
Original - Arbeiten.

Über Artkreuzungen bei Brandpilzen.

Von H. Kniep.

I.

Die weite Verbreitung der geschlechtlichen Fortpflanzung bei den Pilzen, die einige Mykologen vor noch nicht langer Zeit auf die Phycomyceten beschränkt glaubten, legt die Frage nach dem Vorkommen von Bastarden in dieser Pflanzengruppe nahe. Beobachtungen in der Natur mögen wohl bei der oder jener Form die Vermutung aufkommen lassen, daß sie aus einer Kreuzung zwischen zwei ihr nahe stehenden Arten hervorgegangen ist. Solche Beobachtungen, die uns nichts über das Zustandekommen derartiger Formen und ihre Nachkommenschaft aussagen, können jedoch nicht weiter führen als zu hypothetischen Deutungen, für die der Beweis in jedem einzelnen Falle erst erbracht werden muß. Überblicken wir die Literatur, so sehen wir, daß bei Pilzen tatsächlich erst sehr wenige Artbastarde bekannt sind. Rassenbastarde oder, genauer gesagt, Kreuzungen zwischen zwei Sippen ein und derselben Art, die erbliche Verschiedenheiten aufweisen, kennen wir allerdings eine ganze Reihe: bei *Phycomyces* (Burgeff 1914), *Ustilago violacea* (Kniep 1919), *Collybia velutipes* und *Schizophyllum commune* (Zattler 1924) u. a. Mit ihnen wollen wir uns indessen hier nicht beschäftigen. Artkreuzungen sind z. B. bei folgenden Gruppen beobachtet worden: N. Pringsheim (1873) sah die Antheridien von *Achlya polyandra* an ein Oogonium von *Achlya racemosa* herantreten; in letzterem wurden Eier gefunden, die mit Membranen umgeben, also vielleicht durch die artfremden Antheridien befruchtet worden waren. Da die Befruchtung selbst nicht gesehen, die Weiterentwicklung der Eier nicht verfolgt wurde, und da zudem bei den Saprolegniaceen Parthenogenesis eine nicht seltene Erscheinung ist, bleibt dieser Fall ungewiß. Blakeslee (1904) war wohl der erste, der die Frage experimentell in Angriff genommen hat. Nach der Entdeckung der Getrenntgeschlechtlichkeit (Heterothallie) vieler Mucorineen hat er geprüft, wie sich eingeschlechtliche Myzelien verschiedener Arten gegeneinander verhalten, wenn sie zusammengeimpft werden. Er erhielt bei Einwirkung verschiedengeschlechtlicher Myzelien aufeinander in keinem Falle normale Zygoten sondern nur unvollständige Bildungen. Später haben dann Saito und Naganishi (1915) die sehr nahe verwandten getrenntgeschlechtlichen Arten *Mucor javanicus*, *M. circinelloides*, *M. alternans* u. a. miteinander kombiniert und

Bastardzygoten erhalten, deren Keimung aber nicht erreicht werden konnte. Burgeff (1924) hat *Phycomyces nitens* mit *Ph. Blakesleeanus* gekreuzt, hat auch die Zygoten zur Keimung gebracht. Die Keimsporangien erzeugten jedoch keine entwicklungsfähigen Sporen. Diesen wenigen Angaben reiht sich ein Versuch von Vandendries (1923) an, der sich auf getrenntgeschlechtliche Hymenomyceten bezieht. Wir wissen, daß im Entwicklungsgang dieser Pilze das haploide Myzel, das man in beliebig großer Ausdehnung erhalten kann, wenn man eine Spore zur Keimung bringt und das daraus hervorgehende Myzel fortzucht, meist dadurch charakterisiert ist, daß seine Zellen einkernig sind und an den Querwänden niemals Schnallen haben. Das diploide Myzel dagegen, das durch Verbindung zweier verschiedengeschlechtlicher Einspormyzelien zustande kommt, hat zweikernige Zellen und

Schnallen. Vandendries hat nun haploide Myzelien von *Panaeolus campanulatus* L. und *Pan. fimicola* Fr. in größerer Zahl miteinander kombiniert und in einem Falle ein Myzel erhalten, an dem Schnallen vorhanden waren. Vermutlich war das also ein Bastardmyzel. Die Entwicklung dieses Myzels war freilich sehr kümmerlich; es konnte leider nicht zur Fruchtkörperbildung gebracht werden, da es bald einging. Mit anderen getrenntgeschlechtlichen Hymenomyceten sind schon vor

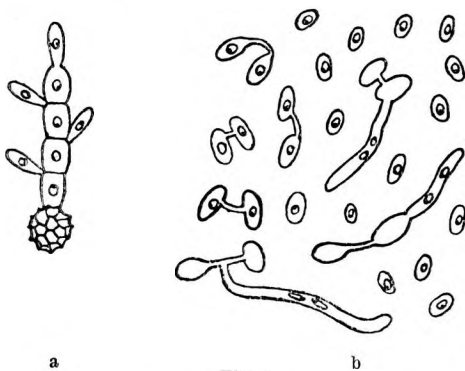


Fig. 1.

Ustilago violacea. Links (a) Brandspore mit Promyzel, aus dessen Zellen Sporidien sprossen. Rechts (b) Sporidien, die z. T. kopuliert haben. Drei der Kopulationspaare haben einen Myzelschlauch gebildet, in den die beiden Kerne eingewandert sind. (Halbschematisch.)

den Untersuchungen von Vandendries und auch später sehr viele Bastardierungsversuche gemacht worden. Was ich darüber aus eigener Erfahrung berichten könnte, sind nur negative Ergebnisse. Es scheint, daß trotz der äußerlichen Ähnlichkeit mancher nahe verwandter Arten die Bastardierungsmöglichkeiten innerhalb dieser Gruppe sehr beschränkte sind.

Das Folgende bezieht sich ausschließlich auf Brandpilze, und zwar vorwiegend auf Sporidien bildende Arten der Gattung *Ustilago*. Einleitend mag hier zunächst der typische Entwicklungsgang einer dieser Formen, etwa der *Ustilago violacea*, kurz geschildert werden (Fig. 1). Wir gehen aus von der Brandspore, die in den Antheren der Wirtspflanze (z. B. *Melandrium album*) gebildet wird. Sie ist eine kugelige Zelle, deren äußere Membran eine charakteristische Netzstruktur aufweist. Im Protoplasma der voll entwickelten Brandspore befindet sich ein Zellkern. Bringt man die Brandspore in Wasser oder in Nährlösung, so tritt alsbald Keimung ein. Es stülpt sich ein Keim-

schlauch aus (das sog. Promyzel), der sein Wachstum nach kurzer Zeit einstellt. Durch Querwände wird er in meist vier Zellen geteilt, deren jede einen Kern enthält. Diese vier Kerne müssen durch Teilung aus dem Kern der Brandspore hervorgegangen sein. Sie unterscheiden sich von letzterem insofern, als sie nur halb soviel Chromosomen besitzen. Der Brandsporenkern ist diploid; bei seiner Teilung erfolgt die Reduktion der Chromosomenzahl auf die Hälfte, so daß seine vier Abkömmlinge haploide Kerne sind. Die Entwicklung geht nun in folgender Weise weiter: Aus den Promyzelzellen sprossen Sporidien aus, die leicht abfallen und sich in geeigneter Nährlösung durch hefeartige Sprossung vermehren. Ein bis zwei Tage nach der Keimung kann man daher in der Umgebung der Brandspore einen dichten Haufen von solchen Sporidien sehen. Ein Teil dieser Sporidien pflegt sich, sofern die Außenbedingungen hierfür günstige sind (besonders wichtig ist reichliche Sauerstoffzufuhr) paarweise durch Kopulations-schläuche zu verbinden. Figur 1b zeigt solche Kopulationsstadien neben unkopulierten Sporidien. Aus derartigen Gebilden können Myzelien hervorgehen, indem z. B. eines der kopulierenden Sporidien zu einem Schlauch aussproßt. Der Inhalt des anderen wandert dann in ersteres über, das ebenfalls seinen Inhalt in den Schlauch entleeren kann. Die Sporidien sind einkernig. Bei der Kopulation vereinigen sich die beiden Plasmakörper; so kommt eine zweikernige Zelle zustande. Die beiden Kerne wandern in den Keimschlauch. Wenn letzterer fortwächst und mehrzellig wird, dann enthalten alle Zellen je ein Kernpaar, das sich von den ersten, durch Kopulation zusammengekommenen beiden Kernen herleitet. Die Kernteilungen finden simultan statt (konjugierte Teilungen); in einer Zelle sind niemals zwei Schwesterkerne (Abkömmlinge eines Kerns) enthalten, vielmehr stammt stets der eine der beiden Kerne einer jeden Zelle dieses Paarkernstadiums durch direkte Generationenfolge von dem Kern der einen, der andere von dem Kern der anderen Sporidie (die mit ersterer kopuliert hat) ab.

Wir wissen nun, daß die Kopulationsfähigkeit der Sporidien einer Beschränkung unterliegt. Auch unter günstigsten Kopulationsbedingungen können nicht zwei ganz beliebige zur Kopulation gebracht werden. Das geht aus folgendem Versuch hervor (Kniep 1919): Isoliert man ein Sporidium und bringt es unter günstige Ernährungsbedingungen (etwa auf Gelatine oder Agar mit 3 % Malzextrakt), so tritt zwar sehr starke Vermehrung durch Sprossung ein, niemals aber Kopulation. Wenn man nun eine größere Reihe solcher Einsporidienkulturen (Klone) anlegt und sie systematisch in der Weise kombiniert, daß man Sporidien der einen Kultur mit denen einer zweiten, dann einer dritten usf. zusammenimpft, so wird man finden, daß in 50 % der Fälle Kopulationen eintreten, in 50 % keine. Obwohl durchgreifende morphologische Unterschiede zwischen den Sporidien im allgemeinen fehlen, bestehen offenbar in der feinsten Struktur begründete Verschiedenheiten, die für dieses Verhalten verantwortlich zu machen sind. Nur wenn zwei verschiedene

Sporidien zusammenkommen, tritt also Kopulation ein. Da die Kopulation als ein Sexualakt aufzufassen ist, die kopulierenden Sporidien also als Gameten fungieren, so dürfen wir sagen: es herrscht bei *Ustilago violacea* trotz morphologischer Gleichheit der Gameten Getrenntgeschlechtlichkeit, beruhend auf einer physiologischen Geschlechtsdifferenzierung. Aus einer Brandspore gehen Gameten beiderlei Geschlechts hervor. Die Trennung der Geschlechter erfolgt zweifellos bei der Reduktionsteilung, die in der Brandspore bei deren Keimung stattfindet. Von den vier Promyzelzellen gehören zwei dem einen, die beiden anderen dem anderen Geschlecht an; entsprechend verhalten sich die Abkömmlinge dieser Zellen, die Sporidien. Bei *Ustilago violacea* findet man nicht selten Kopulation zweier Promyzelzellen selbst, die durch hufeisenförmige, über die trennende Querwand verlaufende Verbindungen erfolgt. Bei anderen *Ustilago*-Arten, z. B. *Ust. nuda* und *Ust. Tritici*, die keine Sporidien bilden, ist dies die alleinige Form der Kopulation.

In der Natur pflegt der Myzelschlauch, der aus den kopulierten Sporidien hervorgeht, in die Wirtspflanze einzudringen. Das Paarkeernsystem erhält sich durch fortgesetzte konjugierte Teilungen. Erst in den jungen Brandsporen (die bei *Ust. violacea* in den Antheren der Wirtspflanze angelegt werden) findet der Sexualakt gewissermaßen seinen Abschluß dadurch, daß die beiden Kerne zu einem diploiden Kern verschmelzen.

Mit mehr oder weniger großen Abweichungen, auf die hier nicht eingegangen zu werden braucht, verläuft der Entwicklungsgang derjenigen *Ustilago*-Arten, von denen hier die Rede sein wird, nach dem geschilderten Schema, abgesehen von einer später zu berührenden Ausnahme.

Die Tatsache, daß bei einer ganzen Reihe von Brandpilzen verschiedengeschlechtliche Sporidien entstehen, bildet den Ausgangspunkt der hier mitzuteilenden Untersuchungen. Wir wollen die beiden Sporidiensorten mit A und B bezeichnen, da die Ausdrücke männlich und weiblich in Ermangelung deutlicher morphologischer Geschlechtsunterschiede¹⁾ nicht wohl anwendbar sind. Nachdem bei einigen Formen der *Ustilago violacea*, von der zahlreiche Spezialformen oder biologische Arten bekannt geworden sind (Zillig 1921), die Verschiedengeschlechtlichkeit der Sporidien nachgewiesen war, wurde sie später bei einer ganzen Reihe anderer Arten gefunden. Nach der vorliegenden Literatur sind das folgende:

Ust. Scabiosae (Sow.) Winter (Kniep 1921).

Ust. longissima (Sow.) Tul. (Bauch 1923).

Ust. longissima var. *macrospora* Davis (Bauch 1923).

¹⁾ Der Umstand, daß durch genaue statistische Untersuchungen in gewissen Fällen Variationskurven für die Größe der beiden Sporidiensorten gefunden werden, die charakteristische Verschiedenheiten aufweisen, mag hier außer acht gelassen werden.

Ust. bromivora (Tul.) F. v. Waldh. (Bauch 1925).

Ust. grandis Fr. (Bauch 1925).

Dazu kommen folgende Arten, bei denen Getrenntgeschlechtlichkeit festgestellt, aber noch nicht veröffentlicht worden ist:

Ust. Cardui F. v. Waldh.¹⁾.

Ust. vinosa (Berkeley) Tul.¹⁾.

Ust. utriculosa (Nees) Unger²⁾.

Ust. anomala J. Kuntze¹⁾.

Ust. Tragopogonis Schroeter¹⁾.

Ust. Hordei (Pers.) Kellerm. u. Swingle¹⁾.

Ust. perennans Rostr.¹⁾.

Es mögen hier gleich einige Bemerkungen über die Herkunft meines Materials und über die Gewinnung der Reinkulturen angeschlossen werden. Der Übersichtlichkeit halber bespreche ich die Formen in alphabetischer Folge.

1. *Ust. anomala*. Wirt: *Polygonum dumetorum* L. leg. E. Fahrendorff³⁾ am 5. 1. 1925 bei Buch unweit Berlin. Das Material wurde trocken im Zimmer aufbewahrt. Nach Übertragung der Brandsporen in Wasser trat im März Keimung ein. Die Brandsporen wurden möglichst rein in einen Tropfen steriles Wasser auf einen Objektträger übertragen. Das Präparat blieb bis zur Keimung im dampfgesättigten Raum. Die gekeimten Brandsporen wurden dann auf Malzextraktgelatine aufgestrichen (in einer Petrischale). Von da wurde zur Weiterkultur von Stellen, die durch andere Organismen nicht verunreinigt waren, in Agarröhrchen (1½ % Agar, 3 % Malzextrakt) übertragen.

2. *Ust. bromivora*. Das Material (ein A- und ein B-Stamm) wurde mir von Dr. Bauch-Rostock freundlichst zur Verfügung gestellt. Über die Keimung der Brandsporen findet man in dessen Arbeit (1925) nähere Angaben. Der A-Stamm wurde aus Material isoliert, das auf *Bromus Schraderi* Kunth gewachsen war; der B-Stamm aus Material von *Bromus marginatus* Steud., das aus Washington stammt.

3. *Ust. Cardui*. Wirt: *Carduus defloratus* L. Brandsporenmaterial gesammelt von Prof. E. Fischer-Bern in Saas Fee. Die Reinkultur wurde in gleicher Weise durchgeführt wie bei *Ust. anomala*. In flüssigem 3 %igem Malzextrakt und auf Malzextraktgelatine trat keine Keimung ein. Einmal gekeimte Brandsporen wachsen aber auf diesen Medien lebhaft weiter, d. h. die Sporidien vermehren sich durch Sprossung. Die Isolierung der Einsporidienkulturen geschah in üblicher Weise durch Plattengüsse. Von 17 so gewonnenen Stämmen erwiesen sich 5 als A, 12 als B.

¹⁾ Festgestellt von mir.

²⁾ Festgestellt von Dr. Bauch.

³⁾ Allen Herren, die mich freundlicherweise durch Zusendung von Material unterstützt haben, möchte ich auch an dieser Stelle vielmals danken.

4. *Ust. grandis*. Wirt: *Phragmites communis* Trin. Gesammelt bei Baarn in Holland. A- und B-Stamm isoliert von Dr. Bauch, Rostock.

5. *Ust. Hordei*. Wirt: *Hordeum sativum* Jessen. Das Material stammt teilweise aus Kanada (Winnipeg) und wurde mir von Prof. A. H. R. Buller freundlichst überlassen, teilweise aus Drepkau, Kreis Kalau, Mark Brandenburg, leg. E. Fahrendorff. Nach zweijähriger trockener Aufbewahrung im Laboratorium war die Keimkraft ungeschwächt. Sporidienisolierung durch Gelatineplattengüsse. Von 9 Einsporidienkulturen waren 5 = A, 4 = B.

6. *Ust. longissima*. Wirt: *Glyceria plicata* Fr. Gesammelt bei Rostock von Dr. Bauch, der mir je einen A-, B- und C-Stamm überließ.

7. *Ust. longissima* var. *macrospora*. Wirt: *Glyceria plicata* Fr. Gesammelt bei Rostock. A- und B-Stamm von Dr. Bauch erhalten.

8. *Ust. nuda* (Jensen) Kellerm. u. Sw. Wirt: *Hordeum sativum* Jessen. Material aus der Biologischen Reichsanstalt Berlin-Dahlem, erhalten von Dr. K. O. Müller. Reinkultur durch möglichst sterile Entnahme von Brandsporen aus den Ähren und Ausstrich derselben auf Gelatineplatten. Von da wurde von Stellen, die nachweislich nur *Ust. nuda* enthielten, auf Malzextraktagar übertragen.

9. *Ust. perennans*. Wirt: *Arrhenatherum elatius* M. u. Koch. Gesammelt im Würzburger Hofgarten von K. Arens. Keimung der steril entnommenen Brandsporen auf Malzextraktgelatine innerhalb weniger Stunden. Sporidienisolierung durch Plattengüsse. Von 15 isolierten Stämmen waren 10 = A, 5 = B.

10. *Ust. Scabiosae*. Wirt: *Knautia arvensis* Coult. Gesammelt von Dr. Zillig bei Trier. Keimung der Brandsporen auf Malzextraktgelatine. Isolierung der Einsporidienkulturen durch Plattengüsse. Von 8 Isolierungen waren 6 = A, 2 = B.

11. *Ust. Tragopogonis*. Wirt: *Tragopogon pratensis* L. Gesammelt in Werder bei Jüterbog; erhalten durch E. Fahrendorff. Keimung in Wasser, nicht aber auf Malzextraktgelatine. Isolierung wie *U. anomala*.

12. *Ust. Tritici* (Pers.) Jensen. Wirt: *Triticum sativum* Lam. Material aus dem Garten des Pflanzenphysiologischen Instituts Berlin-Dahlem. Reinkultur wie von *U. nuda* (s. o.).

13. *Ust. utriculosa*. Wirt: *Polygonum lapathifolium* L. Material aus Kritzmow bei Rostock und aus Österreich. Je zwei A- und B-Stämme, die sich bei den Versuchen im wesentlichen gleich verhielten, wurden mir von Dr. Bauch überlassen.

14. *Ust. vinosa*. Wirt: *Oxyria digyna* Campd. Gesammelt von Prof. E. Fischer-Bern bei Saas Fee. Sporen keimen schnell auf Malzextraktgelatine. Isolierung von 10 Einsporidienkulturen durch Plattengüsse. Davon waren 5 = A, 5 = B.

15. *Ust. violacea*. Keimung und Sporidienisolierung wie bei *U. Scabiosae* und *U. vinosa*.

a) Wirt: *Dianthus deltoides* L. Gesammelt bei Buch im Steigerwald von mir.

b) Wirt: *Dianthus superbus* L. Gesammelt bei Ochsenfurt a. Main von mir.

c) Wirt: *Melandrium album* Greke. Gesammelt im Garten des Pflanzenphysiologischen Instituts Berlin-Dahlem von mir.

d) Wirt: *Saponaria ocymoides* L. Gesammelt im Botanischen Garten Berlin-Dahlem von mir.

e) Wirt: *Silene saxifraga* L. Gesammelt bei Lienz, Osttirol. Ein A- und ein B-Stamm wurde mir von Dr. Bauch überlassen.

In früheren Versuchen hatte sich bereits ergeben, daß Sporidien von *Ust. violacea* auch dann ohne Schwierigkeit kopulieren, wenn sie Material entstammen, das von verschiedenen Wirtspflanzen stammt (Kniep 1919). So erhält man z. B. ebenso leicht Kopulationen, wenn man A-Sporidien der auf *Melandrium album* gewachsenen Form mit B-Sporidien der Form von *Dianthus superbus* kombiniert, wie wenn man B-Sporidien ebenfalls von *Melandrium album* wählt. Der Antherenbrand von *Melandrium album* geht nun auf *Dianthus Carthusianorum* nicht über, es handelt sich also hier um zwei Spezialformen (biologische Arten), die miteinander gekreuzt worden sind. Derartige Bastardkopulationen gelangen bei *Ust. violacea* Zillig (1921) in allen von ihm untersuchten Fällen; außer den von Zillig geprüften Spezialformen habe ich später noch eine ganze Reihe anderer untersucht und nie ein Fehlresultat erhalten.

Es lag nun nahe, einen Schritt weiter zu gehen und zu prüfen, ob auch geschlechtsverschiedene Sporidien verschiedener Ustilagoarten sich zur Kopulation bringen lassen. Das ist in der Tat in weitgehendem Maße der Fall. Für die Beurteilung der Verwandtschaft der Ustilagoarten pflegt man die Struktur der äußeren Brandsporenmembran als wichtig anzusehen. Arten, bei denen diese netzartig gefeldert ist, werden solchen gegenübergestellt, deren Membran glatt oder leicht punktiert ist. Ausgehend von der Annahme, daß bei nahe verwandten Arten ein positives Kreuzungsergebnis eher zu erreichen sei, habe ich zunächst artverschiedene Sporidien solcher Arten gegeneinander geprüft, deren Brandsporen netzig strukturiert sind. Es sind das: *Ust. violacea*, *Scabiosae*, *utriculosa*, *Cardui*, *vinosa*; dazu kamen später *U. Tragopogonis* und *anomala*.

Die Kopulationsversuche wurden unter verschiedenen Bedingungen angestellt. Selbstverständlich wurde nur mit absoluten Reinkulturen gearbeitet. Stets wurde für gute Sauerstoffzufuhr gesorgt, die nach Bauch (1922) für gutes Gelingen der Kopulation unerlässlich ist. In den ersten Versuchen habe ich Agar mit Zusatz von 3 % Malzextrakt verwendet, denselben Agar also, auf dem die Reinkulturen gehalten wurden. Durch Zusatz von Soda wurde der Nährboden etwas alkalisch gemacht (so daß der Neutralitätspunkt des Lackmus eben

überschritten wurde). Die beiden Sporidiensorten wurden auf der schräg erstarrten Agarfläche der Reagenzröhrchen aufgestrichen und miteinander vermischt. Man erhält unter diesen Bedingungen fast immer nach 1—2 Tagen Kopulationen, wenn sie auch manchmal spärlich sind. Sehr wichtig ist es allerdings, daß der Agar den rechten Feuchtigkeitsgrad hat. Seine Oberfläche darf nicht mit sog. Quetschwasser bedeckt

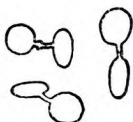


Fig. 2.

Ustilago violacea B von *Dianthus superbus* + *U. Cardui* A.
Ovale Sporidien von *U. violacea*,
kugelige von *U. Cardui*.

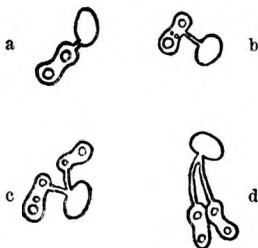


Fig. 3.

Ustilago violacea A von *Saponaria ocymoides* (Sporidien oval)
+ *U. anomala* B (Sporidien bis-
kultförmig mit viel Öl).

Kulturagar direkt auf die für die Erzielung der Kopulation bestimmten Medien übertragen.

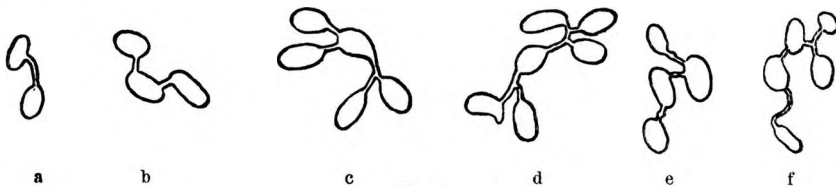


Fig. 4.

Ustilago violacea A von *Saponaria ocymoides* + *U. utriculosa* B.

Um den Resultaten die nötige Sicherheit zu geben, wurden alle Versuche zwei- oder dreimal angestellt, manche beträchtlich öfter.

In Tabelle I ist zunächst zusammengestellt, was sich bei der Kombination der Sporidien verschiedener Spezialformen der *Ustilago violacea* mit denen anderer netzsporiger Arten ergab. (Siehe Fig. 2, 3 und 4). Es geht daraus hervor, daß alle untersuchten Arten mit sämtlichen geprüften Spezialformen des Antherenbrands reagierten, und zwar kopulierte naturgemäß immer das eine Geschlecht mit dem ent-

gegengesetzten der *Ust. violacea* und umgekehrt. Wir dürfen daraus vielleicht schließen, daß die Faktoren, die für die Bestimmung der beiden Geschlechter maßgebend sind, in allen diesen Fällen die gleichen sind.

		U. Scabiosae		U. vinosa		U. utriculosa		U. Cardui		U. Tragopogonis	U. anomala
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
U. v. Mel. alb.	A	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
	B	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—
U. v. Dianth. delto.	A	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
	B	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—
U. v. Dianth. sup.	A	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
	B	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—
U. v. Sil. sax.	A	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
	B	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—
U. v. Sap. ocym.	A	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
	B	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—

Tab. I. Ergebnis der Kombination der Sporidien von 5 Spezialformen des Antherenbrands (*Ustilago violacea*) mit denen 6 anderer netzsporiger Arten. Das + Zeichen bedeutet, daß Kopulation gefunden wurde, das — Zeichen, daß keine Kopulation eingetreten war. U. v. bedeutet *Ustilago violacea*. Die beiden Wörter hinter U. v. bezeichnen jeweils die Wirtspflanze, von der der Pilz stammte, also *Melandrium album*, *Dianthus deltoides*, *Dianthus superbus*, *Silene saxifraga*, *Saponaria ocymoides*. A und B sind Bezeichnungen für die Geschlechter¹⁾.

Unter günstigen Bedingungen, also besonders auf schwach alkalischem, nährstoffreiem Agar, waren die Kopulationen immer sehr reichliche. Ein Blick ins Mikroskop genügte meist, um mehrere kopulierende Sporidien zu sehen. In manchen Fällen war eine derartige Häufung von Kopulationen zu beobachten, daß die Zahl der kopulierten Sporidien die der unkopulierten überwog. Das habe ich z. B. bei der Verbindung U. violacea A von *Melandrium album* + U. utriculosa B gesehen. Die jeweils angestellten Kontrollen mit geschlechtsverschiedenen aber artgleichen Sporidien ergaben, daß in diesen Fällen die Kopu-

¹⁾ A entspricht der Bezeichnung a von Zillig (1921) und Bauch (1922). Das Geschlecht stimmt überein mit dem meiner ursprünglichen Kultur 12d (Kniep 1919). Entsprechend ist B = b bei Zillig und Bauch = 14d. Nachdem für die verschiedenen Arten Getrenntgeschlechtlichkeit der Sporidien nachgewiesen war, wurden ursprünglich die beiden Geschlechter willkürlich mit A und B bezeichnet, da kein Anhaltspunkt dafür vorlag, welches der beiden Geschlechter dem A- bzw. dem B-Geschlecht von *Ustilago violacea* entspricht. Das ergab sich erst aus den Kreuzungsversuchen. Es mußten also einige Stämme „umgetauft“ werden. Wenn z. B. bei Ust. vinosa von den beiden miteinander kopulierenden Stämmen der eine mit Ust. violacea A positive Reaktion gab, so wurde er B genannt, der andere A.

lationen im Durchschnitt keineswegs reichlicher sind als bei den Artkreuzungen. Sehr häufig wurden Verbindungen von mehr als zwei Sporidien gefunden. Das kam besonders oft vor bei Verbindungen von *U. violacea* von *Saponaria ocymoides* und *U. utriculosa*, wurde aber bei allen fertilen Kombinationen festgestellt. Fig. 4b—f zeigt Bilder solcher Fälle, in denen 3—6 Sporidien miteinander kopuliert haben. Die Sechszahl ist keineswegs die Höchstzahl, die vorkommt. Ich habe mit Sicherheit Vereinigungen von 11 Sporidien zählen können. Je größer die Zahl ist, um so unübersichtlicher ist das Bild. Auch wenn man durch Drehung dieser Gruppen eine Betrachtung von allen Seiten erreicht, ist die Zahl und der Verlauf der Kopulationsschläuche nicht immer genau festzustellen. Manche Bilder machen den Eindruck eines wahren Rattenkönigs. Die zeichnerische Darstellung solcher Gebilde erscheint kaum möglich.



Fig. 5.

Ustilago Scabiosae A + *U. utriculosa* B.

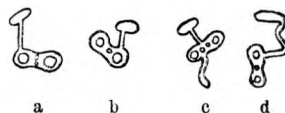


Fig. 6.

U. vinosa A + *U. anomala* B. c mit kurzem Myzelschlauch.

Was Größe und Form der Sporidien der in Tab. I verzeichneten Formen anbetrifft, so sind diejenigen von *U. violacea*, *Scabiosae*, *vinosa* und *utriculosa* mehr oder weniger oval. Die Variationsbreite von Größe und Form ist eine ziemlich erhebliche und hängt in hohem Maße von den Außenbedingungen (Beschaffenheit des Kulturmediums, Alter und Ernährungszustand der Kultur usw.) ab. Um in diesen äußeren Faktoren möglichste Gleichheit zu schaffen, arbeitete ich ausschließlich mit Strichkulturen auf schwach alkalischem Malzextrakt-agar. Es wurden nur frische, vor wenigen Tagen übergeimpfte Kulturen zu den Kombinationsversuchen verwandt. Von genauen statistischen Untersuchungen über Größe und Form der Sporidien habe ich abgesehen. Schon der Augenschein lehrt, daß die Variationskurven der Sporidien von *U. violacea*, *Scabiosae* und *utriculosa* sich weitgehend überdecken. Wenn ein Gemisch dieser Sporidien vorliegt, so ist es im Einzelfall also nicht möglich zu sagen, zu welcher Art ein bestimmtes Sporidium gehört. Daß die in einer Kombination auftretenden Kopulationen Bastardkopulationen sind, folgt also bei diesen Formen nur daraus, daß von jeder Art nur ein Geschlecht in der Kombination enthalten ist, und daß in Kontrollversuchen, in denen die Klone allein unter gleiche Bedingungen gebracht wurden oder gleichgeschlechtliche Sporidien beider Arten kombiniert worden waren, keine Kopulation eintrat. Dieser Beweis darf dasselbe Maß von Sicherheit beanspruchen, wie der Schluß, der uns bei Kopulation artgleicher Sporidien deren Geschlechtsverschiedenheit annehmen läßt. Bei Kreuzung von solchen Arten, deren Sporidien morphologisch unterscheidbar sind, kann nun

aber das Zusammengehen von Geschlechtsverschiedenheit und Artverschiedenheit direkt ad oculos demonstriert werden. Das trifft z. B. zu für die Verbindungen von Sporidien der *U. Cardui* mit denen aller anderen Arten. Mein Material von *U. Cardui* zeichnet sich durch kugelige Sporidien aus, wie ich sie bei keiner anderen der mir zur Verfügung stehenden Arten gefunden habe. Wenn also *U. Cardui* an einer Kopulation beteiligt ist, so lassen sich dessen Sporidien ohne weiteres identifizieren. Fig. 2, 7, 8, 10, 12 u. a. zeigen das. *U. vinosa* weicht von den anderen Formen ab durch seine meist kleinen und schmalen Sporidien (s. Fig. 6 u. 8). Da indessen ähnliche Sporidiengestalten auch bei *U. violacea*, *Scabiosae* und *utriculosa* vorkommen, so ist die Identität der *U. vinosa* Sporidien in Gemischen mit den letzteren Arten nicht immer einwandfrei festzustellen.

Leicht unterscheidbar von allen anderen der in Tabelle I aufgeführten Formen ist *U. Tragopogonis* durch die längliche Gestalt der Sporidien. Ich verweise, dem Folgenden vorgreifend, auf Fig. 9, 10, 13. *U. anomala* zeichnet sich durch Sporidien aus, die unter den gegebenen Kulturbedingungen eine mehr oder weniger große Einschnürung aufweisen (Biskuitform), die manchmal so weit geht, daß zwei fast kugelige Hälften nur durch eine schmale Brücke verbunden sind. Außerdem sind sie leicht an ihrem reichen Gehalt an stark lichtbrechenden Körpern (Öl) zu erkennen, die auch in den Zeichnungen hervor-
gehoben wurden (s. z. B. Fig. 3). Freilich enthalten auch die anderen Sporidienarten Öl, doch nicht in derartiger Menge¹⁾.

Daß mir von *U. Tragopogonis* und *U. anomala* jeweils nur ein Geschlecht zur Verfügung stand, erklärt sich folgendermaßen: S. 221f. sind kurze Angaben über die Reinzucht der beiden Arten gemacht. Die Keimung erfolgte in Wasser, von dort wurden die Keimlinge auf Gelatineplatten (10 % Gelatine, 3 % Malzextrakt) übertragen, um zu kontrollieren, daß das übergeimpfte Material bakterienfrei war und etwa sich bildende Bakterienkolonien auszuschließen. An Stellen, die

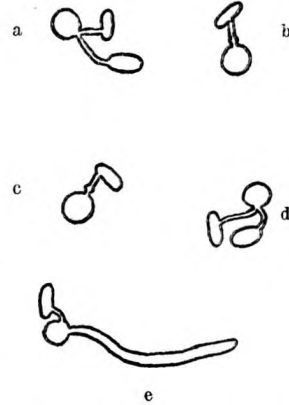


Fig. 7.

a—d *Ustilago utriculosa* A + *U. Cardui* B; e *U. Cardui* A + *U. utriculosa* B. a und d: Verbindung eines Sporidiums von *U. Cardui* mit zwei Sporidien von *U. utriculosa*. e Aussprossen eines Myzelschlauches aus *U. Cardui*.

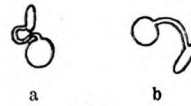


Fig. 8.

Ustilago Cardui A (Sporidien kugelig) + *U. vinosa* B (Sporidien länglich-oval).

¹⁾ Über die chemische Beschaffenheit dieses „Öls“ kann ich keine näheren Angaben machen. Vitalfärbungen mit Neutralrot (1:10000), das schnell eindringt, ohne die Sporidien zu schädigen (es wurde in Neutralrot lebhaftes Kopulation beobachtet) ergaben, daß immer nur ein Teil der Tröpfchen den Farbstoff stark speichert, der meist größere Teil völlig farblos bleibt.

sich bei mikroskopischer Kontrolle als bakterienfrei erwiesen, wurden dann Keimlinge oder Sporidiengruppen entnommen und in Agarröhrchen eingepft. *U. Tragopogonis* bildet, wie bekannt, schon in Wasser Sporidien, die vielfach schon am Promyzel kopulieren. Im Wasserpräparat sind aber daneben stets eine ganze Reihe unkopulierter Sporidien vorhanden. Obwohl nun eine Isolierung einzelner Sporidien nicht vor-

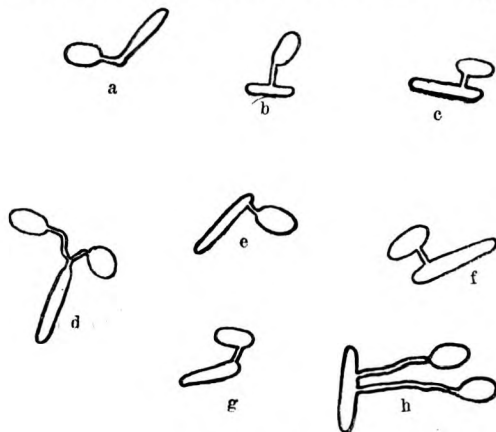


Fig. 9.

Ustilago utriculosa B (Sporidien oval) + *U. Tragopogonis* A (Sporidien langgestreckt). d und h: Verbindungen eines Sporidiums von *U. Tragopogonis* mit zweien von *U. utriculosa* (der Fall d ist der häufigere).

genommen worden war, also erwartet werden mußte, daß wenigstens in einigen Agarkulturen beiderlei Sporidien enthalten sein mußten, war ich erstaunt zu sehen, daß von Kopulationen, die im Wasserpräparat in so reicher Menge aufgetreten waren, in keiner Agarkultur etwas zu finden war. In der Annahme, daß dieses Verhalten in den Kulturbedingungen seinen Grund habe, übertrug ich vom Agar die Sporidien unter Bedingungen, von denen ich annehmen mußte, daß sie der Kopulation günstig seien, konnte aber auch da nirgends

Kopulationen erzielen. Ich glaubte daher, daß *U. Tragopogonis* aus irgendwelchen nicht bekannten Gründen seine Kopulationsfähigkeit eingebüßt habe und unterließ zunächst weitere Versuche. Später griff ich auf

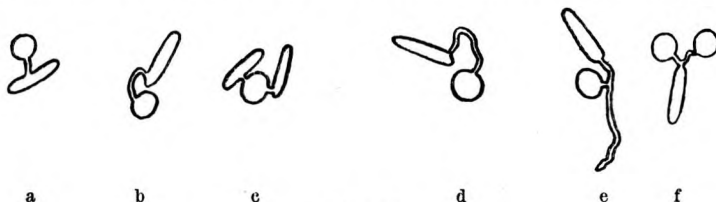


Fig. 10.

Ustilago Cardui B (Sporidien kugelig) + *U. Tragopogonis* A (Sporidien langgestreckt). e: Verbindung eines Sporidiums von *U. Cardui* mit zweien von *U. Tragopogonis*. f: Verbindung eines Sporidiums von *U. Tragopogonis* mit zweien von *U. Cardui* (dieser Fall ist häufiger als der in e). e: aus der Kopulationsbrücke wächst ein Myzelschlauch.

die Kulturen zurück und kombinierte sie mit dem A- und B-Geschlecht anderer *Ustilago*-arten. Überraschenderweise zeigte sich, daß mit dem B-Geschlecht Kopulationen auftraten, niemals aber mit dem A-Geschlecht. Es war also durch die Prozeduren der Reinkultur unbewußt eine Selektion des A-Geschlechts von *U. Tragopogonis* bewirkt worden. Der Fall erinnert an das früher (1919) von mir festgestellte, später von Bauch (1922) näher untersuchte Verhalten der *U. violacea* von *Dianthus*

deltoides. Wenn das Medium, auf dem *U. violacea* *Dianthi deltoidis* zur Keimung kommt, Eiweißkörper enthält, so wird die Entwicklung des B-Geschlechts gehemmt oder unterdrückt, so daß man ausschließlich oder vorwiegend A-Sporidien erhält.

Analoges wurde nun bei *U. anomala* gefunden. Die Keimlinge wurden aus dem Wasser durch Ausstrich auf Gelatineplatten übertragen. Von da entnahm ich isoliert liegende Keimlinge im Promyzelstadium, die noch keine Sporidien gebildet hatten, zur Reinkultur auf Agar. Nach einigen Tagen traten in dem Agar Sporidienkolonien auf, die auf das Vorhandensein von Kopulationen untersucht wurden. Nur in einem Röhrchen wurden Kopulationen, allerdings in größerer Zahl, gefunden. Nachdem von diesem Röhrchen mehrfach abgeimpft worden war, wurden die neuen Kulturen wiederum geprüft. Nunmehr ließen sich keine Kopulationen mehr finden. In den anderen Kulturen fehlten sie von vornherein und traten auch später nicht auf. Meine ursprüngliche Annahme, daß es sich um ein Erlöschen der Kopulationsfähigkeit handele, erwies sich auch hier als irrig. Als ich die *U. anomala*-Stämme mit Sporidien anderer Art (A und B) kombinierte, traten in den Kombinationen mit dem A-Geschlecht der beiden letzteren zahlreiche Kopulationen auf. Auch bei *U. anomala* ist also auf noch nicht näher aufgeklärte Weise ein Geschlecht unterdrückt worden, und zwar diesmal das A-Geschlecht. Sogleich wurde nun der Versuch gemacht, die Sporidien von *U. Tragopogonis* (= A) mit denen von *U. anomala* (= B) zur Kopulation zu bringen, der auch ohne Schwierigkeiten gelang.

Es wurden nun von den Sporidien der netzsporigen Arten, die mir zur Verfügung standen (*U. violacea*, von der schon oben die Rede war, *U. Scabiosae*, *U. vinosa*, *U. utriculosa*, *U. Cardui*, *U.*



Fig. 11.
Ustilago utriculosa A + *U. anomala* B. Sporidien von *U. utriculosa* oval, von *U. anomala* eingeschnürt, mit Öeltropfen.

		U. Scabiosae		U. vinosa		U. utriculosa		U. Cardui		U. Tragopogonis	U. anomala
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
U. Scabiosae	A	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
	B	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—
U. vinosa	A	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
	B	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—
U. utriculosa	A	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
	B	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—
U. Cardui	A	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
	B	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—
U. Tragopogonis	A	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
U. anomala	B	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—

Tabelle II. Ergebnis der Kombinationen der Sporidien der netzsporigen Arten (außer *U. violacea*) untereinander.

Tragopogonis, *U. anomala*), sämtliche möglichen Kombinationen ausgeführt. Bei Kombinationen entgegengesetzter Geschlechter, gleichviel welcher Arten, traten unter geeigneten Bedingungen stets Kopulationen auf. In Tabelle II sind die Resultate mit Ausnahme der schon in Tabelle I wiedergegebenen zusammengestellt. Eine Reihe dieser Kopulationen sind als Umrißzeichnungen in den Figuren 5—13 wiedergegeben. Diese Figuren bedürfen wohl keiner näheren Erläuterung. Dort sind auch einige Verbindungen von 3 Sporidien dargestellt, die sich mehr oder weniger häufig in allen Fällen nachweisen ließen (Fig. 7a und d, 9d und h, 10c und f, 12b, 13d). Kopulationen von mehr als 3 Spo-

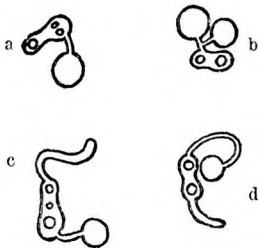


Fig. 12.

Ustilago Cardui A (Sporidien kugelig) + *U. anomala* B (Sporidien biskuitförmig mit viel Oel). Bei c und d wächst aus dem Sporidium von *U. anomala* ein kurzer Myzelschlauch.

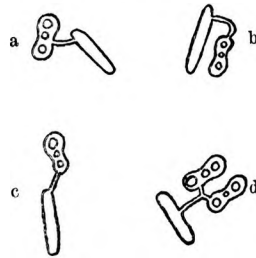


Fig. 13.

Ustilago Tragopogonis A (Sporidien lang) + *U. anomala* B (Sporidien biskuitförmig mit viel Oel). d: Verbindung eines Sporidiums von *U. Tragopogonis* mit zweien von *U. anomala*.

ridien wurden ebenfalls öfter in verschiedenen Kombinationen gefunden. Ich weise noch besonders hin auf die Verbindungen, an denen *U. Cardui*, *U. Tragopogonis* und *U. anomala* beteiligt sind. Alle 3 Formen sind ohne weiteres von ihrem Partner zu unterscheiden (s. Fig. 6—13).

Mycel auswüchse der kopulierten Sporidienarten sind nicht selten. Die Schläuche entspringen entweder aus einem Sporidium oder aus dem Kopulationskanal. Solche Auswüchse wurden auffallend häufig gefunden bei folgenden Kombinationen:

- U. violacea* A von *Dianthus superbus* + *U. Cardui* B,
- U. anomala* B + *U. Cardui* A (s. Fig. 12c und d),
- U. utriculosa* A + *U. Cardui* B,
- U. utriculosa* B + *U. Cardui* A (s. Fig. 7e).

In den beiden letzten Fällen gingen die Schläuche ganz vorwiegend von *U. Cardui* aus, ein Zeichen, daß die Neigung zur Schlauchbildung hier nicht an ein bestimmtes Geschlecht sondern an eine bestimmte Art gebunden ist.

Ich verzichte darauf, die zahlreichen Einzelheiten, die meine Protokolle über die Häufigkeit der Kopulationen usw. enthalten, hier wiederzugeben. Gerade die Häufigkeit der Kopulationen ist großen Schwankungen unterworfen, deren Ursachen sich vorläufig der exakten Kontrolle entziehen. Alter und Zustand der zur Kombination verwendeten Kulturen spielen dabei sicher eine hervorragende Rolle; nicht

minder die Feuchtigkeit des Substrats (Agar), auf das sie aufgestrichen werden, die Dicke des Aufstrichs (wovon u. a. die Sauerstoffzufuhr zu den einzelnen Sporidien abhängt) und manches andere. Oft findet man in 2 Parallelkulturen ganz verschiedene Häufigkeit der Kopulation. Es wird sehr sorgfältiger Arbeit bedürfen, bis diese subtilen Verhältnisse voll aufgeklärt sein werden.

II.

Der Umstand, daß sich die Sporidien dreier Arten (*U. Cardui*, *U. Tragopogonis* und *U. anomala*) sowohl untereinander wie von den anderen, meist ovalen bis elliptischen Formen morphologisch unterscheiden lassen, in Verbindung mit der häufig gemachten Beobachtung, daß mehr als 2 Sporidien untereinander kopulieren können, regte zu dem Versuch an, Bastarde zu erzeugen, die sich aus mehr als zwei Arten zusammensetzen. Das gelang auch in einer ganzen Anzahl von Fällen, die nachstehend an der Hand von einigen Figuren kurz beschrieben werden mögen. Die

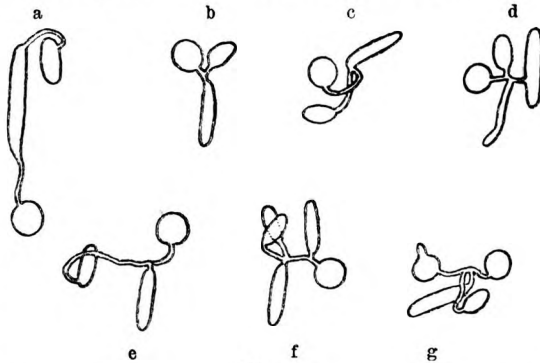


Fig. 14.

Dreifache Artkreuzungen von *U. Tragopogonis* A + *U. utriculosa* B + *U. Cardui* B. Längliche Sporidien von *U. Tragopogonis*, ovale von *U. utriculosa*, kugelige von *U. Cardui*. a–e: Verbindungen von je 3 Sporidien. f: Verbindung von 2 Sporidien von *U. Tragopogonis* + 2 von *U. utriculosa* + 1 von *U. Cardui*. g: Verbindung eines Sporidiums von *U. Tragopogonis* + 1 *U. utriculosa* + 2 *U. Cardui*. In d entspringt aus dem Kopulationskanal ein kurzer Myzelschlauch.

erste Kreuzung dreier Arten (der Kürze halber mögen diese Kreuzungen dreifache Artkreuzungen genannt werden), die ich erzielte, war eine Verbindung von *U. Tragopogonis* A + *U. utriculosa* B + *U. Cardui* B. Die drei Sporidiensorten wurden auf Malzextraktagar (demselben, auf dem die Reinkulturen gehalten wurden) zusammengeimpft. Die Sporidien von *U. Tragopogonis* waren gegenüber den beiden anderen in der Minderzahl. Nach 2 Tagen waren zahlreiche Kopulationen aufgetreten, vorwiegend solche von *U. Tragopogonis* mit *U. utriculosa*, darunter nicht selten Verbindungen eines *U. Tragopogonis*-Sporidiums mit zweien oder dreien von *U. utriculosa*, eines wurde mit vierten verbunden gesehen. Der dreifache Artbastard ist in Fig. 14a dargestellt. Wir sehen da ein *U. Tragopogonis*-Sporidium, das am einen (in der Zeichnung oberen) Ende mit einem *U. utriculosa*-Sporidium, am anderen Ende mit einem *U. Cardui*-Sporidium kopuliert hat. Wie sich später herausstellte, ist diese Kopulationsform nicht häufig. Meist findet man (wie das ja auch bei den zweifachen Artkreuzungen, bei denen mehr als 2 Sporidien verbunden sind, z. B. auf Figur 9d und 10f zu sehen ist), daß die anderen

Sporidien der *U. Tragopogonis*-Sporidie an einer Seite anhaften (s. Fig. 14b—g). Außer dem eben genannten dreifachen Artbastard wurden bisher fünf folgender Zusammensetzung erzielt:

U. Tragopogonis A + *U. utriculosa* B + *U. Cardui* A (Fig. 15).

U. Tragopogonis A + *U. utriculosa* B + *U. anomala* B (Fig. 16).

U. Tragopogonis A + *U. utriculosa* A + *U. anomala* B.

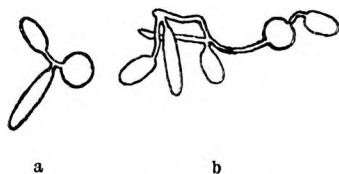


Fig. 15.

Dreifache Artkreuzungen von *U. Tragopogonis* A + *U. utriculosa* B + *U. Cardui* A. Längliche Sporidien von *U. Tragopogonis*, ovale von *U. utriculosa*, kugelige von *U. Cardui*. a: Verbindung von je einem Sporidium der 3 Arten. b: Verbindungen eines Sporidiums von *U. Tragopogonis* mit 3 von *U. utriculosa* und 1 von *U. Cardui*.

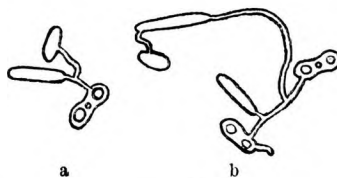


Fig. 16.

Dreifache Artkreuzungen von *U. Tragopogonis* A (Sporidien lang) + *U. utriculosa* B (Sporidien oval) + *U. anomala* B (Sporidien biskuitförmig, mit viel Oel). a: Verbindung von je einem Sporidium der 3 Arten. b: Verbindung von 2 Sporidien von *U. Tragopogonis* mit 1 *U. utriculosa* und 2 *U. anomala*.

U. Tragopogonis A + *U. anomala* B + *U. Cardui* B (Fig. 17).

U. Tragopogonis A + *U. vinosa* B + *U. Cardui* B (Fig. 18).

Die Kombinationen wurden entweder so gemacht, daß gleichzeitig alle 3 Sporidienarten auf den Agar aufgestrichen wurden oder es wurden

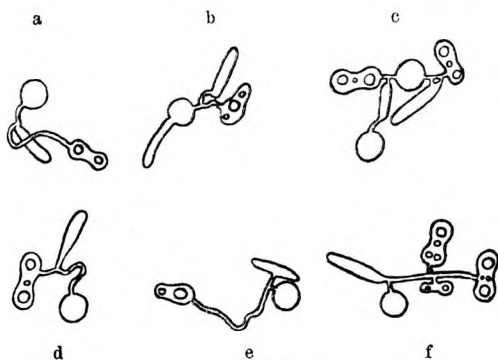


Fig. 17.

Dreifache Artkreuzungen von *U. Tragopogonis* A + *U. Cardui* B + *U. anomala* B. Sporidien von *U. Tragopogonis* länglich, von *U. anomala* biskuitförmig mit Oeltropfen, von *U. Cardui* kugelig. a—d: Verbindungen eines Sporidiums der 3 Arten. e: Verbindung von je 2 Sporidien der 3 Arten. f: Verbindung eines Sporidiums von *U. Tragopogonis* mit 3 von *U. anomala* und 1 von *U. Cardui*. Bei b kurzer Myzelschlauch aus dem Sporidium von *U. Cardui*.

zunächst nur 2 (verschiedengeschlechtliche) aufgetragen und nach einigen Stunden, nachdem die ersten Kopulationen dieser beiden aufgetreten waren, die dritte hinzugefügt. In beiden Fällen können gewisse Kopulationen zeitlich anderen vorausseilen und man sieht dann oft, daß ein aus dem kopulierten Paar der beiden zuerst kopulierten Sporidienarten hervorgehender Myzelschlauch an seinem Ende mit einem Sporidium der 3. Art in Verbindung getreten ist. Ein solcher Fall

ist auf Fig. 17e dargestellt. *U. Tragopogonis* und *U. Cardui* haben vermutlich zuerst kopuliert; *U. anomala* sitzt am Ende des Myzelschlauchs.

Daß diese dreifachen Artkreuzungen sich nicht auf die Kopulation dreier Sporidien beschränken müssen, daß vielmehr 4 und mehr verbunden sein können, war nach dem, was oben über zweifache Artbastarde erwähnt wurde, zu erwarten. Ich verweise auf die Fig. 14f und g, 15b, 16b, 17c und f, wo solche Fälle dargestellt sind. Es kommt dabei vor, daß eine Sporidienart der Zahl nach vorwiegt. (Fig. 15b und 17f). Gesehen wurden ferner z. B. ein *U. Tragopogonis* + ein *U. Cardui* + 5 *U. utriculosa*, ein *U. Tragopogonis* + 2 *U. Cardui* + 4 *U. utriculosa*, doch wurden auch Verbindungen von mehr als 3 Sporidien gefunden, in denen die 3 Komponenten in gleicher oder annähernd gleicher Zahl beteiligt waren (s. Fig. 17c: 2 *U. Tragopogonis* + 2 *U. Cardui* + 2 *U. anomala*). Allein in den Außenbedingungen dürfte das kaum liegen. Die verhältnismäßig großen *U. Tragopogonis*-Sporidien scheinen an und für sich Neigung zu haben, mit mehreren anderen zu kopulieren, während das Umgekehrte (also z. B. eine Verbindung von mehreren *U. Tragopogonis*-Sporidien mit einer *U. Cardui*-Sporidie) selten ist (Fig. 10c).

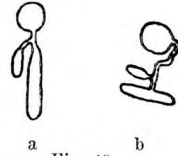


Fig. 18.
Dreifache Artkreuzungen von *U. Tragopogonis* A (Sporidien länglich) + *U. vinosa* B (Sporidien kurz, elliptisch) + *U. Cardui* B (Sporidien kugelig).

Nachdem dreifache Artkreuzungen erreicht waren, habe ich natürlich versucht, noch einen Schritt weiter zu kommen und Sporidien von 4 verschiedenen Arten in einem Kopulationsprodukt zu vereinigen. Ich habe bisher eine ganze Reihe solcher Gebilde erhalten, und zwar von folgender Zusammensetzung:

U. Tragopogonis A + *U. utriculosa* B + *U. anomala* B + *U. Cardui* B (Fig. 19a, b).

U. Tragopogonis A + *U. utriculosa* A + *U. anomala* B + *U. Cardui* B (Fig. 19c, d).

U. Tragopogonis A + *U. vinosa* B + *U. anomala* B + *U. Cardui* B.

In der Auswahl der zu kombinierenden Sporidien war hier naturgemäß dadurch eine Beschränkung gegeben, daß, wie oben erwähnt, die von *U. utriculosa*, *U. violacea* und *U. vinosa* dem morphologischen Bilde nach nicht sicher zu unterscheiden sind. *U. violacea*-Sporidien haben manchmal Ein-

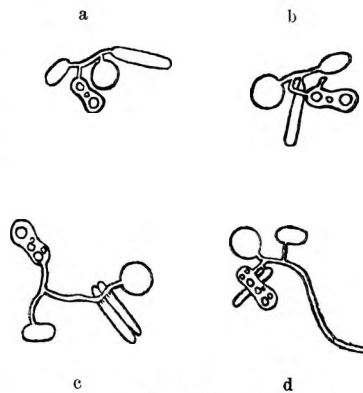


Fig. 19.

Vierfache Artkreuzungen von *U. Tragopogonis* (Sporidien lang) + *U. utriculosa* (Sporidien oval) + *U. anomala* (Sporidien biskuitförmig, mit viel Oel) + *U. Cardui* (Sporidien kugelig). a und b: Verbindung von je einem Sporidium von *U. Tragopogonis* A, *U. utriculosa* B, *U. anomala* B, *U. Cardui* B. c: Verbindung von 2 Sporidien von *U. Tragopogonis* A mit je einem Sporidium von *U. utriculosa* A, *U. anomala* B, *U. Cardui* B. d: Verbindung von je einem Sporidium von *U. Tragopogonis* A, *U. utriculosa* A, *U. anomala* B, *U. Cardui* B.

schnürungen, die an diejenigen von *U. anomala* erinnern, es wurde deshalb bei diesen Versuchen von ihnen abgesehen. Gut unterscheidbar sind Sporidien von *U. Tragopogonis*, *U. anomala*, *U. utriculosa* und *U. Cardui*. Allerdings ist, wenn man rein auf die Form der Sporidien achtet, eine ganz sichere Unterscheidung von *U. anomala* und *U. utriculosa* oder *U. vinosa* nicht in jedem Einzelfall mit absoluter Sicherheit möglich, da auch von *U. anomala* kleine ovale Formen mit nur geringer Einschnürung oder ohne solche vorkommen, die im Bereich der Variationsbreite der anderen beiden, durchschnittlich kleineren Sporidien liegen. Der starke Ölreichtum der *U. anomala*-Sporidien kommt hier aber zu Hilfe, so daß tatsächlich nur selten über die Zugehörigkeit Zweifel bestanden.

Verbindungen, die nur aus 4 Sporidien bestanden, von denen jede einer anderen Art angehörte, habe ich nicht sehr häufig angetroffen (s. Fig. 19a, b, d). Nicht selten traten Vereinigungen von weit mehr als 4 Sporidien auf, deren Zusammenhänge durch Verschiebung des Deckglases und dadurch hervorgerufene Bewegung des ganzen Systems zwar meist sicher festzustellen waren, doch konnte der Verlauf der Kopulationsschläuche nicht immer genau verfolgt werden. Dieselben waren oft auffallend stark gekrümmt und miteinander verschlungen. Auf eine zeichnerische Darstellung dieser Gebilde habe ich verzichtet.

III.

Wir kommen nun zur Besprechung der Kreuzungsversuche mit glattsporigen *Ustilago*-arten oder solchen, deren Sporenoberfläche rau, jedenfalls nicht netzförmig gefeldert ist. Es handelt sich um *U. longissima* und ihre Varietät *macrospora*, *U. grandis*, *U. bromivora*, *U. Hordei*, *U. perennans* und schließlich *U. nuda* und *U. Tritici*. Wie Bauch (1923) gezeigt hat, gibt es von *U. longissima* drei Geschlechtsformen (A, B, C), die in der Weise miteinander reagieren, daß A mit B und C, B mit A und C und C mit A und B kopulieren. Bauch hat auch *U. longissima* mit den beiden Sporidiensorten (A und B) der var. *macrospora* geprüft und festgestellt (was ich bestätigen kann), daß diese beiden genau so reagieren wie die entsprechenden Geschlechter von *U. longissima*. Die Sporidien der *U. longissima* und der var. *macrospora* sind langgestreckt-zylindrisch, ebenso die von *U. grandis*. Diejenigen von *U. bromivora* dagegen sind mehr oder weniger oval elliptisch, oft an einem oder beiden Enden etwas zugespitzt oder vorgezogen, was zum Teil auf beginnendem Austreiben von Kopulations- oder Keimschläuchen beruht; sie bekommen dadurch oft ein zitronenförmiges Aussehen, im allgemeinen ist aber ihre Größe und Form sehr schwankend. Über den Verlauf der Brandsporenkeimung vergleiche man die Arbeiten von Brefeld (1883) und Bauch (1923 und 1925). Die *U. Hordei*-Sporidien sind denen an *U. bromivora* ähnlich, die von *U. perennans* sind kleiner.

Ich prüfte zunächst das Verhalten der *U. grandis*, *U. longissima*

und ihrer Varietät *macrospora* gegeneinander. Die mir als A- und B-Geschlecht von *U. grandis* zugesandten Sporidienkulturen reagierte mit der normalen *U. longissima* und *U. longissima* var. *macrospora* in der Weise, daß *U. grandis* A mit *U. longissima* A und entsprechend natürlich auch mit *macrospora* A kopulierte, B mit B, nicht aber *U. grandis* A mit *longissima* B oder *macrospora* B und *U. grandis* B mit *U. longissima* A und *macrospora* A (s. Fig.

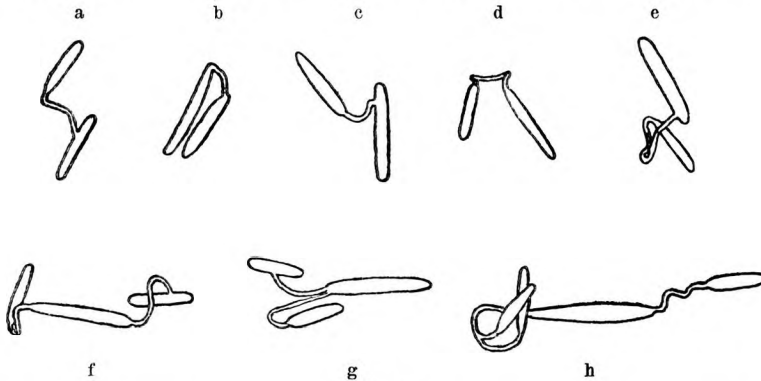


Fig. 20.

U. longissima + *U. grandis*. a, b, c: *U. longissima* A + *U. grandis* B. d—h: *U. longissima* C + *U. grandis* B.

20a, b, c). Daraus geht hervor, daß die Bezeichnungen abgeändert werden müssen. Das als A ausgegebene Geschlecht der *U. grandis* entspricht dem B-Geschlecht von *U. longissima* und umgekehrt. Lassen wir, was allerdings willkürlich ist, die ursprünglichen Bezeichnungen von *U. longissima* bestehen, so ist *U. grandis* A in B, *U. grandis* B in A umzutauften. Im folgenden sollen diese neuen Bezeichnungen verwendet werden. Als Medium für die Kopulationen verwandte ich hier ebenfalls nährstofffreien Agar, dessen $\text{ph} = 7,2$ war. Natürlich wurden auch die beiden *U. grandis*-Stämme gegen *U. longissima* C geprüft. Positive Reaktionen traten nicht in allen Fällen auf, doch habe ich unter optimalen Bedingungen (außer auf die Feuchtigkeit des Agars kommt es hier sehr darauf an, daß man frisch angewachsene, also erst vor wenigen Tagen übergeimpfte Kulturen verwendet) in beiden Fällen viele Kopulationen gesehen (s. Fig. 20). Sie waren freilich nie so reichlich wie in den entsprechenden arteigenen Kombinationen.

Wenn man also aus diesen Kreuzungsergebnissen schließen will, daß die Geschlechtsdifferenzierung hinsichtlich A und B bei *U. longissima* und *U. grandis* auf im wesentlichen gleichen Vorgängen beruht, so gibt doch das quantitativ verschiedene Verhalten arteigener und artfremder Kreuzungen — namentlich in den Kombinationen, wo der Partner *U. longissima* C ist (die geringere Neigung zum Kopulieren trat hier so regelmäßig auf, daß man das Ergebnis kaum auf zufällige Verschie-

bungen der Außenbedingungen zurückführen kann) — Veranlassung zu der Annahme, daß die Geschlechter nicht in ganz gleicher Weise aufeinander abgestimmt sind, oder daß sekundäre (plasmatische?) Einflüsse hemmend eingreifen. In allen Kombinationskulturen von *U. grandis* + *U. longissima*, in denen Kopulationen auftraten, waren viele Sporidien mit Kopulationsschläuchen zu finden, die ihr Ziel nicht erreicht hatten. Durch ihre eigentümlich gewundene Form lassen sich diese Kopulationsschläuche leicht von vegetativen Myzelschläuchen unterscheiden, zu denen öfter auch haploide Sporidien auswachsen,

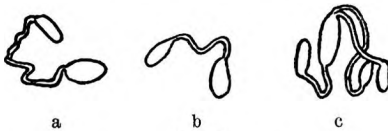


Fig. 21.

U. bromivora B + *U. perennans* A. Die größeren Sporidien stammen von *U. bromivora*. c: Verbindung eines *bromivora*-Sporidiums mit 3 *perennans*-Sporidien.

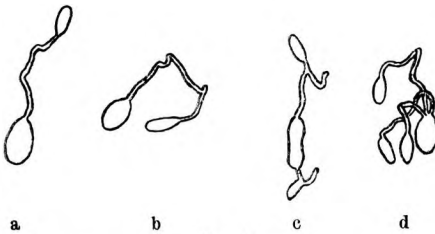


Fig. 22.

U. Hordei B + *U. perennans* A. Die größeren Sporidien stammen von *U. Hordei*. c: 1 *Hordei*-Sporidium + 2 *perennans*-Sporidien. d: 1 *Hordei*-Sporidium + 3 *perennans*-Sporidien.

ohne daß der andersgeschlechtliche Partner vorhanden ist. In Kombinationen gleicher Geschlechter wurden diese Kopulationsschläuche niemals gefunden. Die Anregung zu ihrer Bildung geht also vom Vorhandensein der andersgeschlechtlichen Sporidien aus, die irgendwie — vermutlich durch Ausscheidung von gewissen Stoffen — auf ihren Partner einwirken (s. a. Bauch 1925).

Während die Kopulationen (arteigene sowohl wie artfremde) gewöhnlich nur in der Verbindung von zwei Sporidien bestanden, fanden sich in einem Röhrchen der Kombination *U. grandis* B + *U. longissima* C auffallend viele Verbindungen

von 3, eine auch von 4 Sporidien. In Fig. 20f, g, h sind solche dargestellt. Worauf es beruht, daß diese Häufung gerade in dieser Kultur, in der übrigens die Kopulationen als solche nicht häufig waren, auftrat, muß ich dahingestellt sein lassen.

Die beiden mir zur Verfügung stehenden Stämme von *U. bromivora* (A und B¹) reagierten auch sehr lebhaft aufeinander auf dem schwach alkalischen nährstofffreien Agar (ph = 7,2), ebenso diejenigen von *U. Hordei* und *U. perennans*. Alle 3 ergaben ferner Kopulationen, wenn das A-Geschlecht der einen Art mit dem B-Geschlecht einer der beiden anderen zusammengebracht wurde und umgekehrt. Artkreuzungen sind also innerhalb dieser Gruppe leicht möglich, und zwar findet man meistens sehr reiche Kopulationen. In der Kombination *U. perennans*

¹) Die Bezeichnungen A und B sind die von Bauch (1925). Die von mir isolierten Sporidien von *U. Hordei* und *U. perennans* sind auf Grund ihrer Bastardreaktionen mit *U. bromivora* als A und B bezeichnet worden, sodaß die Geschlechtsbezeichnungen dieser 3 Arten einander entsprechen.

nans A + U. bromivora B habe ich eine ganze Reihe Verbindungen mehrerer U. perennans-Sporidien mit einem U. bromivora-Sporidium gefunden (s. Fig. 21c). Ebenso verhielt sich U. perennans A + U. Hordei B (Fig. 22).

Natürlich wurde auch versucht, diese 3 Arten mit U. longissima zu kreuzen. Die sehr abweichende Sporidienform konnte von diesem Vorhaben nicht abschrecken, nachdem sich bei den netzsporigen Arten gezeigt hatte, daß Verbindungen von Arten mit ovalen Sporidien (U. violacea, U. utriculosa, U. vinosa) mit solchen, die langgestreckt-zylindrische haben (U. Tragopogonis) leicht erreichbar sind. Die Sporidienform scheint eben für die Beurteilung der Verwandtschaft nicht sehr ins Gewicht zu fallen, viel weniger wenigstens als die Beschaffenheit der Brandsporenmembran. Was letztere anlangt, so sind die Brandsporen von U. longissima und U. longissima var. macrospora, von U. grandis und von U. Hordei typisch glatt, die von U. bromivora, U. perennans, U. nuda und U. Tritici (auf die beiden letzteren soll erst später eingegangen werden) leicht warzig-uneben. Auf die Größenunterschiede der Brandsporen der einzelnen Arten, denen systematischer Wert auch höchstens für die Artunterscheidung zukommt, sei nur nebenbei hingewiesen: Durchmesser bei U. longissima 4—5 μ , U. longissima var. macrospora: 6—11 μ , U. grandis: 7—11 μ , U. Hordei: 6—7 μ , U. bromivora: 7—11 μ , U. perennans: 5—8 μ , U. nuda: 5—8 μ und U. Tritici: 5—9 μ .

Besonders eingehend habe ich das Verhalten von U. bromivora gegenüber U. longissima in häufig wiederholten Versuchen untersucht. Bringt man auf den üblichen nährstofffreien Agar (ph = 7,2) Sporidien von U. longissima A mit Sporidien von U. bromivora A zusammen, so findet man meist schon nach einem Tage ziemlich viele Kopulationen vom Typus der Figur 23 abgebildeten. Daneben sieht man bei U. bromivora, nicht aber oder nur sehr selten bei U. longissima viele Sporidien mit den charakteristischen gewundenen, oft knorrig verzweigten Kopulationsschläuchen, die frei enden, ohne mit dem U. longissima-Partner verbunden zu sein. In allen Versuchen, die ich machte, waren bei Kombinationen von U. bromivora A mit U. longissima A die zahlreichsten Kopulationen zu finden. Da wir oben von den Geschlechtsbezeichnungen der U. longissima, wie sie Bauch gegeben hat, ausgegangen sind und danach die von U. grandis festgelegt haben, läge es nahe, das Geschlecht von U. bromivora, das mit U. longissima A am lebhaftesten reagiert, als das B-Geschlecht zu bezeichnen. Ich habe jedoch davon aus einem gleich zu erwähnenden Grunde abgesehen. Das sonstige Verhalten der U. bromivora gegenüber U. longissima ist nämlich ein ganz anderes als das von U. grandis. U. bromivora A gab auch mit U. longissima B Kopulationen, wenn auch viel spärlicher als mit A (Fig. 23c); außerdem waren in dieser Kombination lange nicht so viele blinde (nicht zur Kopulation gelangte) Kopulationsschläuche vorhanden. Die Anregung

zur Bildung dieser Schläuche der *U. bromivora* A ist also bei den B-Sporidien der *U. longissima* eine geringere als bei den B-Sporidien. In der Kombination *U. bromivora* A + *U. longissima* C habe ich nie Kopulationen gesehen. Sie fehlten auch in *U. bromivora* B + *U. longissima* B, waren dagegen vorhanden in *U. bromivora* B + *U. longissima* A und *U. bromivora* B + *U. longissima* C (Fig. 23b

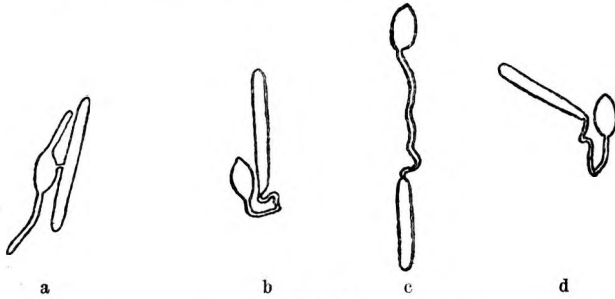


Fig. 23.

Ustilago bromivora (Sporidien oval bis zitronenförmig) + *U. longissima* (Sporidien lang). a: *U. bromivora* A + *U. longissima* A. b: *U. bromivora* B + *U. longissima* A. c: *U. bromivora* A + *U. longissima* B. d: *U. bromivora* B + *U. longissima* C.

und d). In keinem dieser Fälle waren die Kopulationen so häufig wie in *U. bromivora* A + *U. longissima* A; manchmal bedurfte es sogar längeren Suchens, um sie zu finden.

Auch die Bildung blinder Kopulationsschläuche trat überall in

den letzteren Kombinationen sehr zurück. Mit *U. bromivora* und *U. longissima* var. *macrospora* (von der nur das A- und B-Geschlecht bekannt ist) erhielt ich entsprechende Ergebnisse (Fig. 24).

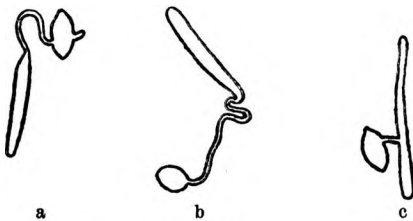


Fig. 24.

Ustilago bromivora (Sporidien oval bis zitronenförmig) + *U. longissima* var. *macrospora* (Sporidien lang). a: *U. bromivora* A + *U. longissima* var. *macrospora* A. b: *U. bromivora* B + *U. longissima* var. *macrospora* A. c: *U. bromivora* A + *U. longissima* var. *macrospora* B.

Ebenso wie *U. bromivora* verhielten sich im wesentlichen *U. Hordei* und *U. perennans* gegenüber *U. longissima* und ihrer Varietät *macrospora* mit der einen Ausnahme, daß die Verbindung *U. perennans* B + *U. l. var. macrospora* A bisher nicht erreicht worden ist. Da aber in den analogen Kombinationen der anderen Arten mit *U. l. var. macrospora* A auch unter günstigen Bedingungen nur vereinzelte Kopulationen auftraten, wäh-

rend sie unter ungünstigen Bedingungen gelegentlich ebenfalls ausblieben, ist dem negativen Ergebnis keine große Bedeutung beizumessen. In Tab. III sind die Ergebnisse zusammengestellt, Fig. 25, 26, 27, deren Erklärungen wohl keines weiteren Kommentars bedürfen, veranschaulichen einige Kopulationsbilder.

Versuchen wir, dieses auf den ersten Blick sehr auffallende Resultat zu deuten, so gewinnen wir einen Fingerzeig, wenn wir zunächst einmal die Reaktionen mit *U. longissima* A außer acht lassen

und die Tab. III betrachten. *U. bromivora* A (und ebenso die A-Stämme von *U. Hordei* und *U. perennans*) reagiert mit *U. longissima* B, dagegen nicht mit C; die B-Stämme der erstgenannten drei Arten verhalten sich umgekehrt. Würde von *U. longissima* nur das B- und C-Geschlecht existieren, so wäre alles glatt. Wir würden dann dem B-Geschlecht der *U. longissima* die Bezeichnung B belassen, das C-Geschlecht als A bezeichnen, weil es mit den B-Formen von *U. bromivora*, *U. Hordei* und *U. perennans* kopuliert. Ich halte es in der Tat für wahrscheinlich, daß *U. longissima* B bezüglich des Geschlechtes mit A von *U. bromivora* im Prinzip überstimmt und deshalb sollte es auch A genannt werden. Das Geschlecht der *U. longissima* und *U. longissima* var. *macrospora*, das Bauch (1923), der sich auf die Ergebnisse von Kreuzungsversuchen noch nicht stützen konnte, willkürlich als A bezeichnet hat, kann diese Bezeichnung nicht beibehalten, denn es reagiert nicht nur mit B von *U. bromivora*, *U. Hordei* und *U. perennans*, sondern auch mit A. In allen bisherigen Untersuchungen dessexuellen Verhaltens getrenntgeschlechtlicher Sporidien der Ustilagineen hat sich aber der Satz bestätigt, daß Gleiches mit Gleichem nicht kopuliert. Das A-Geschlecht der *U. longissima* (nach Bauchs Bezeichnung), muß also verschieden sein sowohl von A wie von B der *U. bromivora*, *U. Hordei*

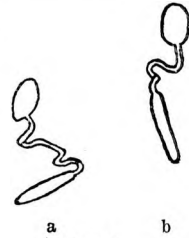


Fig. 25.

Ustilago longissima (Sporidien langgestreckt) + *U. Hordei* (Sporidien oval). a: *U. longissima* A + *U. Hordei* A. b: *U. longissima* A + *U. Hordei* B.

		U. longissima			U. l. var. macrospora	
		A	B	C	A	B
U. bromivora	A	+	+	—	+	+
	B	+	—	+	+	—
U. Hordei	A	+	+	—	+	+
	B	+	—	+	+	—
U. perennans	A	+	+	—	+	+
	B	+	—	+	—	—
		C	B	A	C	B

Tabelle III. Ergebnis der Kombinationen von *U. bromivora*, *Hordei* und *perennans* mit *U. longissima* und *longissima* var. *macrospora*.

und *U. perennans*. Wir sollten deshalb, wenn wir von *U. bromivora* ausgehen, für das A-Geschlecht der *U. longissima* und *macrospora* und füglich auch das A-Geschlecht der *U. grandis* eine andere Bezeichnung wählen. Am nächsten läge es, es in C umzutauften. Dann wäre eine einheitliche Nomenklatur für alle die bisher untersuchten Formen geschaffen, deren Brandsporenexine keine Netzstruktur hat. Ich habe,

um das zu veranschaulichen, die neuen Bezeichnungen in der unteren Horizontalreihe der Tab. III eingesetzt.

Wie aus Bauchs Arbeit (1923) hervorgeht, ist nun bei *U. longissima* das von ihm als C bezeichnete Geschlecht ziemlich selten, meist trifft man die beiden anderen Geschlechter an; bei der var. *macrospora* und

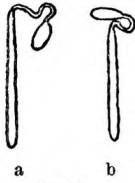


Fig. 26.
Ustilago longissima A (Sporidien langgestreckt) +
U. perennans A (Sporidien oval).

bei *U. grandis* ist es bisher überhaupt nicht aufgefunden worden. Beide Arten sind sicher nahe miteinander verwandt; sie gehen vielleicht auf eine Ausgangsform zurück. Diese Ausgangsform hat vermutlich nur die beiden Geschlechter B und C (im Sinne Bauchs) besessen, A (unser C) ist möglicherweise durch Mutation neu entstanden und C (unser A) im Laufe der phylogenetischen Entwicklung nach und nach verdrängt worden. Da es nur noch bei *U. longissima* vorkommt, würden wir von diesem Standpunkt aus diese Art als eine primitive anzusehen haben.

Es wurde auch versucht, mit den glatt- und punktiertsporigen Arten dreifache Artbastarde herzustellen. Die morphologische Ver-

schiedenheit der Sporidien kommt hier ebenfalls zu Hilfe. Diejenigen von *U. longissima* und *U. grandis* sind ohne weiteres von denen der anderen Arten zu unterscheiden. Die von *U. perennans* sind kleiner als die von *U. Hordei* und *U. bromivora* (die untereinander nicht sicher unterscheidbar sind) und haben eine mehr länglich elliptische Gestalt. Namentlich bei Überernährung auf Malzextraktagar können die *U. Hordei*-Sporidien sehr erhebliche Dimensionen annehmen, die von *U. perennans* nie erreicht werden. Da sowohl *U. Hordei* A wie *U. perennans* A mit *U. longissima* A (im Sinne Bauchs) sehr lebhaft kopulieren, wurden diese 3 Formen zusammengebracht. In einer

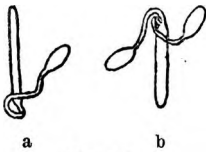


Fig. 27.
Ustilago longissima var. *macrospora* B (Sporidien langgestreckt) + *U. perennans* A (Sporidien oval). b: Verbindung zweier *perennans*-Sporidien mit einem Sporidium von *U. longissima* var. *macrospora*.

ganzen Anzahl von Fällen sah ich Bilder, die gar nicht anders gedeutet werden können als dreifache Bastarde dieser 3 Arten (s. Fig. 28 und die dazugehörige Erläuterung); auch das A-Geschlecht von *U. bromivora* ließ sich mit *U. longissima* A und *U. perennans* A zu einem Kopulationsprodukt vereinigen (s. Fig. 29).

IV.

Die Versuche, Sporidien der netzsporigen Arten mit denen der glatt- oder punktiertsporigen zur Kopulation zu bringen, sind bisher alle fehlgeschlagen. Möglich, daß sich Bedingungen ausfindig machen lassen werden, unter denen auch das gelingt. Bisher sind aber alle meine Versuche erfolglos gewesen. Ich will hier wenigstens zusammenstellen, welche Arten zu kreuzen ich versucht habe. Stets sind die verfü-

baren Geschlechter in allen möglichen Kombinationen zusammengebracht worden, zu jeder Kombination ist also auch die reziproke gemacht worden.

U. bromivora + *U. violacea* von *Saponaria ocymoides*, *U. utriculosa*, *U. anomala*, *U. Cardui*, *U. Tragopogonis*.



Fig. 28.

Dreifache Artkreuzung von *U. longissima* A (langgestrecktes Sporidium) + *U. Hordei* A (die beiden Sporidien oben) + *U. perennans* A (das untere, kleine und schmale Sporidium).



Fig. 29.

Dreifache Artkreuzung von *U. longissima* A + *U. bromivora* A + *U. perennans* A. Mit dem langgestreckten Sporidium von *U. longissima* sind 5 Sporidien durch Kopulationsschläuche verbunden. Die beiden kleinen und schmalen links oben sind *U. perennans* A, die 3 anderen *U. bromivora* A.

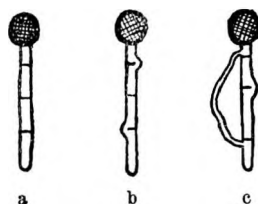


Fig. 30.

Brandsporenkeimung von *U. Hordei*. a: junges Stadium, vier unkopulierte Promyzellen. b: die 2 basalen und die 2 apikalen Promyzellen durch hufeisenförmige Kopulationsbrücken verbunden. c: Kopulation der basalen mit der apikalen Zelle und der beiden mittleren Zellen.

U. Hordei + *U. Tragopogonis*.

U. longissima + *U. violacea* von *Saponaria ocymoides*, *U. utriculosa*, *U. anomala*, *U. Tragopogonis*.

U. longissima var. *macrospora* + *U. violacea* von *Saponaria ocymoides*, *U. anomala*, *U. Tragopogonis*.

U. grandis + *U. violacea* von *Saponaria ocymoides*, *U. Scabiosae*, *U. Cardui*.

V.

Einer besonderen Besprechung bedürfen noch einige Versuche mit *U. Hordei*, *U. nuda* und *U. Tritici*. Bringt man *U. Hordei* in destilliertem Wasser zur Keimung, so treten zunächst keine Sporidien auf. Die 4 Promyzelzellen kopulieren meist bald paarweise untereinander, entweder so, daß die beiden basalen und die beiden apikalen über der trennenden Querwand durch eine hufeisenförmige Kopulationsbrücke verbunden werden (Fig. 30b) oder so, daß die beiden mittleren Zellen in dieser Weise kopulieren und ein längerer Kopulationsschlauch die basale mit der apikalen Zelle vereinigt (Fig. 30c). Diese Kopulationsbrücke wird nicht immer angelegt; dann bleiben die beiden letzteren Zellen unkopuliert. Ist die Aussaat der Sporen nun eine sehr dichte, so kann man häufig auch sehen, wie Promyzelzellen verschiedener Myzelien (z. B. zwei apikale) durch Kopulationsbrücken verbunden sind. Da wir aus dem Verhalten der Sporidien der *U. Hordei* auf genotypische Geschlechtertrennung schließen müssen, die durch

die Reduktionsteilung erfolgt, da andererseits die 4 haploiden Kerne, die bei der Reduktionsteilung entstehen, sich auf die 4 Promyzelzellen verteilen, so kann kein Zweifel darüber bestehen, daß 2 der Promyzelzellen dem A-Geschlecht, die beiden anderen dem B-Geschlecht angehören. Aus den verschiedenen Kopulationsweisen der Promyzelzellen folgt, daß es mehr oder weniger dem Zufall überlassen ist, wie die 4 Kerne sich auf die Promyzelzellen verteilen. Statistische Untersuchungen darüber, ob die Kopulation der Promyzelzellen nach dem auf Fig. 30b oder dem auf Fig. 30c dargestellten Schema häufiger erfolgt, habe ich nicht angestellt. Es ist gut möglich, daß je nach den Außenbedingungen die eine oder die andere Kernverteilung begünstigt wird.

Aus dem mikroskopischen Bild als solchem lassen sich zwar gewisse Schlüsse über die Verteilung der Geschlechter im Promyzel ziehen, doch lassen sich die Geschlechter der einzelnen Zellen nicht sicher identifizieren. In dem in Fig. 30b dargestellten Fall können z. B. die Zellen (von der Basis zur Spitze gerechnet) folgendermaßen geschlechtsbestimmt sein: A—B—A—B, ebenso möglich ist aber die Verteilung B—A—B—A, nicht jedoch z. B. A—A—B—B. Letztere Verteilung kann dagegen (muß aber nicht) für den Fall Fig. 30c zutreffen. Wir können also nach dem mikroskopischen Befund zwar gewisse Möglichkeiten ausschließen, aber kein eindeutiges Resultat erzielen. Letzteres ist nun auf experimentellem Wege in folgender Weise möglich: es werden Brandsporen von *U. Hordei* auf nährstofffreien, schwach alkalischen Agar aufgestrichen, dazu gleichzeitig Sporidien des einen (z. B. A-)Geschlechts der gleichen Art. Die Sporen keimen in der Fig. 30 abgebildeten Weise, ohne daß zunächst Sporidien gebildet werden. Viele von ihnen zeigen die in Fig. 30b und c dargestellten Kopulationen der Promyzelzellen. Ein Teil der Promyzelzellen kopuliert aber mit den im Präparat vorhandenen Sporidien. Wir erhalten da Bilder, wie sie in Fig. 31 dargestellt sind. Für die Promyzelzellen nun, die in dieser Weise kopuliert haben (natürlich wurde durch Kontrolle festgestellt, daß zu dieser Zeit aus den Promyzelien selbst noch keine Sporidien hervorgegangen waren), steht das Geschlecht (wenn nicht besondere Komplikationen vorliegen) eindeutig fest: ist eine Zelle mit einer A-Sporidie verbunden, so ist sie B-geschlechtlich und umgekehrt. Wir sehen aus Fig. 31a—m, daß jede der 4 Promyzelzellen eine A-Zelle oder eine B-Zelle sein kann und daß die 8 theoretisch möglichen Fälle (Kopulation der basalen und der drei folgenden Promyzelzellen mit einer A- oder mit einer B-Sporidie) alle vorkommen. Eine bestimmte Gleichförmigkeit in bezug auf die Verteilung der A- und B-Kerne auf die Promyzelzellen besteht also offenbar nicht. Bemerkenswert ist noch folgender Umstand: In den Kulturen, in denen Promyzelzellen mit Sporidien nur eines Geschlechts zusammengebracht waren, wurden nie mehr als zwei von den 4 Promyzelzellen in Kopulation mit Sporidien angetroffen. Auf Fig. 31b und h sind Kopulationen von 2 Sporidien mit 2 Zellen eines Promyzels dargestellt.

Die 2 anderen Promyzelzellen müssen dann ebenfalls im Geschlecht übereinstimmen und dürfen nicht miteinander kopulieren, was auch nie beobachtet wurde. Das Resultat entspricht also ganz den Erwartungen und darf als ein experimenteller Beweis dafür angesehen werden, daß tatsächlich zwei der Promyzelzellen dem einen, die zwei anderen dem anderen Geschlecht angehören.

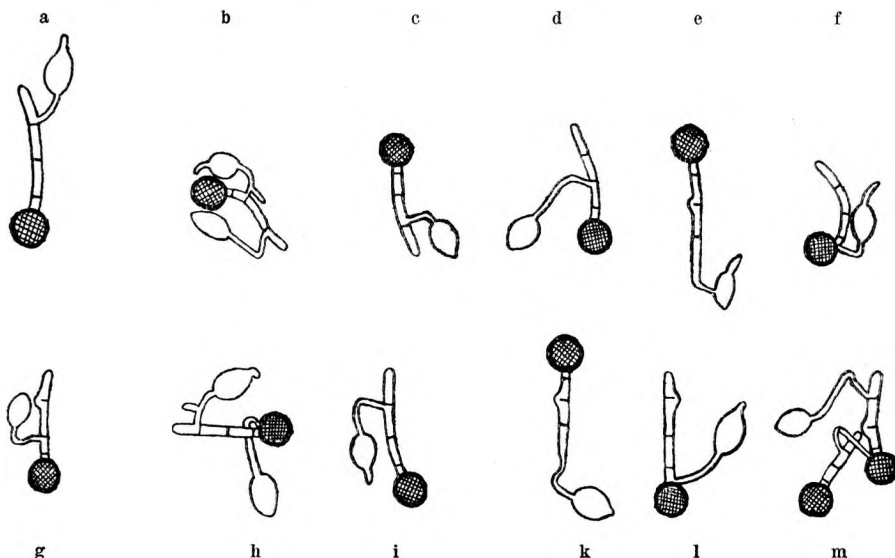


Fig. 31.

U. Hordei. Kopulation der Sporidien von U. Hordei A (Fig. a—f) und B (Fig. g—m) mit Promyzelzellen. In Fig. b und h sind je 2 Sporidien mit je 2 Promyzelzellen kopuliert, in Fig. m ist ein Promyzel mit einem Sporidium von Hordei B und mit dem Promyzel eines anderen Keimlings verbunden.

Bringt man nun A und B-Sporidien zu keimenden Brandsporen, so ist zu erwarten, daß auch Kopulationen von 3 oder von allen 4 Promyzelien mit Sporidien eintreten. Tatsächlich wurde das auch beobachtet.

Diese Ergebnisse regten nun dazu an, über das Geschlecht der Promyzelien auch solcher Formen Aufschluß zu gewinnen, die keine Sporidien bilden. Bekanntlich ist *U. nuda* eine solche Art. Da arteigene Sporidien hier also ausscheiden, so muß man zum Bastardierungsversuch greifen. Kreuzungen von *U. nuda* mit *U. Hordei* und *U. bromivora* ließen sich leicht erreichen. Mit *U. perennans* habe ich bisher keine Erfolge gehabt, womit aber nicht gesagt werden soll, daß diese Bastarde unmöglich seien. In Kombinationen mit *U. longissima* habe ich bisher ein einziges Mal eine Verbindung einer C-Sporidie mit einer Promyzelzelle von *U. nuda* gesehen (Fig. 34)¹⁾. Die Keimung

¹⁾ Diese Versuche müssen so angestellt werden, daß man die Sporidien der *U. longissima* erst zu *U. nuda* bringt, nachdem die Brandsporen der ersteren

von *U. nuda* beginnt in ganz ähnlicher Weise wie die von *U. Hordei*, von der sie sich neben dem Mangel der Sporidien durch die Beschaffenheit der Brandsporen (Oberfläche warzig, die von *Hordei* sind glatt oder fast glatt) und des Infektionsmodus (Blüteninfektion im Gegensatz zur Keimlingsinfektion der *U. Hordei*) unterscheidet¹⁾. Es entstehen also vier Promyzelzellen. Die bekannten Hufeisenkopulationen wurden

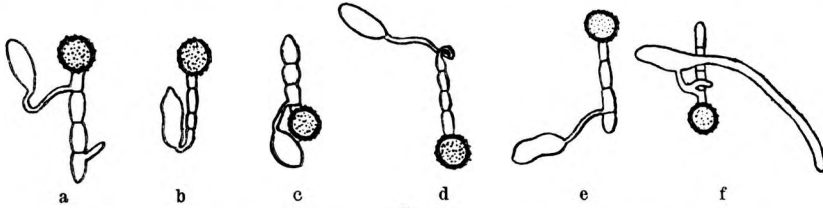


Fig. 32.

a—d Kopulation von A-Sporidien, e und f von B-Sporidien von *U. Hordei* mit Promyzelzellen von *U. nuda*.

ebenfalls beobachtet, doch treten sie nicht so regelmäßig und häufig auf wie bei der unter gleichen Bedingungen zur Keimung gebrachten *U. Hordei*. Häufig sieht man Promyzelzellen zu Fäden auswachsen, ohne daß eine Kopulation vorhergegangen ist. Es wurden nun auf den nährstofffreien Agar (ph = 7,2) Brandsporen von *U. nuda* aufgestrichen, gleichzeitig oder nach etwa 15 Stunden (nachdem die Keimung

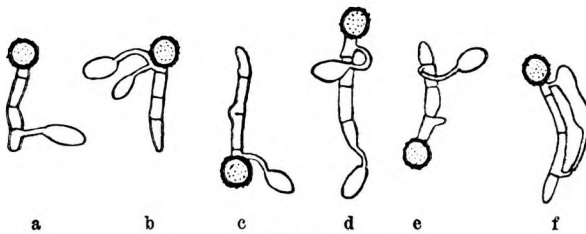


Fig. 33.

Kopulation von B-Sporidien von *U. bromivora* mit Promyzelzellen von *U. nuda*.

eben begonnen hatte) Sporidien von *U. Hordei* A oder B oder *U. bromivora* A oder B hinzugefügt. In allen Fällen wurden Kopulationen zwischen den Sporidien und einzelnen Promyzelzellen der *U. nuda* gefunden. Einzelne dieser Befunde sind in Fig. 32 und 33 abgebildet. Bezeichnend ist auch hier, daß meistens nur eine, selten zwei (Fig. 33d) nie aber mehr Promyzelzellen mit Sporidien eines Geschlechtes der *U. Hordei* oder *U. bromivora* kopuliert hatten. Einmal sah ich

eben begonnen haben zu keimen. Wird beides gleichzeitig aufgestrichen, so keimen die Brandsporen in der dichten, etwas schleimigen Masse der *U. longissima*-Sporidien nicht. Auch die Sporidien von *U. Hordei* und *U. bromivora* wirken keimungshemmend auf *U. nuda*-Brandsporen, wenn auch — soweit ich ohne systematische Untersuchung dieser Frage sagen kann — nicht so stark. Ob nur Sauerstoffentzug oder andere Stoffe hierfür verantwortlich sind, bleibt vorläufig offen.

¹⁾ Vgl. u. a. Brefeld (1895 und 1905) und Liro (1924).

zwei *U. bromivora*-Sporidien mit einer *U. nuda*-Promyzelzelle kopuliert (Fig. 33), ein anderes Mal ein (großes) *U. bromivora*-Sporidium mit zwei Promyzelzellen von *U. nuda* verbunden (Fig. 33f). Letztere beide (die basale und subapikale) sind demnach gleichgeschlechtlich, und zwar, da ein B-Sporidium vorliegt, A-geschlechtlich. Es wurden nun keimende Brandsporen von *U. nuda* mit A- und B-Sporidien von *U. Hordei* zusammengebracht. Natürlich traten in einer solchen Kombination zahlreiche Kopulationen von A- und B-Sporidien der *U. Hordei* auf. Nichtsdestoweniger waren Bastardkopulationen (also Verbindungen von *U. Hordei*-Sporidien mit Promyzelzellen der *U. nuda*) nicht selten. Darunter wurden auch Fälle gefunden, in denen 3 Zellen eines Promyzels mit je einem Sporidium kopuliert hatten (Fig. 35). Der theoretisch zu erwartende Fall einer Verbindung aller 4 Promyzelzellen mit Sporidien ist mir bisher nicht begegnet. Auch ohne das folgt aber aus diesen Tatsachen wohl mit zwingender Notwendigkeit, daß bei *U. nuda* die Reduktionsteilung genau so zur Erzeugung von 2 Paaren geschlechtlich verschiedener Kerne führt, wie bei *U. Hordei* und allen anderen hier behandelten Ustilagoarten. Der Unterschied ist nur der, daß bei *U. nuda* infolge Ausbleibens der Sporidienbildung die (haploiden) Geschlechtszellen nicht frei werden, sondern im Verbands des Promyzels bleiben, das unter normalen Bedingungen direkt in die fädige Diplophase übergeht. Ich möchte vorschlagen, einen Organismus, der wie das Promyzel der — man kann wohl sagen — meisten Ustilagoarten aus genotypisch verschiedenen haploiden Zellen besteht, einen Miktohaplonten zu nennen. Rein formal ist es kaum zulässig, *U. nuda* als heterothallisch anzusprechen, da ja die miteinander kopulierenden Zellen ein und demselben Individuum angehören. Das hindert jedoch nicht, daß im genetischen Sinne *U. nuda* prinzipiell völlig übereinstimmt mit denjenigen Ustilagineen, die genotypisch verschiedene, miteinander kopulierende Sporidien besitzen.

Das Keimungsbild von *U. Tritici* ist dem von *U. nuda* sehr ähnlich. Ich habe auch mit diesem Pilz Bastardkopulationen von Sporidien von *U. Hordei* oder *U. bromivora* mit Promyzelzellen erhalten. Wurde nur ein Sporidiengeschlecht dazugebracht, so traten nie mehr als zwei der ursprünglich vorhandenen 4 Promyzelzellen mit Sporidien in Kopulation. Weitere Versuche habe ich bisher nicht mit *U. Tritici* gemacht. Trotzdem glaube ich, daß man auch bei diesem Pilz auf eine gleiche genotypische Geschlechtertrennung wie bei *U. nuda* schließen darf.



Fig. 34.

U. nuda (Promyzel) + *U. longissima* C.

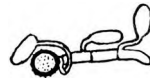


Fig. 35.

U. nuda + *U. Hordei* A + *Hordei* B. Drei Promyzelzellen von *U. nuda* haben mit Sporidien von *U. Hordei* kopuliert.

Die vorliegenden Untersuchungen bilden natürlich nur einen ersten Anfang. Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Artkreuzungen sich auch auf weitere Arten ausdehnen lassen werden, die mir zurzeit nicht zur Verfügung stehen. Neben dieser extensiven Arbeit drängen sich aber andere Fragen auf, so die nach dem zytologischen Verhalten der Kopulationsprodukte (besonders auch derer, bei denen mehr als 2 Sporidien durch Kopulation verbunden sind), und die nach der Möglichkeit der Erzeugung von Bastardbrandsporen. Da unter den untersuchten Arten zwei sind, die auf derselben Wirtspflanze vorkommen (*U. Hordei* und *U. nuda*), wird die Hoffnung erweckt, daß der Infektionsversuch mit Bastarden gelingen könnte. Seitdem bekannt ist, daß der vollständige Entwicklungsgang gewisser Ustilagineen von der Brandspore bis zur Brandspore unabhängig vom Wirt in künstlicher Kultur durchlaufen werden kann (Kniep 1921, Sartoris 1924, Rump 1926), wird daneben zu prüfen sein, ob auch eine Erzeugung von Bastard-Brandsporen *in vitro* erreichbar ist. Ich hoffe, bald Gelegenheit zu haben, über die Fortsetzung der Untersuchungen in diesen Richtungen berichten zu können.

Zusammenfassung.

1. Geschlechtsverschiedene Sporidien sämtlicher untersuchten netzsporigen Ustilagoarten (*U. violacea*, *U. Scabiosae*, *U. Cardui*, *U. utriculosa*, *U. vinosa*, *U. anomala*, *U. Tragopogonis*) ließen sich untereinander bastardieren. Dabei treten in vielen Fällen Kopulationsverbindungen von mehr als zwei Sporidien auf.

2. Außer der Kopulation zweier Sporidien (des A-Geschlechts der einen Art mit dem B-Geschlecht der anderen) wurden bei den netzsporigen Formen Verbindungen von drei und vier artverschiedenen Sporidien zu einem Kopulationsprodukt (drei- und vierfache Artbastarde) gewonnen.

3. Auch die untersuchten sporidienbildenden glatt- und punktiertsporigen Ustilagoarten (*U. longissima*, *U. longissima* var. *macrospora*, *U. grandis*, *U. bromivora*, *U. Hordei*, *U. perennans*) ließen sich weitgehend untereinander bastardieren. Das Verhalten von *U. bromivora*, *U. Hordei* und *U. perennans* gegenüber den 3 Geschlechtsformen von *U. longissima* (A, B, C) ist ein anderes als das von *U. longissima* var. *macrospora* und *U. grandis*. Die A-Geschlechter der ersteren drei Arten reagieren alle mit *U. longissima* A und B, nicht aber mit C, die B-Geschlechter mit A und C, nicht aber mit B. Es wurden dreifache Artbastarde folgender Zusammensetzung erzielt: *U. longissima* + *U. Hordei* + *U. perennans* und *U. longissima* + *U. bromivora* + *U. perennans*.

4. Kreuzungen zwischen netzsporigen Arten mit glatt- und punktiertsporigen sind bisher nicht gelungen.

5. Die nicht sporidienbildenden *U. nuda* und *U. Tritici* lassen sich mit *U. Hordei* und *U. bromivora* kreuzen. Es traten Kopulationen

zwischen Promyzelzellen der *U. nuda* und *U. Tritici* mit Sporidien der anderen Arten auf. Auf diese Weise ist es möglich, das Geschlecht der Promyzelzellen der *U. nuda* u. *U. Tritici* zu bestimmen und festzustellen, daß der Keimling von *U. nuda* und *U. Tritici* ein Miktohaplont ist, dessen Promyzel aus je zwei genotypisch geschlechtsverschiedenen (A- und B-) Zellen besteht.

Zitierte Literatur.

- Bauch, R., 1922. Kopulationsbedingungen und sekundäre Geschlechtsmerkmale bei *Ustilago violacea*. *Biolog. Centralbl.*, Bd. 42, S. 5—33.
- Derselbe, 1923. Über *Ustilago longissima* und ihre Varietät *macrospora*. *Zeitschr. f. Bot.*, Bd. 15, S. 241—279.
- Derselbe, 1925. Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Sexualphysiologie der *Ustilago bromivora* und *Ustilago grandis*. *Zeitschr. f. Bot.*, Bd. 17, S. 129—177.
- Blakeslee, A. F., 1904. Sexual reproduction in the Mucorineae. *Proc. Amer. Acad. of Arts and Sci.*, Bd. 40, S. 205—319.
- Burgeff, H., 1914. Untersuchung über Variabilität, Sexualität und Erbllichkeit b. *Phycomyces nitens* Kunze. I. *Flora*, Bd. 107, S. 259—316.
- Derselbe, 1924. Über Arten und Artkreuzungen in der Gattung *Phycomyces* Kunze. *Flora* (Goebelfestschrift), Bd. 18/19, S. 40—46.
- Brefeld, O., 1883, 1895, 1905. Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie (Brandpilze I, II, III, IV), Bd. 3, 11, 12 u. 13.
- Kniep, H., 1919. Untersuchungen über den Antherenbrand (*Ustilago violacea*). *Zeitschr. f. Bot.*, Bd. 11, S. 257—284.
- Derselbe, 1921. Über *Urocystis Anemones*. *Zeitschr. f. Bot.*, Bd. 13, S. 289—311.
- Liro, J. I., 1924. Die *Ustilagineen* Finnlands. *Helsingfors*. 636 S.
- Pringsheim, N., 1873/74. Weitere Beiträge z. Morphologie und Systematik der Saprolegnieen. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, Bd. 9, S. 191 bis 234.
- Rump, L., Studien über den Gerstenbrand. *Diss. Landw. Hochsch. Bonn* 1926, 56 S.
- Saito, K. und Naganishi, H., 1915. Bemerkungen zur Kreuzung zwischen verschiedenen Mucorarten. *Botanical Magaz. Tokyo*, Bd. 29, S. 149—154.
- Sartoris, G. B., 1924. Studies in the life history and physiology of certain smuts. *Amer. Journ. of Botany*, Bd. 11, S. 617—647.
- Vandendries, R., 1923. Recherches sur la déterminisme sexual des Basidiomycètes. *Mém. Acad. Belg. Cl. des Sci.*, 2. Sér., Bd. 5, 95 S.
- Zattler, F., 1924. Vererbungsstudien an Hutpilzen. *Zeitschr. f. Bot.*, Bd. 16, S. 433—499.
- Zillig, H., 1921. Über spezialisierte Formen beim Antherenbrand, *Ustilago violacea* (Pers.), Fuck. *Centralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenkunde*, Bd. 53, S. 33—74.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Pilzkunde](#)

Jahr/Year: 1926

Band/Volume: [5_1926](#)

Autor(en)/Author(s): Kniep Hans

Artikel/Article: [Über Artkreuzungen bei Brandpilzen 217-247](#)