Über die Isolierung von Basidiosporen mit dem Mikromanipulator nach Janse und Péterfi[1].

Von

G. L. Funke.

Das Isolieren der vier, einer Basidie entstammenden Sporen, einer sogenannten Vierergruppe, war Kniep bis jetzt nur bei Aleurodiscus polygonius gelungen, dank der Eigenschaft dieses Pilzes die Sporen einer Basidie gleichzeitig abzustoßen. Bei anderen Pilzen ist das nicht der Fall, so daß man nur mittels einer verfeinerten Technik imstande ist, die Vierergruppen zu isolieren. Der Mikromanipulator von Péterfi hat dies ermöglicht. Mit diesem Instrument ist es mir gelungen, von anderen Pilzarten die zu einer Basidie gehörenden Sporen zusammen vom Hymenium abzuheben und isoliert zur Keimung zu bringen.

Dies geschieht am besten mit einer nicht zu dünnen Glasnadel mit feiner Spitze, die in der speziellen Mikroflamme aus einer Kapillare hergestellt wurde. Damit die Sporen an der Nadel ankleben, wurde sie mittels eines Pinsels mit einer zweiprozentigen Gelatinelösung, der einige Tropfen Glyzerin zugefügt waren, angefeuchtet. Eine Lamelle des zu untersuchenden Hutpilzes wurde in der feuchten Kammer unter das Mikroskop gebracht; diese entnimmt man natürlich einem jungen Fruchtkörper, wo die Vierergruppen noch schön zusammen stehen. Man bringt die Spitze der Nadel am besten in die Mitte einer Vierergruppe, so daß sie die vier Sporen zu gleicher Zeit berührt und zieht die Nadel dann langsam nach oben, wobei die Sporen mitgenommen werden. Meistens kann man sie sehr gut

[1]) Dieser Apparat wurde von der Firma Carl Zeiß-Jena verfertigt nach dem Entwurf von Dr. S. L. Schouten, Utrecht.

zählen, wenn sie an der Glasspitze haften und sich obendrein davon überzeugen, daß die Basidie leer zurückbleibt.

Nun gießt man flüssige Malzextraktgelatine in eine sterile Petrischale, läßt sie auf etwa 40° abkühlen und streicht dann die Nadel darin ab; sofort muß kontrolliert werden, ob keine Spore an der Nadel zurückgeblieben ist; meistens ist das nicht der Fall. Die Petrischale wird dann vorsichtig einige Male hin- und herbewegt, um die vier Sporen auseinander zu bringen, wonach man die Gelatine erstarren läßt.

Die Pilze, mit denen ich arbeitete, waren Hypholoma fasciculare, Hypholoma capnoïdes und Collybia velutipes; die Sporen sind bei diesen Arten sehr klein und die Basidien stehen dicht gedrängt; das Isolieren muß deshalb mit großer Vorsicht stattfinden, zumal ich nur mit 91facher Vergrößerung (Okular 4, Objektiv A von Zeiß) arbeiten konnte. Daß manchmal eine oder zwei Sporen von einer nebenstehenden Basidie mitgerissen wurden, war denn auch nicht immer zu vermeiden, aber war, wie wir unten sehen werden, nicht immer eine wesentliche Störung.

Nach acht bis zehn Tagen wurden die Keimmyzelien in den Petrischalen sichtbar; sie lagen immer genügend weit auseinander und konnten ohne Mühe in Röhrchen mit Agar abgeimpft werden. Sobald sie ein genügendes Wachstum erreicht hatten, wurden sie auf Schnallen geprüft, dann wurden sie untereinander in der üblichen Weise kombiniert.

Die Kombination der vier Sporen von einer Basidie gaben in einigen Fällen dasselbe Bild wie bei Aleurodiscus polygonius (Tab. 1). Hier hat also die normale Spaltung stattgefunden, wobei die vier Einspormyzelien paarweise verschieden sind.

Tab. 1.

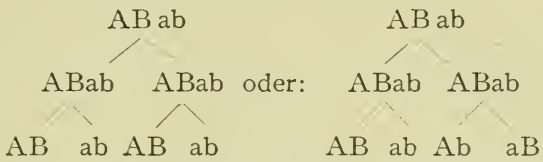
	AB 1	AB 2	ab 3	ab[1] 4
AB 1	—	—	+	+
AB 2	—	—	+	+
ab 3	+	+	—	—
ab 4	+	+	—	—

Tab. 2.

	AB 1	Ab 2	aB 3	ab 4
AB 1	—	—	—	+
Ab 2	—	—	+	—
aB 3	—	+	—	—
ab 4	+	—	—	—

[1]) Über die Faktorenbezeichnung (AB, ab, Ab, aB) siehe Kniep (2).

In den meisten Fällen aber kam etwas anderes zum Vorschein, ein Bild wie in Tab. 2. Diese Anordnung der schnallenführenden Myzelien zwingt uns zu der Annahme, daß die Sporen 1, 2, 3 und 4 alle untereinander verschieden sind; die bezüglichen Formeln sind demgemäß in der Tabelle angegeben. In diesem Fall ist anzunehmen, daß in der Basidie nicht die erste Teilung, sondern die zweite die Reduktionsteilung ist. Nur dann kann man erwarten, daß aus einer Basidie alle vier Geschlechtstypen hervorgehen. Schematisch kann man diesen Vorgang in der folgenden Weise darstellen[1]:

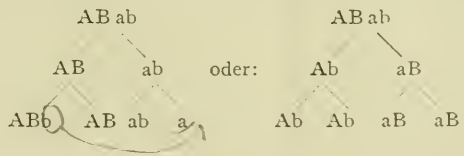


Vorausgesetzt, daß beide Aufspaltungsmöglichkeiten ebenso häufig vorkommen, müßten in 50% der Fälle nur zwei verschiedene Haplonten entstehen, während in der anderen Hälfte der Fälle alle vier sich bilden. Zwar war das letztere in meinen Untersuchungen häufiger der Fall, aber ich verfüge noch nicht über genügend zahlreiches Material, um hierüber entscheiden zu können.

Hypholoma fasciculare gab im ganzen sechs einwandfreie Vierergruppen, wovon zwei den normalen (Tab. 1) und vier den anderen Typus (Tab. 2) zeigten, Collybia velutipes vier, wovon nur eine normal war. Die Resultate bei Hypholoma capnoïdes lassen auf ein ähnliches Verhalten schließen wie bei den anderen Arten.

Daneben waren verschiedene Fälle, wo fünf und sogar sechs Myzelien in einer Petrischale keimten; diese wurden auch alle untereinander kombiniert und gaben meistens ein Bild, wie es in Tab. 3, 4 und 5 dargestellt ist.

[1]) Wenn die Aufspaltung bei der ersten Teilung des diploiden Basidienkerns stattfindet, dann muß sich folgendes Bild ergeben:



Tab. 3.
Hyph. fasciculare.

	AB 1	AB 2	ab 3	ab 4	Ab 5
AB 1	—	—	+	+	—
AB 2	—	—	+	+	—
ab 3	+	+	—	—	—
ab 4	+	+	—	—	—
Ab 5	—	—	—	—	—

Tab. 4.
Hyph. capnoïdes.

	AB 1	Ab 2	aB 3	ab 4	Ab 5
AB 1	—	—	—	+	—
Ab 2	—	—	+	—	—
aB 3	—	+	—	—	+
ab 4	+	—	—	—	—
Ab 5	—	—	+	—	—

Tab. 5.
Hyph. fasciculare.

	AB 1	AB 2	ab 3	ab 4	AB 5	ab 6
AB 1	—	—	+	+	—	+
AB 2	—	—	+	+	—	+
ab 3	+	+	—	—	+	—
ab 4	+	+	—	—	+	—
AB 5	—	—	+	+	—	+
ab 6	+	+	—	—	+	—

In Tab. 3 ist es klar, daß Myzelium 5 von einer anderen Basidie stammt, wo die Sporen anders aufgespalten sind, so daß es nicht imstande ist, mit einer der vier anderen eine Verbindung einzugehen. Daher muß es die Formel Ab oder aB haben. In Tab. 4 ist Myzel Nr. 5 in seinem Verhalten gleich 2, in Tab. 5 5 = 1 und 2, 6 = 3 und 4; in den letzten beiden Fällen können die Myzelien 5 und 6 von einer anderen, gleichartigen Basidie stammen oder erst in der Petrischale entstanden sein aus Oidien von den anderen vier Myzelien; da Oidien bei Hypholoma massenhaft gebildet werden, scheint mir diese Möglichkeit nicht ganz ausgeschlossen zu sein.

Tab. 6.

	AB 1	ab 2	a′b′ 3	AB 4
AB 1	—	+	+	—
ab 2	+	—	+	+
a′b′ 3	+	+	—	+
AB 4	—	+	+	—

Noch einen Fall muß ich erwähnen, den ich nicht ganz erklären kann; eine Vierergruppe von Hypholoma fasciculare ergab das Bild Tab. 6; hier liegen mehrere Erklärungsmöglichkeiten vor: Myzelium 3 (oder 2) könnte von einem anderen Fruchtkörper stammen, auch könnte es ein Mischmyzel sein von zwei nicht miteinander kopulierenden Myzelien, die dann beide in ein und demselben Faktor mutiert sein müßten (etwa a′b + a′B). Eine dritte Möglichkeit wäre, daß ein Myzelium vorliegt, das in beiden Faktoren mutiert hat. Ich muß es offen lassen, wie sich dieser Fall erklärt, wie überhaupt diese Untersuchungen kein abgeschlossenes Bild geben sollen. Da ich sie zur Zeit

nicht fortsetzen kann, erschien mir die Veröffentlichung der wenigen bisher erzielten Ergebnisse nicht ganz überflüssig, zumal die angewandte Methode vielleicht geeignet ist, verschiedene Fragen zu bearbeiten, die bisher nicht oder nur schwer angreifbar waren.

Diese Untersuchungen wurden ausgeführt im Botanischen Institut der Universität Würzburg. Ich möchte hier Herrn Professor Dr. H. Kniep meinen tiefgefühlten Dank aussprechen für seine hochgeschätzte Anregung und stets empfundenes Wohlwollen bei meiner Arbeit.

Würzburg, Botanisches Institut, im Dezember 1923.

Literatur.

1. Kniep, H., Über morphologische und physiologische Geschlechtsdifferenzierung. Verh. phys.-med. Ges. Würzburg. 1919/20. **46.**
2. —, Über Geschlechtsbestimmung und Reduktionsteilung. Ebenda. 1922. **47.**
3. —, Über erbliche Änderungen von Geschlechtsfaktoren bei Pilzen. Zeitschr. f. indukt. Abstammgs.- u. Vererb.-Lehre. 1923. **30.**

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Zeitschrift für Botanik

Jahr/Year: 1924

Band/Volume: 16

Autor(en)/Author(s): Funke G. L.

Artikel/Article: Über die Isolierung von Basidiosporen mit dem Mikromanipulator nach Janse und Péterfi. 619-623