 1 (4. I. 13)		[Platte ohne nit.-Träger]	4 pil. XXII, 1
pil. XXII, 1 (16. I. 13) ..	6 pil.	6 pil.	6 pil. XXIII, 1
pil. XXIII, 1 (?)			6 pil. XXIV, 1
pil. XXIV, 1 (?)			6 pil. XXV, 1
pil. XXV, 1 (13. V. 13)			6 pil. XXVI, 1
pil. XXVI, 1 (?)		6 pil. XXVI, 1 (Mycelabimpfung)	6 pil. XXVII, 1,2
pil. XXVII, 1 (14. II. 14.) .	5 pil.	5 pil. [einige nit.-Träger auf der Platte]	
pil. XXVII, 2 (14. II. 14.) .	1 nit. & pil. 1 pil. & nit. 5 pil.	1 nit. & pil. (nit.-Sporang.) 1 pil. & nit. [Aussaatplatte mit 20% nit.-Trägern.] 5 pil.	1 nit. & pil. XXVIII, 1, 2, 3
pil. XXVIII, 1 (8. III. 14)	6 pil.		
pil. XXVIII, 2 (8. III. 14)	7 pil.		

pil. XXVIII, 3 (8. III. 14)	{	2 nit. & pil. ... (nit.-Sporang.)	pil. XXIX, 1, 2
		1 pil. & nit.	
		6 pil.	
pil. XXIX, 1 (24. III. 14)	{	1 nit..... (nit.-Sporang.)	pil. XXX, 1
		2 nit. & pil.	
		3 pil. & nit.	
		1 pil.	
pil. XXIX, 2 (24. III. 14)	{	9 nit. & pil.	
		7 pil. & nit.	
		5 pil.	
pil. XXX (30. III. 14)	{	1 nit..... (nit.-Sporang.)	pil. XXXI, 1, 2, 3
		2 nit. & pil.	
		3 pil. & nit.	
pil. XXXI, 1 (12. IV. 14)	{	6 nit.	
		1 nit. & pil.	
		2 pil. & nit.	
pil. XXXI, 2 (12. IV. 14)	{	11 nit.... (nit.-Sporang.)	pil. XXXII, 1, 2, 3
		2 nit. & pil.	
		4 pil. & nit.	
pil. XXXI, 3 (12. IV. 14)	{	3 nit..... (nit.-Sporang.)	pil. XXXII, 4
		3 nit. & pil.	
		2 pil. & nit.	
pil. XXXII, 1 (24. IV. 14)	{	8 nit..... (nit.-Sporang.)	pil. XXXIII, 1, 2, 3, 4
		3 nit. & pil.	
		3 pil. & nit.	
pil. XXXII, 2 (24. IV. 14)	{	4 nit. & pil.	
		9 nit.	
pil. XXXIII, 1 (3. V. 14)	{	2 nicht gewachsen	
		8 nit..... (nit.-Sporang.)	pil. XXXIV
		3 nit. & pil.	
		1 pil. & nit.	

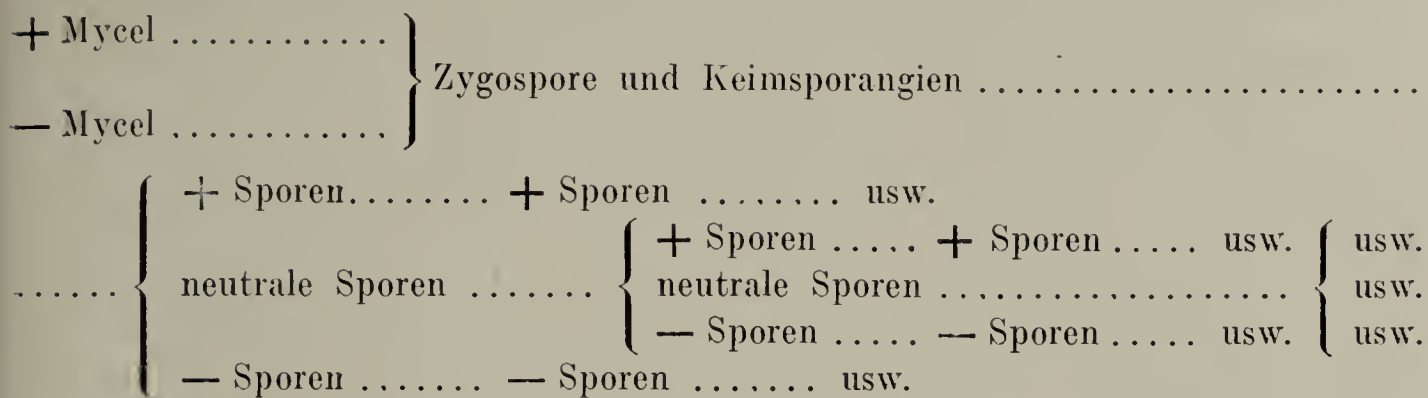
V. Künstliche Kombinationen von verschiedenen Mycelien zu heterokaryotischen Mixochimären und deren Resultate.

In den vorigen Kapiteln wurde aus den eigenartigen vegetativen Spaltungsverhältnissen der variablen Mycelien auf ihre Heterokaryose geschlossen. In dem Begonnenen soll versucht werden, den experimentellen Beweis für die Richtigkeit dieser Auffassung zu bringen. Wenn es gelingt, eine Plasmaportion mit Kernen aus einem Mycel in ein anderes, in einem Merkmal abweichendes zu übertragen, so muß die entstehende heterokaryotische Form in der Weise aufspalten, wie wir es bei den variierenden Mycelien gesehen haben.

Es liegt natürlich nahe, hier zunächst Mycelien auszuwählen, die nicht allein in der äußeren Form, sondern auch im Geschlechts-

charakter verschieden sind. Die + Form des *Phycomyces* mit der — Form zu kombinieren, müßte besonderes Interesse bieten, weil das Resultat für die Erklärung der eigenartigen, von Blakeslee beschriebenen sogenannten neutralen Mycelien bedeutsam ausfallen dürfte.

Die neben + und — Mycelien unter den Sporen des Keimsporangiums der Zygote auftretenden neutralen Mycelien spalten, wie Blakeslee feststellte, in ihren Sporangien + und — Sporen ab im Sinne folgenden Schemas.



Das Schema entspricht der Spaltung, wie wir sie bei den heterokaryotischen Varianten festgestellt haben, die Variante wäre dann homolog mit dem neutralen Mycel. Daß nur die eine der beiden möglichen Formen rein abgespalten (bei plicans) wird, braucht nicht wundernehmen, weil auch bei neutralen Mycelien zuweilen die eine Form also + oder — Sporen nicht abgespalten werden.

In seltenen Fällen kann sogar bei einem neutralen Mycel die Spaltung ganz unterbleiben und es kann während einer großen Anzahl von Generationen nur rein neutrale Sporen liefern. Wir werden einen solchen Fall später kennen lernen. Er ist für die Annahme einer die normale Entmischung zweier Kernsorten in einem Mycel hemmenden Anziehungskraft, die wir oben postulierten, mitbestimmend gewesen.

Entspricht das Herausspalten der + und — Sporen aus den Sporangien der neutralen Mycelien der Annahme seiner Heterokaryose, so tut dies noch mehr die allerdings seltene Form vegetativer Spaltung, die Blakeslee bei der Untersuchung der am neutralen Mycel gelegentlich auftretenden Zygoten, vorfand. Wenn an diesem Mycel eine Zygote entstehen soll, müssen zwei Hyphenäste in Berührung treten, die entgegengesetzten Sexualcharakter haben. Blakeslee hat diesen Schluß gezogen¹⁾. Wenn es gar vorkommt, daß an derselben Hyphe zwei Äste kopulieren, so muß die Geschlechtstrennung an demselben Ort erfolgt

1) Zygospore Germinations (Annal. Mycol. 1906, Tome IV, pag. 18).

sein¹⁾. Die Homologie dieser von einer Hyphe erzeugten Zygote mit unserem gespaltenen piloboloides-nitens-Träger ist evident (pag. 286).

Beide Fälle lassen sich unter Annahme der Anhäufung gleicher Kerne in je einem Mycelast leicht erklären.

Wenn ich nach diesen Überlegungen entsprechend zum Versuch der mechanischen Kombination des neutralen Mycels schritt, so war ich mir klar, daß ganz besondere technische Schwierigkeiten zu überwinden seien. Für sein Gelingen war eine scharfe Reaktion gegeben. Entsteht aus der Mischung von + und — Plasma mit Kernen ein neutrales Mycel, etwa als Spore in einem regenerierten Sporangium, so werden es seine abweichenden Eigenschaften sofort auch unter tausenden von normalen verraten. Die abortiven Kopulationsäste, Blakeslee's Pseudophoren, sind so charakteristische Bildungen, daß sie sich auf der Aussaatplatte nicht übersehen lassen.

Die Versuchsanordnung sei im folgenden gleich in ihrer vollkommenen Form geschildert.

Man läßt die zu mischenden Mycelien auf Petrischalen wachsen und erwartet den Moment, in dem eine größere Anzahl noch kopfloser 10—12 mm langer Sporangienträger vorhanden ist. Aus einer zweiten, mit Würzeagar oder anderem Substrat gegossenen Schale schneidet man je 2—3 qcm große Agarstücke heraus, die man entfernt, so daß an den Stellen, wo sie waren, eine feuchte Glasfläche zur Verfügung steht. Nun reißt man den Träger, der das fremde Plasma aufnehmen soll, ihn mit einer feinen Pinzette an der Basis erfassend, heraus. Dabei bleibt er turgescient, da die ihn mit dem Mycel verbindenden Hyphen anscheinend mit Plasma verstopft sind. Man legt den am besten etwas krummen Träger auf die feuchte Glasscheibe so auf, daß er womöglich mit dem unteren Teile etwas in die Luft ragt. Nun schneidet man den basalen Teil mit krummer Schere ab. Wenn die Schere scharf genug ist und beim Schneiden in einer schwer zu beschreibenden Weise vom Träger wegbewegt wird, erreicht man bei wiederholten Versuchen, daß ein Träger ohne an die Schere anzukleben, liegen bleibt. An der Schnittstelle, die nicht verklebt sein darf, tritt ein halbkugeliges Zellsafttröpfchen aus, dessen Oberflächenspannung dem verminderten Druck im Träger die Wage hält und ein völliges Kollabieren des Trägers verhindert.

Ein zweiter abgerissener Träger der anderen Komponente, deren Plasma mit dem der ersten gemischt werden soll, wird nun mit der dünnen Spitze in dessen Schnittöffnung so tief eingeführt, bis er, da er sich konisch

1) l. c. Tome I, f. 5, 6, pag. 15.

verdickt, die Öffnung abschließt. Er wird jetzt, ohne im ersten Träger zu starke Biegungen hervorzurufen, leicht auf die Unterlage gedrückt und dort losgelassen. Die bis zu diesem Stadium gediehene Situation ist aus den Zeichnungen ersichtlich (Fig. 17).

Nun folgt die schwierigste Prozedur: Es handelt sich darum, die innere Trägerspitze derart zu verletzen, daß sie ihr Plasma in den äußeren Träger ergießt. Nach manchen vergeblichen Versuchen wurde die Methode als die allereinfachste gefunden. Man drückt mit einer nicht zu scharfen Nadelspitze auf die Stelle der Wand des äußeren Trägers, unter der die Spitze der inneren liegt, bis diese, da sie von zärterer Struktur ist, platzt, ohne daß die Wand des äußeren Trägers beschädigt wird. Sofort nach diesem Ereignis bemerkt man eine starke Strömung aus dem inneren in den äußeren Träger, die jedoch

nach wenigen Augenblicken zum Stillstand kommt. Nun heißt es, durch Auflegen eines Deckglases oder Deckglasfragmentes den Inhalt des inneren Trägers in den äußeren hinüberzuquetschen, wobei die Schnittwunde des äußeren unter das Deckglas zu liegen kommen muß. Durch den Druck wird der äußere Träger wieder turgeszent, überschüssiges Plasma entweicht durch die Schnittwunde nach rückwärts. Das Deckglas wird nun so lange fest aufgedrückt, bis kein Zurückströmen des Plasmas unter es erfolgt und die Mixochimäre ist fertig.

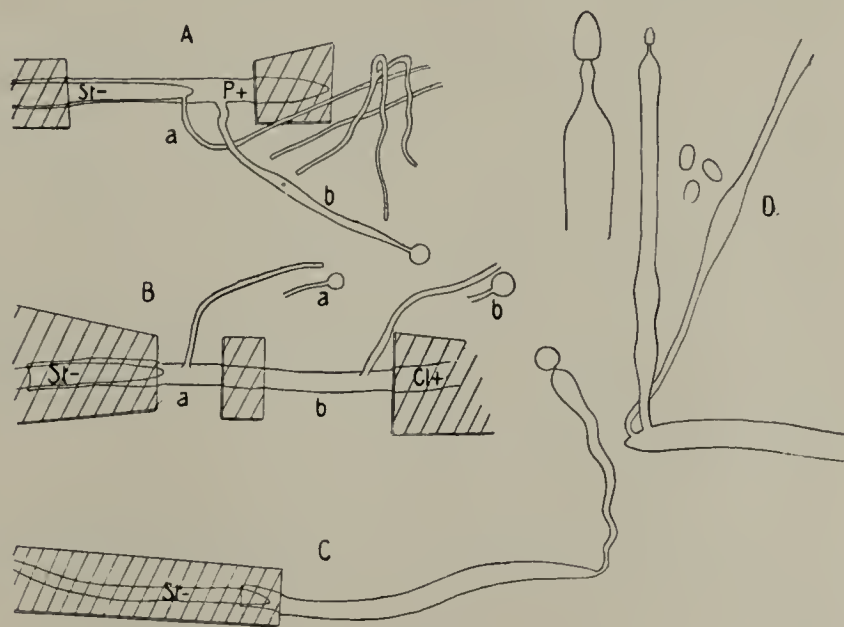


Fig. 17. Verschiedenen Schemata entsprechende Mixochimären.

Verschiedene Modifikationen sind noch ausführbar.

Schema I (wie Fig. 17 A). Man klemmt auch die Spitze des äußeren Trägers ab, besonders wenn er noch nicht vollständig turgeszent sein sollte. Die Spitze des inneren befindet sich zwischen den abgequetschten Stellen. Diese Form hat den Nachteil, daß die Regeneration auch aus den Resten des inneren Trägers erfolgen kann und das entstehende Regenerat *a* nur dessen Plasma enthält. Man kann also nur das Regenerat *b* verwenden.

Schema II (wie Fig. 17 B). Der äußere Träger wird so abgequetscht, daß die Spitze des inneren mit unter das Deckglas kommt. Die Spitze des äußeren Trägers wird ebenfalls zerstört. Legt man nun einen schmalen Deckglassplitter auf die Mitte des übrigbleibenden Teiles fest auf, so kann man eine Dosierung des Plasmas erreichen. Das Regenerat *a* wird mehr Plasma vom inneren Träger enthalten, das Regenerat *b* mehr vom äußeren.

Die Schemata I und II haben den Nachteil, daß der Träger häufig durch die etwas rohe Behandlung veranlaßt wird, nur sporangienlose Träger auszubilden oder das Regenerieren überhaupt zu unterlassen.

Eine ganz regelmäßige Regeneration wird bei Schema III (wie Fig. 17 C) erreicht. Man quetscht bis über die Spitze des inneren Trägers und läßt ganz einfach die Spitze des äußeren regenerieren.

Die Mischung der Protoplasten erfolgt nicht sofort. Zunächst entstehen an den Berührungsstellen der fremden Protoplasten Koagulationen von Plasma, die zeigen, daß sich die Plasmakörper durch Ausfallmembranen gegeneinander abschließen. Ein Teil, aber meist nicht alle diese Plasmotropfen, werden nach wenigen Stunden gelöst. Die wiedereintretende Zirkulation bewirkt innige Mischung. Durch die Pressung zerstörte Trägerteile werden durch Membranen abgegliedert, und es erfolgt die Regeneration.

Bedeckt man die fertige Mixochimäre mit einem nicht zu dicken Agarstück, so regeneriert sie Mycel. Läßt man sie an der Luft, so regeneriert sie einen Träger mit Sporangium.

Im ersteren Falle zeigt das primäre Mycel, im zweiten die Träger einen zwischen beiden Komponenten mehr oder weniger intermediären Typus.

Im folgenden seien eine Reihe von Beispielen aufgeführt.

1. *Nitens Cl.* + in *nitens St.* —

Am 13. II. 12 wurde die Plasmaübertragung nach Schema III vorgenommen. Die Mixochimäre enthält koaguliertes Plasma, das noch am Abend desselben Tages ganz hyalin wird. Zugleich regeneriert die Spitze des — Sporangienträgers neben zwei sterilen Fortsätzen einen dünnen Sporangienträger, dessen Sporangium am Abend des 14. II. abgeimpft werden kann. Die Sporen werden in der üblichen Weise in wenig sterilem Wasser auf Bierwürzagar ausgesät. Am 15. werden 32 Mycel-Individuen (die Mehrzahl der auf der Platte befindlichen)

isoliert und in Röhren pikiert. Die Platte, die noch etwa 20 Mycelien enthielt, gewährt am 19. II. folgendes Bild: Neutrale durch den Pseudophorenfilz kenntliche Mycelien in Mischung mit nicht neutralen. Zwischen beiden Formen scharfe Pseudophorenstriche, einzelne Zygoten am neutralen Mycel.

Von den auspikierten Mycelien sind:

- 17 rein neutral mit dichtem Pseudophorenfilz und fast alle ohne Sporangienträger¹⁾ (nur ein Mycel mit einem Träger);
- 18 nicht neutral ohne Pseudophoren und mit zahlreichen Sporangienträgern.
- 1 ist nicht gewachsen.

Die Mycelien werden zwecks Feststellung ihrer Sexualität auf Petrischalen neben Cl.+ und St.— ausgeimpft. Am 24. II. sind die Ränder der Mycelien zusammengewachsen und die Zygoten gebildet.

I. Generation.

Es sind:

- a) 18 Mycelien — (Zygosporen mit Cl. +);
- b) 1 Mycel neutral & — (viele Zygosporen mit Cl. +);
- c) 4 Mycelien neutral & — (wenige Zygosporen mit Cl. +);
- d) 1 Mycel neutral & + (viele Zygosporen mit St. —);
- e) 3 Mycelien neutral & + (wenige Zygosporen mit St. —);
- f) 8 Mycelien neutral (keine Zygosporen mit Cl. + und St. —).

Von jeder Kategorie wird nun eine Kultur herausgenommen und je ein Sporangium von jeder ausgesät. Einige der neutralen (b, f) werden mangels abimpfbarer Sporangien ganz mit sterilem Wasser aufgeschwemmt und dieses auf die Platte aufgegeben. Bei dieser Prozedur lassen sich genügend viele Sporen aus den Pseudophorensporangien erhalten. Am 25. II. wurden von jeder der 6 Aussaaten 18 Individuen in Röhren isoliert, die später mit Cl.+ und St.— geprüft wurden. Die Resultate dieser Prüfung, die wegen der geringen Zahl der auspikierten Mycelien der Korrektur durch die Bilder der aufgehobenen Aussaatschalen bedürfen, sind im folgenden zusammengestellt.

1) Rein neutrale Mycelien erschöpfen sich bei der Ausbildung von Pseudophoren und kommen nicht oder doch nur in geringem Maße zur Erzeugung von Trägern und Köpfen. Die Abimpfung läßt sich aber mit Hilfe der Pseudophorensporangien vornehmen, kleiner an den Pseudophorenenenden entstehender Köpfchen mit runden resp. kugeligen Sporen (vgl. auch Blakeslee, l. c.).

II. Generation.

Plattenbilder:	Je 18 auspikierte Mycelien ¹⁾ :
a) Keine Pseudophoren, keine Zygo- sporen.	18 —
b) Gleichmäßiges Mosaik von pseudo- phorenlosen und pseudophoren- tragenden Mycelien. Keine Zygo- sporen.	17 — ²⁾ .
c) (Muttermycel gab mit Cl. + auf 1,5 cm Berührungslinie 11 Zygo- sporen). Platte überwiegend neu- tral, d. h. fast ganz mit Pseudo- phoren bedeckt, an einigen Stellen Zygoten, an anderen (dünne) Spor- angienträger.	12 — 4 neutral 1 neutral & +
d) Platte ganz mit Pseudophoren bedeckt (vgl. Anm. pag. 303) an einzelnen Stellen (kräftige) + Spo- rangienträger.	1 neutral 10 neutral & + 3 +
e) (Muttermycel gab mit St. — 7 Zy- gosporen). Platte überwiegend mit Pseudophoren bedeckt, zahl- reiche, überall verteilte Zygo- sporen. Einzelne + Sporangien- träger.	6 neutral 7 neutral & + 3 + 1 neutral & — 1 —
f) Platte fast ganz mit Pseudophoren bedeckt (vgl. Anm. pag. 303), relativ wenige, mit — Sporangien- trägern bedeckte pseudophoren- lose Stellen und einzelne Zygo- sporen.	18 —

1) Einzelne sind nicht gewachsen, deshalb die Ausfälle bei den folgenden Zahlen. Das Nichtwachsen kann von der Lebensunfähigkeit einzelner Mycelien herrühren, kann aber auch einfach dadurch zustande kommen, daß das Mycel beim Übertragen des kleinen Agarausstiches in die Röhre an der Platinnadel hängen bleibt und nicht in die Röhre gelangt.

2) Daß hier neutrale und nicht neutrale auf der Platte den gleichen Raum einnehmen und trotzdem nur 17 — Mycelien abgeimpft wurden, liegt in dem rascheren Wachstum der neutralen Mycelien, die einen ihrer Zahl nicht entsprechenden Raum einnehmen.

Aus dieser Zusammenstellung der zweiten Sporengeneration der Mixochimäre Cl.+ in St.— läßt sich die Regel ableiten, daß die Nachkommenschaft eines Sporangiums eines heterokaryotischen Mycels im allgemeinen dem Mischungsverhältnis der Protoplasten des Muttermycels entspricht. In einigen Fällen, so bei b und bei f scheint dieser Satz nicht bestätigt, die aus den in zu geringer Zahl auspikierten Mycelien gewonnenen Resultate bedürfen der Korrektur, die sich aus der Betrachtung der Plattenbilder mit Berücksichtigung der Tatsache des rascheren Wuchses der neutralen Mycelien herausziehen läßt. Der Fall f ist besonders instruktiv. Die aus dem Mixophimärensporangien stammende Spore war rein neutral, das aus ihr stammende Mycel kopulierte weder mit Cl.+, noch mit St.—. Von ihm wurden viele Sporangien abgeimpft und ausgesät. Der + Charakter dokumentiert sich scheinbar überwiegend durch die zahlreichen Pseudophoren der Aussaatschale und einige Zygosporien. Trotzdem sind die Sporen in weitaus der größten Zahl reine — Sporen, was auch dem Mischungsverhältnis der Protoplasten bei der Herstellung der Mixochimäre und der Zusammensetzung der bei der ersten Generation auspikierten Mycelien entspricht.

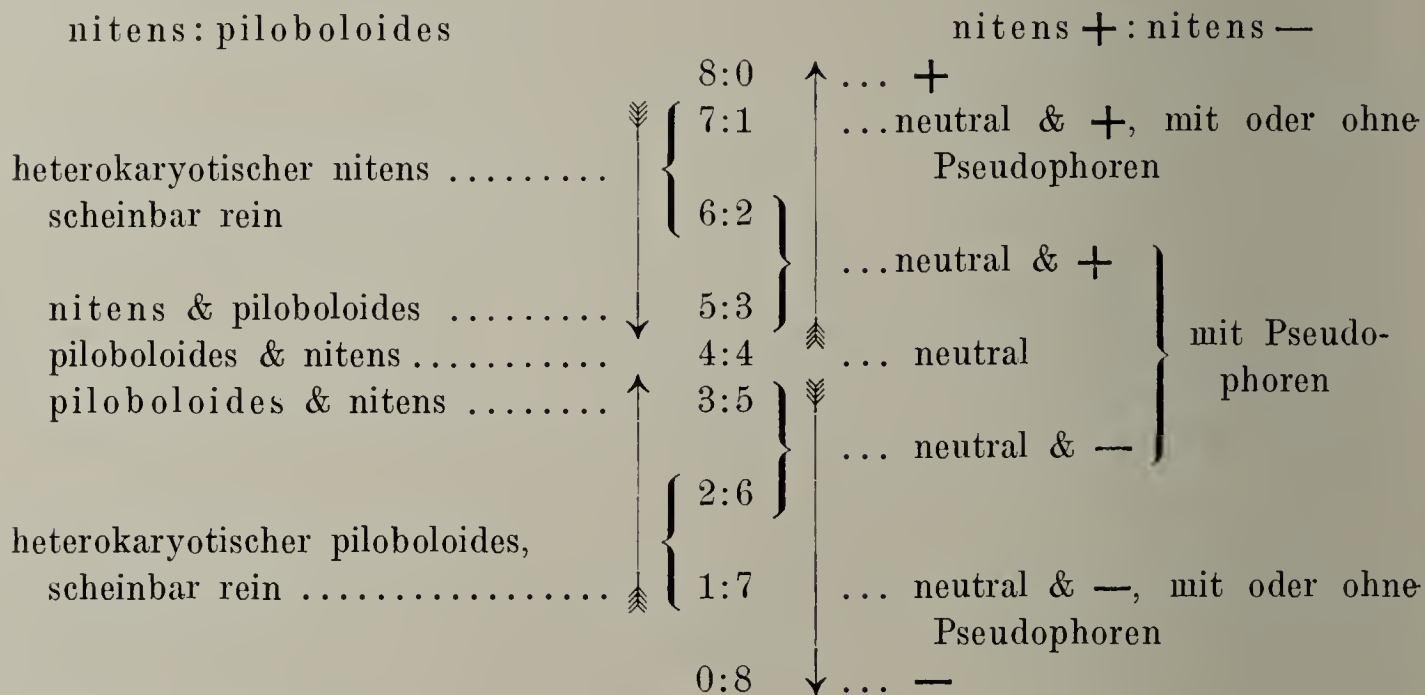
Die Gründe für das Verhalten des künstlichen neutralen Mycels werden klar, wenn wir es etwa mit der besprochenen Varietas piloboloides vergleichen. Diese wie jenes sind heterokaryotische Mycelien. Beide können zwei Formen abspalten, hier nitens und piloboloides, dort + und — Mycelien. Die nitens und piloboloides sind aber nur scheinbar rein und Mischungen, bei denen eine oder die andere Komponente überwiegt; sie haben die Tendenz das bei ihrer Bildung verschobene Mischungsgleichgewicht, das beim künstlichen neutralen Mycel nicht vorhanden ist, wieder herzustellen. Die von dem neutralen Mycel abgespaltenen + und — Mycelien sind meistens rein. Die Tendenz ist die umgekehrte, sie begünstigt die Entmischung der Komponenten + und —. Sporen aller Mischungsverhältnisse geben neutrale Mycelien mit Pseudophoren (wenn auch ein eine sehr ungleiche Mischung enthaltendes Mycel mit dem der größeren Komponente entgegengesetzten Charakter eines anderen Mycels kopulieren kann). Ein neutrales & +-, ein neutrales & —-Mycel entsprechen einem scheinbar reinen piloboloides und nitens.

Nehmen wir acht Kerne als Durchschnitt für die Spore an, so hätte die intermediäre, dem ganz neutralen Mycel entsprechende nitens-piloboloides Mischform in der Spore etwa 4 nitens und 4 piloboloides Kerne. Der nitens- oder der piloboloides-Gehalt kann nun sinken, es könnten

außer 4 : 4 etwa die Verhältnisse 5 : 3, 6 : 2, 7 : 1 auftreten, jedoch nicht 8 : 0, da infolge der auf die Erhaltung der Mischung gerichteten Tendenz die eine oder die andere Form nicht ganz ausfallen kann. Die Verhältnisse 6 : 2 und 7 : 1 wären etwa die scheinbar reinen Formen.

Beim neutralen Mycel treten außer diesen Formen auch die Grenzmöglichkeiten auf, und zwar nur wenige sehr ungleiche Mischungen sind nicht als neutrale Mycelien charakterisiert.

Folgendes Schema mag das Verhältnis von Formen und Stufen etwas illustrieren:



In Wirklichkeit sind die Verhältnisse natürlich viel unregelmäßiger wie im Schema. Die Kernzahl schwankt von 6—11. Wir wissen auch nicht wie viel Kerne jeder Sorte das äußerlich sichtbare Gleichgewicht ergeben. Es wäre ja auch möglich, daß eine Kernsorte in der Äußerung der von ihr induzierten Charaktere kräftiger ist. Die Zahl der unterschiedenen Zwischenformen stimmt ziemlich gut mit den theoretischen Möglichkeiten des Schemas.

Eine Anzahl der in der zweiten Generation der Mixochimäre Cl. + in St. — auftretenden Zwischenformen (Individuen von IIe) zeigt Taf. XVII. *a* ist ganz neutral, *b*, *c*, *d* sind neutral und + (+ in steigendem Maß beteiligt, Individuen dementsprechend mit immer weniger Pseudophoren und mehr Sporangienträgern). *e* ist rein +, *f* ist neutral & — (— stark beteiligt) und *g* ist rein —. Der Unterschied der + und — Mycelien ist hier auffallend deutlich¹⁾.

1) Die Kulturen sind während des Wachsens wiederholt gedreht worden und auch nicht nur von oben beleuchtet, deshalb der unregelmäßige Wuchs und die stark verwirrten Träger.

2. *Nitens* St. — in *nitens* Cl. +.

A. 3. II. 1912. Herstellung der Mixochimäre nach Schema II (modifiziert vgl. Fig. 17 B). Die Mixochimäre war durch ein Deckglasstückchen zerteilt, so daß ein Überwiegen von St.— im Teil *a*, ein solches von Cl. + im Teil *b* zu erwarten war. Die getrennten Stücke *a* und *b*

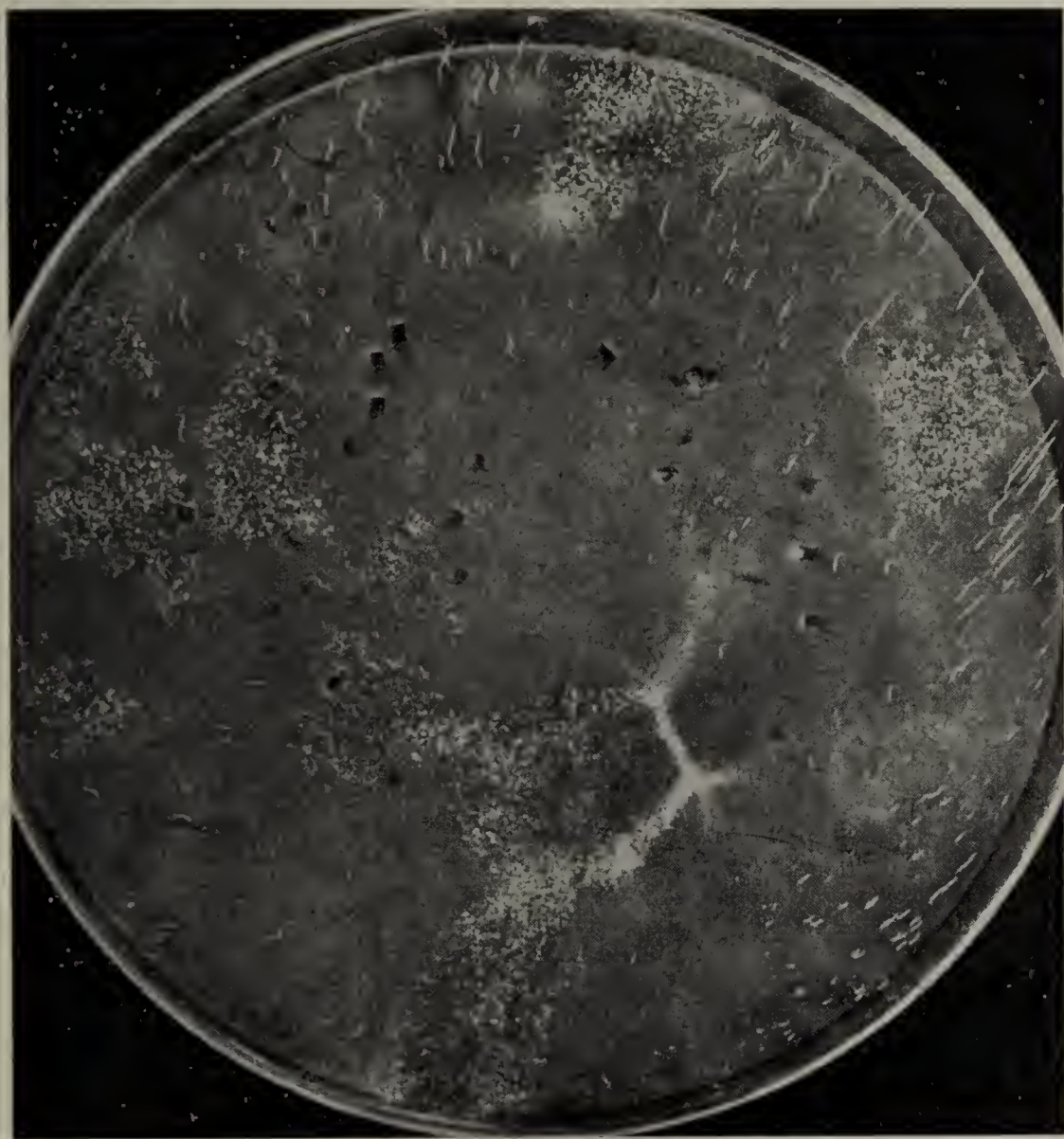


Fig. 18. Aussaatplatte des a-Sporangiums der Mixochimäre St. — in Cl. + mit neutralen Flecken, Pseudophorenlinien und an den nicht neutralen Stellen Sporangienträgern.

regenerieren bis zum 5. II. zwei reife Sporangien, deren Sporen an demselben Tage ausgesät werden.

a) I. Generation. Die Sporen sind zum Teil rund, stellenweise mit Dellen versehen und nicht lebensfähig, andere sehr klein, wieder andere normal ausgebildet. Die Aussaatplatte zeigt am 8. II. das von Fig. 18 dargestellte Bild. Sie enthält also eine kleine Anzahl neutraler Mycelien. 18 in Röhren ausgesäete Mycelien sind alle

nicht neutral. Die am 13. II. abgeschlossene Prüfung ergibt ihren — Charakter.

Das hineingepreßte — Plasma hat also in dem unteren Teil des + Trägers, wie zu erwarten war, überwogen.

- a) II. Generation. Eines der a I Mycelien gibt in a II reine — Nachkommenschaft (Aussaats 12. II.). Ein zweites ebenfalls pseudophorenloses, das mit Cl.+ etwas schwächer als die anderen kopulierte, erzeugt auf der Aussaatplatte eine kleine Anzahl neutraler Mycelien mit Pseudophoren unter etwa 450 pseudophorenlosen. Man hat den Fall, daß eine geringe Beimischung von + Kernen im Mycel nicht zur Pseudophorenbildung führt.
- b) I. Generation. Von 10 auspikierten Mycelien sind am 13. II. 5 ohne und 5 mit Pseudophoren vorhanden. Die Prüfung ergibt folgendes:
- a) 5 + Mycelien.
 - β) 2 neutrale & + Mycelien bilden je 10 Zygoten mit St.— haben viele Sporangienträger und wenig Pseudophoren.
 - γ) 3 neutrale & + Mycelien mit dichtem Pseudophorenfilz und spärlichen Sporangienträgern, bilden einzelne Zygoten und eine dichte Pseudophorenlinie mit St.—.
- b) II. α. Sporangium aus b, I, α ausgesät am 12. II. Ca. 750 Mycelien auf der Platte. Am 17. II. zeigen sich 9 neutrale, d. h. mit Pseudophoren bedeckte Stellen auf der Platte, die ebensoviel neutralen Mycelien entsprechen. 8 auspikierte Mycelien sind rein +.
- b) III, α. Zwei Sporangien dieser 8 + Mycelien, ausgesät am 20. II., ergeben reine + Aussaaten ohne neutrale Flecken.
- b) II, β, 1. Sporen der einen Kultur aus b, I, β, ausgesät am 12. II. Am 13. II. werden 42 Mycelienindividuen in Röhren pikiert. Am 17. II. mit Cl.+ und St.— geprüft. Resultat am 29. II.:
- 8 nicht neutrale Mycelien mit zahlreichen Sporangien und ohne Pseudophoren.
 - 10 schwach neutrale Mycelien mit vielen Trägern und wenigen Pseudophoren.
 - 5 stärker neutrale Mycelien mit wenigen Sporangienträgern und vielen Pseudophoren.

5 ganz neutrale Mycelien, 2 ohne, 3 mit wenigen Trägern, alle mit dichtem Pseudophorenfilz. Ein Mycel davon trägt einige Zygoten an sich selbst (Blakeslee l. c.).

3 neutral & — Mycelien mit vielen Pseudophoren, 1 ohne Sporangien, 2 mit wenigen.

11 schwach neutral & — Mycelien mit vielen oder weniger Pseudophoren, 7 mit wenigen Trägern, 4 ohne solche.

Einige neutral & + Mycelien bilden auch mit Cl. +, einige neutral & — Mycelien auch mit St. — einzelne Zygosporen. Die Sporangienbildung ist bei den vorwiegend + Kerne enthaltenden neutralen Mycelien relativ stark, bei den mit vorwiegend — Kernen schwächer; in beiden Reihen vermindert sie sich mit der Annäherung an das rein neutrale Mycel, bei dem sie fast ganz verschwindet.

b) II, β , 2. Sporen einer zweiten Kultur aus b, I, β lieferten unter 37 aus-pikierten Mycelien:

1 +,

1 neutral & +,

4 neutral,

4 neutral & —,

27 schwach neutral & —.

Das Verhältnis von Sporangienträgern zu Pseudophoren und zum Grad der Neutralität ist dasselbe wie bei b, II, β , 1. Unter den 27 neutral & — Mycelien bilden nur 6 Sporangien aus. Das Überwiegen des — Anteils, wenn auch nicht in reiner Form, ist um so bemerkenswerter, als das Muttermycel ein typisches neutral & + Mycel war und mit St. — 10 Zygosporen ergab. Es scheint sich hier der + Bestandteil der Mixochimäre leichter zu emanzipieren, wobei an — Kernen angereicherte neutrale Mycelien übrig bleiben. Umgekehrt war die Sachlage bei der vorigen Mixochimäre (Cl. + in St. —) bei der der — Bestandteil in größerer Zahl rein auftrat; d. i. auffallenderweise in jedem Fall der Teil, dem die Trägerwand der ursprünglichen Mixochimäre angehört. Daß in dem a-Abschnitt der zweiten Mixochimäre der — Bestandteil stark überwog und auch rein abspaltete, liegt wohl in der durch die Art der Herstellung bedingten ganz ungleichen Mischung. Leider konnten die wenigen neutralen Mycelien des a-Sporangiums nicht untersucht werden.

B. Mixochimäre, hergestellt aus denselben Komponenten nach Schema III am 13. II. 12. Am 14. II. ist ein kurzer Träger regeneriert, das Plasma ist hyalin geworden. Die Mixochimäre wird samt dem noch

kopflosten Träger unter eine dünne Agarschicht gebracht. Am 15. II. wächst aus der Trägerspitze ein Mycel aus. Am 19. II. hat ein rein neutrales Mycel die Platte ganz überwachsen; es führt einen sehr dichten Pseudophorenfilz und nur an einer Stelle 11 Sporangienträger.

Wie sich aus + und — Mycel das neutrale heterokaryotische Mycel erzeugen läßt, so ist es auch möglich, aus der hochselektionierten, noch schwach heterokaryotischen (wenig nitens-Kerne enthaltenden) Variante und der Stammform Mixochimären herzustellen, die stark heterokaryotische Mycelien ergeben:

3. nitens Cl. + in piloboloides IV, 2.

A. Mixochimäre, hergestellt durch Einführen eines Cl + Trägers in einen Träger von piloboloiden IV, 2 nach Schema I, am 30. I. 1912 (Fig. 17 A). Am 2. II. ist die Regeneration eingetreten, der innere Träger hat einen langen dünnen, verzweigten, kopflosten, der äußere einen dickeren schwach aufgetriebenen Träger mit normalem Sporangium gebildet. Dieses wird abgeimpft und die Sporen ausgesät. Die Sporen waren von normaler Form aber meistens schwach lichtbrechend und tot erscheinend. Einzelne normale keimen und werden als junge Mycelien auspikiert. Die Aussaatplatte enthält am 6. II. vorwiegend nitens-Träger und einzelne zwar verlängerte, aber schwach bekropfte. Am 8. II. sind von 8 auspikierten Mycelien

- 4 nitens,
- 1 piloboloides & nitens,
- 3 piloboloides.

B. Mixochimäre, am 30. I. zwischen denselben Komponenten und in derselben Weise hergestellt wie bei A, aber nach Schema II. Am 2. II. ist das Regenerat als pil. & nitens-Sporangium (kurzer, an zwei Stellen aufgetriebener nitens-Träger) abgeimpft. Sporen meist kreisrund, ca. 8 μ breit, schwächer lichtbrechend, teilweise mit Kontusionen, auch einzelne normale, stark lichtbrechend, gestreckt 12—14 μ lang, 6 μ breit. Aussaatplatte am 6. II. wie bei A.

Von 12 auspikierten Mycelien sind am 9. II.:

- 1 nitens,
- 1 nitens & piloboloides,
- 2 piloboloides & nitens,
- 7 piloboloides,
- 1 aberratives schwarzes Mycel ohne Träger.

C. Mixochimäre, hergestellt wie vorher nach Schema II am 30. I. 12. Sporen des mit unregelmäßiger Verdickung versehenen kurzen Sporangiums am 2. II. abgeimpft. Sporen waren zum Teil etwas kontusioniert, 8 μ Durchmesser, kugelig. 6. II. Aussaatplatte enthält wenige Mycelien ziemlich reinen piloboloides. 11 auspikierte Mycelindividuen ergeben am 9. II.:

- 1 nitens & piloboloides,
- 1 piloboloides & nitens,
- 8 piloboloides.

Da bei der Aussaat der Ausgangskultur pil. IV. 2 unter ca. 1400 Mycelien nur 3 nitens-Sporangien auftraten, kann sie als fast rein betrachtet werden. Es ist also in allen 3 Mixochimären eine richtige Mischung der Kerne eingetreten, wie die zahlreichen Übergangsmycelien beweisen.

Auch die Kombination zweier Varianten wurde versucht.

4. plicans VI, 1 in piloboloides V, 1.

A. 17. II. 12 Kombination nach Schema III ausgeführt (Fig. 17 D). 19. II. Die Spitze des piloboloides-Trägers regeneriert unter den Agar gebracht Mycel, das ganz in einen Erlenmeyerkolben übertragen wird. Am 27. II. ist ein fast reiner piloboloides gewachsen, der aber niedriger von Wuchs ist und an der Impfstelle einzelne nitens-Träger abspaltet.

B. Dieselbe Kombination nach Schema III (17. II.) ausgeführt. 19. II. Mixochimäre hat regeneriert und zeigt 2 Sporangienträger, die sowohl den plicans, wie den piloboloides-Kropf besitzen (Fig. 17 D). Die Sporen sind normal, 7 μ breit, 12 μ lang. Sporen beider Sporangien werden am 19. II. ausgesät. Am 20. ist die Aussaatplatte voll von Mycelien, unter denen keine aberrativen auftreten. 26 werden auspikiert. Resultat am 27. II.:

- 23 piloboloides,
- 1 piloboloides & nitens,
- 1 nitens & piloboloides,
- 1 nitens.

Aus dem letzten Versuch der Kombination von plicans und piloboloides läßt sich ablesen, daß die plicans-Kerne eigentlich nur in dem Regenerationssporangien der Mixochimäre eine formative Wirkung haben. Mit den plicans-Kernen gelangen aber eine relativ große Zahl

von nitens-Kernen in die Mixochimäre, deren Anwesenheit in der ersten Generation der Sporen und bei der ersten unter dem Substrat regenerierten Mixochimäre allein sich äußert.

Von größerer Wichtigkeit als die vorhergehenden Varianten-kombinationen sind die einer Variante mit dem entgegengesetzten Geschlecht der Stammform. Sollten sich die Varianten nur durch Plasma-eigenschaften unterscheiden, die nicht irgendwie in den Kernen fixiert sind, so ist die Möglichkeit vorhanden, daß bei einer Mischung von Formen, die sich in zwei Eigenschaften unterscheiden, ein Austausch derart stattfindet, daß Neukombinationen entstehen.

5. nitens St. — in piloboloides +.

A. 2. III. 12. Ein St.— Träger wird nach Schema III in einen piloboloides VI, 3 Träger ausgeleert (Fig. 17 C). 4. III. Ein regeneriertes kurzes piloboloides-Sporangium wird abgeimpft, und die Sporen ausgesät. Sporen und Keimung waren normal und regelmäßig. Am 12. III. sind an auspikierten Mycelien vorhanden:

I. Generation.

- 30 neutrale piloboloides (12 mit 0—1, 14 mit wenigen, 4 mit vielen Trägern),
- 4 neutrale piloboloides & nitens (mit wenigen Sporangienträgern),
- 1 neutral und + piloboloides (mit St.— wenige Zygoten, zahlreiche Sporangienträger),
- 1 + piloboloides (viele Zygoten mit St. —).

18. III. Von einem neutralen piloboloides & nitens-Individuum wird je ein nitens und ein piloboloides-Sporangium ausgesät. Von jeder Aussaat 18 Mycelien auspikiert:

II. Generation (nitens-Sporangium):

- 12 nitens — (normal kopulierend mit Cl. +),
- 4 nitens — & neutral (viele Zygoten mit Cl. +),
- 1 neutral & nitens — (wenige Zygoten mit Cl. +),
- 1 neutral (ohne Träger und ohne Zygoten mit St. — und Cl. —).

II. Generation (piloboloides-Sporangium):

- 15 nitens —,
- 2 nitens — & neutral (viele Zygosporen mit Cl. +).

Trotz starken Überwiegens der Masse des piloboloides-Plasmas, in der Mixochimäre hat sich nitens in der Nachkommenschaft leichter emanzipiert. Eine zweite Mixochimäre gibt das umgekehrte Resultat:

B. Kombination der gleichen Komponenten wie bei A, aber nach Schema II ausgeführt am 2. III. Am 4. III. ist die Regeneration eines kurzen piloboloides-Sporangiums eingetreten. Das Sporangium wird am 6. III. abgeimpft und am 7. III. werden 32 Mycelindividuen isoliert. Resultat am 2. IV.:

- 9 piloboloides +,
- 5 piloboloides & neutral (viele Sporangienträger und wenige Zygosporen mit St. —),
- 22 piloboloides neutral (5 mit 0—1, 7 mit einigen, 10 mit vielen Trägern).

Bei beiden Mixochimären sind alle nitens —, alle piloboloides + Mycelien geblieben, eine Tatsache, die auf die Bindung der Eigenschaften an die Kerne schließen läßt.

VI. Varietas piloboloides-elongatus.

In einem einzigen Falle erhielt ich aus der Variante piloboloides ein Sporenindividuum, das ein von piloboloides ein wenig abweichendes, aber durch alle Generationen hindurch konstantes und deshalb wohl homokaryotisches Mycel ergab. Wenn seiner erst nach der Behandlung der Mixochimären Erwähnung getan wird, so liegt das daran, daß es gelegentlich der Aussaat des Regenerationssporangiums der Mixochimäre Cl. + in pil. IV, 2, b (pag. 310) entstand. Ein abweichendes, langsamer wachsendes und stärker verzweigtes Keimmycel nahm, auspikiert, eine sehr ungewöhnliche Entwicklung.

Das schwärzliche Mycel wuchs während dreier Wochen ohne Sporangienträger zu bilden und erzeugte neben zahlreichen bräunlichen Gemmen eine Anzahl schwarz pigmentierter Blasen (Fig. 19) im Substrat



Fig. 19. Wandverdickte gemmenähnliche Zellen, Blasen und wachsende Mycelspitzen, des Urmycels der homokaryotischen Var. piloboloides-elongatus.

oder an der Oberfläche. An der Luft über dem Substrat zeigte sich ein dichter Filz bräunlich gelber Lufthyphen. Der Durchmesser des Mycels betrug nach 3 Wochen etwa 12 mm. Nun trat eine vegetativ abgespaltene rascher wachsende Mycelform an der Peripherie auf, die zahlreiche Sporangienträger mit elongaten Kröpfen trug, welche hier aber besonders stark pigmentiert waren.



Fig. 20. Individuen der Var. *piloboloides-elongatus*.

von denen des *piloboloides* nur durch die etwas schmäleren und längeren Kröpfe.

Die Entstehungsbedingungen sind die gleichen wie bei den schon erwähnten elongaten Einzelsporangien des *piloboloides*. Auf etwas eingetrocknetem Boden werden sie am typischsten stark geschwärzt

Von diesem Mycel (*elongatus* 0) wird am 27. II. 1912 das erste Sporangium abgeimpft und die Sporen ausgesät. Beim Auspikieren am 28. II. ergibt sich folgendes: Die Keimung der Sporen ist im Gegensatz zu *piloboloides* äußerst regelmäßig, nur wachsen die Mycelien verschieden rasch. Auf einem bestimmten Teil der Platte sind vorhanden:

- 40 Mycelien vom Aussehen normaler *piloboloides*-Mycelien,
- 44 ebensolche, aber stärker verzweigt und etwas langsamer wachsend.
- 4 Mycelien, sehr langsam wachsend und sehr stark verzweigt.

Von jeder Form wurden zwei geimpft. Alle ergeben die gleiche Form, nur sind sie von etwas verschiedener Wuchsgeschwindigkeit. Schwarze Blasen und andere Hemmungserscheinungen treten nicht mehr auf. Die Sporangienträger wachsen in der üblichen Weise in Zahl und Anordnung wie bei *piloboloides* und bekommen stark geschwärzte elongate Köpfe (Fig. 20). Auf der Aussaatplatte, wo sie in dichten Rasen stehen, sind sie normal bekropft und unterscheiden sich

und sehr lange und unregelmäßig bekropft. Verdunkelt man an Röhrenkulturen auf horizontal erstarrtem feuchtem Substrat oder gar auf flüssiger Bierwürze den unteren Teil der Röhre, so bilden die Träger erst in einer größeren Lichtintensität, wenn sie den Rand des schwarzen Papiers erreichen, ihre Köpfe aus, die nun piloboloides-Kröpfe erhalten, die sich nur durch einen etwas geringeren Durchmesser von denen des echten piloboloides unterscheiden.

Piloboloides-elongatus weist also nur Unterschiede quantitativer Art piloboloides gegenüber auf.

Zur Geschichte des piloboloides-elongatus ist wenig zu bemerken. Bei den ersten Aussaaten treten noch einige durch sehr langsamen Wuchs und starke Verzweigung charakterisierte abweichende Mycelien auf. Die fünfte Generation ist frei davon. Die Platte enthielt ca. 500 Mycelien von annähernd gleichem Durchmesser. Von der fünften Generation ab bleiben alle weiteren konstant. Ob die Sporen trocken nach Monaten oder vom frischen Sporangium abgeimpft werden, bewirkt in der Konstanz keine Änderung¹⁾.

Piloboloides-elongatus wurde seit seiner Entstehung am 30. I. 1912 bis zum 24. VII. 14 in 15 absoluten Generationen kultiviert. Alle Aussaatplattenbilder zeigten, ebenso wie die auspikierten Mycelien, die gleiche Form. Man darf daher den elongatus als eine homokaryotische Form des piloboloides betrachten, ich sage eine, denn ich werde später von anderen, aus der Zygote gewonnenen homokaryotischen Formen des piloboloides zu reden haben, die die Charaktere dieser Variante in reinerer Form besitzen.

Daß elongatus nicht bei bestimmt gerichteter Selektion entstand, sondern zufällig aus gequältem Mixochimärenplasma, berechtigt wohl zur Annahme, daß das zwischen piloboloides und nitens vorhandene Gleichgewichtsverhältnis durch den künstlichen Eingriff gestört und so ein Herausspalten der homokaryotischen Form ermöglicht wurde.

1) Bei der 15. Generation befinden sich eine Anzahl echte Blasenmycelien auf der Aussaatplatte.

Figurenerklärungen zu Tafel XIV—XVII.

Tafel XIV.

- Fig. 1. *Phycomyces nitens* Cl. + 5 × 24 Stunden nach der Aussaat der Spore.
Fig. 2. Var. *piloboloides*, Träger schwach vergrößert.
Fig. 3. *Piloboloides*-Träger, cymös verzweigt.

Tafel XV.

- Fig. 1. Var. *plicans* IV, 1; spontanes Herausspalten von *nitens*.
Fig. 2. Var. *piloboloides* IV, 3, β, 10 Tage alt.

Tafel XVI.

Var. *piloboloides*' X, 2, dieselben Individuen wie auf Fig. 18, 8 Tage alt. *a, b*, *piloboloides*; *c, d*, *pil. & nit.*; *e*, *nit. & pil.*; *f nitens*.

Tafel XVII.

Homo- und heterokaryotische Mycelien der Mixochimäre Cl. + in St. —. *a* neutrales, *b, c, d* neutral und +-, *e* --, *f* neutral und --, *g* -- Mycel.



Fig. 1.



Fig. 2.



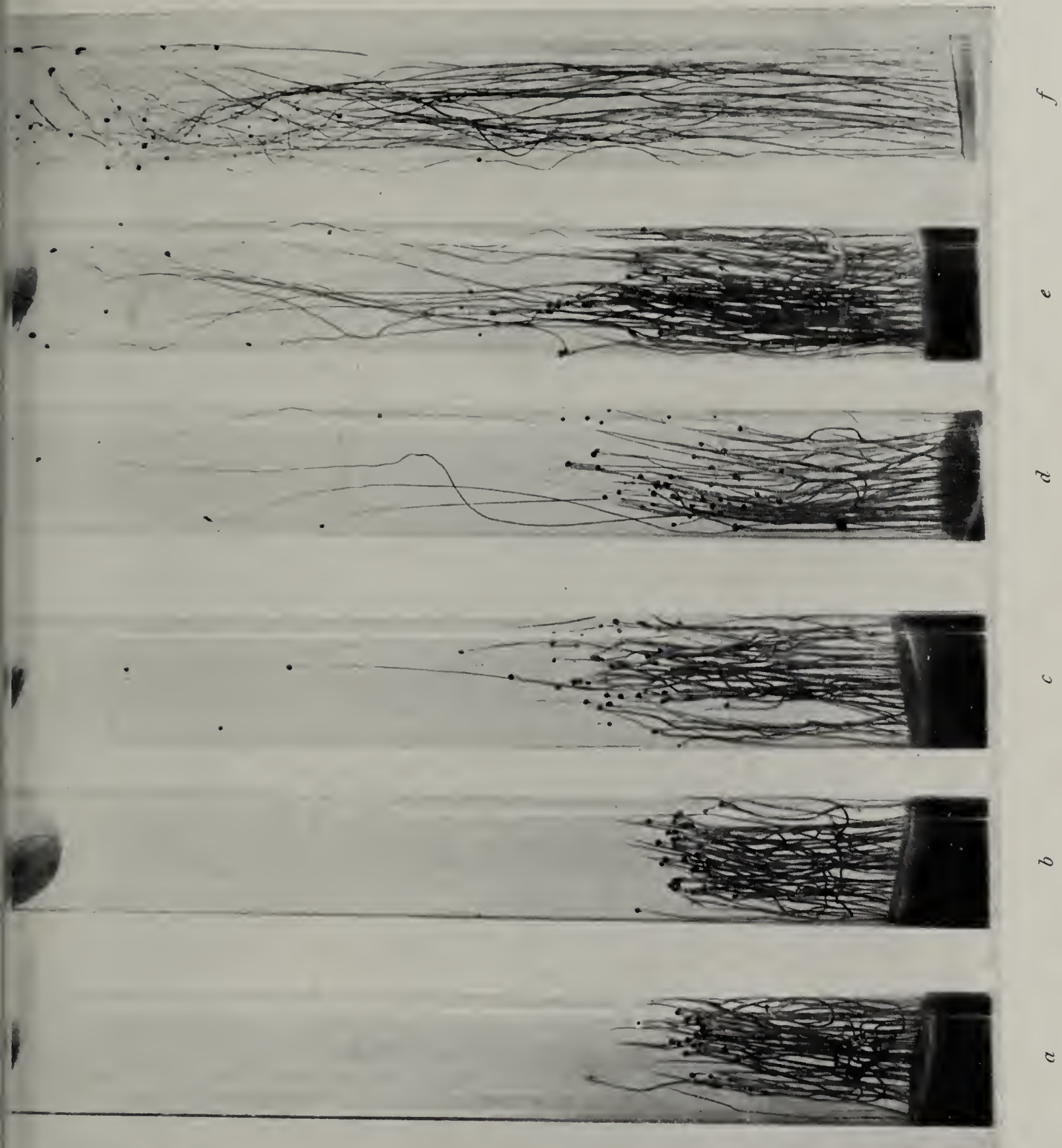
Fig. 3.

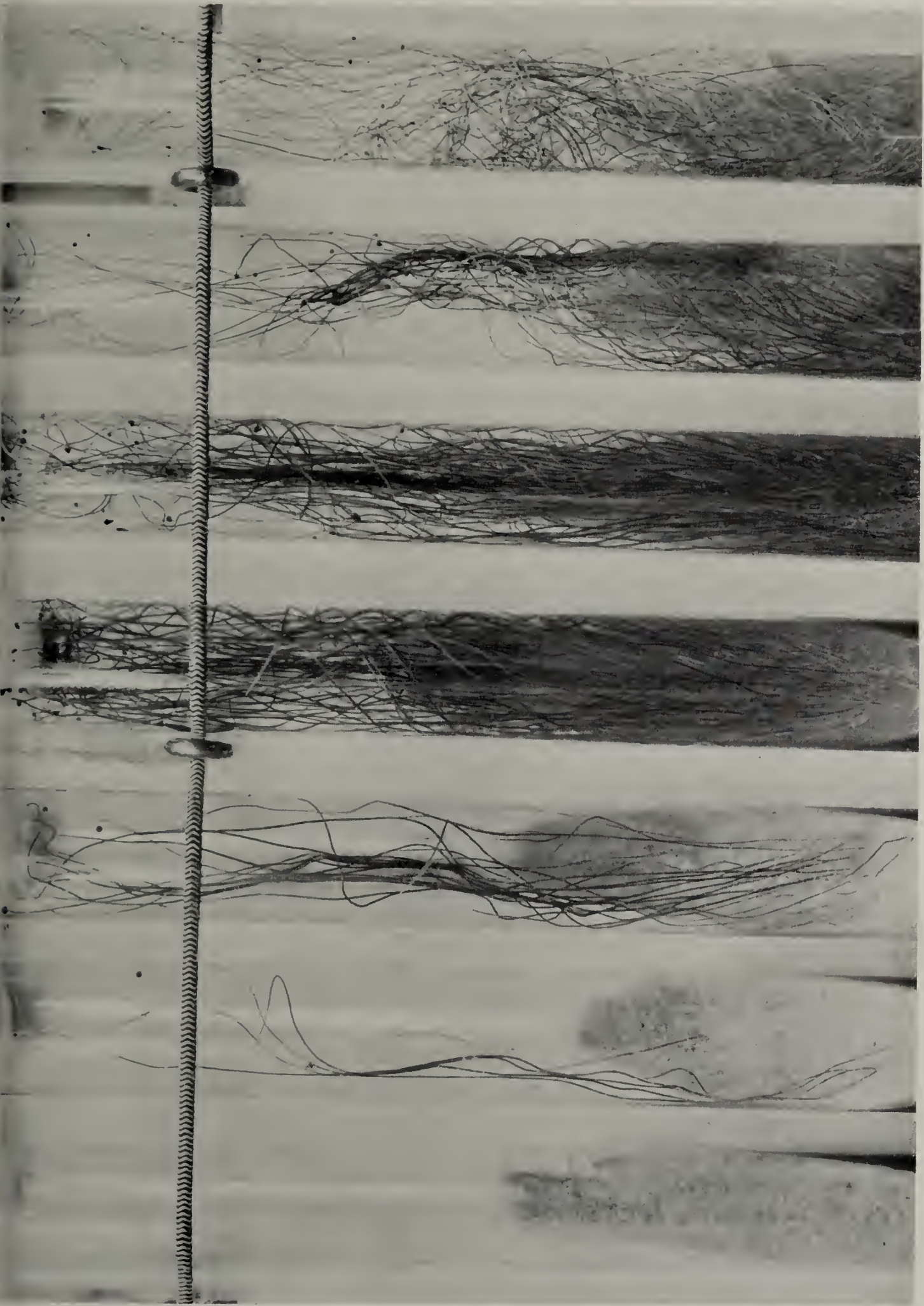


Fig. 1.



Fig. 2.





g

f

e

d

c

b

a