I. Untersuchungen über die Morphologie und Biologie der Protomycetaceen

Objekttyp: **Chapter**

Zeitschrift: **Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz = Matériaux pour la flore cryptogamique suisse = Contributi per lo studio della flora crittogama svizzera**

Band (Jahr): **5 (1915)**

Heft 1: **[deutsch]**

PDF erstellt am: **30.05.2024**

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

I. Untersuchungen über die Morphologie und Biologie der Protomycetaceen.

1. Gattung Protomyces.

a. Historisches.

Die Gattung *Protomyces* wurde im Jahre 1833 von *Unger* (1) aufgestellt. Dieser Forscher hat in seinem Buch «Die Exantheme der Pflanzen» eine ziemlich genaue Beschreibung des Pilzes gegeben, die durch eine Figur ergänzt wird. *Unger* vertrat die uns heute etwas eigentümlich anmutende Anschauung, die Krankheiten der Pflanze finde ihren Ausdruck in einem neuen auf ihr entstehenden Organismus. So sagt er z. B., dass die Entstehung der Pilze einem Faulungsprozesse der organischen Substanz zugeschrieben werden müsse. *Unger* unterscheidet bei den Pflanzenkrankheiten zwischen Exanthemen, die durch einen Gärungsprozess verursacht sind und den Pilzen, die eben in gewissen Faulungsprozessen der organischen Substanz ihre Entstehung nehmen. Den *Protomyces* sieht er als eine Uebergangsform zwischen beiden Arten von Krankheiten an.

Im Jahre 1865 hat De Bary (1) *Protomyces macrosporus* einer eingehenden Untersuchung unterworfen. Dieser Forscher hat auch zum ersten Mal eine zusammenhängende Darstellung der Entwicklungsgeschichte dieses Pilzes gegeben, und noch heute darf diese Arbeit als grundlegend für diesen Gegenstand gelten.

1899 erschien eine Abhandlung von Fräulein C. Popta (1) «Beitrag zur Kenntnis der Hemiasci», in welcher *Protomyces* einlässlich behandelt wird. Hier finden wir auch die ersten Untersuchungen über die Cytologie dieses Pilzes und ferner die Resultate einiger Versuche, welche sich mit seinen biologischen Verhältnissen befassen.

Die oben genannten Publikationen beziehen sich ausschliesslich auf *Protomyces macrosporus*. Wir haben aber im weitern noch einige Untersuchungen namhaft zu machen, die auf *Protomyces pachydermus* Bezug nehmen der 1874 von Baron von Thümen (1) aufgestellt worden war. Es sind das die Arbeiten von Brefeld und F. von Tavel (1) aus dem Jahre 1891, in denen die Keimung der Chlamydosporen und das Verhalten der Sporen in Nährlösungen beschrieben wird.

b. Entwicklungsgeschichte und Cytologie.

a. Protomyces macrosporus Unger.

Pr. macrosporus Unger lebt auf verschiedenen Umbelliferen, wo er an Stengeln und Blattrippen schwielenartige Auftreibungen verursacht.

Ueber die Beobachtungen, welche ich am lebenden Material von *Pr. macrosporus* gemacht habe, werde ich hier nur zusammenfassend berichten, da diese Verhältnisse durch die Untersuchungen von De Bary und C. Popta hinlänglich bekannt sind. Nur auf einige Stadien der Entwicklung, die sich nach meinen Beobachtungen von der Darstellung, welche sie durch die oben genannten Autoren erfahren haben, etwas abweichend verhalten, werde ich näher einzugehen haben. Das Hauptgewicht soll aber auf die Darstellung der cytologischen Verhältnisse gelegt werden.

Die Beobachtungen am lebenden Material wurden im hängenden Tropfen gemacht. Als feuchte Kammer diente mir in den meisten Fällen ein Pappring, der mit Wasser getränkt war und zwischen Deckglas und Objektträger eingeschaltet wurde. Dauerte die Beobachtung mehrere Stunden, so dass ein Austrocknen des Pappringes zu befürchten war, so kam eine Selenka-Schulz'sche Kammer, aus Glasplatte und Glasring bestehend, zur Anwendung.

Die Dauerspore besitzt eine dreischichtige Membran, aussen ein sehr dickes Episporium, welches keinerlei Skulpturen aufweist, sondern vollständig glatt und farblos erscheint. Ferner sind vorhanden ein sehr dünnes Meso- und Endosporium. Der Inhalt der Spore im Ruhezustand erscheint dicht, feinkörnig, meist etwas trübe. In diesem Zustand verharrt die Chlamydospore den ganzen Winter hindurch; erst im Frühjahr nach vollzogener Winterruhe[1]) schickt sie sich zur Keimung an.

Die ersten Anzeichen der bevorstehenden Keimung lassen sich in der Regel im Laufe des Nachmittags wahrnehmen und zwar meistens am fünften oder sechsten Tag nach Einrichtung einer Deckglaskultur.

In der Dauerspore, deren Inhalt bis dahin vollständig homogen war, differenziert sich nunmehr das Plasma in eine Randzone und eine zentrale Partie. Die letztere erscheint dunkel, was offenbar durch eine Verdichtung des Plasmas zu erklären ist. Die Randzone ist dagegen hell. C. Popta (1, pag. 22) vertritt die Ansicht, dass diese Differenzierung durch das Fehlen der Fettsubstanz in der Randzone bedingt sei, während sie in der zentralen Partie der Spore vorhanden ist. Allmählig treten in der dunkeln zentralen Partie des Sporeninhaltes Vacuolen auf (unsere Taf. I, Fig. 1), zuerst nur undeutlich, um nach

[1]) Winterruhe s. weiter unten.

Verlauf geraumer Zeit schärfer hervorzutreten. Die Vacuolen greifen dann auch auf die helle Randpartie über, so dass nunmehr der ganze Inhalt mit Vacuolen erfüllt ist, was ihm ein wabiges Aussehen verleiht. Hierauf verschwindet die dunkle zentrale Partie, indem die Randzone an Breite zunimmt, bis der ganze Inhalt ein helles Aussehen hat. Diese eben beschriebenen Vorgänge vollziehen sich langsam. Nun erfolgt das Aufreissen der Sporangiumwand, was rasch geschieht, und im selben Moment beginnt das Sporangium aus der Dauerspore hervorzuwachsen. Dieses Stadium ist meistens zwischen 9 und 10 Uhr abends erreicht. Die Sporangiumwand wird durch das Endosporium gebildet, welches als eine kugelige Blase nach aussen wächst. Das Sporangium zeigt nach dem Austreten einen mit Vacuolen vollständig erfüllten Inhalt (Taf. I, Fig. 2). Die zentralen Vacuolen beginnen nun zu verschmelzen, bis die Mitte des Sporangiums erst von zwei bis drei grossen Vacuolen erfüllt ist; dann verschmelzen auch diese, so dass zuletzt nur eine grosse zentrale Vacuole vorhanden ist. Das Plasma, welches nunmehr in einer breiten Schicht wandständig gelagert ist, bleibt vorläufig mit Vacuolen erfüllt; diese verschwinden nur allmählig, sodass dann der protoplasmatische Wandbelag ein ziemlich homogenes Aussehen hat.

Bis dahin stehen meine Beobachtungen vollständig mit denjenigen von Frl. Popta im Einklang. Im Folgenden weichen sie aber von den ihrigen ziemlich bedeutend ab.

Nach den Beobachtungen von Popta (1, pag. 26) soll nun weiterhin im wandständigen Plasma eine sehr feine und blasse netzförmige Zeichnung hervortreten. Von dieser Struktur aus geht die Bildung der Sporen vor sich, indem die Maschen dieses Netzes dicker werden und so zwischen sich einzelne Körnchen herausdifferenzieren. Das ganze Netzwerk zerfällt dann im gegebenen Moment, um ungefähr so viele Körnchengruppen zu liefern, als Maschenseiten vorhanden waren. Die Körnchen stellen den Anfang der Sporen dar, welche sich nach der Figur 27a von Popta in zwei bis drei Schichten anordnen.

Dieser Darstellung kann ich mich nicht anschliessen, ich komme auf Grund eingehender und wiederholter Beobachtungen zu einem ganz anderen Resultat.

Nach meinen Beobachtungen geht die Bildung der Sporen folgendermassen vor sich: Im homogenen protoplasmatischen Wandbelag treten kurz nach seiner Bildung radiale Streifen auf, die senkrecht zur Sporangiumwand gestellt sind. Diese treten nach und nach immer schärfer hervor, sodass der Wandbelag in eine Reihe von Fächern geteilt erscheint (Taf. I, Fig. 3). Betrachtet man das Sporangium von der Fläche, so erkennt man alsbald, dass man es mit annähernd

regelmässigen polygonalen Plasmaportionen zu tun hat. Dieses Stadium dauert in der Regel nicht länger als 30—40 Minuten, dann beginnt die radiale Streifung zu verschwimmen (Taf. I, Fig. 4) und aus dem Plasma differenzieren sich grobe Körner heraus, deren Conturen immer schärfer hervortreten (Taf. I, Fig. 5). Dies sind die Sporen, welche eine länglich-elliptische Gestalt haben. Sie lassen eine wimmelnde Bewegung wahrnehmen.

Im weiteren Verlauf der Entwicklung stimmen meine Beobachtungen wieder ziemlich gut mit denjenigen von Popta überein.

Die jungen Sporen liegen ganz regellos an der Wand des Sporangiums, ohne jemals in die grosse innere Vacuole zu treten, was uns zur Annahme zwingt, dass offenbar eine dünne plasmatische Haut zwischen den Sporen und der Vacuole liegt, worauf übrigens schon Popta (1, pag. 27) hingewiesen hat. Wäre diese Haut nicht vorhanden, so liesse sich nicht recht einsehen, warum die Sporen auch nach ihrer Bildung die wandständige Lage beibehalten. Es ist mir leider nicht gelungen, weder am lebenden noch am fixierten und gefärbten Material, sichere Anhaltspunkte über das wirkliche Vorhandensein einer solchen plasmatischen Haut beizubringen. Wir müssen annehmen, dass diese so zart ist, dass sie sich vollständig unserer Beobachtung entzieht.

Die Sporen werden nun im Scheitel des Sporangiums zu einem Ball zusammengedrängt Unter dem Scheitel des Sporangiums ist die der Chlamydospore entgegengesetzte Seite zu verstehen. Der Vorgang, wie die Sporenmasse zusammengeballt wird, ist ziemlich kompliziert und kann meines Erachtens nicht befriedigend erklärt werden. Die Sache geht etwa folgendermassen vor sich: Aus der Sporenmasse treten kleine Vacuolen, welche sich aussen zwischen Sporangiumwand und Sporen ansammeln. In dem Masse, als Vacuolen nach aussen treten, wird die zentrale Vacuole kleiner. Wir hätten uns also die Sache so zu denken, dass die grosse Vacuole ihren Inhalt nach den Seiten und besonders nach unten hin durch die Sporenmasse nach aussen treten lässt. Es bleibt uns allerdings unklar, wodurch die plötzliche Diffusion der Vacuolenflüssigkeit durch die Sporen veranlasst wird, ebenso warum diese jetzt durch die angenommene Plasmahaut durchzudringen vermag. Dicht an der Sporangiumwand angelagert, liegt nun ein sehr dünner Plasmastreifen, der sich offenbar an der Sporenbildung nicht beteiligt hat. Die Vacuolen und die sie in regelmässigen Abständen trennenden Plasmaplatten, die meist bogig von der Basis nach dem Scheitel des Sporangiums verlaufen, scheinen mir mit dem oben erwähnten Plasmastreifen in engster Beziehung zu stehen (Taf. I, Fig. 6, 7, 8, 9). Diese Plasmaplatten rühren offenbar

davon her, dass bei der Bildung der Sporen ein Teil des Plasmas unverbraucht geblieben ist. Allerdings wäre dieses übrig gebliebene Plasma etwas anders beschaffen als dasjenige, welches Juel bei *Taphridium algeriense* beschrieben hat. Nachdem die Sporen zu einem dichten Ball am Scheitel des Sporangiums vereinigt sind, verschwinden die Plasmaplatten sehr bald. Es verfliesst meist geraume Zeit, bis die Sporen ausgeworfen werden, es kann eine Stunde oder noch länger dauern. Wenn aber im Sporangium, das schon ohnehin sehr turgeszent ist, der Turgor noch weiter steigt, so reisst schliesslich die Sporangiumwand am Scheitel auf und der Sporenball wird energisch mit einem Ruck auf eine ziemliche Strecke hin ausgeworfen. So beobachtete ich einmal, dass der Ball 81 μ weit fortgeschleudert wurde (Taf. I, Fig. 10). Das leere Sporangium fällt nach einiger Zeit in sich zusammen.

Nach den Angaben von Popta (1, pag. 28 und Fig. 28), bleibt die äussere Plasmaschicht im Sporangium zurück und soll nach dem Austritt der Sporen noch sichtbar sein. Mir ist es allerdings nicht gelungen, diese Plasmaschicht im leeren Sporangium zu sehen. Sicher ist nur, dass dieselbe bis zum Moment der Sporangiumentleerung vorhanden sein muss, da sonst der hohe Turgor unerklärlich wäre. Diese Plasmaschicht scheint aber so fein zu sein, dass sie zuweilen auch an gut gefärbten Präparaten nur schwer zu sehen ist.

Die Sporen haben, wie schon erwähnt, eine länglich-ellipsoidische Form. In ihrer Längsachse gemessen sind sie 4,5 μ lang und in der Breite 3 μ (Taf. I, Fig. 11a). Diese Grössenverhältnisse sind ausserordentlich konstant. Am lebenden Material erscheinen die Sporen vollständig farblos; ihr Inhalt zeigt eine wechselnde Zahl von stark lichtbrechenden Körperchen. Dieselben sind meistens zu zwei oder drei vorhanden, zuweilen auch einzeln, im Maximum habe ich deren fünf beobachtet. Bewegungsorgane fehlen den Sporen ganz, dem entsprechend auch eine aktive Ortsveränderung. Das lebhafte Flimmern, welches sie nach dem Austreten aus dem Sporangium erkennen lassen, scheint durch Flüssigkeitsströmungen verursacht zu werden.

Unmittelbar nachdem die Sporen aus dem Sporangium ausgeworfen worden sind, sieht man, dass sie sich paarweise verbinden. Nachdem sie kleine Fortsätze gegeneinander ausgestülpt haben, kopulieren sie miteinander. Die Querbrücke ist 1,5 μ lang (Taf. I, Fig. 11b, 11c, 11d).

Man könnte geneigt sein, die stark lichtbrechenden Körner in den Sporen als Kerne anzusehen. Bei dieser Annahme, die übrigens nicht richtig sein dürfte, wie wir später noch sehen werden, wäre die Möglichkeit gegeben, dass bei der Sporenfusion auch eine Kernver-

schmelzung oder wenigstens ein Kernübertritt durch die Plasmabrücke stattfinden würde. Um diesen Vorgang festzustellen, habe ich wiederholt mehrere Stunden hindurch Sporenpaare beobachtet, aber niemals konnte ich eine Verschiebung der Körner beobachten, auch dann nicht, als ich diese mit Neutralrot intravital färbte. Beim Durchmustern meiner zahlreichen Sporenkulturen konnte ich auch niemals eine Plasmabrücke finden, in der eben ein Korn im Begriff gewesen wäre, überzuwandern. Dann und wann bekommt man Sporenpaare zu sehen, bei denen in einer der Sporen ein Korn der Querbrücke etwas genähert erscheint. Untersucht man aber diese Fälle etwas näher, so stellt es sich dann meistens heraus, dass die Kopulationsbrücke von der betreffenden Spore nicht seitlich, wie es in der Regel zu geschehen pflegt, sondern polar ausgestülpt wurde. Da die lichtbrechenden Körperchen meist polar liegen, so erscheinen sie naturgemäss in diesen Fällen der Querbrücke etwas genähert.

Mich interessierte nun weiter die Frage, wie sich diese Sporen in künstlichen Nährlösungen verhalten würden. In Wasser blieben sie längere Zeit lebend, schwollen zuweilen auch um ein Geringes an, ohne aber weitere Veränderungen zu erleiden.

Um die Sporen saprophytisch zu ernähren, brachte ich Bierwürze und Pflaumendekokt zur Anwendung. Anfangs verliefen meine Versuche, die Sporen in diesen Nährlösungen zum Sprossen zu bringen, vollständig resultatlos, indem die Hängetropfen der Nährlösungen schon nach wenigen Tagen von Bakterien und Imperfekten erfüllt waren. Bei meinen Literaturstudien stiess ich dann auf eine Arbeit aus dem Jahre 1888 von B. Meyer (1) «Untersuchungen über die Entwicklung einiger parasitischer Pilze bei saprophytischer Ernährung». In dieser ausserordentlich sorgfältigen und reichhaltigen Abhandlung ist ein besonderer Abschnitt dem Verhalten der *Protomyces macrosporus*-Sporen in künstlichen Nährlösungen gewidmet. An Hand der Meyer'schen Angaben über die Art und Weise der Kultur gelang es mir, seine Resultate vollkommen zu bestätigen.

Nach seinen Angaben verfuhr ich also folgendermassen: Dauersporen von *Protomyces* wurden auf feuchtes Filtrierpapier gelegt und darüber in Form eines hängenden Tropfens die Nährlösung gebracht. Da die Sporen mit ziemlicher Gewalt aus dem Sporangium ausgeschleudert werden, so war der Abstand von 2—3 mm zwischen Filtrierpapier und Nährlösung für sie kein Hindernis. Die Sporen gelangten auf diese Weise vollständig rein in die Kulturflüssigkeiten. Letztere wurden natürlich sterilisiert zur Anwendung gebracht und nur in sehr schwacher Konzentration. In hoch konzentrierten Nährlösungen pflegen die Sporen meist sofort abzusterben.

Die so behandelten Sporen zeigten nun folgende Veränderungen: Schon nach zwei Tagen waren sie beträchtlich angeschwollen, die Querbrücke nimmt an dieser Schwellung auch teil, so dass sie meist schon nach kurzer Zeit nicht mehr als solche zu erkennen ist. Die einzelnen Sporen beginnen dann kleine Aussprossungen zu erzeugen; diese Tochterzellen sprossen ihrerseits wieder aus, so dass schon sehr bald eine ansehnliche Sprosskolonie zustande kommt (Taf. I, Fig. 12, 13). Nach zehn Tagen waren die Sprossungen zuweilen so reichlich, dass der hängende Tropfen wie von einem dichten weissen Filz überzogen war. Es würde mich hier viel zu weit führen, wenn ich die mannigfaltige Ausbildung der Sprosskolonien näher beschreiben wollte. Ich verweise auf die erwähnte Arbeit von B. Meyer, die auch zahlreiche Abbildungen enthält. Nur auf einige besondere Ausbildungen der Sprosszellen will ich noch zu sprechen kommen.

Im allgemeinen sind die Tochterzellen von tonnenförmiger Gestalt. Zuweilen treten aber auch dünne stäbchenförmige Zellen auf; besonders auffallend sind jedoch grosse kugelige Zellen, welche dann in ihrem Inhalt eine grosse Vacuole aufzuweisen haben. Am Rand dieser Vacuolen findet man meist einen ganzen Kranz von kleinen, stark lichtbrechenden Körpern (Taf. I, Fig. 14). Der Inhalt aller Tochterzellen einer Sprosskolonie enthält einen oder mehrere der schon weiter oben besprochenen Körperchen. Auch hier lassen sie sich intravital mit Neutralrot sehr stark rot färben.

Der Verband zwischen den einzelnen Zellen einer Sprosskolonie scheint ziemlich fest zu sein; wenigstens gelang es mir, solche Kolonien mehrere Wochen hindurch im Verband bleibend zu beobachten und zu kultivieren. Die Kulturen gingen meist daran zu Grunde, dass beim Zuführen von neuer Nährlösung Bakterien aus der Luft in dieselbe gelangten. Gegen Bakterien scheinen die Sporen ausserordentlich empfindlich zu sein, was B. Meyer auch schon konstatiert hat. Es ist daher sehr wenig wahrscheinlich, dass *Protomyces* in der Natur jemals als Saprophyt vorkommen sollte, denn gerade da wären die Bakterien immer gegenwärtig, deren Konkurrenz er kaum gewachsen sein dürfte.

In Wasser oder Nährlösungen keimen die Sporen niemals; dies geschieht nur dann, wenn sie auf die ihnen zusagende Nährpflanze gelangen; auch ein Verhalten, das darauf hinweist, dass *Protomyces* ein strenger Parasit ist.

Gelangen die Sporen auf die Nährpflanze, so treiben sie einen Schlauch aus. Nach meinen Infektionsversuchen zu schliessen, geht es aber offenbar ziemlich lange, bis ein solcher Keimschlauch gebildet wird, oder aber es lassen sich die ersten Anfänge einer Infektion nicht

makroskopisch feststellen. Es ist mir leider nicht gelungen, die Sporen auf der Nährpflanze genügend zu kontrollieren, um diese Frage zu entscheiden. Ich konnte übrigens nur einmal und erst nach vielen vergeblichen Bemühungen eine Spore mit einem Keimschlauch sehen. Das betreffende mikroskopische Bild gestattete mir aber die Angaben von De Bary zu bestätigen, nach welchen der Keimschlauch nicht durch die Spaltöffnungen eindringt, sondern zwischen den Epidermiszellen sich in das Innere der Pflanze bohrt. Im Parenchym des Wirtes breitet sich das Mycel sehr reichlich aus und zwar radial nach allen Seiten hin.

Ganz junge Infektionsstellen, an denen von einer Schwiele noch absolut nichts vorhanden ist, lassen sich mit einiger Uebung daran erkennen, dass die betreffenden Stellen, wenn sie von der Seite betrachtet werden, weisslich schimmern. Zieht man an den eben beschriebenen Stellen die Epidermis sorgfältig ab, so kann man sehr instruktive Bilder des jungen Mycels erhalten und besonders dann, wenn diese Epidermisstücke mit Chlorzinkjod behandelt werden. Das Mycel färbt sich dann intensiv braunviolett, viel stärker als die Zellen der Wirtspflanze.[1]) Das Mycel bleibt immer streng auf die Interzellularräume beschränkt, es werden niemals Haustorien in das Innere der Zellen getrieben. Nur dann und wann werden kleine Auszweigungen gebildet, die auf den ersten Blick Haustorien zu sein scheinen, sie treten aber niemals in das Innere der Zellen (Fig. 1). Rosenvinge (1) hat diese Gebilde auch schon beschrieben und abgebildet.

Fig. 1. Interzellulare Auszweigungen der Hyphen. Nach lebendem Material, mit Chlorzinkjod gefärbt. Vergr. ca. 600.

Das Mycel ist reichlich septiert. Die Breite der ausgewachsenen Mycelzellen beträgt im Durchschnitt 8 μ. Die Länge ist ausserordentlich variabel. Ich habe solche gemessen, die 30 μ lang waren.

Schon sehr bald nachdem das Mycel angefangen hat sich im Gewebe des Wirtes auszubreiten, schwellen gewisse Partien an, um kleine Chlamydosporen zu bilden, diese nehmen sehr schnell an Grösse zu und umgeben sich mit einer dicken, festen Membran. In diesem Stadium ist das Mycel noch ausserordentlich unregelmässig in seiner Form. Während einzelne Teile noch dünn sind, zeigen andere schon den Anfang zur Chlamydosporenbildung (Fig. 2).

[1]) Auf diese Färbung wurde ich durch eine briefliche Mitteilung von Herrn Prof. Kolderup Rosenvinge aufmerksam gemacht.

Der plasmatische Inhalt, der bis dahin im Hyphensystem vorhanden war, wird nach den intercalaren Anschwellungen entleert; man sieht das Mycel dann noch eine zeitlang als leere Röhren, die aber bald vollständig verschwinden.

Auf Querschnitten infizierter *Aegopodium*-Stengel treten die Chlamydosporen nesterweise auf, was uns anzeigt, dass das Mycel offenbar bestimmte Gewebe bevorzugt hat. So finden wir die Chlamydosporen bei *Aegopodium* vorwiegend im Collenchym, welches in den Kanten des Stengels gelegen ist, ferner auch im Grundgewebe dieses Organs.

Nachstehende Figur (Fig. 3, Seite 12) zeigt diese Verhältnisse, wie sie uns ganz ähnlich auf dem Querschnitt eines infizierten Stengels von *Carum Carvi* entgegentreten.

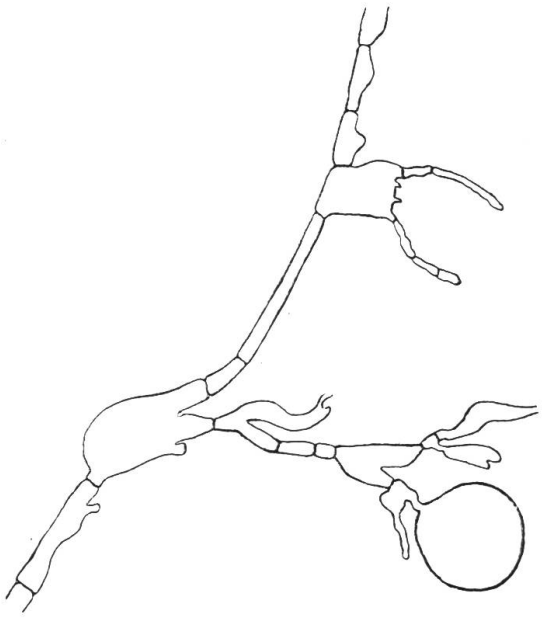


Fig. 2. Junges Mycel und junge Chlamydosporen von *Protomyces macrosporus*. Nach lebendem Material, das mit Chlorzinkjod gefärbt worden war. Vergr. ca. 250.

Nachdem ich nunmehr den ganzen Entwicklungsgang von dem auf *Aegopodium Podagraria* lebenden *Protomyces macrosporus* besprochen habe, bleibt mir nur noch zu sagen übrig, dass die auf anderen Umbelliferen lebenden *Protomyces*-Formen, soweit sie untersucht sind, sich in ihrem Entwicklungsgang vollständig gleich verhalten.

Nach Houard (1) soll *Oenanthe crocata* besonders stark von *Protomyces macrosporus* befallen werden. Hier werden nicht nur Stengel und Blätter deformiert, sondern auch die Blüten werden vom Pilz in Mitleidenschaft gezogen. Das Mycel scheint also hier in der ganzen Pflanze verbreitet zu sein. Der Autor sagt ferner, dass es wünschenswert wäre, festzustellen, ob der Pilz vielleicht verantwortlich gemacht werden könnte für das eigentümliche Aussehen der Wurzel, welches man bei *Oenanthe* antrifft.[1])

Untersuchungen am fixierten und gefärbten Material von Protomyces macrosporus.

Wenn wir nun im Folgenden die Resultate besprechen, welche das Studium der fixierten und gefärbten Präparate geliefert hat, so

[1]) Ich möchte es für wahrscheinlicher halten, dass das eigentümliche Aussehen der Wurzel eher durch das anormale Dickenwachstum derselben bedingt wird, welches man in den unterirdischen Organen von *Oenanthe* antrifft, als durch den Pilz.

werden wir immer darauf bedacht sein, uns die Vorgänge, die am lebenden Material beobachtet worden sind, zu vergegenwärtigen. Es wird so, wie ich hoffe, eine unrichtige Deutung der Mikrotompräparate auf ein Minimum beschränkt werden.

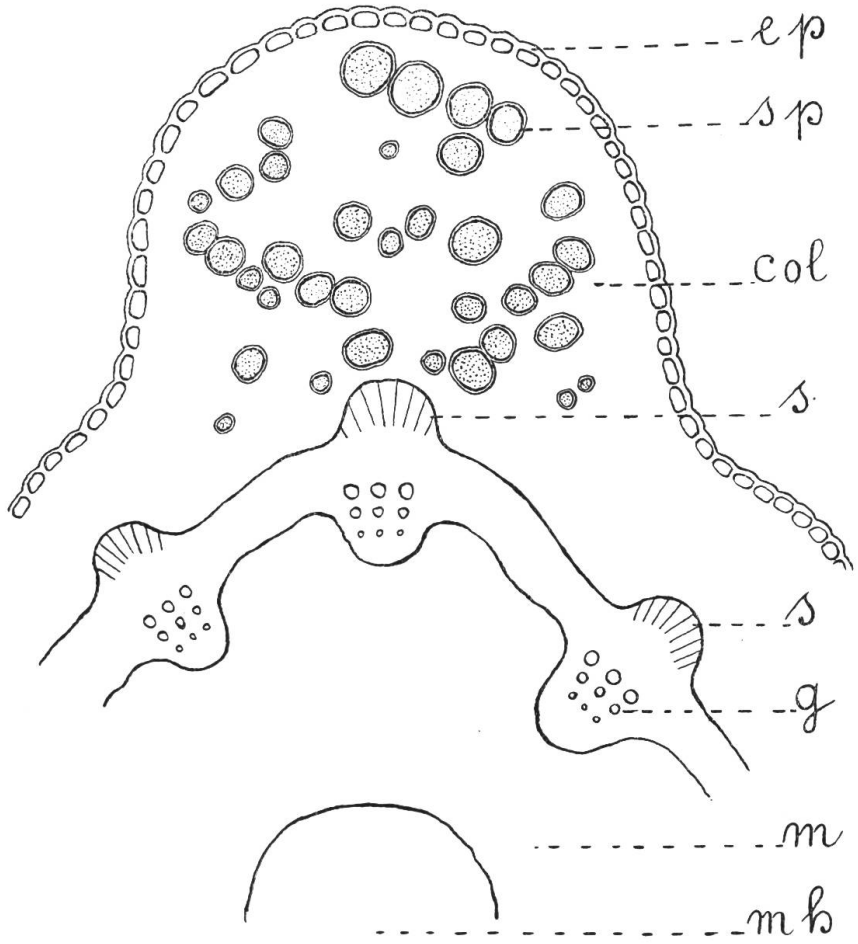


Fig. 3. Stengelquerschnitt von *Carum Carvi L.*
ep = Epidermis; sp = Sporen; col = Collenchym; s = Siebteil; g = Gefässe; m = Mark; mh = Markhöhle. Vergr. ca. 75.

Bevor ich auf die eigentlichen Untersuchungen eintrete, werde ich einiges über die technischen Verfahren mitteilen, die in Anwendung gekommen sind.

Da in der cytologischen Literatur keine Angaben über die Fixierung und Einbettung von Objekten, wie das vorliegende, zu finden waren, so war ich genötigt, ein eigenes Verfahren auszuarbeiten. Angaben über die Behandlung kleiner Objekte waren in der Literatur etliche zu finden, aber sie konnten meinen Anforderungen in keiner Weise genügen. Um die relativ kleinen keimenden Chlamydosporen in Paraffin einzubetten, musste irgend ein Verfahren ersonnen werden, welches gestattete, das Objekt ohne Beschädigung durch die Fixierflüssigkeiten und die Alkoholstufen nach dem Paraffin zu bringen.

Ein Versuch, die Chlamydosporen auf künstlichen festen Nährböden, wie Agar und Gelatine, zum Keimen zu bringen, misslang vollständig; die Sporen gingen hier schon nach ganz kurzer Zeit zugrunde. Es musste also ein anderer Weg eingeschlagen werden. Nach längerem Suchen und Probieren zeigten sich dünne Hollundermarkplättchen als ein geeignetes Kultursubstrat, welches auch, was sehr wichtig war, die genügende Durchsichtigkeit hatte, um die Entwicklung der darauf befindlichen Sporen zu kontrollieren. Mit dem Rasiermesser wurden möglichst feine Plättchen von etwa 4 mm Kantenlänge hergestellt und alsdann in Wasser ausgekocht, um die Luft auszutreiben. Die Kulturen wurden wie folgt angelegt: Auf einem gut gereinigten Objektträger wurden zwei Reihen der Hollunderplättchen angeordnet. Durch Betupfen der Plättchen mit infiziertem Gewebe wurden die Sporen ausgesäet. Der Objektträger mit den Plättchen wurde nun in eine mit Filtrierpapier ausgelegte Petrischale gebracht. Nach 6—8 Tagen hatten die Sporen meistens reichlich gekeimt. Die Plättchen konnten nun samt den gekeimten Sporen einer beliebigen Fixierungsflüssigkeit ausgesetzt werden. Vorsichtshalber wurden sie aber noch in kleine Umschläge von Filtrierpapier gelegt, um bei den Manipulationen des Auswaschens ein Abschwimmen des Objektes zu verhüten. Vor dem Einbetten in Paraffin wurden die Filtrierpapier-Umschläge entfernt.

Als Fixierungsflüssigkeit diente Flemming'sche Lösung (schwächeres Gemisch). Nach dem Auswaschen wurde das Objekt in der üblichen Weise vermittelst Chloroform in Paraffin gebracht.

Grosse Schwierigkeiten bot das Schneiden mit dem Mikrotom, um so mehr als ich dünne Schnitte zu haben wünschte. Herr Sieben in Bonn hatte die Freundlichkeit, mir einige Schnittserien herzustellen, Er machte mich darauf aufmerksam, dass ich zu weiches Paraffin gewählt hatte. Als ich nun ein Umbetten der Objekte in Paraffin von 58° Schmelzpunkt bewerkstelligt hatte, liessen sich die Sporen ausgezeichnet schneiden.

Nachdem die Schnitte, welche 5 μ dick waren, mit Eiweissglyzerin auf die Objektträger aufgeklebt worden, war es nötig, diese von gewissen Fettsubstanzen zu befreien. Aether und Terpentin erwiesen sich als sehr brauchbar, um das Fett auszuziehen. Ein Verweilen der Schnitte während mindestens 24 Stunden in der einen oder anderen dieser Lösungen erwies sich als unbedingt notwendig; meistens folgte noch eine Nachbehandlung mit H_2O_2.

Sollten die Präparate mit Eisenhaematoxylin gefärbt werden, so war ein Beizen mit Eisenoxydammon erforderlich. Eine andere Färbung, welche ich mit grossem Vorteil angewendet habe, war die Pianese-Färbung, die von Sieben (1) für botanische Objekte modifiziert

worden ist. Bei dieser Färbung brauchen die Schnitte nicht gebeizt zu werden, sondern können sofort auf 24 Stunden in die Farblösung gebracht werden. Die Differenzierung wird mit Säurealkohol vollzogen. Diese Manipulation muss mit grosser Sorgfalt geschehen, da das gute Gelingen lediglich von dieser abhängig ist.

Die Kerne, wie sie uns bei *P. macrosporus* entgegentreten, sind keineswegs wohl differenziert. Es sind nur Chromatinkörper von allerdings ziemlich regelmässiger Gestalt. Nucleolus, Kernhöhle oder gar Chromatin lassen diese Gebilde nicht unterscheiden, selbst in meinen besten Präparaten nicht. Der Einwand, dass eine schlechte Fixierung und Färbung Schuld daran sei, dass die Kerne nicht sichtbar gemacht werden konnten, kann nicht erhoben werden. Wir werden später sehen, dass es mit den gleichen technischen Verfahren leicht gelungen ist, die Kerne bei *P. pachydermus* darzustellen. Ueberdies lässt das Plasma der *P. macrosporus*-Sporen erkennen, dass die Fixierung vollständig befriedigend ist.

Wiederum von der ruhenden Dauerspore ausgehend, können wir am gefärbten Präparat folgende Feststellungen machen:

Bei Anwendung der Pianese-Färbung sehen wir, dass das Episporium blaugrün erscheint, während das Meso- und Endosporium eine blassrote Färbung annehmen. Die Behandlung mit diesem Farbstoff ist ausserordentlich geeignet um die verschiedenen Schichten der Membran zur Darstellung zu bringen.

Der Inhalt der Spore führt ein ziemlich dichtes Plasma mit vielen, im ganzen Raum gleichmässig verteilten Kernen, die uns hier also in Form chromatischer Flecken entgegentreten.

Wir erinnern uns, dass wir als erste Anzeichen einer bevorstehenden Keimung eine Verdichtung des Plasmas im Zentrum der Spore festgestellt hatten. Am gefärbten Präparat können wir diese Beobachtung sehr schön bestätigt finden. Die zentrale Partie nimmt den Farbstoff sehr intensiv auf, die Kerne lassen sich in diesem Stadium nur sehr undeutlich erkennen. In diesem dichten Plasma kann man aber zuweilen die beginnende Vacuolenbildung beobachten.

Sehr interessant sind nun die Mikrotomschnitte, welche ich von den Stadien erhielt, wo das Endosporium aus der Chlamydospore hervortritt. Der plasmatische Inhalt in solchen jungen Sporangien zeigt eine feine netzige Struktur; die Kerne haben eine gleichmässige Verteilung (Taf. II, Fig. 1). Ist das Sporangium vollständig aus der Chlamydospore ausgetreten, so sieht man, dass das Plasma im Zentrum eine gröbere Struktur bekommt, d. h. dass die Maschen des Netzwerkes lockerer werden (Taf. II, Fig. 2). In weiteren Stadien beginnen Vacuolen aufzutreten, welche als Vorläufer der grossen zen-

tralen Vacuole anzusehen sind (Taf. II, Fig. 3). Nach und nach wird auf diese Weise ein wandständiger Plasmabelag gebildet, der am gefärbten Präparat ausserordentlich dicht erscheint (Taf. II, Fig. 4).

Die bis jetzt betrachteten Stadien lassen sich mit Leichtigkeit mit denjenigen identifizieren, die wir am lebenden Material beobachtet haben. Am fixierten Material erkennen wir nun, dass zunächst der protoplasmatische Wandbelag noch dichter wird und nun gegen die zentrale Vacuole hin scharf abgegrenzt ist (Taf. II, Fig. 5). Nun bemerkt man auch das Auftreten der radialen Streifung, die ich schon bei der Besprechung des lebenden Objektes erwähnt habe. Die Streifung gibt sich nunmehr als kleine Lücken zwischen einzelnen Plasmaportionen zu erkennen; somit können die Plasmaportionen als nackte Zellen aufgefasst werden. Sie sind in einer Lage angeordnet und stehen senkrecht zur Sporangiumwand. Diese Portionen enthalten je einen Kern (Taf. II, Fig. 6). Flächenbilder des Sporangiums, welche besonders gut an solchen Schnitten zu erhalten sind, welche die Kugel tangiert haben, gestatten einen besonders klaren Einblick in die sich hier abspielenden Vorgänge.

So gelang es mir einmal, in einem Präparat den Kern in den eben beschriebenen Portionen in Teilung zu finden (Taf. II, Fig. 7 und 7a). Die Kernspindel war meist etwas schräg orientiert. Tafel II, Fig. 7b, zeigt eine ganze Gruppe von Zellen, deren Kerne sich z. T. in Teilung befinden. In etwas älteren Stadien konnte ich nach sorgfältiger und wiederholter Beobachtung mit Sicherheit feststellen, dass die Plasmaportionen in 4 aufgeteilt werden. Fig. 8 lässt 4 Kerne in einer Zelle vor der Aufteilung erkennen. Es wurden auch solche Bilder gesehen, in welchen sich der primäre Kern erst einmal geteilt hat (Taf. II, Fig. 8a). Diejenigen Bilder, die 3 Kerne zeigen, erklären sich offenbar dadurch, dass der vierte Kern nicht ganz in der gleichen Ebene lag und so im Schnitt nicht getroffen wurde. Aus den durch Vierteilung entstandenen Portionen gehen die Sporen hervor. (Taf. II, Fig. 8b u. 8c).

Die nackten einkernigen Zellen, welche sich im plasmatischen Wandbelag herausdifferenzieren, dürfen wir wohl als Sporenmutterzellen auffassen. Die Kernteilung, die in ihnen beobachtet worden ist, kann als eine Reduktionsteilung gedeutet werden. Letzteres kann allerdings nur mit grosser Wahrscheinlichkeit angenommen werden. Absolut sicher lässt sich das natürlich nicht beweisen, denn die kleinen unvollkommenen Kerne lassen keine Zählung der Chromosomen zu. Es liegen hier ähnliche Verhältnisse vor, wie sie Juel (1) für *Taphridium algeriense* beschrieben hat, nur dass dort die Verhältnisse viel klarer und übersichtlicher liegen, weil die Kerne bedeutend grösser sind.

Unsere Beobachtungen, die wir am lebenden Material gewonnen hatten, bestätigen sich also auch hier an den fixierten und gefärbten Präparaten.

Ich erwähnte die Tatsache, dass die Sporen nach ihrer Bildung die wandständige Lage beibehalten, als auffallend und schloss mich der Erklärung von Frl. Popta an, indem eine Plasmahaut als Begrenzung nach der innern Vacuole angenommen wurde. Am gefärbten Material hoffte ich diese angenommene Plasmahaut nachzuweisen, aber es gelang nicht, selbst an den besten Präparaten. Dass aber zwischen der Sporenmasse und der Sporangiumwand ein feiner Plasmastreifen vorhanden ist, konnte an gut gefärbten Präparaten nachgewiesen werden (Taf. II, Fig. 9). Dieses Plasma nimmt also an der Sporenbildung nicht teil.

Das folgende Stadium, in welchem die Sporen von der Sporangiumwand nach dem Scheitel des Sporangiums wandern, konnte in den fixierten Präparaten nicht erhalten werden; wir bleiben also hier auf die Beobachtungen, die am lebenden Material gewonnen wurden, beschränkt. Der Sporenball am Scheitel war wieder sehr gut zu sehen. Die Sporen innerhalb des Sporangiums fand ich immer einkernig, und zwar ist der Kern meist etwas gegen den einen Pol hin verschoben (Taf. II, Fig. 9a). Popta gibt allerdings an, dass die Sporen zuweilen schon innerhalb des Sporangiums mehrere Kerne aufweisen.

Es wurde versucht, ausgeworfene Sporen zu fixieren und zu färben, um einigen Aufschluss über ihre Kerne zu erlangen. Sporen, die eine Fusion noch nicht eingegangen haben, zeigen meistens zwei oder drei Körperchen, die sich mit Haematoxylin sehr scharf färben lassen. Da sie aber nach meinen Beobachtungen im Sporangium nur einen Kern haben, so könnte man annehmen, dass er sich beim Austritt der Spore geteilt hat. Ich neige aber vielmehr dazu, anzunehmen, dass diese stark lichtbrechenden Körperchen in den Sporen überhaupt keine Kerne sind, sondern dass wir es hier mit metachromatischen Körpern zu tun haben, die sich mit Haematoxylin auch färben lassen. (Taf. II, Fig. 10). Die Fixierung und Färbung der ausgeworfenen Sporen auf Deckgläsern ist eben auch nicht einwandfrei. Es muss, um diese Frage zu entscheiden, das Färbungsverfahren angewendet werden, wie es Guilliermond (1) für Hefen angewendet hat. (Lotsy 1). Als ich von diesem Verfahren Kenntnis nahm, hatte ich leider kein gutes Material mehr zur Verfügung. Diese Untersuchung soll aber möglichst bald nachgeholt werden.

Der Umstand, dass diese Körper in gesprossten Sporen, die Vacuolen enthalten, sehr oft in einem Kranz um dieselben angeordnet sind (Taf. I, Fig. 14), deutet ebenfalls darauf hin, dass sie ihrer Na-

tur nach als metachromatische Körper zu deuten sind. Guilliermond (1) gibt wenigstens ein solches Verhalten dieser Gebilde an.

Ein Uebertritt dieser Körper durch die Querbrücke konnte auch an den fixierten Präparaten nicht beobachtet werden (Taf. II, Fig. 10).

Es dürfte einiges Interesse haben, sich einigermassen klarzulegen, wie viel Sporen ein Sporangium produziert. Eine direkte Zählung war natürlich vollständig ausgeschlossen, und eine blosse Schätzung konnte begreiflicherweise ebenfalls kein befriedigendes Resultat ergeben. Ich versuchte die Sporenzahl auf rechnerischem Weg zu bestimmen. Das Sporangium ist eine Kugel, diese hat einen Durchmesser von 50 μ, Abweichungen von dieser Zahl sind selten. Die Oberfläche der Kugel berechnet sich nach der Formel $4\,r^2\,\pi$, also in unserm Fall $4.25.^2\ 3{,}1416 = 7854\ \mu^2$. Das Sporangium hat also 7854 μ^2 Oberfläche. Die Sporenmutterzellen dürfen wir als kleine Prismen ansehen, deren quadratische Grundfläche eine Kantenlänge von 6 μ hat. Eine Sporenmutterzelle hat demnach eine Grundfläche von 36 μ^2. Da die Grundflächen der Sporenmutterzellen gleichsam das Sporangium innen austapezieren, so ergibt die Oberfläche der Kugel (praktisch gleich wie Innenfläche) dividiert durch die Grundfläche einer Sporenmutterzelle die Anzahl der letzteren, also $7854 : 36 = 218$ Sporenmutterzellen. Da diese je 4 Sporen liefern, so haben wir den Wert mit 4 zu multiplizieren und erhalten so 872 Sporen. Diese Rechnung erhebt natürlich keinen Anspruch auf grosse Genauigkeit, aber sie gestattet uns doch eine einigermassen zuverlässige Schätzung der Sporenzahl, die ein Sporangium zu produzieren vermag.

Es war nun auch wünschenswert, das Mycel einer cytologischen Untersuchung zu unterwerfen. Da man bei der Sporenkopulation keinen Kernübertritt und also auch keine Kernverschmelzung konstatieren konnte, so lag die Vermutung nahe, dass sich diese Vorgänge im Mycel oder in den jungen Chlamydosporen abspielen könnten.

Das erste Material, welches ich für die Myceluntersuchung vorbereitet hatte, war ganz untauglich, indem es viel zu alt war und sämtliche Mycelstränge ihren Inhalt schon in die Dauersporen entleert hatten. Schliesslich gelang es mir aber doch, genügend junges Material zu erlangen. Beim Fixieren verfuhr ich folgendermassen: Die infizierten Stellen, welche dem geübten Beobachter als weisslich schimmernd erscheinen, wurden in dünnen Lamellen aus dem betreffenden Stengel herausgeschnitten und in Flemmingscher Lösung fixiert. Die 5 μ dicken Schnittserien mussten zuerst mit Aether behandelt werden, um das Fett zu entfernen; sodann wurden sie mit Haematoxylin gefärbt. Sollten die Membranen der Hyphen auch gefärbt sein, so verweilten die Präparate für etwa 24 Stunden in Congocorinth.

Die Präparate gestatteten nun, festzustellen, dass die Mycelzellen vielkernig sind, was schon von Lotsy (1, p. 446) vermutet wurde (Taf. II, Fig. 11 u. 11a). Leider sind die Kerne im Mycel sehr klein und lassen keine deutliche Differenzierung erkennen. Aber ich glaube doch aus der Färbbarkeit und der Anordnung dieser Gebilde schliessen zu dürfen, dass sie eigentliche Kerne sind, welche mit metachromatischen Körpern nichts zu tun haben.

Eine Kernverschmelzung war aber im Mycel nicht zu finden. Unter den Präparaten, welche noch inhaltführende Mycelzellen enthielten, waren auch solche, in denen man die Anlage der Chlamydosporen verfolgen konnte. Diese sind in ihren Anfängen natürlich auch vielkernig. Die Kerne sind gleichmässig im Sporenraum verteilt. In etwas älteren Chlamydosporen habe ich aber zu wiederholten Malen solche Bilder angetroffen, die auf eine Kernpaarung hinweisen. Vergl. Taf. V. Die Kerne zeigen deutlich eine paarige Annäherung. Demnach würde also die Kernpaarbildung bezw. Kernverschmelzung im Entwicklungsgang hinausgeschoben, indem sie nicht bei der Sporenfusion, sondern erst in der jungen Chlamydospore stattfindet. Der Vorgang einer Kernverschmelzung wird auch durch die von uns angenommene Reduktionsteilung in der Sporenmutterzelle wahrscheinlich gemacht.

Allein einige Bilder (Phot. 1—3, Taf. V) geben uns doch Anlass, einige Zweifel zu hegen, ob wir es wirklich mit Kernpaarungen zu tun haben. Einige dieser paarig genäherten Kerne lassen nämlich kleine Fortsätze erkennen, die den Gedanken nahelegen, es könnte sich um Kernspindeln handeln, resp. um späte Telophasen. Es wäre aber auch möglich, dass feine Cytoplasmastränge von den Kernen ausstrahlen. Bei der Kleinheit der Kerne ist es fast unmöglich, die Frage sicher zu entscheiden. Teilungen müssen die Kerne unbedingt durchmachen, denn in den jungen Chlamydosporen sind nur wenige Kerne enthalten, während doch zirka 200 Sporenmutterzellen zur Ausbildung gelangen, die alle einen Kern bekommen.

β Protomyces pachydermus Thüm.

Protomyces pachydermus Thüm. lebt auf *Taraxacum officinale*, wo er schwielenartige Erhebungen an den Blattrippen und am Blütenstengel verursacht. Dieser Pilz wurde, wie erwähnt, schon von Brefeld und von Tavel (1) in seiner Sporenbildung beschrieben. Ich werde aber doch versuchen, hier eine möglichst lückenlose Darstellung seines Entwicklungsganges zu geben.

Wir werden auch hier zuerst die Beobachtungen am lebenden Material besprechen und sodann die cytologischen Verhältnisse auseinandersetzen.

Die Dauersporen von *P. pachydermus* sind etwas kleiner als diejenigen von *P. macrosporus*. Ihr Durchmesser schwankt zwischen 30 und 45 μ. Die Membran hat im Durchschnitt eine Dicke von 3 μ. Der Name *pachydermus* (dickwandig) ist nicht ganz gerechtfertigt, worauf schon Magnus (1) aufmerksam gemacht hat, denn in Wirklichkeit ist die Membran kaum etwas dicker als bei *P. macrosporus*, sondern es scheint nur so zu sein, weil sie im Verhältnis zum Lumen der Spore stärker hervortritt. Die Membran besteht hier auch aus den 3 Schichten, dem Epi-, Meso- und Endosporium. Das Episporium hat eine bräunliche Farbe, aber es ist ebenfalls vollständig glatt.

An Sporen, deren Entwicklung im hängenden Tropfen beobachtet wurde, liessen sich folgende Feststellungen machen.

Die ersten Anzeichen der Keimung machen sich in ganz ähnlicher Weise geltend wie bei *P. macrosporus*, nur treten sie meist etwas später ein, d. h. erst am 8. oder 10. Tag nach Einrichtung der Kultur. In der zentralen Partie der Chlamydospore verdichtet sich das Plasma, um aber nach einiger Zeit wieder eine gleichmässige Verteilung anzunehmen. Dieser Vorgang dauert ziemlich lange, und zwar spielt er sich meistens in den Nachmittagsstunden ab. Das Auswachsen des Sporangiums vollzieht sich in der Mehrzahl der Fälle Nachts, während das Auswerfen der Sporen im Laufe des Vormittags erfolgt.

Die Chlamydosporenwand springt auf und nun beginnt das Endosporium langsam zu einem langgestreckten Schlauch auszuwachsen. In Form und Dimension ist dieser Schlauch ausserordentlich variabel. Die Länge beträgt im Mittel (bei ausgewachsenen Schläuchen) etwa 120 μ. Die Form ist zuweilen keulenförmig, also am Scheitel etwas verdickt; es kann aber auch das Gegenteil der Fall sein, nämlich dass sich das Sporangium nach oben verjüngt. Etliche Male habe ich auch Sporangien beobachtet, die am Scheitel eigentümlich abgeflacht waren, während dieser sonst kuppelförmig ist.

In eben ausgetretenen Sporangien kann man im Plasma noch keinerlei Differenzierung erkennen; diese beginnt erst später einzutreten. Halten wir uns im Folgenden an eine Beobachtung, die ich in der Nacht vom 18./19. März 1913 gemacht habe.

Um 1 h $^{a.\,m.}$ begannen im Plasma eines Sporangiums Vacuolen aufzutreten und zwar an seiner Basis. (Taf. III, Fig. 2.) Diese nehmen beständig zu, so dass nach etwa einer Stunde, (Taf. III, Fig. 3), in der Chlamydospore eine grosse Vacuole sichtbar ist. Diese Vacuole ist wahrscheinlich so zu Stande gekommen, dass der bis dahin gleichmässig im Plasma des Sporangiums verteilte Vacuolensaft nunmehr nach der Basis hin zusammengeflossen ist. Weiter beobachtet man

nun, dass im Plasma des Sporangiums, das mittlerweilen fast seine definitive Grösse erreicht hat, eine Menge kleiner Vacuolen auftreten. Nach der Mitte zu sind sie meist etwas grösser. Dieses Stadium war um 2^{15} h $^{a.\,m.}$ erreicht. (Taf. III, Fig. 3). Die Vacuolen vergrössern sich mehr und mehr, indem sie verschmelzen. (Taf. III, Fig. 4). Zugleich beginnt das Plasma sich zu einem Wandbelag anzuordnen. Um 3^{30} h $^{a.\,m.}$ waren sämtliche Vacuolen mit der grossen basalen Vacuole vereinigt. Im Wandbelag beginnen einzelne Streifungen aufzutreten, welche radial angeordnet sind, und diesen in einzelne Kammern abzuteilen scheinen. (Taf. III, Fig. 5). Betrachtet man das Sporangium von der Fläche, so kann man sich davon überzeugen, dass es sich um einzelne Plasmaportionen handelt. Sehr bald fangen nun die Portionen an, ihre scharfen Umrisse zu verlieren und verschwommen zu werden. (Taf. III, Fig. 6). Aus dem Wandbelag beginnt sich jetzt eine Masse von groben Körnern heraus zu differenzieren, die sich bald als Sporen zu erkennen geben. Auch hier muss man annehmen, dass die Sporen zwischen zwei Plasmaschichten eingeschlossen sind, denn sie verharren nach ihrer Bildung in der wandständigen Lage, was sonst nicht recht verständlich wäre. Die Sporen zeigen eine wimmelnde Bewegung. Zwischen ihnen und der Sporangiumwand treten Vacuolen auf, die zuerst klein sind und in dem Masse grösser und grösser werden, als die zentrale Vacuole kleiner wird. Offenbar tritt der Vacuolensaft durch die Sporenmasse nach aussen. Besonders an der Basis des Sporangiums treten grosse Vacuolen auf, die nach dem Scheitel hin an Grösse abnehmen, auf diese Weise werden die Sporen zu einem Ball zusammengetrieben. Es ist sehr selten, dass man bei *P. pachydermus* die Plasmaplatten deutlich beobachten kann, welche die einzelnen Vacuolen trennen. Es sind ausserordentlich zarte und feine Gebilde. Lange konnte ich dieselben überhaupt nicht sehen. (Taf. III, Fig. 8). Hie und da bemerkt man einzelne Sporen, die an den Plasmasträngen hängen bleiben.

Bis die Sporen aus dem Sporangium ausgeworfen werden, vergehen oft Stunden; ist dann der Turgor genügend gestiegen, so reisst die Sporangiumwand am Scheitel auf, und der Sporenball wird mit ziemlicher Gewalt eine Strecke weit fortgeschleudert. Das entleerte Sporangium collabiert sehr bald, viel schneller als bei *P. macrosporus*, wo es noch einige Zeit erhalten bleibt.

Der Entwicklungsgang von *P. pachydermus* verläuft also prinzipiell vollständig gleich wie derjenige von *P. macrosporus*. Es besteht nur ein morphologischer Unterschied, der sich darin äussert, dass das Sporangium bei *P. pachydermus* eine zylindrische Form hat, während es bei *P. macrosporus* eine kugelige Blase darstellt.

Es wurden zuweilen Chlamydosporen beobachtet, deren Entwicklungsgang von dem eben beschriebenen wesentlich abweicht. Im Sporangium erfuhr das Plasma nicht die gewohnte Umlagerung, sondern es zerfiel direkt in Sporen. Diese werden aber nur selten ausgeworfen, kopulieren jedoch sehr oft schon im Sporangium. Ich glaubte zuerst in diesen Vorgängen eine abgekürzte Entwicklung des Pilzes zu erkennen. Nach längerer Beobachtung dieser Verhältnisse bin ich zur Ueberzeugung gelangt, dass es sich hier um eine Anomalie handelt, offenbar ein verfrühtes Keimen, denn bei fortschreitender Jahreszeit, d. h. Ende April und im Mai, wurde dieser Vorgang immer seltener beobachtet.

Verfolgen wir noch kurz das Verhalten der ausgeworfenen Sporen, so konstatieren wir, dass diese sich kurz nach dem Austritt aus dem Sporangium paarig nähern, um durch kleine Querbrücken zu kopulieren. (Taf. III, Fig. 10). Ueber die stark lichtbrechenden Körper, die auch

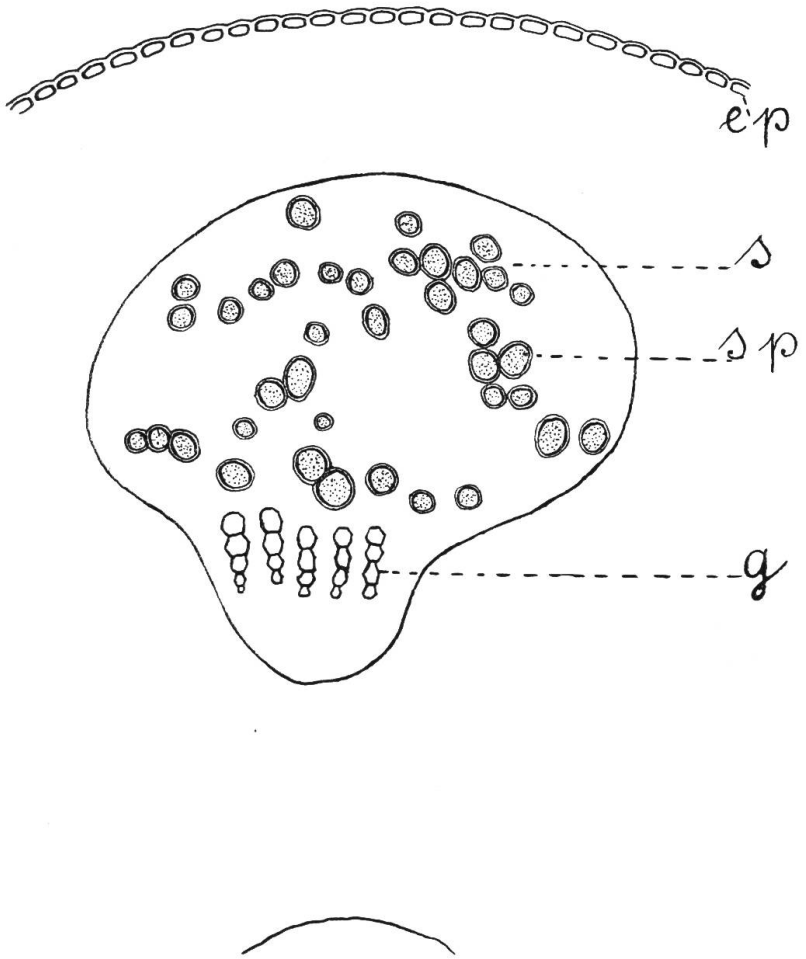


Fig. 4. Querschnitt durch einen Blütenschaft von *Taraxacum officinale*. *Protomyces*-Sporen sind auf den Siebteil des Gefässbündels lokalisiert. ep = Epidermis, s = Siebteil, sp. = Sporen, g = Gefässe. Vergr. za. 75.

hier im Inhalt der Sporen auftreten, gelten die gleichen Ausführungen, die ich über diesen Gegenstand bei *P. macrosporus* durchgeführt habe.

Im Wasser erleiden die Sporen keine merkliche Veränderung, dagegen sprossen sie ausserordentlich reichlich in geeigneten Nährlösungen, wie z. B. Pflaumendekokt oder Bierwürze. Solche Kulturen sind bereits von Brefeld und von Tavel (1) ausgeführt worden. In den Sprosskolonien sind hier kugelig angeschwollene Zellen keine Seltenheit. (Taf. III, Fig. 11). Ich habe beobachtet, dass Sporen, welche nach dem Auswerfen sofort in eine Nährlösung gelangen, ungehindert kopulieren. Bei *P. macrosporus* scheint es vollständig gleichgültig zu sein, ob die Sporen in Wasser oder in Nährlösung gelangen, in beiden Medien kopulieren sie gleich gut. Bei *P. pachydermus* scheinen etwas mehr Sporen vereinzelt zu bleiben, wenn sie direkt in eine Nährlösung anstatt in Wasser gelangen.

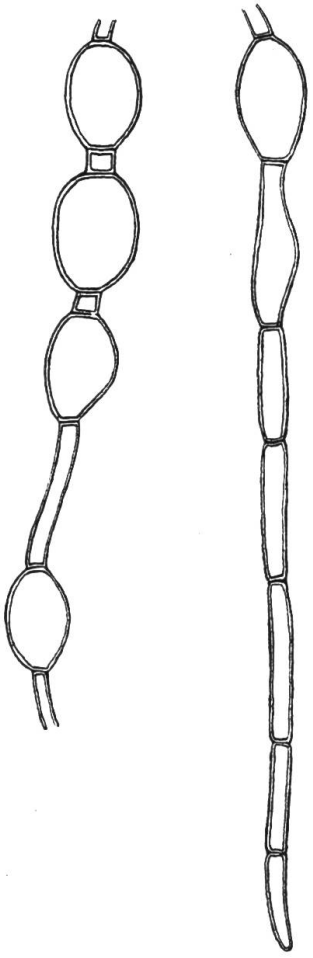


Fig. 5. Mycel mit interkalar gebildeten Chlamydosporen von *Protomyces pachydermus* nach lebendem Material. Vergr. za. 340.

Gelangen die Sporen auf eine ihnen zusagende Nährpflanze, also auf *Taraxacum officinale* im speziellen Fall, so wird ein Keimschlauch getrieben. Das Mycel verzweigt sich sehr reichlich unter der Epidermis. Durch Behandlung mit Chlorzinkjod lassen sich die Mycelstränge sehr schön violett färben. Das Mycel ist nun hier immer auf die Gefässbündel des Wirtes beschränkt und zwar ausschliesslich auf den Siebteil. Fig. 4, S. 21. Hier sind natürlich die Ernährungsbedingungen des Pilzes am günstigsten. Er bewohnt also hier vorherrschend die tieferliegenden Gewebepartien seines Wirtes, was die Tatsache verständlich macht, dass die Schwielen nur dann auf der Pflanze gut sichtbar sind, wenn letztere sehr stark befallen ist. Andernfalls ist die Infektion schwer zu erkennen und es braucht dann ziemlich Uebung, um den Pilz zu finden. Einzelne Mycelzellen schwellen an und bilden, nachdem sie sich mit einer festen Membran umgeben haben, die Dauersporen, Fig. 5. Indem die Sporen auswachsen, verdrängen sie das umliegende Gewebe des Wirtes, wodurch eine allgemeine Dilatation hervorgerufen wird, die sich in der schwielenartigen Erhebung an der Oberfläche der Pflanze geltend macht.

Bei *P. pachydermus*, ebenso wie bei dem später zu besprechenden *P. kreuthensis*, sind zuweilen Mycelverzweigungen am ausgewachsenen Mycel zu beobachten. Die Verzweigungsstelle war meist über einer Chlamydospore gelegen. Fig. 6 und 7.

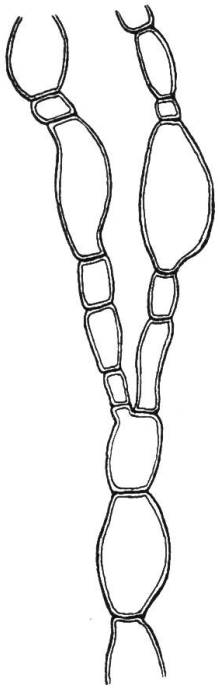


Fig. 6. Verzweigung im Mycel von *P. pachydermus* nach einem Milchsäurepräparat. Vergr. za. 340.

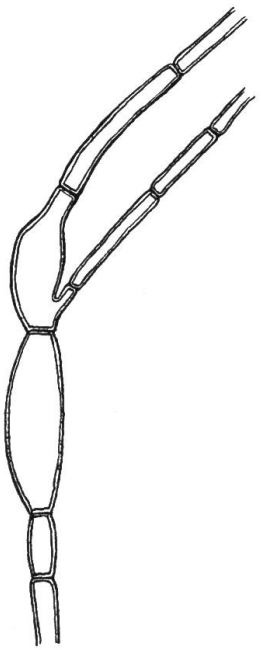


Fig. 7. Verzweigung im Mycel von *P. pachydermus* nach einem Milchsäurepräparat. Vergr. za. 340.

Untersuchungen am fixierten und gefärbten Material von Protomyces pachydermus.

Bei der cytologischen Untersuchung von *P. pachydermus* wurden genau dieselben Verfahren angewendet, wie ich sie bei der Betrachtung von *Protomyces macrosporus* beschrieben habe.

Hier liegen die Verhältnisse viel übersichtlicher, indem die Kerne bedeutend grösser sind. Man kann deutlich einen Nucleolus und eine Kernhöhle unterscheiden. Chromatin kann allerdings kaum wahrgenommen werden.

Das Episporium der Sporenmembran lässt sich bei Anwendung der Pianese-Färbung graugrün färben, während das Meso- und Endosporium eine rötliche Tönung annehmen. Der Inhalt der ruhenden Chlamydospore führt ein netzig beschaffenes Plasma, in welchem die Kerne gleichmässig verteilt sind. (Tafel IV, Fig. 1). Das Stadium, welches der Keimung unmittelbar vorangeht, lässt nichts besonderes erkennen, nur dass das in der centralen Partie der Spore angehäufte Plasma den Farbstoff sehr stark speichert. Im Sporangium, das im

Begriff ist, aus der Chlamydospore auszuwachsen, hat das Plasma noch eine feinnetzige Struktur. An der Basis des Sporangiums d. h. an demjenigen Teil, der noch in der Chlamydospore steckt, beginnt das Plasma schon sehr bald eine gröbere Struktur anzunehmen. Die Kerne ziehen sich mehr in den schon ausgetretenen Teil des Sporangiums zurück. In der gröber beschaffenen Partie beginnen Vacuolen aufzutreten. (Tafel IV, Fig. 2). Diese bilden, nachdem sie verschmolzen sind, die grosse Vacuole, welche die ganze Chlamydospore erfüllt. (Tafel IV, Fig. 3). In diesen Stadien bekommt man oft sehr instruktive Bilder über das Verhalten der einzelnen Schichten der Membran zu sehen. Das Endosporium hat sich zuweilen, wahrscheinlich unter dem Einfluss der Fixierungsflüssigkeit, etwas vom Mesosporium zurückgezogen, dem es sonst fest anliegt, sodass es wie ein Sack in die Chlamydospore hineingezogen scheint. (Tafel IV, Fig. 3 u. 4). An der Risstelle der Chlamydosporenwand sieht man noch eine feste Verbindung zwischen Endo- und Mesosporium bestehen. In (Tafel IV, Fig. 3) ist dieser Zusammenhang allerdings nicht zu erkennen, was auf eine Beschädigung durch das Mikrotommesser zurückzuführen ist. An fixierten und gefärbten Präparaten kann die Vacuolenbildung ebenfalls sehr schön verfolgt werden. (Tafel IV, Fig. 5). Wenn wir die Grösse der Kerne in diesem Stadium ins Auge fassen, so sehen wir, dass sie im Vergleich zu den vorangegangenen Stadien etwas kleiner sind, auch scheint ihre Zahl zugenommen zu haben. Dies legt den Schluss nahe, dass offenbar Teilungen stattgefunden haben.

Den Wandbelag können wir an Mikrotomschnitten sehr gut studieren. Die einzelnen Portionen geben sich als nackte Zellen zu erkennen, die unter sich durch einen schmalen Zwischenraum getrennt sind. Ob eine Zwischensubstanz vorhanden ist, konnte ich nicht mit Sicherheit nachweisen. Jede Portion ist mit einem Kern versehen. (Tafel IV, Fig. 6). An Flächenbildern (Schnitte, welche das Sporangium tangiert haben) erhalten wir noch weiteren Aufschluss über das Verhalten dieser einkernigen Plasmaportionen. (Tafel IV, Fig. 7). Sehr oft konnten in denselben 2, 3 und 4 Kerne beobachtet werden. (Tafel IV, Fig. 8, 9, 10 u. 11). Es ist mir leider niemals gelungen, Teilungsbilder des primären Kerns zu beobachten, auch habe ich nie Stadien gesehen, die eine Aufteilung der 4 kernigen Zellen in 4 einkernige Zellen gezeigt hätten. Ich glaube aber dessenungeachtet mit Sicherheit annehmen zu dürfen, dass auch hier die Sporen in derselben Weise angelegt werden, wie ich es für *P. macrosporus* nachweisen konnte. Dafür spricht schon der Umstand, dass die Sporen etwa viermal kleiner sind als die Plasmaportionen. Wir hätten also auch hier in den wandständig gelagerten Plasmaportionen Sporenmutter-

zellen zu erblicken. Die fertig ausgebildeten Sporen sind einkernig. (Tafel IV, Fig. 12 und 12 a). Es war mir auch hier nicht möglich, eine innere Plasmahaut nachzuweisen. Aussen konnte zuweilen zwischen Sporen und Sporangiumwand ein feiner Streifen von Plasma gesehen werden.

Ueber das Verhalten der kopulierten Sporen habe ich nichts Neues hinzuzufügen. Die gefärbten Präparate haben keine anderen Feststellungen zu machen gestattet, als diejenigen, welche am Material von *P. macrosporus* gewonnen wurden.

Um einen Vergleich der Sporenproduktion zwischen *P. pachydermus* und *P. macrosporus* zu haben, versuchte ich die Sporenzahl der erstgenannten Spezies auch auf rechnerischem Weg zu bestimmen. Da hier das Sporangium nicht eine regelmässige Form hat, so musste bei der Berechuung ein anderer Weg eingeschlagen werden, als bei der vorigen Spezies. Ich fand, dass der Sporenball einen ziemlich konstanten Durchmesser von 15 μ hat. Ferner haben die Sporen eine sehr konstante Grösse. Die Länge beträgt 4,5 μ, die Breite 3 μ. Um die Berechnung zu vereinfachen, betrachten wir die Sporen als kleine Kugeln, und nehmen für diese einen mittleren Durchmesser von 3,75 μ an.

$$\frac{\text{Volumen der Sporenkugel}}{\text{Volumen der Spore.}} = \text{Anzahl der Sporen.}^{1})$$

Setzt man in die obige Formel die entsprechenden Werte ein, so findet man, dass das Sporangium ungefähr 750 Sporen produziert; also ca. 100 Sporen weniger als bei *P. macrosporus*.

Die Mycelzellen von *P. pachydermus* sind vielkernig. Leider treten uns die Kerne hier wieder nur als Chromatin-Flecken entgegen. (Tafel IV, Fig. 14, 15 u. 16). In den jungen Chlamydosporen lassen einzelne Bilder auf Kernpaarungen schliessen, aber man kann über sie die gleichen Zweifel hegen wie bei *P. macrosporus*. Sind es wirklich Kernpaarungen oder werden solche durch eine eben vollzogene Teilung vorgetäuscht?

Einzelne Bilder wie z. B. Taf. V, Phot. 5, lassen eher auf eine Kernteilung schliessen, indem die Kerne durch feine Fortsätze untereinander in Verbindung zu sein scheinen (Chlamydospore oben). Andere Bilder scheinen wieder deutlich auf eine Paarung hinzuweisen. Es sei dem Leser überlassen nach den Taf. V, Phot. 4—6, die Frage zu entscheiden. Die Kleinheit der Kerne ist eben bei der Beurteilung der Sache sehr hinderlich.

[1]) Dabei sind natürlich kleine Zwischenräume zwischen den Sporen ausser Acht gelassen. Der Fehler dürfte aber nicht allzu gross sein, da die Sporen ausserordentlich dicht liegen.

Fig. 8. Interkalar entstandene Chlamydosporen von *P. kreuthensis Kühn.* Vergr. za. 340.

Es bleibt mir nur noch übrig, darauf hinzuweisen, dass sich die anderen compositenbewohnenden *Protomyces*-Arten, die ich untersucht habe, in ihrem Entwicklungsgang vollständig demjenigen von *P. pachydermus* anschliessen, nur ist die Verteilung der Chlamydosporen im Gewebe des Wirtes etwas verschieden, wie unten erläutert werden soll. Es sind das die folgenden:

γ P. kreuthensis Kühn. auf Aposeris foetida.

Sporenkeimung wie bei *P. pachydermus*. Mycel und Chlamydosporen auf den Siebteil beschränkt. Chlamydosporen interkalar entstehend. (Text-Fig. 8). Schwielen hellgelb.

δ P. pachydermus auf Crepis paludosa.

Sporenkeimung wie bei *P. pachydermus*. Chlamydosporen interkalar entstehend, besonders im Siebteil, aber hier auch im Grundgewebe des Stengels der Nährpflanze (Text-Fig. 9), während die Sporen von *P. pachy-*

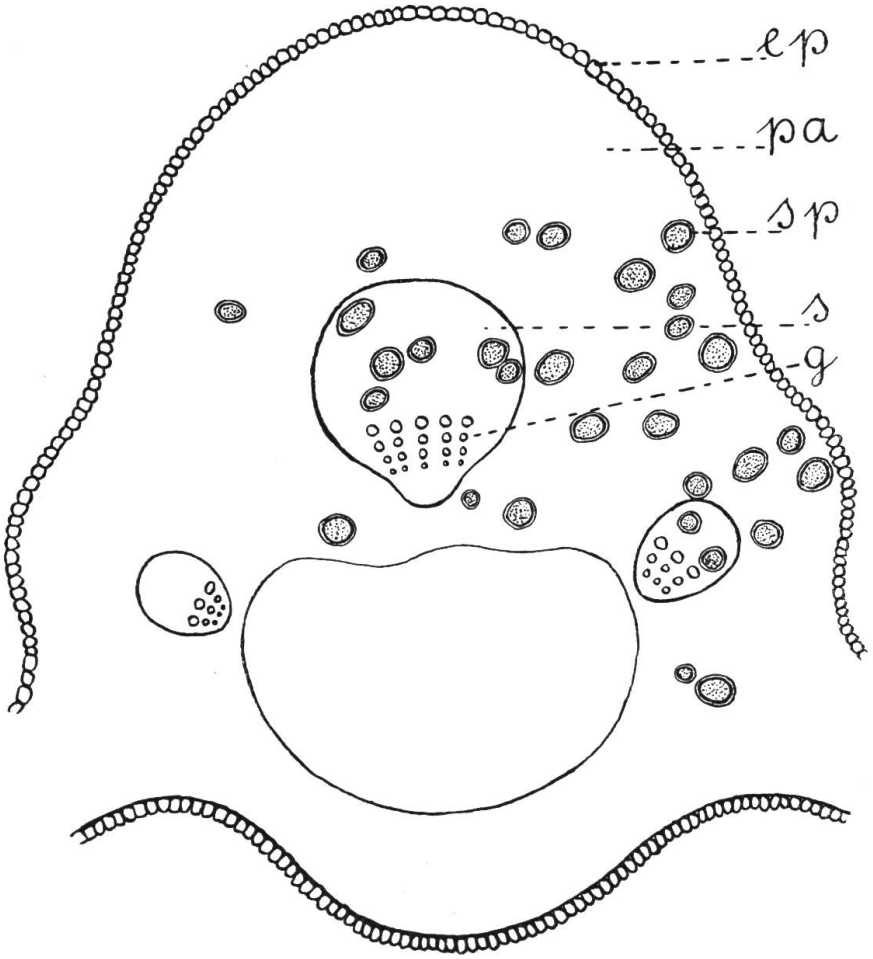
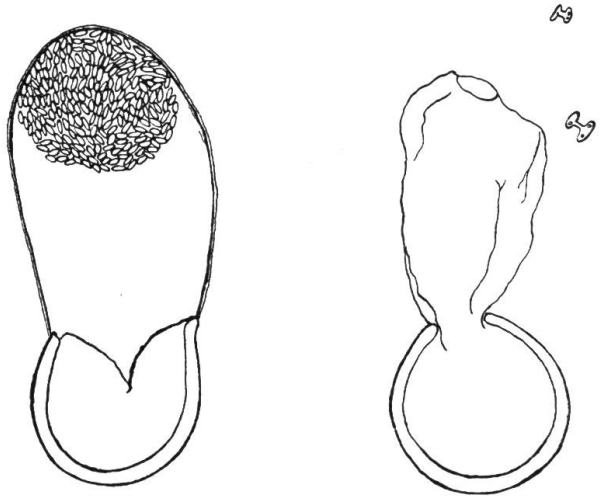


Fig. 9. Stengelquerschnitt von *Crepis paludosa* mit *Protomyces* infiziert. Infektion im Siebteil und Grundparenchym. ep = Epidermis, pa = Parenchym, sp = Sporen, s = Siebteil, g = Gefässe. Vergr. za. 75.

dermus auf *Taraxacum* und diejenigen von *P. kreuthensis* auf *Aposeris* auf den Siebteil ihrer Nährpflanzen beschränkt bleiben. Schwielen meist nur klein von bräunlicher Farbe.

ε P. pachydermus auf Crepis biennis.

Sporenkeimung gleich wie oben. (Text-Fig. 10 a u. b).



a b

Fig. 10. a. Gekeimte Spore von *P. pachydermus* auf *Crepis biennis*. Am Scheitel Sporenball. Vergr. za. 340. b. Entleertes Sporangium und kopulierte Sporen. Nach lebendem Material gezeichnet. Vergr. za. 340.

Fig. 11. Chlamydosporen von *P. pachydermus* auf *Crepis biennis*. Nach lebendem Material. Vergr. za. 340.

Chlamydosporen interkalar im Mycel entstehend. (Text-Fig. 11). Infektion sich nicht in Form von Schwielen äussernd, sondern nur gelbliche Flecken auf den Blattspreiten erzeugend. Die Sporen liegen im Gefässbündel; bei starker Infektion findet man sie mitunter auch im Schwammgewebe des Blattes.

«Protomyces inundatus Dangeard».

Dieser Pilz wurde zum erstenmal im Jahre 1897 von Sappin-Trouffy (1) unter dem Namen *Protomyces macrosporus Unger* beschrieben. Wir ersehen aus dieser Arbeit etwa folgendes: Das Mycel verläuft intercellular im Gewebe des Wirtes; seine Zellen sind vielkernig. Die Dauersporen werden interkalar angelegt. Diese Befunde stimmen auch vollkommen mit denjenigen überein, welche wir bei unseren Untersuchungen machen konnten.

Nun werden aber in diesen Chlamydosporen, nach der Beschreibung und den Figuren von Sappin-Trouffy zu urteilen, die Sporen im Innern gebildet, ohne dass das Endosporium zu einer Blase auswächst. Ueber die weiteren Vorgänge spricht sich dieser Autor nicht

aus, er stellt nur fest, was auch ganz zutreffend ist, dass der vorliegende Organismus weder ein *Entyloma* noch ein *Exoascus* sei.

Was uns hier am meisten auffällt, ist der Umstand, dass die Chlamydospore ihr Endosporium nicht austreten lässt, und dass Sappin-Trouffy dennoch diesen Pilz ohne weiteres mit *Protomyces macrosporus Unger* identifiziert, um so mehr, als ihm die Arbeit von DeBary schon bekannt war, da er sie citiert. Frl. Popta hat auf letzteres schon aufmerksam gemacht (l. c. p. 30). Sporenbildung im Innern der Chlamydospore von *P. macrosporus* haben weder sie noch ich jemals beobachtet.

Im Jahre 1903 erschien dann ein Aufsatz von Dangeard (1) «Les ancêtres des champignons supérieurs», in welchem ein Kapitel ausführlich von der Gattung *Protomyces* handelt. Dieser Arbeit entnehmen wir folgende interessante Tatsachen:

Wir stellen zunächst fest, dass Dangeard ausdrücklich sagt, das Material, welches seinen Untersuchungen zugrunde lag, sei von gleicher Herkunft, wie dasjenige, welches Sappin-Trouffy verwendet hatte. Ferner sagt er, dass ihm die Zeit unbekannt sei, in welcher das Material gesammelt wurde. Die Untersuchung Dangeards kann also als eine Ergänzung derjenigen von Sappin-Trouffy gelten. Dangeard hat aber offenbar niemals lebendes Material des betreffenden Pilzes untersucht. Diese Tatsachen sind für unsere weiteren Betrachtungen wichtig.

Der in Frage stehende Pilz lebt auf *Helosciadium nodiflorum (Apium nodiflorum)*, einer wasserbewohnenden Umbellifere, wo er kleine scharfumgrenzte Flecken auf den Blattspreiten verursacht. Das Mycel entwickelt sich im Blattparenchym, wo es sich reichlich verzweigt. Dangeard hebt hervor, die Hyphen seien verschieden dick. Die Mycelzellen sind einkernig. Die Chlamydosporen entstehen interkalar, aber nur in den dicken Mycelsträngen. Sie erfüllen besonders das Mesophyll des Blattes.

Von den Dauersporen und der Bildung der Sporen gibt Dangeard folgende Darstellung. Die junge Chlamydospore zeigt am Rand einen Ring von Vacuolen, während sie im Innern von einem Plasma von netziger Struktur erfüllt ist, welches in diesem Stadium ungefähr 30 bis 40 Kerne enthält. In einem späteren Stadium sollen dann im Zentrum der Chlamydospore Vacuolen auftreten, die das Plasma samt seinen Kernen an die Wand drängen, so dass ein protoplasmatischer Wandbelag entsteht. Unterdessen haben die Kerne eine beträchtliche Vermehrung erfahren, indem sie sich 3—4mal geteilt haben. Dangeard schätzt ihre Zahl auf ca. 200. Die Sporen sollen nun hier so entstehen, dass der Wandbelag in so viele Portionen zerfällt, als Kerne

vorhanden sind. Die einkernigen Sporen sind dann in zwei oder drei Schichten angeordnet.

Alle diese Vorgänge spielen sich im Innern der Chlamydospore ab. Dangeard sagt nun, dass die Sporen durch Aufreissen der Membran frei werden, lebendes Material hat er aber nicht untersucht, wie wir aus den einleitenden Worten seiner Arbeit ersehen.

Es wäre meiner Ansicht nach eben doch sehr wohl möglich, dass diese Chlamydosporen ihren Inhalt nicht in situ entleeren, wie Dangeard meint, sondern dass sie vielleicht erst, nachdem sie durch Verwesung der Wirtspflanze frei geworden sind, und eventuell auch eine Ruheperiode durchgemacht haben, ein Endosporium austreten lassen. Die Sporen könnten trotzdem schon früher im Innern der Chlamydospore fertig ausgebildet werden. Wir werden sehen, dass dieser Fall bei *Volkartia* realisiert ist, wo die Sporen nach ihrer Bildung in einen auswachsenden Schlauch treten, um erst von da ins Freie entlassen zu werden. Die aufgerissene Chlamydospore, die der Autor abbildet, könnte eben auch durch das Mikrotommesser beschädigt worden sein. Auf jeden Fall kann diese Frage nur an Hand von lebendem Material sicher entschieden werden.

Meine Bemühungen, solches Material zu erhalten, sind leider bis jetzt erfolglos geblieben. An Herbarmaterial gelang es vermittelst Erwärmen in Milchsäure festzustellen, dass tatsächlich die Sporen schon in den Chlamydosporen ausgebildet sind. Ferner lässt sich die Sporenmembran mit Chlorzinkjod violett färben, wie das bei allen typischen *Protomyces*-Arten der Fall zu sein pflegt. Ein Versuch, das betreffende Herbarmaterial in Paraffin einzubetten, blieb leider ganz erfolglos.

Dangeard schlägt nun für diesen Pilz den Namen *Protomyces inundatus* vor, insofern man denselben zu einer besonderen Spezies zu erheben wünscht. Vorausgesetzt aber, dass die Sporen wirklich an der Peripherie der Chlamydospore entstehen und dass das Endosporium, wie Dangeard annimmt, nicht austritt, so haben wir hier einen sehr ähnlichen Entwicklungsgang vor uns, wie bei *Taphridium algeriense*. Aus diesem Grund möchte ich den Vorschlag machen, es sei *Protomyces inundatus* in die Gattung *Taphridium* zu stellen. Es würde demnach dieser Pilz als *Taphridium inundatum* zu bezeichnen sein.

Bei einer Nachuntersuchung muss dann auch besondere Sorgfalt auf das Studium des Wandbelages gelegt werden, damit man mit Sicherheit feststellen kann, ob die Sporen hier auch aus Sporenmutterzellen entstehen, die an der Peripherie der Chlamydospore gelegen sind. Die Untersuchungen von Dangeard geben über diesen Punkt nicht genügend Aufschluss.

c. Biologie von Protomyces.

Da *Protomyces*-Arten auf vielen Wirten bekannt sind, schien es angezeigt, durch einige Experimente ihre biologischen Verhältnisse etwas näher zu untersuchen. Ein Anfang in dieser Richtung war bereits durch C. Popta (1. p. 30—32) gemacht worden.

Aus der Mycologie sind uns mannigfaltige Beispiele bekannt, bei welchen Pilze in ihren morphologischen Charakteren völlig identisch zu sein scheinen, sich aber bei Prüfung ihres biologischen Verhaltens als verschieden erweisen. Die morphologischen Arten müssen dann in biologische Arten und Formen aufgelöst werden.

So hatte ich z. B. gefunden: *Protomyces macrosporus* auf *Aegopodium Podagraria*, *Heracleum Sphondylium*, *Laserpitium latifolium*, *Carum Carvi*, *Chaerophyllum hirsutum*. Die Sporen aller dieser Formen waren morphologisch absolut nicht voneinander zu unterscheiden, selbst die Art und Weise der Keimung gestattete keinen Unterschied zu konstatieren. Die Grösse der Sporen ist viel zu schwankend, als dass man hierin ein morphologisches Merkmal erblicken könnte. Auf *Compositen* sammelte ich ebenfalls verschiedene Formen: *Protomyces pachydermus* auf *Taraxacum officinale* und *Crepis paludosa*, ferner auf *Crepis biennis*. Dann *P. kreuthensis* auf *Aposeris foetida*. Auch die Sporen dieser Formen lassen keine morphologischen Unterschiede erkennen.

Vorerst sei einiges über die Anordnung der Versuche mitgeteilt.

Da, wie schon erwähnt, die Chlamydosporen vor der Keimung einer Winterruhe bedürfen, so musste schon im Herbst des Vorjahres jeweilen auf das Sammeln von Material Bedacht genommen werden. Die mit dem Pilz befallenen Pflanzenteile wurden behufs Ueberwinterung in kleine Tuchsäckchen gebracht. Die Ueberwinterung hat unter möglichst natürlichen Bedingungen zu geschehen, da sonst im Frühjahr die Keimung beeinträchtigt wird. Zu diesem Zweck wurden die Säcke im Freien (schattiger Ort) an Holzstangen aufgehängt, die ca. 30 cm über dem Boden an Holzpfählen befestigt waren. Ende März oder anfangs April, wenn nasse und milde Tage kamen, wurden die Säcke unter ein Vordach gehängt, wo sie den Niederschlägen nicht direkt ausgesetzt waren. Bei zu grosser Feuchtigkeit müsste man man nämlich in dieser Jahreszeit ein vorzeitiges Keimen der Sporen in den schon halb verwesten Pflanzenteilen befürchten.

Vor dem Ansetzen eines Versuches wurde nun das Material einige Stunden in Wasser aufgeweicht. War diese Operation genügend fortgeschritten, so konnten mit Leichtigkeit die Stellen erkannt werden, die mit *Protomyces*-Schwielen behaftet waren. Diese wurden mit einer Pinzette zerzupft und das so gewonnene Sporenmaterial in Uhrschalen

gebracht und mit etwas Wasser versetzt. Das sporenhaltige Wasser wurde nun auf die Pflanzen gestrichen.

Nachdem die Pflanzen gehörig mit Sporen bestrichen worden waren, wurden sie mit einer von feuchtem Filtrierpapier ausgekleideten Glasglocke bedeckt, während 4—5 Tagen darunter genügend feucht gehalten und nachher in ein Gewächshaus gebracht. Dass alle diese Manipulationen mit der grössten Vorsicht geschahen, um jegliche Verunreinigung mit fremdem Sporenmaterial zu verhüten, ist selbstverständlich.

Die Versuchspflanzen waren zum grössten Teil von mir selber im Freien ausgegraben worden und in Töpfen im Botanischen Garten weiter kultiviert. Solche Pflanzen, welche im Freien nicht gut zu erlangen waren, bezog ich von der Firma Haage & Schmidt in Erfurt. Die Samen, aus denen ein weiterer Teil der Versuchspflanzen erzogen wurden, stammten auch von der eben genannten Firma. *Die Kontrollpflanzen, welche ich in ziemlich grosser Zahl hatte, blieben während der ganzen Dauer der Versuche ganz gesund.*

a Umbelliferenbewohnende Protomyces-Arten.

Es kam mir darauf an, erstens einmal festzustellen, ob die auf den verschiedenen *Umbelliferen*-Wirten lebenden *Protomyces*-Formen an ihre Nährpflanzen gebunden seien, ob sie verschiedene biologische Arten darstellen. Es wurden aber auch einige *Umbelliferen* auf die Empfänglichkeit gegenüber *Protomyces* geprüft, die in der Natur nicht mit dem Pilz behaftet gefunden werden.

Protomyces macrosporus Unger kommt nach den Angaben der Floren auf verschiedenen Umbelliferen vor. Bis jetzt ist nur der auf *Aegopodium Podagraria* lebende *Pr. macrosporus* durch Popta (1. pag. 30—32) auf sein biologisches Verhalten etwas näher geprüft worden. Es konnte von dieser Autorin festgestellt werden, dass diese auf *Aegopodium* lebende *Protomyces*-Form eine gewisse Wahl in Bezug auf ihren Wirt trifft. Es wurden verschiedene Umbelliferen befallen, während andere gesund blieben.

Es standen mir nun folgende Formen zur Verfügung, mit denen ich die im Folgenden beschriebenen Versuche ausgeführt habe.

1. Die Form auf *Aegopodium Podagraria.*
2. » » » *Heracleum Sphondylium.*
3. » » » *Chaerophyllum hirsutum.*
4. » » » *Laserpitium latifolium.*
5. » » » *Carum Carvi.*

1. Versuche mit der Form auf Aegopodium Podagraria.

Versuchsreihe I.

Eingeleitet am 25. März 1913.

Infektionsmaterial: Chlamydosporen auf *Aegopodium Podagraria*, die am 11. März 1913 an der «Schütte» bei Bern gesammelt wurden.

Versuchspflanzen:

No. 1. *Aegopodium Podagraria*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern
No. 2. *Torilis Anthriscus*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.
No. 3. *Pastinaca sativa*, im Frühjahr 1913 aus Samen von Haage & Schmidt in Erfurt gezogen.
No. 4. *Heracleum Sphondylium*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.

Es wurden folgende Beobachtungen gemacht bei Kontrollen am 15., 22. April und am 17. Mai:

No. 1. *(Aegopodium Podagraria).* Am 15. April sind an den Stengeln und an den Blattrippen ziemlich starke Schwielen. Am 22. April sind auch kleine Schwielen auf den sekundären und tertiären Blattrippen.
No. 2. *(Torilis Anthriscus)* blieb gesund.
No. 3. *(Pastinaca sativa)* zeigt am 22. April kleine Schwielen, die am 17. Mai bedeutend grösser geworden sind. Blattstiel und Blattrippen sind infiziert.

In diesem Versuch wurde also die Empfänglichkeit von *Pastinaca sativa* für den auf *Aegopodium Podagraria* lebenden *Protomyces* gezeigt.

Versuchsreihe II.

Eingeleitet am 21. April 1913.

Infektionsmaterial: Dauersporen auf *Aegopodium Podagraria*, die am 27. Oktober 1912 an der «Schütte» bei Bern gesammelt wurden.

Versuchspflanzen:

No. 1—2. *Torilis Anthriscus*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 3—4. *Heracleum Sphondylium*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.
No. 5—7. *Aegopodium Podagraria*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.
No. 8—9. *Astrantia major*, Grimmialp ausgegraben.
No. 10—12. *Pimpinella Saxifraga*, im Frühjahr 1913 aus Samen von Haage & Schmidt in Erfurt gezogen.
No. 13—15. *Daucus Carota*, Sämlinge.
No. 16—18. *Pastinaca sativa*, Sämlinge.
No. 19—21. *Carum Carvi*, Sämlinge.

Resultat:

No. 1. *(Torilis Anthriscus)* zeigt am 17. Mai an den Blattstielen einige Schwielen.

No. 2. *(Torilis Anthriscus)* zeigt am 17. Mai ein gleiches Verhalten wie No. 1.

No. 3—4. *(Heracleum Sphondylium)* bleiben pilzfrei.

No. 5. *(Aegopodium Podagraria)* zeigt am 2. Juni an Stengel und Blattrippen Schwielen.

No. 6. *(Aegopodium Podagraria)* zeigt am 8. Mai Schwielen.

No. 7. *(Aegopodium Podagraria)* bleibt gesund.

No. 8—9. *(Astrantia major)* bleiben gesund.

No. 10—12. *(Pimpinella Saxifraga)* bleiben gesund.

No. 13—15. *(Daucus Carota)* bleiben gesund,

No. 16. *(Pastinaca sativa)* zeigt am 2. Juni Infektion an den Blattstielen.

No. 17. *(Pastinaca sativa)* zeigt am 13. Mai schwache Infektion, am 23. Mai ist diese sehr stark. Bedeutende Schwielen besonders an den Blattrippen.

No. 18. *(Pastinaca sativa)* bleibt gesund.

No. 19. *(Carum Carvi)* am 2. Juni eine kleine Schwiele auf der Rippe eines Cotyledo. Die Sämlinge waren sehr schwach geblieben.

No. 20. *(Carum Carvi)* bleibt gesund.

No. 21. *(Carum Carvi)* zeigt am 19. Mai eine kleine Schwiele an einem Cotyledo.

Aus dieser Versuchsreihe ersehen wir auch wieder, dass *Pastinaca sativa* für den auf *Aegopodium Podagraria* lebenden *Protomyces* empfänglich ist. Ferner scheinen die Cotyledonen der *Carum*pflanzen einer Infektion zugänglich zu sein, allerdings nur ganz schwach, denn auf den vielen Keimlingen, die sich in den drei Töpfen befanden, wurden nur zwei von *Protomyces* befallen gefunden. Ferner ist auch empfänglich *Torilis Anthriscus*. Die anderen Pflanzen blieben gesund.

Versuchseihe III.

Eingeleitet am 15. April 1914.

Infektionsmaterial: Dauersporen auf *Aegopodium Podagraria*, die am 6. September 1913 bei Trimmis (Graubünden) gesammelt worden waren.

Versuchspflanzen.

No. 1—3. *Aegopodium Podagraria*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.

No. 4—7. *Heracleum Sphondylium*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.

No. 8—10. *Chaerophyllum aureum*, von Haage & Schmidt bezogen.
No. 11—13. *Pastinaca sativa*, im Frühjahr 1913 aus Samen gezogen.
No. 14—15. *Daucus Carota*, im Frühjahr aus Samen gezogen.
No. 16—17. *Carum Carvi*, wie oben.

Es zeigte sich bei:

No. 1. *(Aegopodium Podagraria)* am 4. Mai Infektion am Blattstiel.
No. 2. *(Aegopodium Podagraria)* am 4. Mai ebenfalls Schwielen am Blattstiel.

Alle anderen Pflanzen der Versuchsreihe blieben gesund.

Aus dieser Reihe können wir keine weittragenden Schlüsse ziehen, höchstens können wir sagen, dass die Infektion von *Pastinaca* weniger regelmässig gelingt als diejenige auf *Aegopodium* selber.

Versuchsreihe IV.

Eingeleitet am 12. Mai 1914.

Infektionsmaterial: Dauersporen auf *Aegopodium Podagraria*, die im September 1913 an der «Schüttę» bei Bern gesammelt worden waren.

Versuchspflanzen.

No. 1. *Aegopodium Podagraria*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern,
No. 2. *Chaerophyllum hirsutum Ssp. Cicutaria* bei Röthenbach (Emmenthal) ausgegraben.

Diese kleine Versuchsreihe sollte eine Ergänzung sein zu einem Versuch, den wir noch später besprechen werden.

Das Resultat war folgendes:

No. 1. *(Aegopodium Podagraria)* zeigte am 13. Juni sehr starke Infektion.
No. 2. *(Chaerophyllum hirsutum Ssp. Cicutaria)* blieb vollständig gesund.

Wir werden später auf diese Versuchsreihe zurück zu kommen haben.

Versuchsreihe V.

Eingeleitet am 19. Juni 1914.

Infektionsmaterial: Dauersporen auf *Aegopodium Podagraria*, die am 6. September 1913 bei Trimmis (Graubünden) gesammelt worden waren.

Versuchspflanzen:

No. 1—2. *Aegopodium Podagraria*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.
No. 3—4. *Carum Carvi*, im Frühjahr 1914 aus Samen gezogen. In den beiden Töpfen waren eine grosse Anzahl von Pflänzchen.

Resultat:

No. 1. *(Aegopodium Podagraria)* zeigte am 8. Juli eine sehr starke Infektion.

No. 2. *(Aegopodium Podagraria)* zeigte am 8. Juli ebenfalls eine starke Infektion.

No. 3—4. *(Carum Carvi)* blieben vollständig gesund.

Dieser Versuch sollte Versuchsreihe II ergänzen. Wir erinnern uns, dass dort in zwei Fällen *Carum*cotyledonen infiziert worden waren. Nun sehen wir, dass eine Infektion weiter entwickelter Pflanzen nicht möglich zu sein scheint. Vielleicht war dort der Schwächezustand der Keimlinge an der Infektion schuld.

Es sei an dieser Stelle gleich noch von zwei weiteren Versuchsreihen die Rede. Diese hatten den Zweck, die Frage einer Lösung entgegen zu bringen, ob der auf *Aegopodium Podagraria* lebende *Protomyces macrosporus* nicht im Stande sei, *Heracleum Sphondylium* zu befallen. Die Versuche aus dem Sommer 1913 hatten schon wahrscheinlich gemacht, dass das nicht der Fall sein werde.

Versuchsreihen VI und VII.

Im Garten meines Vaters ist unter einer Baumgruppe ein dichter Bestand von *Aegopodium*-Pflanzen. Diese sind Jahr für Jahr sehr stark von *Protomyces* befallen. Im Spätherbste (15. und 17. November 1913), nachdem die *Aegopodium*-Pflanzen durch die ersten Fröste abgestorben waren, pflanzte ich unter diese Stöcke solche von *Heracleum Sphondylium* und zwar auf möglichst engem Raum zusammen. Diese Anpflanzungen, Versuchsreihen VI und VII, waren in zwei Gruppen angeordnet. Dieselben waren etwa 4 m auseinander gelegen und wurden mit Holzrahmen umgeben, die mit Pfählen im Boden verankert wurden. Die Holzrahmen hatten den Zweck, die infizierten Pflanzenteile, welche ich noch auf die betreffende Stelle anhäufte, wo die Pflanzen im Frühjahr hervorwachsen mussten, den Winter hindurch beisammen zu halten. (Die angehäuften Pflanzenteile stammten also von *Aegopodium*, das von *Protomyces* befallen war.) Das Ganze wurde mit einigen Tannenzweigen gedeckt, um zu verhindern, dass der Wind oder Tiere das Material wegtragen könnten.

Am 21. April 1914, als die *Aegopodium* und die *Heracleum*-Pflanzen sich schon stattlich entwickelt hatten, wurden die beiden Versuche einer genauen Kontrolle unterworfen.

Das Resultat war folgendes:

Die *Aegopodium*-Stöcke innerhalb der Rahmen waren ausserordentlich stark infiziert, die Stengel waren vollständig mit Schwielen bedeckt. Auch die übrigen *Aegopodien* auf dem ganzen Areal waren

wie gewohnt reichlich mit *Protomyces* befallen. Die *Heracleum*-Stöcke blieben jedoch vollständig gesund. Die Versuche, welche den ganzen Sommer hindurch regelmässig kontrolliert wurden, zeigten auch späterhin kein anderes Verhalten als das eben festgestellte.

Es darf nun wohl auf Grund dieser Versuche nicht mehr bezweifelt werden, dass der auf *Aegopodium Podagraria* lebende *Protomyces macrosporus Unger Heracleum Sphondylium* nicht befällt.

Ausser dem üblichen Verfahren für die biologischen Experimente mit Topfpflanzen bediente ich mich mit gutem Erfolg der sogenannten «Kistchenversuche». Es wird nötig sein, einiges über die Anordnung dieser Versuche mitzuteilen.

Das Prinzip bei diesen Versuchen ist, die in Betracht kommenden Pflanzen zusammen unter möglichst gleichen Bedingungen zu kultivieren. Ferner sollen sie in ihrer Gesamtheit so gehalten werden, dass der Standort demjenigen möglichst ähnlich kommt, an welchem man die pilzbefallenen Pflanzen antrifft.

Ueber die Standortsverhältnisse des Pilzes und seiner Wirtspflanze werde ich in einem weiteren Kapitel noch einlässlich zu berichten haben.

Um den oben angegebenen Anforderungen in möglichst ausgiebiger Weise nachzukommen, hat es sich als vorteilhaft erwiesen, die Versuchspflanzen in Kistchen zu pflanzen. Die Grösse resp. besonders die Tiefe derselben hat sich natürlich nach den zur Verwendung kommenden Pflanzen zu richten. Nachdem die Kisten bis etwa 5 cm unter den oberen Rand mit Erde gefüllt worden waren, wurden die Pflanzen (meist 8) eingepflanzt. Hierauf stülpte ich über jede Pflanze einen Pappring, der einen Durchmesser von ca. 3—4 cm hatte. Der Raum zwischen den einzelnen Pappringen wurde ebenfalls mit Erde aufgefüllt. Die Pflanzen sassen nun jede in einer kleinen Vertiefung, durch welche sie im nächsten Frühjahr durchwachsen mussten, um die Oberfläche zu erreichen. In den kleinen Hohlraum über der Pflanze füllte ich nun das Sporenmaterial und zwar einfach so, dass infizierte Pflanzenteile verwendet wurden. Auf diese Weise musste offenbar mit grosser Wahrscheinlichkeit die Pflanze infiziert werden, insofern diese für den Pilz empfänglich wäre. Um eine gleichmässige Feuchtigkeit zu sichern, was von grosser Bedeutung ist, wie wir später noch sehen werden, deckte ich die Oberfläche des ganzen Kistchens mit einer ca. 2 cm dicken *Sphagnum*schicht zu. Ein über das ganze gespannter Gazestoff, der mit Nägeln an den Seitenwänden befestigt wurde, verhinderte den Wind und die Vögel, die Kulturen in Unordnung zu bringen.

Gehen wir nun dazu über, diese Versuche im einzelnen etwas näher zu betrachten.

Versuchsreihe VIII. (Kistchenversuch.)

Eingeleitet am 28. Oktober 1913.

Infektionsmaterial: Dauersporen auf *Aegopodium Podagraria*, die am 25. September 1913 an der «Schütte» bei Bern gesammelt wurden.

Versuchspflanzen:

No. 1—2. *Aegopodium Podagraria*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.[1])

No. 3—4. *Heracleum Sphondylium*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.

No. 5. *Chaerophyllum hirsutum (Subsp. Cicutaria)*, Röthenbach (Emmenthal).

No. 6. *Laserpitium latifolium*, im Herbst 1913 von Haage und Schmidt in Erfurt bezogen.

Die Kiste wurde westlich der Baumgruppe beim grossen Teich im Botanischen Garten zu Bern aufgestellt.

Resultat:

No. 1 u. 2. *(Aegopodium Podagraria)* zeigten am 22. April 1914 Infektion. Am 4. Mai 1914 waren sie sehr stark infiziert, die Stengel waren mit Schwielen bedeckt. Alle übrigen Pflanzen blieben gesund. Dieses Verhalten änderte sich nicht, während der Versuch noch den ganzen Juni hindurch beobachtet wurde.

Eine weitere Versuchsreihe (IX), (Kistchenversuch), in der gleichen Anordnung und unter den gleichen Bedingungen ergab die gleichen Resultate wie Versuchsreihe VIII.

Demnach scheint also der auf Aegopodium Podagraria lebende Protomyces macrosporus Unger Heracleum Sphondylium, Chaerophyllum hirsutum Ssp. Cicutaria, Laserpitium latifolium, Daucus Carota, Astrantia major, Pimpinella Saxifraga[2]) *nicht zu befallen. Dagegen werden nach meinen Versuchen befallen: Torilis Anthriscus, Pastinaca sativa, Carum Carvi (Cotyledonen, aber nur sehr schwach)*, und ferner nach den Versuchen von Fräulein Popta (7): *Palimba*

[1]) Ich muss ausdrücklich hervorheben, dass die *Aegopodium*-Pflanzen, sowie überhaupt die zur Verwendung gekommenen Versuchspflanzen an Orten ausgegraben wurden, an denen keine *Protomyces*-Epidemien waren.

[2]) Nach einer brieflichen Mitteilung von Prof. Lindau ist *Protomyces* auch auf *Pimpinella Saxifraga* von Magnus gefunden worden. Dieser *Protomyces* gehört wohl nicht der forma spec. *Aegopodii* an, sondern einer andern noch unbekannten Spezialform.

Chabraei, *Bubon gemmiferum*, *Cicuta virosa*, *Seseli montanum*, *Libanotis vulgaris*, *Pachypleurum alpinum*, *Ferula thyrsiflora*, *Trinia vulgaris*, *Bunium virescens*, *Athamanta cretensis*.

Protomyces macrosporus Unger auf Aegopodium Podagraria scheint also einen ziemlich bedeutenden Kreis von Wirten zu haben. Aber es ist nicht zu vergessen, dass die oben genannten mit positivem Erfolg inficierten Pflanzen, wenn man von *Carum* absieht, in der Natur nicht befallen gefunden werden. Wenigstens konnte ich weder in der Literatur noch in Herbarien entsprechende Angaben finden. *Aegopodium* ist jedenfalls der Hauptwirt, die anderen Pflanzen darf man vielleicht als Nebenwirte ansehen, die nur unter extrem günstigen Verhältnissen befallen werden, die in der Natur nie oder nur ganz selten realisiert sind.

2. Versuche mit der Form auf Heracleum Sphondylium.

Ueber das Verhalten dieser Form in biologischer Hinsicht war bis jetzt gar nichts bekannt.

Versuchsreihe I. (Kistchenversuch).

Eingeleitet am 31. Oktober 1913.

Infektionsmaterial: Dauersporen auf *Heracleum Sphondylium*, die 7. September 1913 in der Nähe von Davos (Graubünden) gesammelt wurden.

Versuchspflanzen.:

No. 1—2. *Heracleum Sphondylium*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.

No. 3—4. *Aegopodium Podagraria*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.

No. 5. *Chaerophyllum hirsutum Ssp. Cicutaria*, Röthenbach (Emmenthal).

Die Kiste wurde östlich der Baumgruppe am grossen Teich im Botanischen Garten zu Bern aufgestellt.

Als Resultat ergab sich folgendes:

No. 1 u. 2. *(Heracleum Sphondylium)* zeigten am 22. April 1914 schwache Infektion. Am 4. Mai waren an den Stengeln, sowie an den Blattrippen bedeutende Schwielen.

Die anderen Pflanzen im Kistchen blieben gesund. Es muss der Vollständigkeit halber noch gesagt werden, dass die nicht infizierten Pflanzen nicht sehr kräftig entwickelt waren.

Der Versuch, der regelmässig bis zum 19. Juni kontrolliert wurde, änderte das oben festgestellte Verhalten nicht.

Versuchsreihe II. (Kistchenversuch).

Eingeleitet am 27. Oktober 1913.

Infektionsmaterial: Wie beim vorigen Versuch.

Versuchspflanzen:

No. 1—2. *Chaerophyllum hirsutum Ssp. Cicutaria*, von Röthenbach (Emmenthal).

No. 3—4. *Heracleum Sphondylium*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.

No. 5—6. *Aegopodium Podagraria*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.

Resultat: Gleich wie bei der vorigen Versuchsreihe.

Zur Ergänzung der beiden Kistchenversuche wurden noch zwei Versuchsreihen mit Topfpflanzen eingeleitet.

Versuchsreihe III.

Eingeleitet am 13. April 1914.

Infektionsmaterial: Dauersporen auf *Heracleum Sphondylium*, die am 7. September in der Nähe von Davos gesammelt wurden.

Versuchspflanzen:

No. 1—3. *Heracleum Sphondylium*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.

No. 4—6. *Aegopodium Podagraria*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.

No. 7—9. *Chaerophyllum hirsutum Subsp. Cicutaria*, von Röthenbach (Emmenthal).

No. 10—12. *Pastinaca sativa*, aus Samen gezogen und z. T. erwachsene Pflanzen.

No. 13—14. *Carum Carvi*, aus Samen gezogen.

Das Resultat war folgendes:

No. 1. *(Heracleum Sphondylium)* zeigt am 4. Mai Infektion an einem Blattstiel.

No. 2. *(Heracleum Sphondylium)* zeigt am 16. Mai an den Blattrippen Infektion, nur schwach.

No. 10. *(Pastinaca sativa)* zeigt am 9. Mai an den Blattrippen eine schwache Infektion.

No. 12. *(Pastinaca sativa)* zeigt am 4. Mai an einem Blattstiel eine Schwiele, welche sich auf mehrere Centimeter hin erstreckt.

No. 13—14. *(Carum Carvi)* blieben gesund.

Versuchsreihe IV.

Blieb leider ganz erfolglos, da infolge schlechter Witterung die Versuchspflanzen vorzeitig eingingen.

Die mit *Protomyces macrosporus* auf *Heracleum* angestellten Versuche lassen darauf schliessen, *dass diese Form auf Heracleum Sphondylium, aber nicht auf Aegopodium Podagraria und Chaerophyllum hirsutum Ssp. Cicutaria übergeht. Dagegen wird Pastinaca sativa befallen.*

3. Versuche mit der Form auf Chaerophyllum hirsutum Ssp. Cicutaria.

Versuchsreihe I. (Kistchenversuch.)

Eingeleitet am 30. Oktober 1913.

Infektionsmaterial: Dauersporen auf *Chaerophyllum hirsutum Ssp. Cicutaria*, die am 29. September 1913 bei Röthenbach (Emmenthal) gesammelt wurden.

Versuchspflanzen:

No. 1—2. *Heracleum Sphondylium*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 3—4. *Aegopodium Podagraria*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 5. *Chaerophyllum hirsutum Ssp. Cicutaria*, Röthenbach.[1])

Die Kiste wurde in der Nähe des kleinen Teiches unterhalb der Alpenanlage im Botan. Garten in Bern aufgestellt.

Resultat:

No. 5. *(Chaerophyllum hirsutum Ssp. Cicutaria)* zeigte am 22. April 1914 einige Schwielen. Die Pflanzen wurden leider einige Tage nach dieser Beobachtung von Vögeln zerstört, so dass sie nicht weiter beobachtet werden konnten. Alle andern Pflanzen blieben gesund.

Versuchsreihe II (Kistchenversuch.)

Eingeleitet am 30. Oktober 1913.

Infektionsmaterial: gleich wie im vorigen Versuch.

Versuchspflanzen:

No. 1—2. *Heracleum Sphondylium*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 3—5. *Aegopodium Podagraria*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 5—6. *Chaerophyllum hirsutum Ssp. Cicutaria* von Röthenbach.

Aufstellung gleich wie der vorige Versuch.

Resultat:

No. 5 u. 6. *(Chaerophyllum)* zeigten am 22. April 1914 Infektion. Stengel und Blattrippen waren mit Schwielen überzogen, so dass sie deformiert waren.

Die anderen Pflanzen blieben auch hier vollständig gesund.

[1]) Die *Chaerophyllum*-Pflanzen, welche von Röthenbach stammen, wurden an einer anderen Stelle ausgegraben, als diejenigen, welche infiziert waren. Die Kontrollpflanzen blieben während der ganzen Dauer der Versuche gesund.

Eine weitere Versuchsreihe, welche mit Topfpflanzen eingeleitet wurde, blieb leider ganz erfolglos, was besonders dem Umstand zuzuschreiben ist, dass das in den Säcken überwinterte Sporenmaterial von der betreffenden *Protomyces*-Form im Frühjahr nur ganz spärlich keimte.

Wir sind also im wesentlichen auf die beiden oben beschriebenen Kistchenversuche beschränkt. Diese scheinen darzutun, *dass der auf Chaerophyllum hirsutum Ssp. Cicutaria lebende Protomyces Chaerophyllum hirsutum Ssp. Cicutaria befällt, während er nicht im Stande zu sein scheint, Aegopodium Podagraria und Heracleum Sphondylium zu infizieren.*

4. Versuche mit der Form auf Laserpitium latifolium.

Versuchsreihe I.

Eingeleitet am 1. November 1913.

Infektionsmaterial: Dauersporen auf *Laserpitium latifolium*, die am 16. September 1913 im Blumenthal bei Mürren (Berner Oberland) gesammelt wurden.

Versuchspflanzen:

No. 1—2. *Laserpitium latifolium*, im Herbst 1913 von Haage & Schmidt aus Erfurt bezogen.

No. 3—6. *Heracleum Sphondylium*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.

No. 7.—10. *Aegopodium Podagraria*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.

No. 11—12. *Chaerophyllum hirsutum Ssp. Cicutaria*, Röthenbach.

Die Kiste wurde im väterlichen Garten in einer Baumgruppe aufgestellt. (Diese Stelle ist mehrere hundert Meter von der Stelle entfernt, an welcher sich die infizierten *Aegopodium*-Pflanzen befinden).

Das Resultat ist folgendes:

No. 1 *(Laserpitium latifolium)* zeigt am 21. Mai 1914 an den Blattrippen Schwielen.

No. 2 *(Laserpitium latifolium)* zeigt am 2. Mai Infektion an den Blattrippen.

Die anderen Pflanzen blieben gesund.

Leider konnten auch diese Kistchenversuche nicht durch Versuche mit Topfpflanzen ergänzt werden. Die Sporen hatten eine zu geringe Keimfähigkeit.

Wenn man aus diesem Versuch einen Schluss ziehen darf, so ist es der, *dass diese Form auf Laserpitium latifolium beschränkt ist.*

5. Versuche mit der Form auf Carum Carvi.

Versuchsreihe I.

Eingeleitet am 18. März 1913.

Infektionsmaterial: Dauersporen auf *Carum Carvi,* die am 5. September 1912 in Mürren am Mürrenbach gesammelt wurden.

Versuchspflanzen:

No. 1—3. *Aegopodium Podagraria*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 4—6. *Heracleum Sphondylium*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.

Resultat:

Alle Pflanzen blieben gesund. Der Versuch ist vielleicht nicht ganz einwandfrei, indem leider versäumt wurde, *Carum*-Pflanzen in das Experiment einzuführen. Es darf aber doch mit grosser Wahrscheinlichkeit angenommen werden, dass *Aegopodium* und *Heracleum* vom *Carum* bewohnenden *Protomyces* nicht befallen werden. Die betreffenden Sporen keimten sehr gut, wie ich mich bei den Kontrollkeimungen überzeugen konnte.

Versuchsreihe II.

Eingeleitet am 27. März 1913.

Infektionsmaterial: gleich wie in Versuch I.

Versuchspflanzen:

No. 1—3. *Carum Carvi* aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 4—5. *Aegopodium Podagraria* aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 6—7. *Heracleum Sphondylium* aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 8—9. *Torilis Anthriscus* aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 10—12. *Pastinaca sativa* aus Samen gezogen.

Das Resultat war folgendes:

No. 11. *(Pastinaca sativa)* zeigt am 17. Mai 1913 einige Schwielen.

Die anderen Pflanzen blieben gesund. *Pastinaca* kann also auch von dieser Form befallen werden.

Versuchsreihe III.

Eingeleitet am 2. Mai 1914.

Infektionsmaterial: Dauersporen auf *Carum Carvi*, gesammelt am 16. September am Mürrenbach bei Mürren.

Versuchspflanzen:

No. 1—3. *Carum Carvi,* Sämlinge, 3 Töpfe mit sehr vielen Pflänzchen.
No. 4—6. *Aegopodium Podagraria*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 7—9. *Heracleum Sphondylium*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 10. *Pastinaca sativa*, Sämlinge.
No. 11. *Pastinaca sativa*, erwachsene Pflanze.
No. 12. *Chaerophyllum aureum*, von Haage & Schmidt bezogen.
No. 13. *Daucus Carota*, Sämlinge.

Resultat:

No. 1—3. *(Carum Carvi)*, am 16. Mai sind fast sämtliche Pflänzchen sehr stark infiziert, so dass die kleinen Blattstiele durch die Schwielen ganz deformiert erscheinen.

No. 10. *(Pastinaca sativa*, Sämlinge) lassen am 16. Mai ebenfalls eine sehr starke Infektion erkennen.

No. 11. *(Pastinaca sativa*, erwachsene Pflanze) lässt am 16. Mai auch sehr bedeutende Schwielen von *Protomyces* erkennen.

Die anderen Pflanzen dagegen blieben gesund.

Die Versuche mit der Form auf Carum zeigen uns, dass auch Pastinaca sativa von diesem Pilz befallen wird, dagegen Aegopodium Podagraria, Heracleum Sphondylium, Daucus Carota und Chaerophyllum aureum nicht.

Werfen wir nun einen Rückblick auf die Gesamtheit der soeben im Einzelnen besprochenen Versuche.

Es scheint bei *Protomyces macrosporus* eine Spezialisation der einzelnen Formen vorzuliegen.

Einzelne Formen scheinen einen grösseren Kreis von Nährpflanzen zu haben, aber wie schon erwähnt sind diese in der Natur in der Regel nicht vom Pilz befallen. Man kann hier von «Haupt»- und «Nebenwirten» sprechen. Der «Hauptwirt» wäre bei der Form auf *Aegopodium: Aegopodium Podagraria.* Die anderen Pflanzen, die von derselben Form des Pilzes befallen werden, könnte man als «Nebenwirte» bezeichnen. Diese werden wahrscheinlich schwerer und nur unter extrem günstigen Bedingungen befallen. In der Natur scheinen sich die einzelnen *Protomyces*-Formen an ihren Hauptwirt gewöhnt zu haben und bleiben in der Regel auch auf diesen beschränkt. Durch meine Versuche sind nun einige formae speciales bekannt geworden, von denen jede eine gewisse Plurivorie hat, d. h. sie ist im Stande, einige weitere Umbelliferen zu befallen. Wenn noch fernere Versuche gemacht sein werden, dürften wir wahrscheinlich in der Lage sein, eine weitere Anzahl von formae speciales aufzustellen; sowie den Kreis ihrer «Nebenwerte» zu ergänzen.

Eigentümlich und auffallend ist das Verhalten von *Pastinaca sativa.* Diese Pflanze wurde in meinen Versuchen von allen Formen von *Protomyces* befallen, d. h. von den Formen auf *Aegopodium, Heracleum* und *Carum.* Die anderen zwei Formen (auf *Chaerophyllum* und *Laserpitium*) konnten in dieser Hinsicht noch nicht geprüft werden, da das betreffende Sporenmaterial schlecht überwintert hatte. Die Infektion war reichlich und verhältnismässig regelmässig. *Pastinaca sativa* spielt gleichsam die Rolle eines «Sammelwirtes». In der Natur

konnte ich aber den Pilz niemals auf dieser Pflanze finden, auch da nicht, wo günstige Bedingungen für eine Infektion gewesen wären. Es sind übrigens auch andere Fälle bekannt, in welchen künstliche Infektionen von Erfolg begleitet waren, während der Pilz in der Natur bisher nicht auf der betreffenden Pflanze gefunden wurde. So konnte z. B. *Puccinia Gentianae* auf *Gentiana purpurea L.* übertragen werden, obschon im Freien der Pilz nicht auf dieser Pflanze beobachtet ist. (Bock (1).)

Man kann hier die Frage aufwerfen, ob *Pastinaca sativa*, die ich als Sammelwirt bezeichnet habe, vielleicht als ein Wirt zu betrachten ist, den man mit Ward (1) als «bridgeing species» bezeichnen könnte. Wenn das der Fall wäre, so könnte man dann z. B. die Form auf *Aegopodium* über *Pastinaca sativa* vielleicht schon in der ersten, oder doch in einer spätern Generation auf *Heracleum* oder *Carum* etc. bringen. Das Gleiche liesse sich auch mit den anderen Formen durchführen. Diese interessante Frage lässt sich selbstverständlich nur an Hand von zahlreichen Experimenten entscheiden, die sich auf mehrere Jahre hin erstrecken.

β. Compositenbewohnende Protomyces-Arten.

Bei den *Compositen* bewohnenden *Protomyces*-Arten, mit denen meines Wissens überhaupt noch keine biologischen Experimente angestellt worden sind, stellten sich ungefähr die gleichen Fragen. Sind *P. pachydermus* und *P. kreuthensis* vielleicht identische Formen? Auch hier wurden einige andere *Compositen* in den Kreis der Untersuchungen einbezogen. Die Resultate werden wir an Hand der einzelnen Versuchsreihen zu diskutieren haben.

Da *P. pachydermus* und *P. kreuthensis* keine morphologischen Unterschiede erkennen liessen, so musste in Erfahrung gebracht werden, ob sie auch biologisch identisch sind. Es war zwar nicht sehr wahrscheinlich, dass sich die Pilze als identisch erweisen würden, da das Aussehen der Infektion auf *Taraxacum officinale* ein wesentlich anderes ist, als bei derjenigen von *P. kreuthensis*; allein solche Unterschiede können täuschen. Es ist ja selbstverständlich, dass die Form der Infektion auch vom Wirte abhängt.

1. Versuche mit Protomyces kreuthensis Kühn.

Versuchsreihe I.

Eingeleitet am 15. März 1913.

Infektionsmaterial: Dauersporen auf *Aposeris foetida*, die am 11. September 1912 beim «Bergli» am Niesen (Berner Oberland) gesammelt wurden.

No. 1—3. *Taraxacum officinale*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.

Es wurden folgende Beobachtungen gemacht:

No. 1—3 *(Taraxacum)* blieben gesund.

Diese Versuchsreihe lässt keine weittragenden Schlüsse zu, da leider versäumt wurde, *Aposeris* als Kontrollpflanzen einzuführen. Ich kann nur sagen, dass das Sporenmaterial in den Deckglaskulturen sehr gut keimte.

Versuchsreihe II.

Eingeleitet am 25. März 1913.

Infektionsmaterial: wie im vorigen Versuch.

Versuchspflanzen:

No. 1. *Taraxacum officinale*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.

No. 2. *Bellis perennis*,[1]) aus dem Botanischen Garten, Bern.

No. 3. *Aposeris foetida*, von der Grimmialp.

Es wurden folgende Beobachtungen gemacht:

No. 3 *(Aposeris foetida)* zeigte am 17. Mai an zwei Blättern Schwielen, welche bis am 2. Juni sich vergrösserten.

Die anderen Pflanzen blieben gesund.

Versuchsreihe III.

Eingeleitet am 24. April 1913.

Infektionsmaterial: wie in den beiden vorigen Versuchsreihen.

Versuchspflanzen:

No. 1—3. *Aposeris foetida*, von der Grimmialp.

No. 4—6. *Bellis perennis*, aus dem Botanischen Garten.

No. 7—9. *Taraxacum officinale*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.

Resultat:

No. 1—2 *(Aposeris foetida)* zeigen am 19. Mai Infektion an mehreren Blättern.

No. 4—6 *(Bellis perennis)* waren bis zum 30. April eingegangen, indem sie stark von Schimmel ergriffen worden waren.

Taraxacum blieb gesund.

Diese drei Versuchsreihen deuten schon mit grosser Wahrscheinlichkeit darauf hin, dass *P. kreuthensis Kühn* mit *P. pachydermus* nicht identisch ist.

Es wurden im Weitern noch einige Kistchenversuche mit *P. kreuthensis* unternommen.

---

[1]) *Bellis perennis* wurde wegen *Protomyces Bellidis* einbezogen, von dem ich damals noch nicht wusste, dass er zu *Protomycopsis* gehört.

Versuchsreihe IV (Kistchenversuch).

Eingeleitet am 27. Oktober 1913.

Infektionsmaterial: Dauersporen auf *Aposeris foetida*, gesammelt am 24. September 1913 im «Gorpeli» bei Boltigen (Simmenthal).

Versuchspflanzen:

No. 1—2. *Aposeris foetida*, «Gorpeli»[1]).
No. 3. *Crepis paludosa*, «Gorpeli».
No. 4. *Bellis perennis*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.
No. 5. *Taraxacum officinale*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.
No. 6. *Prenanthes purpurea*, Bremgartenwald bei Bern.

Die Kiste wurde in der kleinen Schlucht der Alpenanlage im Botanischen Garten in Bern aufgestellt. Das Resultat war folgendes:

No. 1 *(Aposeris foetida)* liess am 12. Mai 1914 an einer Blattrippe eine Schwiele erkennen. Am 13. Juni sah man eine solche auch auf einem andern Blatt.

Die anderen Pflanzen blieben gesund. Es ist aber zu bemerken, dass No. 4 *(Bellis)* im Frühjahr nicht ausgetrieben hatte. Ferner war No. 5 *(Taraxacum)* etwas schwächlich entwickelt.

Versuchsreihe V.

Eingeleitet am 29. Oktober 1913.

Infektionsmaterial: gleich wie in der vorigen Versuchsreihe.

Versuchspflanzen:

No. 1—3. *Aposeris foetida*, aus dem «Gorpeli».
No. 4—6. *Crepis paludosa*, aus dem «Gorpeli».

Die Kiste wurde am selben Ort aufgestellt wie Versuchsreihe IV.

Resultat:

No. 4 und 5 *(Crepis paludosa)* entwickelten sich und blieben auch gesund. Die anderen Pflanzen waren im Winter abgestorben.

Versuchsreihe VI.

Eingeleitet am 29. Oktober 1913.

Infektionsmaterial: gleich wie in den vorigen Versuchen.

Versuchspflanzen:

No. 1—2. *Aposeris foetida*, «Gorpeli».
No. 3. *Taraxacum officinale*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.
No. 4. *Bellis perennis*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.
No. 5. *Prenanthes purpurea*, Bremgartenwald bei Bern.
No. 6. *Mulgedium alpinum*, im Herbst 1913 von Haage & Schmidt aus Erfurt bezogen.

Aufstellung der Kiste gleich wie im letzten Versuch.

[1]) Die *Aposeris*-Pflanzen, welche vom «Gorpeli» stammen, wurden an einer anderen Stelle ausgegraben als diejenigen, welche infiziert waren. Die Kontrollpflanzen blieben gesund.

Resultat:

Leider starben ausser No. 5 *(Prenanthes)* alle Pflanzen im Winter ab. *Prenanthes* blieb gesund. Das Ausbleiben der Pflanzen in den drei letzten Versuchsreihen erklärt sich durch den ungeeigneten Standort der Kisten. In der kleinen Schlucht war es zu feucht und zu dunkel.

Wir wollen nur konstatieren, *dass es niemals gelungen ist, P. kreuthensis auf Taraxacum oder eine der andern Compositen zu übertragen, die in die obigen Versuche einbezogen wurden.*

2. *Versuche mit Protomyces pachydermus Thümen.* Versuchsreihen mit der Form auf *Taraxacum.*

Versuchsreihe I.

Eingeleitet am 15. März 1913.

Infektionsmaterial: Dauersporen auf *Taraxacum officinale*, gesammelt am 19. September 1912 zwischen Unteraar und Oberaar am Nordfuss des Belpberges bei Bern.

Versuchspflanzen:

No. 1—3. *Aposeris foetida*, von der Grimmialp.

Resultat:

No. 1—3 *(Aposeris)* blieben gesund. Leider wurde unterlassen, *Taraxacum* als Kontrolle in den Versuch einzubeziehen. Ich kann nur sagen, dass die betreffenden Sporen in den Kulturen gut gekeimt haben.

Versuchsreihe II.

Eingeleitet am 25. März 1913.

Infektionsmaterial: wie im vorigen Versuch.

Versuchspflanzen:

No. 1—2. *Aposeris foetida*, von der Grimmialp.

No. 3—4. *Taraxacum officinale*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.

No. 5—6. *Bellis perennis*, aus dem Botanischen Garten.

Ich notierte folgende Ergebnisse:

No. 3 *(Taraxacum officinale)* zeigt am 15. April am Blütenstiel mehrere Schwielen, auch an einigen Blättern. Am 22. April waren diese Schwielen noch mehr ausgeprägt.

Die anderen Pflanzen blieben gesund.

P. pachydermus scheint also nicht von *Taraxacum* auf die anderen in das Experiment einbezogenen *Compositen* überzugehen.

Diese Ergebnisse bedurften aber noch einer weiteren Bestätigung; zu dem Ende wurden im Herbst 1913 einige Kistchenversuche eingerichtet.

Versuchsreihe III (Kistchenversuch.)

Eingeleitet am 28. Oktober 1913.

Infektionsmaterial: Dauersporen auf *Taraxacum officinale*, gesammelt am 26. September 1913 bei Graffenried südwestlich von Thörishaus, Kt. Bern.

Versuchspflanzen:

No. 1—2. *Aposeris foetida*, «Gorpeli».
No. 3—4. *Taraxacum officinale*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 5. *Crepis paludosa*, «Gorpeli».
No. 6. *Bellis perennis*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.
No. 7. *Prenanthes purpurea*, Bremgartenwald bei Bern.

Die Kiste wurde im väterlichen Garten in einer kleinen Baumgruppe aufgestellt.

Es wurden folgende Resultate notiert:

No. 1—2 *(Aposeris)* bleiben pilzfrei.
No. 3 *(Taraxacum)* zeigt am 4. Mai 1914 Infektion.
No. 4 *(Taraxacum)* zeigt am 22. April 1914 Schwielen.
No. 5 *(Crepis paludosa)* bleibt gesund.
No. 6 *(Bellis perennis)* zeigt am 22. April auf den Blättern kleine ockergelbe Schwielen.
No. 7 *(Prenanthes purpurea)* bleibt pilzfrei.

In diesem Versuch waren also *Taraxacum* befallen, während *Aposeris* und *Crepis* gesund blieben. Dies ist auch wieder ein Hinweis auf den Umstand, dass *P. pachydermus* und *P. kreuthensis* wahrscheinlich nicht identisch sind.

Auffallend ist die Infektion von *Bellis perennis*. Wir werden später noch darauf zurückkommen.

Versuchsreihe IV (Kistchenversuch).

Eingeleitet am 28. Oktober 1913.

Infektionsmaterial: Dauersporen auf *Taraxacum*, die am 29. September 1913 bei der «Gauchern» ca. 4 km SO von Bowil (Emmental) gesammelt worden waren.

Versuchspflanzen:

No. 1—2. *Taraxacum officinale*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 3—4. *Aposeris foetida*, «Gorpeli».
No. 5—6. *Crepis paludosa*, «Gorpeli».
No. 7. *Mulgedium alpinum*, im Herbst 1913 von Haage & Schmidt aus Erfurt bezogen.

Aufstellung der Kiste gleich wie beim vorigen Versuch.

Resultat:

No. 1—2 *(Taraxacum officinale)* sind stark infiziert, besonders an den Blattrippen, 26. Mai 1914.

No. 4 *(Aposeris)* war nicht zur Entwicklung gekommen.
Die anderen Pflanzen bleiben gesund.

Versuchsreihe V (Kistchenversuch).

Eingeleitet am 1. November 1913.
Infektionsmaterial: gleich wie in der vorigen Versuchsreihe.
Versuchspflanzen:
No. 1—2. *Taraxacum officinale*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 3—4. *Aposeris foetida*, «Gorpeli».
No. 5. *Bellis perennis*, aus dem Garten des «Choisi» bei Bern.
No. 6—7. *Crepis paludosa*, «Gorpeli».
Die Kiste wurde am selben Ort aufgestellt wie der vorige Versuch.
Resultat:
No. 1 *(Taraxacum officinale)* zeigte am 26. April 1914 Schwielen.
No. 2 *(Taraxacum officinale)* bleibt gesund.
No. 3—4 *(Aposeris foetida)* bleiben pilzfrei.
No. 5 *(Bellis perennis)* ist im Winter eingegangen.
No. 6 *(Crepis paludosa)* bleibt pilzfrei.
No. 7 *(Crepis paludosa)* ist im Winter eingegangen.

Es bestätigt sich also durch die drei letztbesprochenen Versuche, dass offenbar *P. pachydermus* nicht im Stande ist, *Aposeris foetida* und *Crepis paludosa* zu befallen, auch die anderen in die Versuche einbezogenen *Compositen* nicht.

Im Frühjahr 1914 wurden noch einige Versuche mit Topfpflanzen unternommen.

Versuchsreihe VI.

Eingeleitet am 14. April 1914.
Infektionsmaterial: Dauersporen von *Protomyces pachydermus* auf *Taraxacum officinale*, am 29. September 1913 bei der «Gaucheren» (Emmenthal) gesammelt.
Versuchspflanzen:
No. 1—4. *Taraxacum officinale*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 5—8. *Aposeris foetida*, Grimmialp und «Gorpeli».
No. 9—11. *Crepis paludosa*, «Gorpeli».
No. 12—14. *Bellis perennis*, aus dem väterlichen Garten.
Es wurden folgende Resultate notiert:
No. 1—2 *(Taraxacum officinale)* blieben pilzfrei.
No. 3 *(Taraxacum officinale)* zeigt am 16. Mai besonders an der Basis der Blattstiele Schwielen.
No. 4 *(Taraxacum officinale)* zeigt am 13. Mai verschiedene Schwielen an einer Blattrippe.
No. 5—8 *(Aposeris foetida)* bleiben pilzfrei.

No. 9—11 *(Crepis paludosa)* bleiben ebenfalls gesund.

No. 12 *(Bellis perennis)* zeigt am 4. Mai an einigen Blättern (besonders ältere Blätter an der Basis der Rosette) kleine gelbe Flecken, die sich bei einer mikroskopischen Prüfung als *Protomyces*-Sporen zu kennzeichnen schienen. Sie waren aber leider zu alt, als dass man ihre interkalare Entstehung hätte feststellen können.

No. 13 (*Bellis perennis*) am 4. Mai gleicher Befund wie bei No. 12.

No. 14 (*Bellis perennis*) bleibt pilzfrei.

In diesem Versuch bleiben also *Aposeris* und *Crepis* ebenfalls pilzfrei.

Auffallend ist wiederum die Infektion auf *Bellis*, umsomehr als sie ganz anders aussieht als typische *Protomyces*-Schwielen. (S. unten.)

Versuchsreihe VII.

Eingeleitet am 28. April 1914.

Infektionsmaterial: wie in der vorigen Versuchsreihe.

Versuchspflanzen:

No. 1—3. *Taraxacum officinale*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.

No. 4—6. *Aposeris foetida*, Grimmialp und «Gorpeli».

No. 7—9. *Crepis paludosa*, «Gorpeli».

No. 10—12. *Prenanthes purpurea*, Bremgartenwald bei Bern.

No. 13. *Mulgedium alpinum*, im Herbst 1913 von Haage & Schmidt aus Erfurt bezogen.

No. 14—15. *Bellis perennis*, aus dem Botanischen Garten.

Resultat:

No. 1 (*Taraxacum officinale*) zeigte besonders an den Blattrippen Schwielen, 20. Mai.

No. 2 (*Taraxacum officinale*) zeigt am 23. Mai Infektion.

No. 3 (*Taraxacum officinale*) zeigt am 20. Mai Schwielen an den Blattrippen.

No. 4—6 (*Aposeris*) bleiben pilzfrei.

No. 7—9 (*Crepis*) bleiben pilzfrei.

No. 10—12 (*Prenanthes*) bleiben pilzfrei.

No. 13 (*Mulgedium*) bleibt pilzfrei.

No. 14—15 (*Bellis*) bleiben pilzfrei.

Auch wieder ein Verhalten, welches dafür spricht, dass *P. pachydermus* eine spezialisierte Form ist.

Versuchsreihe VIII.

Eingeleitet am 11. Mai 1914.

Infektionsmaterial: Dauersporen von *Protomyces pachydermus* auf *Taraxacum officinale*, gesammelt am 22. September 1913 in der «Eimatt» bei Bern.

Versuchspflanzen:

No. 1. *Taraxacum officinale*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 2. *Crepis paludosa*, } «Gorpeli». Beide Pflanzen waren
No. 3. *Aposeris foetida*, } in einem Topf.
No. 4. *Bellis perennis*, aus dem Botanischen Garten.
No. 5. *Mulgedium alpinum*, im Herbst 1913 von Haage & Schmidt aus Erfurt bezogen.

Es waren folgende Resultate zu verzeichnen:

No. 1 (*Taraxacum officinale*) am 28. Mai sehr stark mit *Protomyces*-Schwielen behaftet.
No. 2, 3, 4 und 5 blieben pilzfrei.

Ich glaube, dass die eben besprochenen Versuche den Schluss erlauben, *dass sowohl Protomyces kreuthensis Kühn als auch P. pachydermus Thümen spezialisierte Arten sind. Es ist sehr wahrscheinlich, dass Protomyces pachydermus auf Crepis paludosa auch spezialisiert ist.* Wenigstens konnte in keinem der Versuche *P. pachydermus* oder *P. kreuthensis* auf *Crepis paludosa* übertragen werden. Allerdings konnte der umgekehrte Versuch *Protomyces pachydermus* von *Crepis paludosa* auf *Taraxacum*, *Aposeris* oder eine andere Composite zu übertragen noch nicht in genügender Weise ausgeführt werden. Das von mir gesammelte Sporenmaterial hatte eine zu geringe Keimfähigkeit, als dass ich aus der damit eingeleiteten Versuchsreihe, die übrigens ganz negativ ausfiel, irgendwelche Schlussfolgerungen ziehen darf.

Auf das eigentümliche Verhalten von *Bellis perennis* werde ich in einem späteren Kapitel dieser Arbeit zurückzukommen haben.

Zum Schluss sei noch gesagt, was mich zur Wahl der in die Versuche eingeführten Compositen veranlasst hat. Einmal waren es habituelle Uebereinstimmungen mit Nährpflanzen von *Protomyces*, *Aposeris*, *Mulgedium*, *Crepis paludosa* etc., und ferner waren ähnliche Standorte massgebend, welche die betreffenden Pflanzen mit *Protomyces*-Wirten gemeinschaftlich haben.

Im Folgenden sei etwas über die Standorte von *Protomyces* mitgeteilt, was auch zur Kenntnis seiner Biologie beitragen dürfte.

γ. Einige Beobachtungen über das Verhalten von Protomyces in der Natur.

Es wäre ein Irrtum zu glauben, dass *Protomyces* überall da vorkommt, wo seine Nährpflanzen auftreten. Es bedarf im Gegenteil ganz bestimmter standörtlicher Verhältnisse, damit der Pilz auf der Nährpflanze vorkommen kann. Sind aber einmal diese äusseren Be-

dingungen erfüllt, so kann man mit ziemlicher Sicherheit darauf rechnen, die betreffenden Nährpflanzen vom Pilz befallen zu finden.

Welches sind nun diese Bedingungen, die dem Pilz besonders günstig sind?

Da ist vor allem auf die mehr oder weniger grosse Feuchtigkeit der Standorte hinzuweisen; auf jeden Fall spielt das Wasser eine grosse Rolle bei der Infektion.

Protomyces macrosporus findet sich meistens auf solchen *Aegopodium*-Pflanzen, die an schattigen Hängen oder in dichten Hecken an Wegrändern vorkommen. Es kommen da ferner Orte in Betracht, die sehr schattig sind und an welchen der Tau sehr lange liegen bleibt, ferner solche Lokalitäten, die mit einem dichten Moospolster überzogen sind, das ein natürliches Wasserreservoir darstellt.

Eine überaus günstige Stelle für *Protomyces* findet sich z. B. an einem kleinen Waldweg in der Nähe von Röthenbach (Emmenthal). Auf diesen Standort wurde ich durch eine Mitteilung von Dr. W. Rytz aufmerksam gemacht. Als ich am 22. August 1913 den Standort besuchte, konnte ich folgende Feststellungen machen.

Es handelt sich hier um einen Fichtenjungwald an einem Nordhang, etwas westlich vom Dorfe Röthenbach. Zu beiden Seiten des oben erwähnten Weges ist der Boden mit Moos und Gras bewachsen. Aus dem dichten Moospolster wuchs in grosser Menge *Chaerophyllum hirsutum Ssp. Cicutaria* hervor. Diese letztgenannte Pflanze war nun ausserordentlich stark von *Protomyces* befallen. Die Stengel waren durch die zahlreichen Schwielen zuweilen ganz deformiert. Die ganze Vegetation war vollständig nass vom Tau, obschon die Tageszeit weit vorgeschritten war — es war zwischen 12 und 1 Uhr mittags, als ich mich dort aufhielt — und zudem waren die Tage um den 22. August 1913 schöne, warme Sommertage gewesen. Das direkte Sonnenlicht scheint den Ort nie oder nur selten zu erreichen. An einer anderen Stelle des betreffenden Weges, wo ungefähr die nämlichen Bedingungen herrschen, fand ich auch *Heracleum Sphondylium* mit *Protomyces* befallen.

Solche taufeuchte Orte haben für *Protomyces* dauernd günstige Infektionsbedingungen. Die Tautröpfchen bieten den Dauersporen die denkbar günstigste Gelegenheit, in unmittelbarer Nähe der Wirtspflanze zu keimen.

Protomyces kreuthensis Kühn scheint auch an sehr feuchte Standorte gebunden zu sein. *Aposeris*-Pflanzen fand ich fast durchweg nur dann mit *Protomyces* befallen, wenn sie aus einem dichten Moospolster hervorwuchsen. Es ist ganz vergeblich, in trockenen Bergwäldern nach diesem Pilz zu suchen, auch wenn *Aposeris*-Stöcke in grosser

Menge vorhanden sind. In kleinen Mulden oder dunkeln Schluchten, wo das Moospolster mit Wasser vollgesogen ist, kann man mit Sicherheit darauf rechnen, *Aposeris* infiziert zu finden.

Protomyces pachydermus auf *Crepis paludosa* findet sich auch nur an Orten, wie die oben beschriebenen. Bei Pontresina (Graubünden) fand ich z. B. Stöcke von *Crepis paludosa* mit *Protomyces* befallen, die in einem kleinen Waldhochmoor wuchsen. Fast nur diejenigen Blätter zeigten Schwielen, die im *Sphagnum* drin steckten. Begleitpflanzen waren ausschliesslich *Taraxacum officinale* und *Linnaea borealis.* (Ein merkwürdiges und wohl seltenes Zusammentreffen von Pflanzen!) *Taraxacum* war reichlich in Exemplaren mit alten Blütenschäften vertreten. Da diese sehr oft *Protomyces*-Schwielen zeigten, untersuchte ich dieselben genau, aber ich konnte keine Infektion entdecken. Diese Beobachtung veranlasste mich, auch die Vermutung auszusprechen, dass der auf *Crepis paludosa* lebende *Protomyces* mit demjenigen von *Taraxacum* nicht identisch ist. Es wäre doch sehr sonderbar, wenn auf so engem Raum und unter extrem günstigen Bedingungen eine gegenseitige Infektion nicht erfolgt wäre, wenn sie stattfinden könnte.

δ. Zeit und Dauer der Keimfähigkeit der Protomyces-Dauersporen.

Die Dauersporen sind streng an eine Winterruhe gebunden. Es ist mir, von wenigen Fällen abgesehen, nicht gelungen, Chlamydosporen im gleichen Jahr, in welchem ihre Bildung erfolgte, zum Keimen zu bringen.

Sporen von *P. macrosporus* habe ich überhaupt nie im Jahr ihrer Bildung keimen sehen, dagegen einmal Sporen von *P. kreuthensis* am 7. Juli 1913, diese waren im Juni des gleichen Sommers gesammelt worden. Ferner sah ich Dauersporen von *P. pachydermus* im Jahr ihrer Bildung keimen: z. B. am 12. Juli 1913 (gesammelt im Mai 1913) und am 28. Dezember 1913 (gesammelt am 8. Dezember 1913). Bei der letztgenannten Beobachtung hatten die Sporen also etwa 18 Tage zur Keimung gebraucht (normal 5—6 Tage). Es ist nun wichtig, zu bemerken, dass es in diesen Fällen im Sporangium meist nicht zur Ausbildung der Sporen kommt, und wenn dies auch dann und wann geschieht, so werden die Sporen meist nicht ausgeworfen.

Ich hatte Gelegenheit, einige Beobachtungen über die Dauer der Keimfähigkeit speziell bei *Protomyces macrosporus* zu machen. In den ersten Januartagen 1913 sammelte ich an der «Schütte» bei Bern auf schon ziemlich zerfallenen *Aegopodium*-Pflanzen den Pilz. Es waren das also Dauersporen, die schon 1912 entstanden sind. Das

Material, welches ich in Säcken untergebracht und ins Freie aufgehängt hatte, sollte dazu dienen, den Zeitpunkt der Keimung im Frühjahr zu kontrollieren. Dies geschah denn auch. Mittlerweile geriet aber dieses Material in Vergessenheit, da es nicht an der gleichen Stelle aufbewahrt wurde wie die anderen Säckchen. Erst im Oktober 1913 kam mir das Material wieder in die Hände. Am 10. November 1913 erwies es sich noch als sehr gut keimfähig. In regelmässigen Abständen wurde nun ihre Keimfähigkeit geprüft. Am 8. Juli 1914 waren noch eine grosse Anzahl der Dauersporen zum Keimen zu bringen, also mehr als $1^1/_2$ Jahre nach ihrer Bildung. Erst im Oktober 1914 waren sie fast ganz untauglich geworden.

Eine andere Beobachtung zeigt ebenfalls, dass die *Protomyces*-Sporen gegen äussere Einflüsse sehr widerstandsfähig sind, was ja eigentlich nicht so sehr verwunderlich ist, wenn man die Dicke der Sporenmembran in Betracht zieht. Im März 1914 legte ich einige Kulturen von *Protomyces pachydermus*-Sporen an, die von Herbarmaterial stammten, welches im Herbst 1913 gesammelt worden war. Nach 9 Tagen keimten etwa 20 % der Sporen ganz normal; also auch eine Ueberwinterung unter ganz ungünstigen Bedingungen kann unter Umständen von einzelnen Sporen ertragen werden.

Der Umstand, dass man zuweilen bis spät in den Herbst hinein noch *Protomyces* finden kann, scheint mir eben mehr auf die Tatsache zurückzuführen zu sein, dass die Sporen eine lange Keimfähigkeit behalten, als dass sie in der Natur schon im Jahr ihrer Entstehung Neuinfektionen hervorrufen können.

Ich glaube, dass letzterer Fall in der Natur nur ganz ausnahmsweise, vielleicht bei *P. pachydermus* realisiert ist: Am 11. Mai 1913 fand ich z. B. bei Graffenried unweit von Thörishaus in einem Baumgarten, dicht an einem Fussweg *Taraxacum officinale* sehr stark infiziert. Einige Wochen später wurde an der betreffenden Stelle gemäht. Am 26. September des gleichen Jahres wurden an der nämlichen Stelle die Löwenzahn-Pflanzen nur ganz schwach befallen gefunden. Diese Infektion könnte nun vielleicht durch Sporen des gleichen Frühlings verursacht worden sein, obschon auch hier der Fall denkbar ist, dass auch diese Infektion durch spät gekeimte Dauersporen des Vorjahres zustande gekommen wäre.

Normalerweise beginnen in künstlichen Kulturen die *Protomyces*-Sporen im März zu keimen, oder vielleicht zuweilen schon etwas früher. Dauersporen, welche vereinzelt schon im Januar und Anfang Februar keimten, kamen insofern nicht zu einer normalen Entwicklung, als die Sporen nicht aus dem Sporangium ausgeworfen wurden.

Aeussere Einflüsse scheinen die Keimung der Dauersporen nicht besonders zu beeinflussen, wie z. B. Licht und Temperatur. Nur die allgemeine Witterungslage scheint einen gewissen Einfluss zu haben, indem die Sporen bei einem bevorstehenden Witterungsumschlag meistens nur spärlich oder gar nicht keimen.

2. Gattung Protomycopsis.

a. Historisches.

Die Gattung *Protomycopsis* wurde von Magnus (2) aufgestellt. In seiner «Pilzflora von Tyrol» gibt er folgende Diagnose: «Parasitisch «in lebenden Pflanzenteilen. Das Mycel kriecht intercellular im Par- «enchym der befallenen Blattstellen, die sich durch den Reiz des «Pilzes zu flachen Blattschwielen ausbilden. An den Mycelzweigen «bilden sich terminal grosse Dauersporen aus.» Von *Protomycopsis Leucanthemi Magn. n. sp.*, der einzigen bis dahin bestehenden Spezies dieser Gattung, gibt er nachstehende Diagnose: «Dauersporen kugelig «mit häufig etwas birnförmig ausgezogenem Insertionsansatze, den man «an den meisten Sporen nicht sogleich sieht, weil man die kugeligen, «breiten Dauersporen selten in reiner Längsansicht erblickt und sie «so dicht bei und übereinander liegen, dass sie sich teilweise decken. «Die Dauersporen sind durchschnittlich 43,7 μ lang und 38,8 μ breit «(nach 10 Messungen), ihr Epispor ist mit schönen weissen Wärzchen «dicht besetzt.»

Magnus hat *Protomycopsis* in seiner Pilzflora von Tyrol unmittelbar an die Gattung *Protomyces* angereiht. Er bemerkt noch dazu: «Diese Gattung dürfte der Gattung *Protomyces* nächst verwandt sein.» Es wird nun im Folgenden meine Aufgabe sein, diese Vermutung durch eine eingehende Untersuchung von *Protomycopsis* zu belegen. In einer vorläufigen Mitteilung habe ich (1) bereits bestätigen können, dass *Protomycopsis* und *Protomyces* sehr nahe verwandte Gattungen sind. Auch der von C. Popta (1, p. 16) beschriebene *Protomyces Bellidis* gehört in diese Gattung, wie weiter unten noch gezeigt werden soll.

b. Entwicklungsgeschichte und Cytologie.

Es war vor allem wichtig, die Vorgänge, wie sie sich bei der Keimung der Sporen abspielen, genau kennen zu lernen. Material, das ich im Herbst 1913 auf *Chrysanthemum Leucanthemum* gesammelt hatte, wurde in der gleichen Weise überwintert, wie ich es oben für *Protomyces* beschrieben habe. Da es nicht sicher bekannt war, ob die Sporen von *Protomycopsis* einer Winterruhe bedürfen, oder

ob sie eventuell sofort keimen würden, war es notwendig, den ganzen Winter hindurch Sporen-Proben auf ihre Keimfähigkeit zu prüfen. Es konnte nun festgestellt werden, dass dieselben eine Winterruhe durchmachen, dass wir sie also ohne weiteres als Dauersporen bezeichnen dürfen. Die ersten Keimungen wurden erst am 28. April 1914 beobachtet, während eine reichliche Keimung erst Ende Mai und Anfang Juni einsetzte. Die Winterruhe der *Protomycopsis*-Dauersporen ist also um etwas mehr als einen Monat länger als diejenige von *Protomyces*. Diese Erscheinung mag mit dem Umstand in Zusammenhang zu bringen sein, dass *Protomycopsis Leucanthemi* fast ausschliesslich in höheren Lagen vorkommt.

Das Mycel und die Dauersporen haben ihre Hauptverbreitung im Schwammgewebe der *Chrysanthemum*-Blätter; es kann sich aber der Pilz zuweilen auch zwischen die Palisadenzellen hineindrängen, wenn er eine sehr üppige Entwicklung erlangt. Text-Fig. 12.

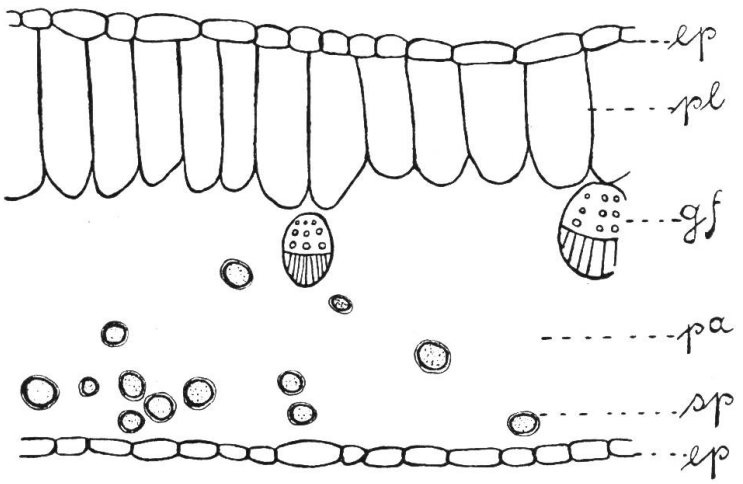


Fig. 12. Querschnitt durch ein mit *Protomycopsis* befallenes Blatt von *Chrysanthemum*. ep = Epidermis, pa = Schwammgewebe, gf = Gefässbündel, pl = Palisadenzellen, sp = Sporen. Vergr. za. 75.

Die Infektionsstellen erscheinen auf dem Blatt als kleine weissliche ausserordentlich flache Schwielen. Die Dauersporen sind in reifem Zustand dunkelbraun. Ihre Grössenverhältnisse sind richtig, wie Magnus sie angibt; sie sind 43,7 μ lang und 37,8 μ breit. Die Membran der Spore hat eine Dicke von 6 μ. Ein wichtiger Unterschied zwischen *Protomyces* und *Protomycopsis* ist der, dass bei der letztgenannten Gattung die Sporen terminal an den Mycelzweigen entstehen, während ja diese bei *Protomyces* immer intercalar gebildet werden. Text-Fig. 13.

Wenn die Dauersporen nicht zu alt sind, so besteht auch dann kein Zweifel, dass sie terminal entstanden sind, wenn der Zusammenhang mit dem Mycel nicht mehr zu erkennen ist, da, wie schon Magnus erwähnt hat, die Dauersporen an der Ansatzstelle des Mycels etwas birnförmig ausgezogen sind.

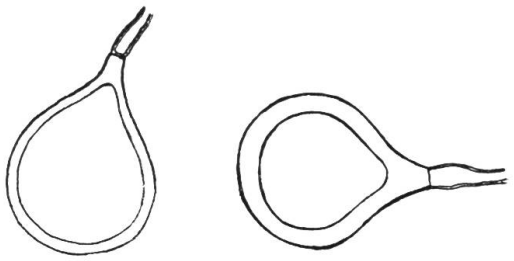


Fig. 13. Terminal entstandene Dauersporen von *Protomycopsis Leucanthemi* (nach lebendem Material). Vergr. za. 340.

Das Mycel ist ausserordentlich fein und zart und daher sehr schwer zu erkennen, nur in ganz jungen Entwicklungsstadien kann man es einigermassen gut studieren. Text-Fig. 14 und 15a, b.

Während *Protomyces* eine glatte Sporenmembran hat, finden wir, dass diejenige von *Protomycopsis* eine Skulptur hat. An reifen ausgewachsenen Dauersporen kann man allerdings von dieser Skulptur fast gar nichts mehr sehen. An jungen Dauersporen, die dann noch farblos sind, kann man feine Wärzchen erkennen, welche ihre Oberfläche bedecken. Betrachtet man die Membran im Querschnitt, so erkennt man eine Schicht, die wie aus Stäbchen aufgebaut erscheint. Nach dem Endosporium hin wird sie durch eine homogene Schicht begrenzt, nach aussen scheint sie bis an die Oberfläche der Membran zu reichen, wo sie in Gestalt von feinen Wärzchen hervorragt. Bei jungen Sporen kann man die innere homogene Schicht nicht wahrnehmen. Text-Fig. 15 a, b und 16.

Fig. 14. Junge Dauersporen von *Protomycopsis Leucanthemi.* (Nach lebendem Material.) Vergr. za. 450.

Es liegt hier offenbar eine ähnliche Struktur vor, wie sie uns in den Peridienzellen der Aecidien der *Uredineen* entgegentreten. Auch in der Sporenmembran von *Elaphomyces cervinus* sind solche Stäbchen beobachtet worden. (Vergl. Fischer (1), pag. 82, Fig. 4.)

Dass man in der Membran reifer Sporen die Struktur nur schwer sehen kann, liegt wohl daran, dass sie durch den Inhalt und die Färbung verdeckt wird. Bei entleerten Sporen kann man sie nämlich wieder gut erkennen.

Nachdem wir uns mit der Morphologie der Dauerspore von *Protomycopsis*

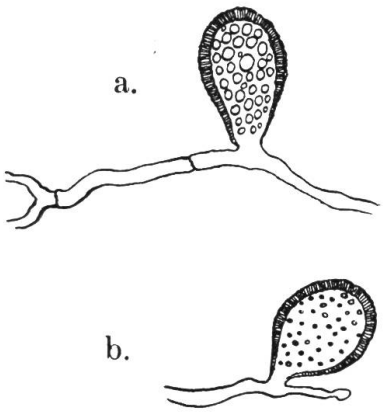


Fig. 15 a. Junge Dauerspore von *Protomycopsis.* Stäbchenstruktur der Membran. Vergr. za. 450.
b. Dasselbe, etwas mehr von der Fläche gesehen. (Nach lebendem Material.) Vergr. za. 450.

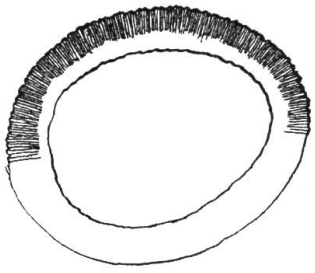


Fig. 16. Ausgewachsene Spore von *Protomycopsis*. Stäbchenstruktur von einer inneren homogenen Schicht begrenzt. (Nach lebendem Material.) Vergr. za. 450.

bekannt gemacht haben, wollen wir die Vorgänge der Keimung etwas näher ins Auge fassen. Wie schon erwähnt, bedürfen die Sporen einer Winterruhe, um entwicklungsfähig zu werden.

Die ersten Anzeichen der bevorstehenden Keimung, die in der Regel im Spätnachmittag eintreten, sind etwa folgende: 5—6 Tage nach Einrichtung einer Kultur bekommt der bis dahin homogen erscheinende plasmatische Inhalt eine grobkörnige Struktur. Dabei differenziert sich im Zentrum der Spore eine dichte, dunkel aussehende Partie, welche von einer hellen Randzone umgeben ist (Tafel VI, Fig. 2). Dieses Stadium dauert mehrere Stunden, dann verschwindet die zentrale Partie allmählich, bis der ganze Inhalt der Spore wieder hell erscheint. Nun reisst die Membran auf und das Endosporium beginnt langsam nach aussen zu treten (Tafel VI, Fig. 3). An der gegenüberliegenden Stelle bleibt es mehr oder weniger fest mit dem Mesosporium verbunden. Im ausgetretenen zylindrischen Sporangium ist das Plasma zunächst vollständig homogen (Tafel VI, Fig. 4). Es beginnt sich meistens erst dann zu differenzieren, wenn das Sporangium seine definitive Länge erreicht hat. Die durchschnittliche Länge beträgt 50 μ, die Breite za. 30 μ. Ausnahmsweise kann das Sporangium allerdings auch bedeutend länger werden; so wurde einmal eines gemessen, welches 105 μ lang war. Die Umlagerung des Plasmas wird eingeleitet, indem in der zentralen Partie des Sporangiums Vacuolen auftreten, die später mit einer grossen Vacuole verschmelzen, welche die Chlamydospore erfüllt. Ueber die Ursache der Vacuolenbildung sind wir natürlich auch hier nur auf Vermutungen beschränkt (Taf. VI, Fig. 5). Nachdem sich die grosse zentrale Vacuole im Sporangium ausgebildet hat, ist ein wandständiger Plasmabelag vorhanden (Tafel VI, Fig. 6). Dieser zeigt bald nach seiner Bildung eine feine Streifung, die sich in kurzer Zeit schärfer ausprägt, sodass bald der ganze Wandbelag in einzelne Plasmaportionen aufgeteilt wird (Tafel VI, Fig. 7). Die Portionen bleiben etwa 20 Minuten deutlich sichtbar, dann werden die Begrenzungen unscharf und der Wandbelag bekommt eine grobkörnige Struktur (Tafel VI, Fig. 8), welche sich sehr bald als ein Zerfall in die Sporen zu erkennen gibt. Leider war es mir trotz Anwendung starker Objektive nicht möglich, den Zerfall der Plasmaportionen in Sporen am lebenden Material im einzelnen zu verfolgen. Eigentümlich ist auch hier wieder, dass die

Sporen vorerst in der wandständigen Lage verharren; man kann sich das eben nicht anders zurechtlegen, als dass man annimmt, dass sie von einer protoplasmatischen Schicht gegen die zentrale Vacuole abgegrenzt werden. Nach einiger Zeit werden die Sporen von der Sporangiumwand weg nach dem Scheitel getrieben. Der Vorgang spielt sich in genau derselben Weise ab, wie bei *Protomyces pachydermus* (Tafel VI, Fig. 9).

Auch bei dieser Gattung wurden die anormalen Keimungen beobachtet, die wir für *P. pachydermus* beschrieben haben, bei denen eine Umlagerung des Plasmas im Sporangium nicht stattfindet.

Verfolgen wir hier das Schicksal der ausgeworfenen Sporen, so sehen wir, dass diese nicht zu zwei kopulieren wie bei *Protomyces*. Die Sporen von *Protomycopsis* haben eine Länge von 5 μ und eine Breite von 2 μ. In ihrem Inhalt führen sie in der Regel 2, selten 3 oder mehr stark lichtbrechende Körperchen. Sie lassen sich mit Neutralrot sehr schön rot färben. Von diesen Gebilden möchte ich annehmen, dass sie mit metachromatischen Körpern und nicht mit Kernen zu identifizieren sind (Tafel VI, Fig. 10).

In künstlichen Nährlösungen (Bierwürze und Pflaumendekokt) gelingt es sehr leicht, die *Protomycopsis*-Sporen zum Sprossen zu bringen. Die Sprossverbände scheinen sehr schnell zu zerfallen. Sehr häufig treten die kugeligen Zellen auf, diese sind dann zuweilen von einer grossen Vacuole erfüllt (Tafel VI, Fig 11).

Die cytologischen Verhältnisse von *Protomycopsis* zu untersuchen gelang mir auch mit den Verfahren, die ich mit gutem Erfolg bei *Protomyces* angewendet hatte.

In der ruhenden Dauerspore haben die Kerne, bei denen ein Nucleolus und eine Kernhöhle deutlich zu unterscheiden sind, eine gleichmässige Verteilung (Tafel VII, Fig. 1). Nachdem das Sporangium ausgetreten ist, sind die Kerne in grösserer Zahl vorhanden, zudem sind sie auch etwas kleiner geworden. Diese beiden Tatsachen lassen darauf schliessen, dass sie sich geteilt haben. Das Plasma, in welchem sie noch in gleichmässiger Verteilung eingebettet sind, hat eine feinnetzige Struktur. An dem in der Chlamydospore eingeschlossenen Teil des Sporangiums bemerkt man bereits die beginnende Vacuolenbildung (Tafel VII, Fig. 2). In einem späteren Stadium setzt die Vacuolisierung auch schon im Sporangium selber ein (Tafel VII, Fig. 3). Im Wandbelag sind die Kerne relativ gut zu sehen. Die einzelnen Portionen sind nackte Zellen, die durch schmale Zwischenräume getrennt sind. Flächenbilder gestatten immer den besten Einblick in diese Stadien (Tafel VII, Fig. 4 und 4a). In einigen meiner Präparate sah man Kerne dieser Portionen, die Teilungen erfahren hatten. Tafel VII,

Fig. 4b zeigt solche Zellen, die 2 und 3 Kerne enthalten; 4 konnten leider nicht deutlich gesehen werden, aber es darf mit grosser Wahrscheinlichkeit angenommen werden, dass in einem weiteren Stadium 4 Kerne vorhanden sind, und dass diese 4kernigen Portionen dann in je vier einkernige zerfallen. Die Sporen werden offenbar durch letztere gebildet. Die Sporen sind länglich-oval und besitzen einen meist etwas polar gelagerten Kern (Tafel VII, Fig. 5). An ganz guten Präparaten gelingt es zuweilen, zwischen der Sporenmasse und der Sporangiumwand einen dünnen Plasmastreifen wahrzunehmen, offenbar Plasma, welches an der Sporenbildung nicht teilgenommen hat. Nach innen zu gelang es auch hier nicht, eine Plasmaschicht festzustellen. An fixierten Präparaten gelingt es nur sehr selten, die Plasmastränge zu sehen, welche von der Sporangiumwand nach dem Sporenball hinziehen. Und wenn dies auch zuweilen der Fall ist, so sind diese Gebilde nur in kleinen Fragmenten wahrzunehmen. Ich vermute, dass dieses Stadium bei der Fixierung meistens zerstört wird. Man darf nicht vergessen, dass der Turgor hier ausserordentlich hoch ist, so dass im Moment, wo der Tod eintritt, das Sporangium platzt oder kollabiert.

Ueber die cytologischen Verhältnisse des Mycels konnte leider noch nichts in Erfahrung gebracht werden.

Unsere Untersuchungen über den Entwicklungsgang von *Protomycopsis Leucanthemi* bestätigen also die Vermutung von Magnus, dass *Protomyces* und *Protomycopsis* nahe verwandte Gattungen sind.

Im Wesentlichen unterscheidet sich also die letztgenannte Gattung von *Protomyces* durch die terminale Entstehung der Dauersporen, ferner dadurch, dass dieselben in ihrer Membran eine Skulptur haben und endlich, dass die aus dem Sporangium ausgeworfenen Sporen nicht zu zwei kopulieren, sondern einzeln bleiben.

Zur Gattung *Protomycopsis* gehört auch:

Protomyces Bellidis Krieger, die 1896 von Krieger (1) bei Königstein a/Elbe auf *Bellis perennis* entdeckt worden ist. Dieser Pilz wurde dann von Popta (1 p. 16—20, Tafel I, Fig. 9—17) näher untersucht, aber die Autorin sagt nichts über den Ort der Entstehung der Dauersporen am Mycel; ebensowenig vernehmen wir etwas darüber, wie sich die Sporen hier nach dem Auswerfen aus dem Sporangium verhalten. Dieser Umstand hat Magnus veranlasst, in seiner «Pilzflora von Tyrol» im Anschluss an die Diagnose von *Protomycopsis Leucanthemi*, wo er als Hauptunterschied der beiden Gattungen *Protomyces* und *Protomycopsis* die terminale Entstehung der Dauersporen der letzteren Gattung nachweist, darauf aufmerksam zu machen, dass *Protomyces Bellidis* auf die Bildung seiner Dauersporen untersucht

werden müsste. Ich hatte auch die Absicht, dies gelegentlich zu tun, ohne aber Zweifel über die Zugehörigkeit dieses Pilzes zur Gattung *Protomyces* zu hegen. Aus diesem Grunde hatte ich auch *Bellis* in die Versuche mit den compositenbewohnenden *Protomyces*-Arten einbezogen. Damals (im Herbst 1913), als ich die Versuche einleitete, das sei hier ausdrücklich hervorgehoben, kannte ich den Pilz nur von Herbarmaterial, welches ich der Freundlichkeit von Herrn Krieger in Königstein a/Elbe verdankte.

Wir müssen daher jetzt auf die Versuche, die mit *Protomyces pachydermus* ausgeführt wurden, zurückkommen.

Zunächst Versuchsreihe III (Kistchenversuch) (pag. 48). Wir erinnern uns, dass in diesem Versuch nicht nur *Taraxacum officinale* infiziert war, sondern auch eine *Bellis*-Pflanze zeigte gelbe Flecken auf den Blättern. Die mikroskopische Untersuchung zeigt in denselben Sporen, welche als *Protomyces*-Sporen angesehen wurden. Sie waren leider zu alt, als dass es möglich gewesen wäre, den Modus ihrer Entstehung festzustellen. Dieses Resultat war sehr befremdlich, weil das Aussehen der Infektion ein ganz anderes war, als man es bei *P. pachydermus* zu sehen gewohnt ist. Die Blätter von *Bellis* zeigten ganz flache Schwielen von ockergelber Farbe. Eine weitere Eigentümlichkeit war die, dass sich die Membran der betreffenden Sporen unter Einwirkung von Chlorzinkjod blau anstatt violett färbten. Die Farbreaktion war genau dieselbe, wie ich sie bei *Protomycopsis Leucanthemi* hatte feststellen können.

Wir erinnern uns ferner, dass Versuchsreiche VI (pag. 49) folgende Resultate lieferte: Ausser zwei Pflanzen von *Taraxacum* waren auch zwei *Bellis*-Pflanzen infiziert. Auch hier waren die Sporen zu alt, als dass eine mikroskopische Untersuchung über die Bildung der Dauersporen hätte Aufschluss geben können. Diese Sporen wurden ebenfalls durch Chlorzinkjod blau gefärbt. Die *Bellis perennis*-Pflanzen dieses Versuches und auch diejenige von Versuch III stammten aus dem väterlichen Garten.

Diese Resultate blieben mir vorerst ganz unverständlich, umsomehr als es mir im Frühjahr 1913 nicht gelungen war, *Bellis* mit *Protomyces pachydermus* zu infizieren.

Um die Frage einer endgültigen Lösung entgegenzuführen, führte ich folgenden Versuch aus:

Am 8. Juli 1914 wurden mit Sporenmaterial von *Protomyces pachydermus*, das am 29. September 1913 auf *Taraxacum officinale* bei der «Gaucheren» gesammelt worden war, infiziert:

No. 1—2. *Taraxacum officinale*, aus dem Garten des «Choisi» b. Bern.
No. 3–4. *Bellis perennis*, aus dem Botan. Garten.

Das Resultat war folgendes:

No. 1—2 *(Taraxacum)* waren am 22. Juli mit *Protomyces*-Schwielen behaftet.

No. 3—4 *(Bellis)* blieben auch nach längerer Beobachtungszeit ganz pilzfrei.

Dieser Versuch deutete also doch darauf hin, dass *Bellis* von *P. pachydermus* nicht befallen wird.

Mittlerweile war es mir gelungen, den Pilz auf *Bellis perennis* im väterlichen Garten zu finden. Es waren genau dieselben ockergelben Flecken, wie ich sie auf meinen Versuchspflanzen gesehen hatte, in der Natur waren auch fast ausschliesslich die basalen Blätter der *Bellis*-Rosetten vom Pilz befallen. Eine mikroskopische Untersuchung der Sporen liess nun mit Sicherheit feststellen, dass sie terminal entstehen, Text-Fig. 17. Auch hier färbten sich die Membranen bei Zusatz von Chlorzinkjod blau; ferner liessen sie eine feine Stäbchenstruktur erkennen, Text-Fig. 18. Kurzum es deutete alles darauf hin, dass dieser vermeintliche *Protomyces* sich als ein der Gattung *Protomycopsis* zugehöriger Pilz erweisen würde, was aber erst auf Grund wenigstens einer beobachteten Keimung sicher behauptet werden durfte. Nach dem oben Erwähnten kann es ja ausnahmsweise einmal vorkommen, dass sich Dauersporen sofort normal entwickeln. Es gelang denn auch, eine Keimung zu beobachten und dabei festzustellen, dass dieser Vorgang genau in derselben Weise verläuft wie bei *Protomycopsis Leucanthemi*, dass also auch hier die Sporen nach Austritt aus dem Sporangium nicht kopulieren, sondern einzeln bleiben.

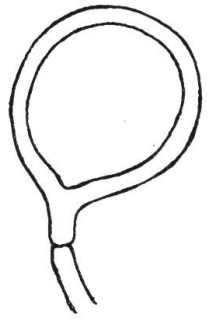


Fig. 17. Terminal entstandene Dauerspore von *Protomycopsis Bellidis* (nach lebendem Material). Vergr. 450.

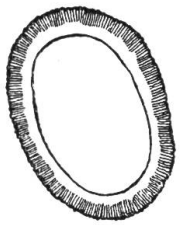


Fig. 18. Membranstruktur einer Spore von *Protomycopsis Bellidis* (nach lebendem Material). Vergröss. 450.

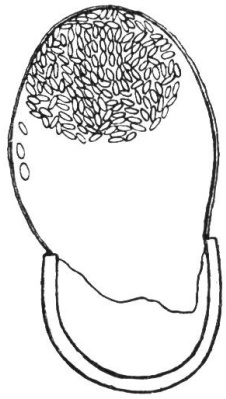


Fig. 19 a. Keimende Spore von *Protomycopsis Bellidis*. Stadium vor dem Auswerfen der Sporen (nach lebendem Material). Vergröss. za. 340.

Die infizierten *Bellis*-Pflanzen fand ich in der Nähe des Ortes, wo meine Versuche aufgestellt waren, und wo ich auch die *Bellis*-Pflanzen für einen Teil der Versuche ausgegraben hatte. Es liegt nun auf der Hand, anzunehmen, dass in meinen Versuchen eine Verunreinigung vorlag, resp. dass die betreffenden *Bellis*-Pflanzen, die ja tatsächlich aus demselben Garten stammten, schon ursprünglich vom Pilz befallen waren. Dass ich den Pilz übersehen habe, lässt sich durch die Kleinheit der verursachten Flecken entschuldigen, umsomehr als ich den Pilz noch nie an lebendem Material gesehen hatte.

Fig. 19b. Sporen von *Protomycopsis Bellidis* (lebend). Vergr. za. 800.

Ich habe den Verlauf der Untersuchungen so dargestellt, wie er sich in Wirklichkeit ergeben hat, und wie ich dadurch zur Ueberzeugung gelangte, dass *Protomyces Bellidis* zu *Protomycopsis* gestellt werden muss. Herr Krieger, dem ich die Angelegenheit unterbreitet habe, teilte mir mit, dass er den Pilz seiner grossen Sporen wegen zu *Protomyces* gestellt habe, ohne damals auf ihre Entstehung näher zu achten. Es unterliegt nun wohl keinem Zweifel mehr, dass von nun an der Pilz unter dem Namen *Protomycopsis Bellidis (Krieger) P. Magnus* zu figurieren hat.

Die Beobachtungen, welche Frl. Popta über den Entwicklungsgang von *Protomycopsis Bellidis* gemacht hat, stimmen im grossen Ganzen mit den meinigen überein. Auf einige ergänzende Feststellungen sei noch speziell hingewiesen:

Fräulein Popta (1, pag. 23) sagt bezüglich der Dauersporen: «*Protomyces Bellidis* weicht aber von *P. macrosporus* dadurch ab, dass eine vorherige Differenzierung in eine hellere Randzone und dunklere Innenpartie nicht zu bemerken ist etc.» Das kann ich nun keineswegs bestätigen; vielmehr habe ich sowohl bei *Protomyces pachydermus* als auch bei *Protomycopsis Leucanthemi* und *Bellidis* diese Differenzierung in den Dauersporen wahrnehmen können. Weder Popta noch Krieger sagen etwas über die Stäbchenstruktur und die Warzen auf der Sporenmembran; das ist nun insofern leicht verständlich, als diese Strukturen, wie übrigens schon erwähnt, nur an jungen Sporen gut zu sehen sind.

Ein weiterer Punkt, in welchem meine Beobachtungen abweichen, ist der, dass nach meinen Untersuchungen die wandständigen Plasmaportionen nicht als solche die Sporen darstellen, wie C. Popta (1, pag. 19) meint, sondern, dass diese aus einer Vierteilung der eben genannten Portionen resultieren.

Ferner ist in der Popta'schen Darstellung nicht die Rede von den Vacuolen und den sie trennenden Plasmaplatten, die hier in gleicher Weise ausgebildet sind wie bei *Protomyces macrosporus* und *pachydermus*. Allerdings sind diese Gebilde bei *Protomyces pachydermus* und bei *Protomycopsis* meistens nicht so schön und deutlich zu sehen, wie bei *P. macrosporus*. Popta sagt: «Nun fangen die Sporen allmählich an, nach oben zu wandern, aber nicht durch die zentrale Vacuole, sondern wieder der Sporangiumwand entlang, langsam nach oben sich begebend, bis alle an der Spitze liegen und diese ganz ausfüllen etc.» Nach meinen Beobachtungen ist das nicht eine zutreffende Beschreibung des Vorganges, sondern er spielt sich genau so ab, wie ich es für *P. pachydermus* beschrieben habe.

Ausserdem sind mir noch folgende *Protomycopsis*-Formen bekannt geworden: *Protomycopsis Hyoseridis Syd. nov spec.* auf *Hyoseris radiata. L.* An Herbarmaterial konnte auch hier die terminale Entstehung der Sporen festgestellt werden. Das Gleiche gilt ferner für eine Form auf *Chrysanthemum atratum* und eine andere auf *Achillea atrata*. Für die zwei letzteren Formen konnte ebenfalls eine Blaufärbung der Sporenmembranen mit Chlorzinkjod nachgewiesen werden. Auch hier wären natürlich Keimungsversuche sehr wünschenswert, obschon es sehr wahrscheinlich ist, dass die vorliegenden Pilze zu *Protomycopsis* gehören.

Wir haben für alle zu *Protomycopsis* zu stellenden Formen eine Blaufärbung der Membran der Dauersporen durch Chlorzinkjod feststellen können, während im Gegensatz dazu *Protomyces*-Dauersporen durch dieses Reagens immer violett gefärbt wurden. Man sollte daher meinen, es liesse sich das als ein gutes diagnostisches Merkmal verwenden. Es hat sich aber herausgestellt, dass aus dem Gewebe ihres Wirtes isolierte *Protomycopsis*-Sporen sich unter Einwirkung von Chlorzinkjod ebenfalls violett färben. Die Farbreaktion scheint also irgendwie vom Zellinhalt des Wirtes beeinflusst zu werden.

Infektionsversuche mit *Protomycopsis* habe ich bis jetzt nur sehr wenige unternommen. Da sie leider alle resultatlos verliefen, so wissen wir vorläufig über die Biologie dieses Pilzes noch so gut wie nichts. Es sei nur angeführt, dass ein Versuch eingeleitet wurde, um zu prüfen, ob *Protomycopsis Leucanthemi Hyoseris radiata* befallen würde, aber weder *Chrysanthemum* noch *Hyoseris* zeigten eine Infektion; somit lässt sich nichts Bestimmtes sagen.

Die Standorte von *Protomycopsis* sind denjenigen von *Protomyces* sehr ähnlich. *P. Leucanthemi* bevorzugt feuchte grasige Orte in den Voralpen, wo der Boden mit Moos bewachsen ist. In Sils-

Maria 1876 m ü. M. und im «Untern Gurbs», Diemtigtal, Berner Oberland, 1459 m ü. M., ferner auch am Juchlipass fand ich *Protomycopsis* auf *Chrysanthemum Leucanthemum var. montanum L.* Neuerdings traf ich den Pilz aber auch auf *Chrysanthemum Leucanthemum L.* in den alten Steinbrüchen auf der Nordwestseite des Gurtens bei Bern bei za. 679 m ü. M.

Protomycopsis Bellidis (Krieger) P. Magnus scheint auch nur an feuchten moosigen Orten vorzukommen. Wenigstens war an den Stellen, an denen ich bis jetzt diesen Pilz gefunden habe, der Boden sehr feucht und moosig.

3. Gattungen Taphridium und Volkartia.

Die Gattung *Taphridium* ist im Jahre 1901 von Lagerheim und Juel (1) aufgestellt worden. Juel hat zwei Arten dieser Gattung, nämlich *T. umbelliferarum* und *T. algeriense* einer gründlichen morphologischen und cytologischen Untersuchung unterworfen.

Taphridium umbelliferarum (Rostr.) Lagerheim et Juel lebt auf verschiedenen Umbelliferen, so z. B. auf *Heracleum* und *Peucedanum*, wo er auf den Blättern ausgedehnte graue Flecken hervorruft. Das vielkernige Mycel kriecht unter der Epidermis; hier werden auch die Sporen gebildet. Nach den Palissadenzellen hin werden dünne Hyphenzweige entsendet, die wahrscheinlich den Zweck haben, aus diesem Gewebe Nahrung zu schöpfen. In jungen Sporangiumanlagen sind schon zahlreiche Kerne vorhanden. Aeltere Sporangien enthalten etwas grössere Kerne, die in einem netzigen Cytoplasma eingebettet sind. In einem noch älteren Entwicklungsstadium werden sie noch zwei- bis dreimal grösser und lassen dann meistens einen ziemlich distinkten Chromatinfaden erkennen. Dann machen die Kerne eine Teilung durch und zugleich verändert sich das Cytoplasma, indem es von der netzigen Struktur zu einer flockigen übergeht. Um die durch die Teilung resultierten Tochterkerne setzt nun freie Zellbildung ein. Das im Sporangium bleibende Cytoplasma ist nur sehr spärlich. Juel hat nicht sicher entscheiden können, ob diese nackten Zellen sich sofort zu Sporen entwickeln, oder ob sie Sporenmutterzellen sind. Die Sporen erfüllen später das ganze Sporangium. Ihre Form ist erst ellipsoidisch, um sich dann später am einen Ende etwas zuzuspitzen. Sie enthalten immer nur je einen Kern. Konidienbildung an den Sporen innerhalb des Sporangiums konnte nicht beobachtet werden, ebenfalls kein paariges Fusionieren derselben.

Es sei nun noch besonders hervorgehoben, dass also die Sporen im Innern des Sporangiums ausgebildet werden, dass aber dann der Inhalt in Gestalt einer geschlossenen mehr oder weniger kugeligen

Blase nach aussen tritt (Text-Fig. 20) und diese dann durch Platzen die Sporen frei gibt. Juel (1. p. 1) sagt auch in seiner Einleitung, dass die Sporangiumwand doppelt sei, und dass die innerste Lamelle den die Sporen einschliessenden Sack darstellt. Da ich Gelegenheit hatte, diese Verhältnisse selber an lebendem Material nachzuprüfen, so bin ich in der Lage, die Angaben von Juel voll und ganz zu bestätigen.

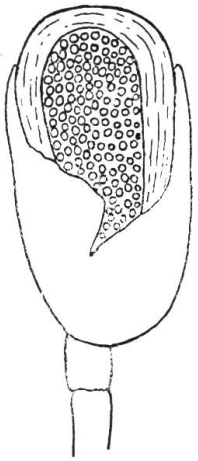


Fig. 20. Austretendes Sporangium von *Taphridium Umbelliferarum* (nach lebendem Material). Vergr. za. 340.

Mit Chlorzinkjod lässt sich die Membran des Sporangiums, wie übrigens auch das Mycel, violett färben. Die innere Lamelle erscheint farblos, während die Sporen unter Einwirkung dieses Reagens sich dunkelgelb färben.

Der Tatsache, dass die Sporen in einem solchen Sack nach aussen treten, ist von einigen Forschern keine oder doch zu geringe Beachtung geschenkt worden.

Taphridium algeriense Juel, das ich nicht selber untersucht habe, kommt auf *Ferula communis* vor. Juel (1. pag. 7) hat hier ein Austreten des Endosporiums aus dem Exosporium nicht beobachtet. Die Sporangiumwand ist auch dünner und offenbar weniger quellbar. Er neigt zur Annahme, dass sich das Sporangium in situ entleert. Das Mycel von *T. algeriense* ist nicht auf die subepidermale Partie des Blattes beschränkt, sondern durchzieht mehr oder weniger alle Gewebe der Pflanze, sogar ohne die Gefässbündel zu meiden. Die fertilen Hyphen, die ausgeprägt längs verlaufen, finden sich allerdings auch nur unter der Epidermis. An ihnen lassen sich sehr bald junge Sporangiumanlagen erkennen. In ausgewachsenen Sporangien sind die Zellkerne wesentlich grösser als in den vegetativen Zellen. Der Kern zeigt einen Nucleolus und einen Chromatinfaden. In einem weiteren Stadium der Entwicklung trifft man die Kerne, die bis jetzt gleichmässig im Sporangium verteilt waren, an seiner Peripherie. Sie sind bedeutend kleiner als vorher, was darauf schliessen lässt, dass sie die Tochterkerne eines vorangegangenen Teilungsaktes sind. Um die Kerne bilden sich Zellen und zwar nach dem Vorgang der freien Zellbildung. Der übrige Teil des Sporangiums enthält nur noch ganz wenig kernloses Plasma. Zwischen den nackten Zellen sind feine Plasmastreifen.

Juel spricht diese nackten Zellen als Sporenmutterzellen an, indem ihr Teilungsprodukt die Sporen liefert. Diese sind einkernig und fusionieren zuweilen paarweise.

Was uns hier besonders interessiert, sind die Sporenmutterzellen in ihrer peripheren Lagerung. Diese Verhältnisse sind auffallend ähnlich mit denjenigen, die wir bei *Protomyces* angetroffen haben, nur dass bei der letztgenannten Gattung die Sporenmutterzellen erst nach dem Austritt des Sporangiums gebildet werden, was ja kein prinzipieller Unterschied ist.

Taphrina rhaetica Volkart. Unter diesem Namen wurde 1902 von Volkart (1) ein Pilz beschrieben, den er auf *Crepis blattarioides* entdeckt hatte. Dieser Autor hat dann sehr bald erkannt, dass der betreffende Pilz nicht zu *Taphrina* gehört, sondern dass dieser in die Gattung *Taphridium* einzureihen sei.

Volkart stellte fest, dass das Mycel subepidermal in den Blättern des Wirtes verläuft, und dass ferner die dickwandigen Sporen einen Schlauch nach aussen treiben. In den Sporangien hat er Konidiensprossung beobachtet.

Ich habe nun versucht, die Entwicklung dieses Pilzes etwas näher zu verfolgen. Zunächst gelang es an lebendem Material festzustellen, dass sich die Membran des Sporangiums mit Chlorzinkjod violett färbt, während die ausgetretenen Schläuche und Sporen dunkelgelb erscheinen. Die Sporen kopulieren, nachdem sie aus dem Sporangium frei werden, sofort paarweise. Sie sprossen dann in geeigneten Nährlösungen ausserordentlich reichlich und verhalten sich dabei ganz gleich wie *Protomyces*-Sporen. Sie lassen in ihrem Inhalt ebenfalls stark lichtbrechende Körperchen wahrnehmen, welche sich mit Neutralrot sehr schön färben lassen. Ich bin auch hier geneigt, dieselben als metachromatische Körper anzusehen. Konidiensprossung konnte innerhalb des Sporangiums nicht beobachtet werden.

Um über die Sporenbildung Aufschluss zu bekommen, fixierte ich kleine Stücke von infizierten Blättern der *Crepis blattarioides*-Pflanzen mit Juelscher Lösung und Flemming. Das Material stammte von der Spondätschaalp ob Trimmis (Graubünden) und war an Ort und Stelle fixiert worden. Beide Fixierungen erwiesen sich als vorzüglich. Es wurden 5 μ dicke Schnitte hergestellt und diese mit Haematoxylin gefärbt. Leider war das Material in seiner Entwicklung schon etwas zu weit fortgeschritten; junge Stadien waren in den Präparaten nur mit Mühe zu finden. Das jüngste Stadium, welches ich zu sehen

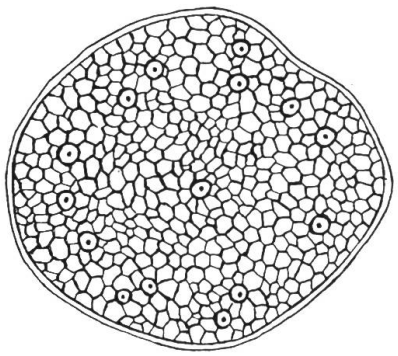


Fig. 21. Sporangium von *Taphridium rhaeticum.* Junges Stadium mit noch kleinen Kernen (n. fixiertem u. gefärbtem Material). Vergr. za. 1500.

bekam, zeigte ein feinnetziges Cytoplasma mit gleichmässig verteilten Kernen. Vorstehende Fig. 21.

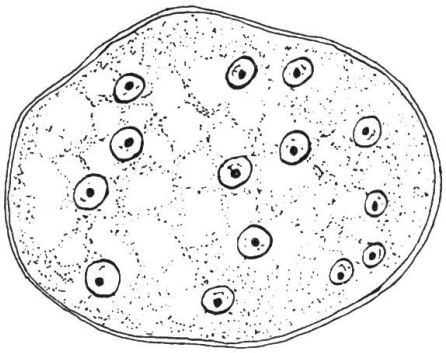


Fig. 22. Sporangium von *Taphridium rhaeticum*. Kerne mit geringen Spuren von Chromatin. (Nach fixiertem und gefärbtem Material.) Vergr. za. 1500.

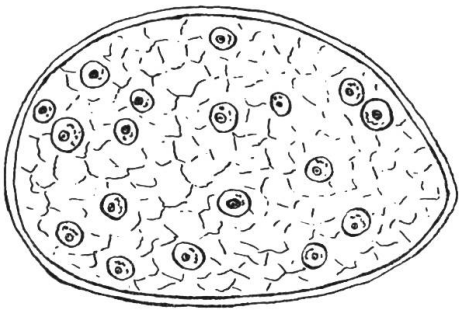


Fig. 23. Sporangium von *Taphridium rhaeticum*. Um die jetzt sehr kleinen Kerne sind Zellen abgegrenzt worden. Cytoplasma von fädiger Struktur. (Nach fixiertem u. gefärbtem Material.) Vergr. za. 1500.

Ein folgendes Stadium zeigte bedeutend grössere Kerne, welche undeutliche Spuren von Chromatin enthalten. Ihre Verteilung im Sporangium war ebenfalls noch eine gleichmässige. Dagegen hatte das Cytoplasma im Vergleich zum vorhergehenden Stadium eine wesentliche Veränderung erlitten (Text-Fig. 22.): Es war nur noch als eine körnige, lockere Substanz erhalten. Nun kommt weiter ein Stadium, Textfig. 23, bei dem man membranumgebene Zellen sieht, die einen sehr kleinen Kern führen, der einen Nucleolus kaum erkennen lässt. Diese kleinen Kerne sind offenbar die Tochterkerne einer oder einiger vorangegangener Teilungen, um die dann eine freie Zellbildung stattgefunden hat. Das Cytoplasma hat nunmehr eine fädige Struktur. Dieses Stadium hat eine auffallende Aehnlichkeit mit Fig. 4, Taf. I, die Juel von *T. umbelliferarum* gibt, nur habe ich in meinem entsprechenden Präparat im Sporangium keine freien Kerne mehr gesehen. Es erhebt sich nun die Frage, ob diese Zellen sich direkt zu Sporen entwickeln oder ob es Sporenmutterzellen sind. Juel lässt für *T. umbelliferarum* die Frage unentschieden, neigt aber, wie wir gesehehen haben, mehr zur Annahme hin, dass die betreffenden Zellen als Sporenmutterzellen aufzufassen sind. Ich wage diese Frage an Hand meiner wenigen Präparate auch nicht zu entscheiden.

Es folgen dann Stadien, welche mehr oder weniger ausgebildete Sporen aufzuweisen haben. Text-Fig. 24. Die Sporen sind immer einkernig und werden im Innern des Sporangiums fertig ausgebildet, erst dann treten sie im auswachsenden Endosporium nach aussen.

Wie schon erwähnt, war das Material etwas zu alt und daher sind meine Untersuchungen auch etwas lückenhaft ausgefallen. Es

darf aber doch mit Sicherheit behauptet werden, dass *Taphridium rhaeticum Volkart* sich in seiner Entwicklung an *Taphridium umbelliferarum* anschliesst, nicht nur, weil das Endosporium hier austritt, sondern weil sich auch die cytologischen Verhältnisse stark an die letztgenannte Gattung und Spezies anlehnen, was die Sporenbildung anlangt.

Ich hatte auch zur Kontrolle Material von *Taphridium umbelliferarum* fixiert, sodass ich Gelegenheit hatte, die entsprechenden Präparate zu vergleichen.

Es unterliegt nun meiner Ansicht nach auch gar keinem Zweifel mehr, dass *Taphridium rhaeticum Volkart* dem *Taphridium umbelliferarum* sehr nahe steht und in die gleiche Gattung gestellt werden muss.

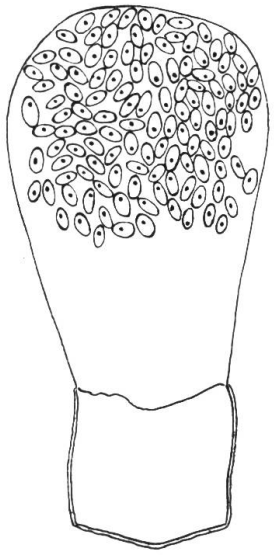


Fig. 24. Ausgetretenes Sporangium von *Taphridium rhaeticum*, noch die Sporen enthaltend. (Nach fixiertem u. gefärbtem Material, etwas schematisiert). Vergr. za. 750.

Volkart (1) sagt bei der Besprechung der systematischen Stellung des neuen Pilzes folgendes: «Von vornherein ausgeschlossen schien das von Lagerheim und Juel neu aufgestellte Genus *Taphridium*, wegen der Bildung der Schläuche und weil diese und die askogenen Zellen sicher nicht von Anfang an vielkernig sind.» Wir haben nun gesehen, dass bei *Taphridium umbelliferarum* das Endosporium eben doch austritt, ob nun das in Form einer fast kugeligen Blase oder eines länglichen Schlauches geschieht, scheint mir ganz irrelevant zu sein. Und was die Zahl der Kerne in den jungen askogenen Zellen anbelangt, so sind sie eben doch sehr wahrscheinlich in der Mehrzahl vorhanden. Volkart hat das offenbar später erkannt und richtig gestellt, indem er diesen Pilz zu *Taphridium* stellte, wie oben schon erwähnt wurde.

Es bleibt mir noch übrig, einige Bemerkungen zu diskutieren, die René Maire (1) über diesen Pilz gemacht hat. Nachdem er diesen Pilz auch im Cirque de Gavarnie (Dép. des Hautes Pyrénées) auf *Crepis pygmaea* gefunden hat, will er denselben mit dem Namen *Volkartia nov. gen.* belegen. Seine Begründung ist folgende: «En résumé, le genre *Volkartia* nous paraît bien caractérisé par ses sacs ascoides sortant d'un sporange à membrane épaissie. Les sacs ascoides le séparent des *Taphridium*, et le sporange à membrane épaissie l'éloigne des *Taphrina*.» Letzteres ist zutreffend, der Pilz hat wie schon erwähnt mit *Taphrina* nichts zu tun. Was hingegen den

austretenden Schlauch anbetrifft, so trennt dieser den Pilz keineswegs von *Taphridium*, wie Maire meint, im Gegenteil.

Es kann nun aber mit Recht geltend gemacht werden, dass *Taphridium umbelliferarum* und *T. algeriense* eigentlich sehr verschieden sind, wie übrigens schon Juel (1. pag. 19) zugibt. Bei *T. algeriense* findet die Sporenbildung an der Peripherie des Sporangiums statt, bei *T. umbelliferarum* dagegen im ganzen Zellraum. Bei *T. rhaeticum* findet die Sporenbildung ebenfalls im ganzen Zellraum statt. Daraus geht also hervor, dass *T. umbelliferarum* und *T. rhaeticum* in ihrem Entwicklungsgang sehr ähnlich sind. Dagegen scheint *T. algeriense* eine gewisse Uebereinstimmung mit *Protomyces inundatus Dangeard* zu haben, insofern bei diesen Formen die Sporenbildung an der Peripherie der Chlamydospore stattfindet, und das Endosporium wahrscheinlich nicht austritt.

Ich möchte nun vorschlagen, die beiden letztgenannten Formen, deren Sporen also an der Peripherie der Chlamydospore entstehen und bei denen das Endosporium vermutlich nicht austritt, mit dem Gattungsnamen *Taphridium* zu bezeichnen, also *Taphridium algeriense* und *Taphridium inundatum*. Dagegen wären dann die Formen, deren Sporenbildung im ganzen Zellraum stattfindet und deren Endosporium austritt, mit dem Gattungsnahmen *Volkartia* zu bezeichnen. Also *Volkartia umbelliferarum* und *Volkartia rhaetica*.

Man kann noch die Frage aufwerfen, wie denn eigentlich diese Pilze überwintern, indem ja die Chlamydosporen sofort keimen. Schon Lagerheim (Juel 1. pag. 3—4) hat auf dieses Verhalten aufmerksam gemacht und bemerkt dazu folgendes: «*Protomyces* und *Taphridium Umbelliferarum* stehen daher zu einander ungefähr in demselben Verhältnis, wie die überwinternden Teleutosporen von *Puccinia graminis* zu denjenigen einer «*Lepto-Puccinia*», wie z. B. *P. Malvacearum*, welche sogleich keimfähig sind.» Wir können also von «*Lepto-Protomyces*» sprechen.

Es wären natürlich verschiedene Möglichkeiten für die Ueberwinterung denkbar. Das Mycel könnte in der Pflanze perennieren oder einzelne Sporangien könnten doch erst im nächsten Frühjahr zur Entwicklung kommen. Ich habe nun tatsächlich im Herbst (September) ungekeimte Sporangien gefunden, aber nach Ueberwinterung waren sie nicht zur Entwicklung zu bringen. Endlich könnte man sich auch vorstellen, dass die Endosporen den Winter über saprophytisch leben, um dann im Frühjahr die jungen Nährpflanzen zu infizieren. Letztere Annahme ist jedoch sehr wenig wahrscheinlich, da, wie wir früher gesehen haben, die Sporen gegen äussere Einflüsse, besonders Bakterien, sehr empfindlich sind.

4. Die verwandtschaftlichen Verhältnisse der Protomycetaceen.

a. Beziehungen der Protomycetaceen unter sich.

Protomyces, *Protomycopsis*, *Volkartia* und *Taphridium* lassen sich ohne weiteres sehr gut untereinander vergleichen. Wie wir gesehen haben, deckt sich der Entwicklungsgang von *Protomyces* mit dem von *Protomycopsis* fast vollständig, sowohl in den morphologischen, als auch in den cytologischen Verhältnissen. Ferner lassen sich *Protomyces*, *Volkartia* und *Taphridium* auch sehr wohl vergleichen, worauf übrigens schon Juel (1, pag. 22) hingewiesen hat. Er zog den Vergleich mit *Protomyces Bellidis Krieger*, den ich nunmehr als *Protomycopsis Bellidis (Krieger) Magnus* identifiziert habe. Der Vergleich kann heute noch viel strikter durchgeführt werden, indem ich nachweisen konnte, dass bei *Protomyces* sowohl als auch bei *Protomycopsis* die wandständigen Plasmaportionen durch Teilung den Sporen den Ursprung geben. Die Plasmaportionen liefern nicht direkt die Sporen, wie Popta meinte. Diese nackten Zellen im *Protomyces*- und *Protomycopsis*-Sporangium lassen sich also gut vergleichen mit den wandständig gelagerten Sporenmutterzellen, die Juel für *Taphridium algeriense* beschrieben hat.[1])

Wir gelangen innerhalb der *Protomycetaceen* zu einer vollständigen Reihe: *Volkartia*, *Taphridium*, *Protomyces* und *Protomycopsis*. Die folgenden Schemata mögen dies etwas erläutern:

Volkartia (umbelliferarum und rhaetica).

Sporen entstehen regellos in der Chlamydospore. Austreten des Endosporiums nach Fertigstellung der Sporen.

Taphridium (algeriense und inundatum).

Sporen entstehen wandständig in der Chlamydospore. Endosporium sehr wahrscheinlich nicht austretend.

Protomyces (macrosporus, pachydermus, Crepidis und kreuthensis).

Sporen entstehen wandständig im ausgetretenen Endosporium. Sporen kopulieren.

---

[1]) Ein weiterer Vergleich hätte zwischen *Volkartia* und *Monascus* gezogen werden dürfen, wenn Ikeno's (2) Feststellungen bezüglich der Sporenbildung des letzteren Pilzes richtig gewesen wären. Die Sporenmutterzellen und deren Zerfall in Sporen, welche dort vorkommen sollten, hätten eine grosse Uebereinstimmung gehabt mit den Verhältnissen, wie wir sie bei *Volkartia Umbelliferarum* angetroffen haben. Aber schon Barker (1) hatte *Monascus* als einen *Ascomyceten* erkannt und W. Schikorra (1) hat neuerdings bestätigt, dass dieser Pilz ein typischer *Ascomycet* ist.

Protomycopsis (Leucanthemi und Bellidis).

Wie Protomyces, aber Sporen nicht kopulierend.

Es ist einleuchtend, dass weder *Volkartia* noch *Taphridium* zu den *Exoascaceen* nähere Beziehungen haben, wie ich schon mehrmals im Verlauf dieser Arbeit angedeutet habe. Das cytologische Verhalten der *Exoascaceen* ist dasjenige der typischen *Ascomyceten* (Ikeno 1). Der Ascus ist ursprünglich einkernig. Die Ascosporen erzeugen Conidien. Diese Tatsache hat wohl Veranlassung gegeben *Volkartia* mit *Taphrina* zu vergleichen, obschon bei der Gattung *Volkartia* die Sprosszellbildung im Schlauch auch nicht von allen Forschern bestätigt worden ist.

b. Stellung der Protomycetaceen im Pilzsystem.

Die Gattung *Protomyces* ist im Laufe der Zeit schon sehr verschiedenen Gruppen des Systems zugewiesen worden. De Bary hatte *Protomyces* auf Grund seiner ersten Untersuchungen als einen *Ascomyceten* angesehen. Später kam er aber von dieser Ansicht zurück und fasste diesen Pilz als eine Zwischenform zwischen den *Chytridineen* und *Ustilagineen* auf (De Bary 2, pag. 126—127). Ferner wurde *Protomyces* auch mit den *Exoascaceen* in Verbindung gebracht. Brefeld (1) endlich vereinigte *Protomyces*, *Ascoidea* und *Thelebolus* zu einer besonderen Gruppe, nämlich den *Hemiasci.* Auch Dangeard stellte *Protomyces* zu den *Hemiasci.* Dies waren Formen, welche zwischen *Phycomyceten* und *Ascomyceten* die Mitte halten, dadurch dass ihr Sporangium ascusähnlich ist. Durch spätere Untersuchungen wurden nun aber die Formen, welche die Brefeld'sche Gruppe bildeten, auf die *Phycomyceten* und *Ascomyceten* verteilt, in dem Mass als sie einer eingehenden Untersuchung unterworfen wurden. Auch für *Protomyces* wurde durch die Untersuchungen von Frl. Popta nachgewiesen, dass er nicht als Bindeglied zwischen *Phycomyceten* und *Ascomyceten* angesehen werden kann. Popta (1, pag. 48) neigt mehr dazu, *Protomyces* den *Phycomyceten* zuzuweisen. Im Artikel «*Pilze*» des Handwörterbuches der Naturwissenschaften behandelt Ed. Fischer (7, pag. 896) *Protomyces* im Anschluss an die *Protascineen* mit der Bemerkung: «Ganz zweifelhaft bleibt trotz mehrfacher Untersuchung die Stellung von *Protomyces*», und weiter sagt er: «Es bleibt vorderhand zweifelhaft, ob dieses austretende Gebilde als Ascus anzusehen ist oder nicht, und solange hierüber nicht Klarheit besteht, lässt sich *Protomyces* ebenso wie die nahe verwandte Gattung *Taphridium* nirgends sicher unterbringen.»

Es ist also vor allem die Frage zu erörtern: Steht *Protomyces* den *Phycomyceten* oder den *Mycomyceten* näher. Diese Frage hängt

wieder davon ab, ob man den aus der Dauerspore der meisten *Protomycetaceen* austretenden Schlauch als Sporangium oder als Ascus ansehen will. Nach unseren heutigen Begriffen verstehen wir unter dem Sporangium eine ganz haploide Fruchtform, in welcher durch Zerklüftung die Sporen entstehen. Der Ascus dagegen ist ein Gebilde, in welchem durch Verschmelzung eines männlichen und weiblichen Sexualkerns ein diploider Kern entsteht, der dann sofort eine Reduktionsteilung erfährt. Die Stellung, die man *Protomyces* zu geben hat, hängt somit davon ab, an welcher Stelle die Kernverschmelzung und die Reduktionsteilung eintritt. Ganz endgültig ist diese Frage nicht entschieden, aber wir dürfen nach unseren obigen Untersuchungen mit einiger Wahrscheinlichkeit annehmen, dass in der jungen Dauerspore die Kernverschmelzung stattfindet, und dass ferner die Reduktion bei der Bildung der Sporen im Moment der Vierteilung der Sporenmutterzelle erfolgt. Das als richtig vorausgesetzt, dürfen wir die Dauerspore und den aus ihr austretenden Schlauch von *Protomyces* mit einem Ascus vergleichen und zwar, da keine ascogenen Hyphen vorhanden sind, mit demjenigen einer *Protascinee*. Zu dieser Gruppe gehören besonders die Gattungen *Eremascus*, *Endomyces* und *Saccharomyces*. Die *Protomycetaceen* unterscheiden sich von diesen, abgesehen von der Dauersporenbildung, namentlich dadurch, dass bei ihnen im Ascus zahlreiche Kerne vorhanden sind. Will man den Vergleich noch genauer durchführen, so wäre es wohl noch besser, die wandständigen Sporenmutterzellen mit einem einzelnen Ascus zu vergleichen und der ganze Schlauch würde dann als Synascus bezeichnet werden können. Am nächsten würde *Protomyces* der Gattung *Dipodascus* stehen; mit dieser würden die *Protomycetaceen* eine besondere Gruppe der Protascineen bilden. Auf diese Weise käme — freilich mit ganz anderer Begründung — wieder ein Teil der Brefeld'schen *Hemiasci* in eine Gruppe zusammen.

Bei der ganzen Vergleichung ist die Frage ganz ausser Acht gelassen, an welcher Stelle die Kerne, die später verschmelzen, in die gleiche Zelle zusammengeführt werden. Bei *Dipodascus* geschieht es unmittelbar bei der Bildung des Ascus, bei *Protomyces* wohl bei der Sporenkopulation. Aber seitdem man nach Rawitscher's (1) Untersuchungen weiss, wie grosse Verschiedenheit in dieser Hinsicht bei den *Ustilagineen*, ja sogar innerhalb der Gattung *Ustilago*, vorliegen, wird man hierauf nicht allzugrosses Gewicht legen.

Auf gewisse Uebereinstimmungen der *Protomycetaceen* mit den *Ustilagineen* hat schon De Bary hingewiesen. In der Tat zeigt sich ein auffallender Parallelismus zwischen beiden Gruppen. Man kann sagen, dass die *Protomytaceen* in der *Ascomycetenreihe* ungefähr die

gleiche Stellung einnehmen, wie die *Ustilagineen* in der *Basidiomycetenreihe*, wie aus folgenden Schemata hervorgeht:

Kernverschmelz. Reduktion

Ustilago Maydis: Sporidie . . . . . Mycel. Copulation Brandspore Promycel. Sporidie

» *Carbo: Sporidie Copulation Mycel . . . . . Brandspore Promycel. Sporidie*

Protomyces: Spore . . Copulation Mycel . . . . . Dauerspore Synascus. Spore.