

Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen über den Erreger der als „Kalkbrut“ bezeichneten Krankheit der Bienen.

I.

Von

P. Clausen.

Mit 3 Tafeln und 24 Textabbildungen.

Einleitung.

1. Entdeckung der Krankheit und Feststellung ihres Erregers.

Am 27. Januar 1912 übergab mir Herr Dr. Hans Prieß, damals Assistent am bakteriologischen Laboratorium der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft, einige pilzbefallene Bienenwabenstücke und eine Reagensglaskultur auf Schrägagar mit Zusatz von Malzextrakt und 0,5% Zitronensäure des von ihm aus diesen Waben zuerst im August 1911 gezüchteten Pilzes mit der Bitte um Bestimmung der Art. Außerdem wünschte er meine Ansicht darüber zu wissen, ob ich den Pilz für pathogen hielt oder nicht. Die zuletzt gestellte Frage glaubte ich nach dem makroskopischen Befunde der Waben unbedingt bejahen zu müssen, dagegen war ich nicht imstande, nach dem mikroskopischen Bilde, in dem neben verzweigten Hyphen mit Querwänden zahlreiche isolierte grünlichbraun gefärbte Hohlkugeln mit Ballen aus kleinen ellipsoidischen Körpern zu sehen waren, auch nur annähernd anzugeben, wohin der Pilz gehören könnte. Ich versprach daher, ihn genauer zu untersuchen und legte Kulturen auf einem Bierwürzeagar an, den ich gerade vorrätig hatte. Nach 14 Tagen konnte ich Herrn Dr. Prieß das wesentlichste über den Entwicklungsgang des Pilzes mitteilen, insbesondere, daß die die Ballen enthaltenden Hohlkugeln durch einen Sexualakt entstehen und daß die ersten Entwicklungsstadien dieser Kugeln mit denen von *Conidiobolus utriculosus* große Ähnlichkeit zeigen. Wir besprachen die verwandtschaftlichen Beziehungen des Pilzes zu den Entomophthoraceen und den Mucoraceen. Es war von vornherein klar, daß er von den Vertretern beider Familien und noch mehr von denen der Ascomyceten in wesentlichen Merkmalen abwich. Zu den übrigen Pilzgruppen schien er mir überhaupt keine näheren Beziehungen zu haben.

Die befallenen Waben stammten vom Imkerverein für Stade und Umgegend und waren von Herrn Lehrer J. H. Tiedemann in Deinste, Kreis Stade, übersandt worden. Der Einsender bemerkt in seinem Begleitschreiben, daß die Krankheit mit dem Namen „Kalkbrut“ bezeichnet werde, und fragt an, ob sie durch kalkhaltigen Zucker verursacht sein könne. Sie sei hauptsächlich bei Drohnenbrut beobachtet worden. Die befallenen Stöcke hätten geschwärmt und sich im ganzen und großen entwickelt wie gesunde. Zu einer späteren Sendung kranker Waben teilt Herr Tiedemann mit, daß auch Arbeitsbienenbrut erkranken könne.

Ich behielt den Pilz in Kultur, beobachtete ihn während des Sommers weiter und begann zuerst im Oktober 1912 mich näher mit ihm zu beschäftigen.

2. Angaben in der Literatur.

Über den Prießschen Pilz sind von Maaßen (1913, 1914, 1916) wiederholt kurze Berichte erschienen. In den Mitteilungen der Kaiserlichen Biologischen Anstalt Heft 14, S. 56 u. 57, schreibt er:

„In dem Berichtsjahre wurden ferner auf vier Bienenständen Erscheinungen bei der Bienenbrut beobachtet, die äußerlich eine gewisse Ähnlichkeit mit der *Aspergillus*-mykose aufwiesen.

Das Übel wurde von den Imkern als Steinbrut oder Kalkbrut bezeichnet. Die eingesandten Waben enthielten zahlreiche tote Maden, die vollkommen mumifiziert waren.

Bereits im Vorjahre wurden diese Erscheinungen auf einem Bienenstande festgestellt. Als Ursache wurde damals von H. Prieß ein Pilz erkannt, der nach der Bestimmung von P. Clausen den Entomophthoreen zuzuzählen ist, also einer Familie, der meist für Insekten pathogene Pilze angehören.

Die Mumien waren von grauweißer, kalkiger Farbe (daher auch der Name Kalkbrut) und zeigten an den Stellen, wo der Pilz Sporen gebildet hatte, grauschwärzliche Fleckchen oder Häufchen. Aus den Mumien ließ sich der Pilz sehr leicht reinzüchten. Er wächst sehr gut auch auf Würzeagar und kommt darauf auch zur Sporenbildung. Auf diesem Nährboden entwickelt sich der Pilz am besten bei 22—30°, aber auch noch gut bei 35—37°. Er erzeugt ein starkes weißes Myzel, auf dem eigenartige dunkelgrünliche bis grauschwarze kugelige Gebilde (Oosporen) entstehen, deren Inhalt in zahlreiche Kugeln zerfällt. In diesen Kugeln bilden sich die kleinen stark glänzenden Sporen des Pilzes, die großen, eiförmigen Bakterien ähnlich sehen. Die genaue Beschreibung der Biologie des Pilzes wird von anderer Seite erfolgen.

Vor einiger Zeit sind die gleichen Erscheinungen von Annie D. Betts in England festgestellt worden. Betts hat dem dabei vorkommenden Pilz den Namen *Pericystis alvei* gegeben.“

Die Arbeit von A. D. Betts (1912) über *Pericystis alvei*, eine neue, aus Bienenwaben isolierte Gattung und Art, erschien im Juli 1912. Nach den Habitusabbildungen (Betts, Tafel 76, Abb. 10 und 11) muß dieser Pilz mit dem von Prieß entdeckten wohl eine gewisse äußere Ähnlichkeit haben, aber übereinstimmen kann er — die Richtigkeit der Beschreibung in der Arbeit von Miß Betts vorausgesetzt — mit ihm schon deswegen nicht, weil der Prießsche Pilz bisher niemals — auch auf dem

von Miß Betts angegebenen Nährboden nicht — Chlamydosporen gebildet hat, weil seine Sporen nicht kugelig, sondern ellipsoidisch sind, weil er Pollen und nicht Bienen befällt und aus zahlreichen anderen Gründen mehr, die hier nicht erwähnt zu werden brauchen.

Eine zweite von drei Figuren begleitete Mitteilung von Miß Betts (1912) über *Pericystis alvei* findet sich im Dezemberheft des Journal of Economic Biology, S. 155—157. Auch aus ihr geht klar hervor, daß der Prießsche Pilz sich von dem Bettsschen unterscheidet.

Zur Mitteilung von Maaßen bemerke ich, daß ich den Pilz nicht schlechtweg für eine Entomophthoracee erklärt, sondern ausdrücklich auf das Fehlen der Schießkonidien und auf die Zerlegung des Fruchtkörperinhaltes in Sporenbällen als abweichend vom Verhalten der Entomophthoraceen hingewiesen habe. Über seine Beobachtungen im Jahre 1913 gibt Maaßen (1914, S. 36) an: „Mehrere Male zur Untersuchung kamen ferner Fälle von Steinbrut und von Kalkbrut, also von Aspergillusmycose und Pericystismycose.

Es zeigte sich hierbei von neuem, daß die Aspergillusmycose weitaus gefährlicher ist als die Pericystismycose. Dies ist schon daran zu erkennen, daß bei dieser Seuche außer der Brut auch noch die erwachsenen Bienen erkranken und absterben. Nach meinen bisherigen Erfahrungen beschränkt sich bei der Pericystismycose das Sterben auf die Bienenbrut und nicht selten kommt es vor, daß die Krankheit allmählich zurückgeht und auch von selbst wieder verschwindet. Bemerkenswert ist, daß in vielen Fällen zumeist oder ganz allein die Drohnenbrut von der Seuche ergriffen wird.

Die Drohnenbrut ist hier also genau so wie bei der Aspergillusmycose besonders anfällig.

Der Pilz, *Pericystis alvei*, läßt sich aus den Mumien leicht reinzüchten. Oft wurden neben ihm noch andere Pilze, vorzugsweise Mucorarten, gefunden, die aber mit der Krankheit in keinem ursächlichen Zusammenhang standen.

Die künstliche Übertragung der Krankheit auf gesunde Bienenvölker durch die Reinkultur von *Pericystis alvei* ist mir in diesem Sommer gelungen. Ich bin dabei in derselben Weise vorgegangen, wie seinerzeit bei der Infektion der Bienenvölker mit dem *Aspergillus flavus*. Der Pilz wurde auf Waben, die mit Pollen gefüllte Zellen enthielten, im Brutschrank bei 30° zur vollen Entwicklung gebracht, und dann wurden die so zubereiteten Waben in das Brutnest eines Bienenvolkes eingehängt.

Die eigenartigen Erscheinungen der Krankheit ließen sich bei der Brut bereits nach 14 Tagen feststellen. Die Krankheit verlief aber nicht besonders bösartig; sie zeigte keine Neigung, sich schnell und weit auszubreiten, kam vielmehr nach einigen Wochen zum Stillstand und ist auch im Laufe dieser Brutzeit nicht wieder von neuem zum Ausbruch gekommen.“

In den Jahren 1914 und 1915 (Maaßen 1916, S. 52) hat Maaßen dann den Prießschen Pilz mit *Pericystis alvei* Betts verglichen. Er berichtet darüber:

„Die englische Forscherin Annie D. Betts, die sich mit der Untersuchung der im Bienenstock vorkommenden Pilze beschäftigt, erhielt auf ihren Wunsch Kulturen

des bei der grauweißen Steinbrut (Kalkbrut) gefundenen Pilzes sowie Bienenbrutmumien, die durch den Pilz erzeugt waren; sie übersandte mir dafür Kulturen des von ihr gezüchteten Wabepilzes *Pericystis alvei*. Durch Vergleich der eingetauschten Pilzkulturen konnte festgestellt werden, daß der Wabepilz *P. alvei* wohl nahe verwandt (A. D. Betts), aber nicht, wie nach den Beschreibungen und Abbildungen zuerst angenommen worden war, derselben Art angehört, wie der Erreger der Kalkbrut. In der Folge wird daher der Erreger dieser Steinbrutform mit dem Namen *Pericystis apis* bezeichnet werden.“

Maaßen gibt einen Grund dafür, weshalb er trotz der großen Unterschiede zwischen *Pericystis alvei* Betts und dem Prießschen Pilz diesen in die Gattung *Pericystis* einreicht, nicht an.

Die Zahl der 1914 und 1915 in der Kaiserlichen Biologischen Anstalt beobachteten Fälle von Kalkbrut belief sich auf 7. Ein Fall kam in Verbindung mit der sogenannten Nymphenseuche vor.

In der bienenwirtschaftlichen Literatur wird die Kalkbrut mehrfach erwähnt, so durch von Buttell-Reepen (1919, S. 4 des Sonderdrucks) im „Bienenwirtschaftlichen Centralblatt“. Dieser Autor gibt an, daß in den von ihm beobachteten Fällen die Entfernung und Vernichtung der Waben mit erkrankter Brut zur Bekämpfung der Krankheit genügte. Oft sei sie, ohne allzugroße Schäden verursacht zu haben, von selbst verschwunden.

Durch die Arbeit von von Buttell-Reepen wurde ich auf zwei Veröffentlichungen Morgenthalers (1918, 1919) in der Schweizerischen Bienenzeitung aufmerksam, in denen über einen Fall von Kalkbrut aus der Umgebung von la Chaux-de-Fonds berichtet wird. Auch aus dem Jahre 1919 beschreibt Morgenthaler (1920) einen Fall von Kalkbrut.

Hinzuweisen wäre dann noch auf das Werk Zanders (1919): „Die Brutkrankheiten der Bienen und ihre Bekämpfung“, in dem auf S. 13—16 *Pericystis alvei* Betts, auf S. 16—17 *Pericystis apis* Maaßen, der Kalkbruterreger erwähnt wird, und die Mitteilungen von Küstenmacher (1919) und Maaßen (1919).

Der hier gegebene Literaturbericht dürfte kaum erschöpfend sein, denn die bienenwirtschaftlichen Zeitschriften, besonders die des Auslandes, standen mir nur zum kleinen Teil zur Verfügung.

3. Angaben über das Vorkommen der Kalkbrut.

a) aus den Bienenauskunftakten der Biologischen Reichsanstalt.

Was aus den Bienenauskunftakten unserer Anstalt über die Kalkbrut zu ermitteln war, lasse ich in Form einer Liste hier folgen. In der Spalte Bemerkungen sind die wichtigsten Angaben der Einsender über die Krankheit zusammengestellt. Im übrigen bedarf die Liste keiner Erläuterung. Ich erwähne noch, daß ich Material nur von den drei ersten Fällen untersucht habe (laufende Nr. 1—3). Die übrigen Diagnosen sind im bakteriologischen Laboratorium unserer Anstalt gestellt worden.

Lfd. Nr.	Jahr	Nr. des Ausk.-Buchs	Einsender	Ort des Vorkommens	Datum der Ab- sendung	Bemerkungen
1	1911	444	Tiedemann, J. H.	Deinste (Hannover) Kreis Stade Rgbez. Hannover	17. 8.	Krankheit bisher bei Stade nicht beobachtet. Hauptsächlich Drohnenbrut befallen. Die Zerstörung greift aber auch auf die Bienenbrut über. Die befallenen Stöcke haben geschwärmt und sich im großen und ganzen wie gesunde entwickelt. Die Imker bezeichnen die Krankheit als Kalkbrut. Der Einsender fragt, ob sie durch kalkhaltigen Zucker verursacht werden kann.
2	1912	511 322	ders. Bleuss, Joh.	ders. Mölln in Lauenburg Kreis Hzt. Lauen- burg Rgbez. Schleswig	1. 7.	Hauptsächlich Drohnenbrut befallen. Im vorigen Jahre ein krankes Volk. In diesem Jahre brach die Krankheit bedeutend stärker wieder aus.
3	1912	323	Kellermann, Ernst	Hessloch Kreis Worms Prov. Rheinhessen (Hessen)	3. 7.	Hauptsächlich Drohnenbrut befallen, die wie verkalkt aussah. Das Volk hat geschwärmt und viel kranke Brut hinausgetragen.
4	1912	486	Lichtenthaler, Gust.	Herdorf Kreis Altenkirchen Rgbez. Coblenz	20. 8.	Die Krankheit wurde bisher nicht beobachtet.
5	1913	282	Sunder, Dr., Rektor	Grafenwald b. Kirch- hellen Ldkr. Recklinghausen Rgbez. Münster	16. 6.	Nur die Drohnenbrut ist befallen. Das Volk erscheint sonst gesund und fleißig.
6	1913	288 437	ders. Bade, Lehrer	ders. Kusay Kreis Gardelegen Rgbez. Magdeburg	23. 6. 8. 8.	Vorwiegend Drohnenbrut befallen. Arbeiterbrut fast nie. Die befallene Brut schrumpfte ein, wurde ganz trocken und von den Bienen entfernt. Meist erkrankten nur einige Völker, die nicht wesentlich zurückblieben.
7	1913	556	Schröder, P., Lehrer	Lägerdorf i. Holst., Bergst. 3 Kreis Steinburg Rgbez. Schleswig	25. 8.	Die Zellen der Drohnenbrut enthielten Mumien.
8	1914	148	Voges, Otto	Werder a. H. Kreis Zauch-Belzig Rgbez. Potsdam	7. 6.	Bei einem Volke (von 6) sind mehrere Waben befallen. Die Krankheit ist auch älteren Imkern nicht bekannt.
9	1914	226	Hunzelmann, F.	Bodenteich b. Ülzen Kreis Ülzen Rgbez. Lüneburg	19. 6.	Besonders Drohnenbrut befallen. Schon vor Wochen lagen unter den Körben herausgerissene dunkle Maden. Fütterung der Bienen mit Zucker und mit Honigrückständen eigner Ernte.
10	1914	229	Knoke, E.	Hannover Stadtkr. Hannover Rgbez. Hannover	22. 6.	Kalkbrut zusammen mit bösa- rtiger Faulbrut, die der Ein- sender als Krankheitsursache vermutete.

Lfd. Nr.	Jahr	Nr. des Ausk.-Buchs	Einsender	Ort des Vorkommens	Datum der Ab- sendung	Bemerkungen
11	1914	312	Bauer, Leopold	Langenholzhausen (Lippe) Verw.-Amt Brake Fürstent. Lippe	8 7.	Unter einem Volke fanden sich stets beim Reinigen der Bodenbretter im Gemüll erhärtete Larven (Mumien). Das Volk ist im übrigen ganz normal.
12	1914	371	Koch I, G.	Guntersblum, Rhein- hessen Kreis Oppenheim Prov. Rhein. (Hess.)	22. 7.	Die Brut stammt vom Mai. Das Volk nahm nicht zu.
13	1914	396	Seidenstücker, Heinr.	Beuren, Eichsfeld Kreis Worbis Rgbez. Erfurt	5. 9.	Fünf von 20 Bienenvölkern sind befallen.
14	1915	7	Borbach	Biebrich Landkreis Wiesbaden Rgbez. Wiesbaden	27. 5.	Lückenhafter Brutstand, geringe Volkszunahme. Der Stock, aus dem das eingesandte Wabenstück stammt, zeigte 6 Zellen mit schmierigem Inhalt.
15	1918	103	Bechstein, R., Vors. des Bienenzucht- vereins Zehdenick	Zehdenick Kreis Templin Rgbez. Potsdam	6. 6.	Die Krankheit wird in trockenen und warmen Sommern in meist starken Stöcken fast ausschließlich auf Drohnenbrut beobachtet.
16	1918	116	Ellinger, Veterinär- rat Dr.	Neustadt (Orla) Sachsen-Weimar-Eis. 5. Verwaltungsbezirk	2. 8.	
17	1918	118	Keßling, Herm.	Vinte bei Bramsche Kreis Bersenbrück Rgbez. Osnabrück	10. 8.	Offene Brut gesund. Die verdeckelte wird teilweise ausgeworfen, meist Drohnenbrut, manchmal auch Arbeiterbrut. Die Brut stirbt nicht plötzlich ab. Die ausgeworfenen Tiere bewegen sich bisweilen noch, wenn sie auf dem Bodenbrett liegen, manchmal sind sie vorher bereits eingetrocknet. Bisher keine Völker eingegangen, auch nicht zu sehr geschwächt. Die Krankheit ist sehr ansteckend. Die ausgeworfene Brut wird von den Hühnern gern gefressen.
18	1919	14	Köhler, Hermann	Friesack (Mark) Kreis Westhavelland Rgbez. Potsdam	10. 5.	Keine Angaben.
19	1919	19	Hartz, A.	Schauby bei Loit- Kirkeby Kreis Apenrade Rgbez. Schleswig Vorkommen: Kreis Tondern	2. 7.	Die Larven waren eingetrocknet und bildeten eine harte Masse.
20	1919	107	Breiholz, Rektor	Neumünster (Holst.) Stadtkr. Neumünster Rgbez. Schleswig	4. 7.	Die Krankheit scheint nicht gefährlich zu sein. Sie pflegt nach 2—3 Jahren von selbst wieder zu erlöschen.
21	1919	111	Schreiber, R., Kreis- wanderlehrer für Bienenzucht	München, Prinzen- straße 48 Rgbez. Oberbayern	31. 7.	Keine näheren Angaben.

b) aus anderen Quellen.

Die Kalkbrutfälle, die mir sonst noch bekannt geworden sind, habe ich in einer zweiten Liste aufgeführt. Das Zeichen (!) hinter den Angaben in der Spalte Bemerkungen bedeutet, daß ich Waben oder verpilzte Bienen vom Fundort gesehen, das Zeichen (!!), daß ich den Fundort selbst aufgesucht habe. Leider war mir das nur äußerst selten möglich.

Lfd. Nr.	Jahr	Name des Einsenders (E) Bienenbesitzers (B)	Ort des Vorkommens	Datum der Beobachtung	Bemerkungen
1	1909	E: Prof. Dr. von Buttel-Reepen	Sudenburg Prov. Hannover	— 8.	Das Material wurde im Jahre 1909 aus Sudenburg, wahrscheinlich von der Imkerschule, an Herrn Prof. von Buttel-Reepen geschickt, der es am 26. 9. 1919 an mich absandte. Ein Versuch, im Oktober 1919 die Sporen zur Keimung zu bringen, mißlang (!)
2	1910	E: Prof. Dr. Zander, Erlangen	Bärnbach Bez.-Amt Markt- oberndorf Rgbez. Schwaben	19. 7.	Nr. 428 des Tagebuchs der Landesanstalt für Bienenzucht in Erlangen.
3	1911	E: Prof. Dr. Zander, Erlangen	Viersen Kreis Gladbach Rgbez. Düsseldorf	13. 6.	Nr. 550 des Tagebuchs der Landesanstalt für Bienenzucht in Erlangen.
4	1914	E: Prof. Dr. Zander, Erlangen	Meiningen Kreis Meiningen	26. 9.	Nr. 964 des Tagebuchs der Landesanstalt für Bienenzucht in Erlangen.
5	1915	E: Prof. Dr. Zander, Erlangen	Braunschweig	27. 7.	Nr. 986 des Tagebuchs der Landesanstalt für Bienenzucht in Erlangen.
6	1916	E: Prof. Dr. Zander, Erlangen	Tralau bei Neuteich Kreis Marienburg i. Westpr. Rgbez. Danzig	23. 6.	Nr. 1014 des Tagebuchs der Landesanstalt für Bienenzucht in Erlangen.
7	1916	E: Prof. Dr. Zander, Erlangen	Mindelheim Bez.-Amt Mindelheim Rgbez. Schwaben	15. 10.	Nr. 1025 des Tagebuchs der Landesanstalt für Bienenzucht in Erlangen.
8	1916	B: Spottowitsch, Augustin	Trojaki bei Wilna Mil.-Kreisamt Schirwinty	—	Beobachter R. Bergmann, während des Krieges.
9	1916	B: Kulwinowitz, Franziskas	Niekraszuny Mil.-Kreisamt Podbrodzie	—	Beobachter R. Bergmann, während des Krieges.
10	1917	E: Prof. Dr. Zander, Erlangen	Thannheim b. Klengen Kreis Villingen Amt Donaueschingen	4. 6.	Nr. 1044 des Tagebuchs der Landesanstalt für Bienenzucht in Erlangen.
11	1917	E: Prof. Dr. Zander, Erlangen	Halle (Saale) Stadtkreis Halle	9. 6.	Nr. 1046 des Tagebuchs der Landesanstalt für Bienenzucht in Erlangen.
12	1917	B: Grobety, Lucien E: Dr. O. Morgenthaler, Liebefeld b. Bern	Les Planchettes Chaux-de-Fonds Kanton Neuenburg (Schweiz)	16. 7.	Die Krankheit wurde 1916 zuerst vom Bienenbesitzer bemerkt. Er beobachtete damals einige tote Larven, von denen er annahm, daß sie durch Kälte zugrunde gegangen seien. Er glaubt, durch Einhängen kranker Waben in gesunde Stöcke diese infiziert zu haben (!).

DEUTSCHES REICH.

Karte der kleineren Verwaltungsbezirke

(Netzkarte 1:3000000)

Gea-Verlag G.m.b.H., Berlin W.35.

Nachdruck verboten.

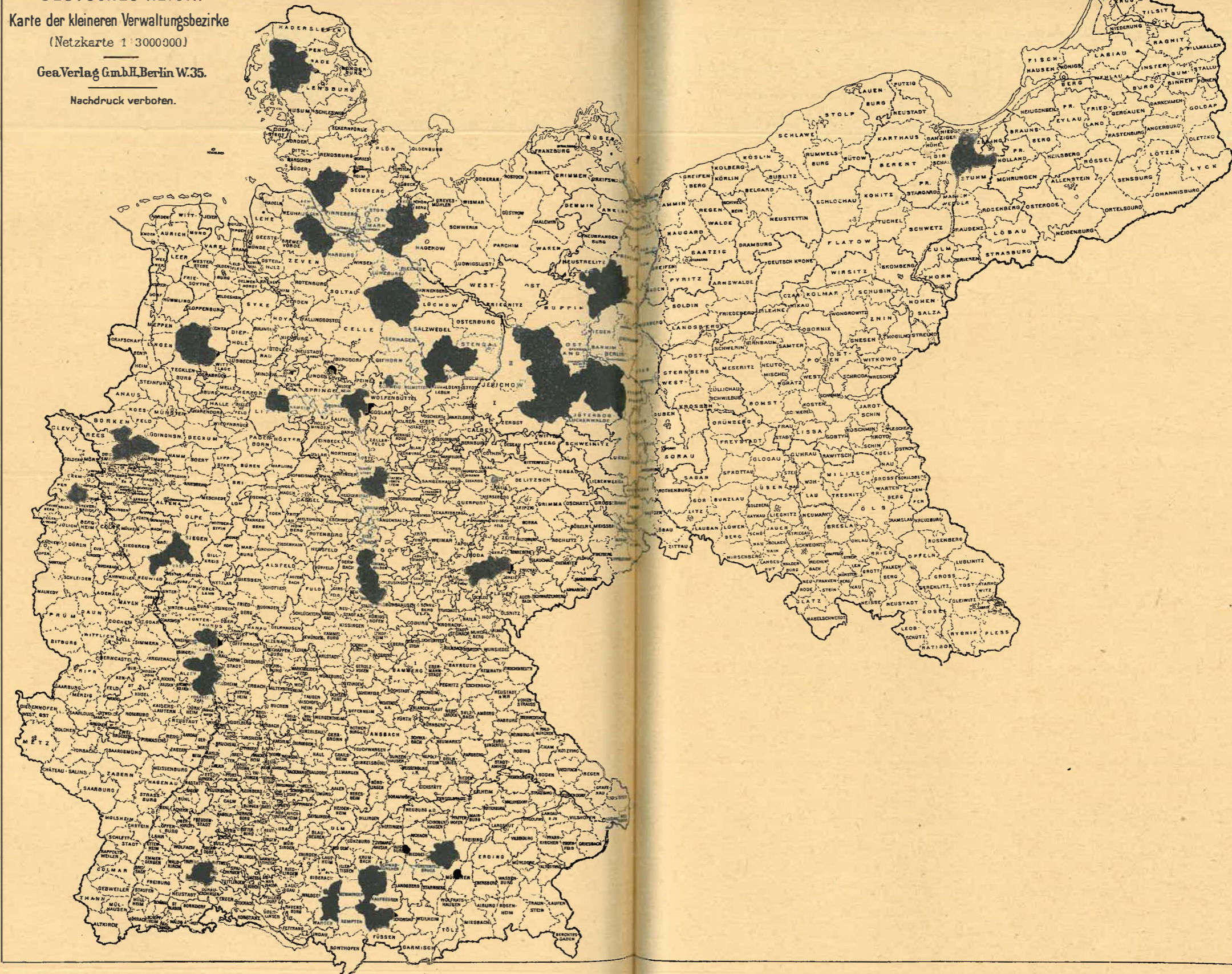


Abb. 1. Verbreitung der bisher aus dem Deutschen Reiche bekannt gewordenen Kalkbrutfälle. Jeder Kreis oder gleichartige Verwaltungsbezirk, in dem mindestens ein Kalkbrutfall beobachtet worden ist, ist schwarz gehalten. Kartographische Unterlage: Netzkarte 1:3000000. Gea-Verlag G.m.b.H., Berlin W.35. Maßstab der Wiedergabe rund 1:4000000.

Lfde. Nr.	Jahr	Name des Einsenders (E) Bienenbesitzers (B)	Ort des Vorkommens	Datum der Beobachtung	Bemerkungen
				28. 6. 18	Die Krankheit ist gegen das Vorjahr zurückgegangen. Die Drohnenbrut ist am meisten, die Arbeiterinnenbrut wenig befallen (!).
13	1917	E: Prof. Dr. Zander	Augsburg Bayern	27. 7.	Nr. 1054 des Tagebuchs der Landesanstalt für Bienenzucht in Erlangen.
14	1917	E: Prof. Dr. Zander	Dachau Bez.-Amt Dachau Rgbez. Oberbayern	16. 10.	Nr. 1065 des Tagebuchs der Landesanstalt für Bienenzucht in Erlangen.
15	1918	E: Prof. Dr. Zander	Vinte bei Bramsche Kreis Bersenbrück Rgbez. Osnabrück	12. 7.	Nr. 1107 des Tagebuchs der Landesanstalt für Bienenzucht in Erlangen. Vgl. Liste 1, lfde. Nr. 17.
16	1919	B: Rhan, Caesar, Berlin-Steglitz, Humboldtstr. 1, Kr. Teltow	Herkunft der Bienen aus Bollern (Hannover), Materialentnahme in Berlin-Steglitz, Kreis Teltow.	1. 7.	Herr Dr. Küstenmacher von der Gärtnerlehranstalt zu Dahlem brachte mir 3 Mumien von dem auf einem Balkon gehaltenen Bienenstande und ein Begleitschreiben mit den Worten: „Dieses findet man auf dem Flugbrett.“ Eine Mumie enthielt reichlich Fruchtkörper. Der Pilz ließ sich leicht züchten (!). Am 8. 7. 1919 waren in etwa der Hälfte der Waben des Stockes ganz vereinzelte Arbeitsbienenlarven befallen. Erkrankte Drohnenbrut sah ich nicht (!!). Aus am 8. 7. 1919 bei Rhan entnommenen Pollenmassen gelang es mir, ein Geschlecht vom Kalkbruterreger zu züchten (♀). Außerdem trat ein Zygoten bildender Mucor auf.
17	1919	E: Morgenthaler, Dr. O., Liebefeld bei Bern	Chavannes-le-Veyron Kanton Waadt Schweiz	19. 5.	Verpilzt sind nur Drohnenlarven, obwohl der Stock auch ziemlich viel Arbeiterinnenlarven enthält. Der Stand zählt 7 Völker, von denen nur eines befallen ist. In früheren Jahren wurde nie etwas Derartiges beobachtet, wohl aber herrschte letztes Jahr und diesen Frühling auf dem Stande Faulbrut. Gegenwärtig soll die Kalkbrut vorhanden sein, dagegen seien die Drohnenlarven von der Sauerbrut befallen. Es war bis jetzt nicht möglich, die Behauptung nachzuprüfen. Fruchtkörperbildung findet ausschließlich am hinteren Ende der befallenen Larven statt (!). (Mitteilung von Herrn Dr. O. Morgenthaler.) Der Pilz wurde aus dem übersandten Material in beiden Geschlechtern gezüchtet.
18	1919	E: Küstenmacher, Dr. M., Berlin-Dahlem, Gärtnerlehranstalt	Hannover	18. 7.	Das Wabenstück hatte die Gestalt eines gleichschenkeligen Trapezes von 50 und 35 mm Parallelseitenlänge und 35 mm Höhe und war aus dem Rande einer Wabe ausgeschnitten. Ich zählte im ganzen rund 50 gut erhaltene, etwa zur Hälfte befallene und meist gedeckelte, zur Hälfte leere Drohnenzellen. Fruchtkörper teils vorhanden, teils fehlend (!).

Lfd. Nr.	Jahr	Name des Einsenders (E) Bienenbesitzers (B)	Ort des Vorkommens	Datum der Beobachtung	Bemerkungen
19	1919	B: Steinmetz, Lehrer	Königsdahlum (Harz) Kreis Marienburg (Hann.) Rgbez. Hildesheim	19. 9.	„Vertrocknete Brut aus einem Stülpkorbe. Die Krankheit ist anscheinend übertragbar. Die Völker leiden nicht gerade sehr darunter, bleiben aber zurück und sind matt im Flug. Im vergangenen Sommer ein kranker Korb auf dem Stande. Dies Jahr sind es mehrere, aber die Krankheit scheint milder aufzutreten.“ Das Material erhielt ich durch Herrn Prof. Dr. von Buttler-Reepen in Oldenburg (!).
20	1919	E: Morgenthaler, Dr. O., Liebefeld bei Bern	Näfels Kanton Glarus	8. 8.	Das Wabenstück enthielt nur verdeckte Arbeiterinnenbrut. Beim Öffnen der Deckel fand Herr Dr. Morgenthaler die meisten Nymphen am Zellgrunde zusammengesunken in einer wässrigen Flüssigkeit von graubrauner Farbe. Sie waren vollständig geruchlos. Mikroorganismen konnte er nicht nachweisen. In einer einzigen Zelle fand er eine Kalkbrutmumie. Der Kalkbrutpilz trat also in diesem Falle wie ein gewöhnlicher Schimmelpilz, nicht durchgehend und das Bild beherrschend, wie er es in früheren Fällen gesehen hatte, sondern vereinzelt auf einer Nymphe auf, die offenbar aus anderen (im vorliegenden Falle unbekannt) Ursachen abgestorben war und um welche sich nun das Heer der Saprophyten stritt. (Aus dem Begleitschreiben des Herrn Dr. M.) (!)
21	1920	E: Vorwerk, Präparator an der Biol. Reichsanstalt	Werder (Havel) Kreis Zauch-Belzig Rgbez. Potsdam	8. 7.	Das Material bestand aus 2 Drohnenmaden, beide aus gedeckelten Zellen und stark befallen (mit Fruchtkörpern). Die übrigen Drohnenmaden der Wabenstücke, die ich nachträglich sah, waren gesund (!).
22	1920	E: Geiger, K. J.	Hauerz Württemberg	30. 4.	Befallen zwei Völker. Die Krankheit nahm ohne Anwendung von Gegenmitteln ab.

4. Geographische Verbreitung der Kalkbrut.

Die mir bekannt gewordenen Orte des Vorkommens der Kalkbrut innerhalb der alten Reichsgrenzen sind in der Kreiskarte auf S. 474/5 verzeichnet (Abb. 1). Jeder Kreis oder einem Kreise entsprechende Verwaltungsbezirk, in dem mindestens ein Kalkbrutfall beobachtet wurde, ist schwarz gehalten. Da die Zahl der zu meiner Kenntnis gelangten Fälle (rund 40) noch sehr gering ist, so läßt sich über die wahre Verbreitung der Krankheit bis jetzt unbedingt Sicheres nicht sagen. Da aber die Orte des Vorkommens über den Westen Deutschlands bis zum Meridian von Berlin ziemlich gleichmäßig verteilt sind, so wird man an einer allgemeinen Verbreitung der Krankheit im Westen Deutschlands kaum zweifeln dürfen. Die Verteilung der

mir bis Mitte 1915 bekannten Fundorte im Deutschen Reiche brachte mich auf die Vermutung, daß die Kalkbrut entweder im Fortschreiten nach Osten begriffen sei, oder in Deutschland eine Ostgrenze besitze. Dieser Vermutung widersprachen zuerst die beiden in der zweiten Liste aufgeführten Fundorte aus der Nähe von Wilna (Ibde. Nr. 8 u. 9), die mir Herr R. Bergmann mitteilte. Anfang Januar 1920 lernte ich dann durch Herrn Professor Dr. Zander in Erlangen einen Fundort in Westpreußen kennen. Wenn ich alle Angaben überblicke, die mir bisher zugegangen sind, so glaube ich annehmen zu dürfen, daß die Krankheit in ganz Deutschland, in

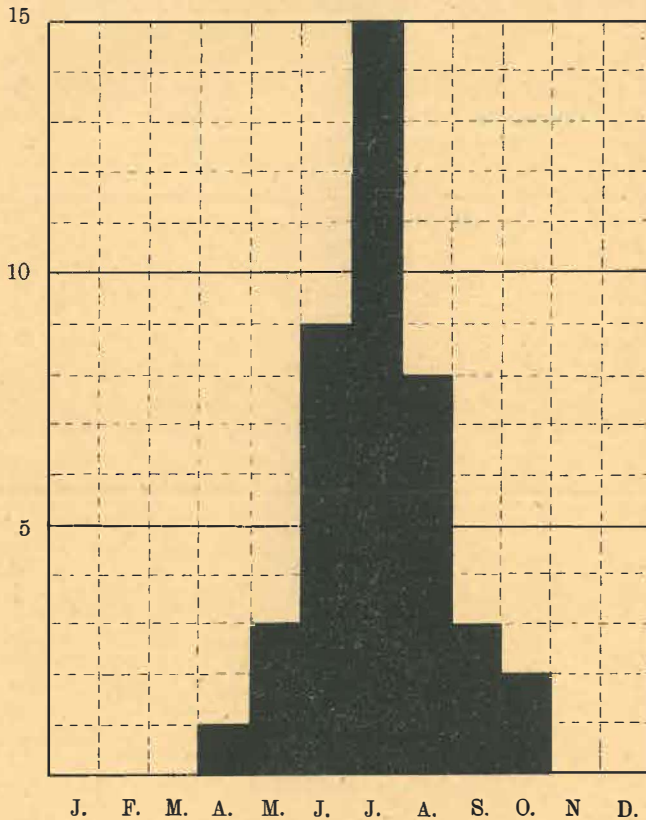


Abb. 2. Jahreszeitliche Verteilung der Kalkbrut. Auf der Abscissenachse sind die Monate, auf der Ordinatenachse die Zahlen der Kalkbrutfälle abgetragen.

der ganzen Schweiz und in Westrußland vorkommt, daß ihr Verbreitungsgebiet wahrscheinlich aber viel größer ist. Vielleicht geben meine Untersuchungen die Anregung zu weiteren Beobachtungen, für deren Mitteilung ich dankbar wäre.

Bisher ist mir die Kalkbrut nur von Kulturbienenwaben bekannt geworden. Meine Bemühungen, sie bei wilden Hymenopteren aufzufinden, waren bis jetzt vergebens.

5. Jahreszeitliche Verteilung der bekannt gewordenen Kalkbrutfälle.

Nach den bisher vorliegenden Erfahrungen macht sich die Krankheit störend bemerkbar nur in der Zeit vom Mai bis zum Oktober. Fast alle Einsendungen fallen

in diese Monate. Über die Gründe für diese Erscheinung wird später zu sprechen sein. Die Krankheit bleibt zwar, wenn sie nicht ausnahmsweise erlischt, auch in den übrigen Monaten bestehen, aber sie breitet sich während des Winters und in den ersten Frühjahrsmonaten so gut wie gar nicht aus.

Die jahreszeitliche Verteilung der bisher vorliegenden Beobachtungen über die Kalkbrut erscheint mir interessant genug, um sie hier bildlich darzustellen (Abb. 2). Auf der Abscisse sind die Monate des Auftretens, als Ordinaten die Zahlen der Fälle aufgetragen. Ein ganz zutreffendes Bild von der jahreszeitlichen Verteilung der Fälle gibt die Treppenkurve nicht, weil die Zeitangaben nicht immer ganz richtig sind.

Einerseits wird die Krankheit erst dann beobachtet, wenn sie schon eine Zeitlang besteht, andererseits fehlt in manchen Begleitschreiben das Beobachtungsdatum und muß durch das (spätere) Datum des Begleitschreibens ersetzt werden. Wenn man die Treppenkurve um etwa die für einen halben Monat angenommene Abscissenlänge nach links verschiebt, so daß ihr Anfang auf Mitte März und ihr Ende auf Mitte Oktober fiel, dürfte sie den Tatsachen besser gerecht werden.

Immerhin kann kein Zweifel sein, daß die Mehrzahl der Fälle in den Monaten Juni bis August zur Anzeige gelangt, daß die Kalkbrut also eine in den wärmsten Monaten schädigend auftretende Krankheit ist.

Für Unterstützung mit Material, mit Literatur und mit Angaben verschiedener Art bin ich außer den in den Listen genannten Herren zu Dank verpflichtet den Herren Dr. L. Armbruster in Berlin-Dahlem, Prof. Dr. H. von Buttell-Reepen in Oldenburg (Oldenburg), Dr. M. Küstenmacher in Berlin-Dahlem, Dr. O. Morgenthaler in Liebefeld bei Bern, Lehrer Steinmetz in Königsdahlum am Harz und Prof. Dr. Zander in Erlangen. Dem Gea-Verlag G. m. b. H., Berlin W. 35 danke ich für die Erlaubnis zur kostenlosen Vervielfältigung der von ihr herausgegebenen Netzkarte.

Eine Diagnose des Kalkbruterregers werde ich geben, wenn die Untersuchungen über *Pericystis alvei* Betts zu einem gewissen Abschluß gekommen sind.

Entwicklungsgeschichtliche Untersuchung des Kalkbruterregers.

1. Die Kultur.

Als Kulturgefäße benutzte ich feuchte Kammern mit Glasringen von 20 mm Innendurchmesser und 7 mm Höhe, Petrischalen von 100 und 70 mm Durchmesser und von 15 und 20 mm Höhe und endlich Reagensgläser von 160 mm Länge und 16 mm Durchmesser. Kulturgefäße von besonderer Form sind an passender Stelle erwähnt.

Als Nährboden verwendete ich fast ausschließlich Bierwürzeagar, der sich von den zahlreichen durchgeprobten Stoffen bei weitem am besten bewährte. Auf je 100 g des fertigen Nährbodens kamen:

Agar-Agar	2 g,
Bierwürze, süße	97,9 „
Nährsalz	0,1 „

Der Agar-Agar wurde nach dem Abwägen mit Leitungswasser sorgfältig gewaschen, mit der mehrfach filtrierte klaren Bierwürze (spez. Gewicht 1,03—1,08) in einem emallierten Topf über offener Flamme eine halbe Stunde lang unter Umrühren gekocht und durch ein mit heißem Wasser befeuchtetes Wattefilter unter Anwendung einer Saugpumpe (Wasserstrahlpumpe) oder durch ein über einen Holzrahmen gespanntes Tuch filtriert. Der filtrierte Nährboden wurde mit Nährsalz versetzt, in Erlenmeyer- oder Rundkolben von 100—250 ccm gefüllt und mehrfach, gewöhnlich zweimal, sterilisiert. Das Nährsalz, das nicht unbedingt notwendig ist, bestand aus 40% KH_2PO_4 , 40% NH_4NO_3 , 20% MgSO_4 und etwa 0,1% $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$. Die Salze wurden im Mörser fein zerstoßen und sorgfältig miteinander gemischt.

Der Pilz wächst ziemlich gut auch auf geronnenem Hühnereigelb und auf gedämpften Bienenmaden.

Zur Beschleunigung seines Wachstums hielt ich ihn gewöhnlich bei rund 30° C. im Thermostaten. Die Fruchtkörperbildung geht im Dunkeln ebensogut vor sich wie am Licht.

2. Die Entwicklungsgeschichte.

a) Feststellung der Heterothallie des Pilzes.

Zum Verständnis der Morphologie des Pilzes ist die Kenntnis einer Tatsache nötig, die ich hier gleich erwähnen will. Da ich mich zunächst mit der mir, wie schon auf S. 467 erwähnt, von Herrn Dr. Prieß übergebenen, dicht mit Fruchtkörpern besetzten Reinkultur nicht eingehend beschäftigen konnte, so impfte ich sie, um sie nicht absterben zu lassen, da ich die lange Lebensdauer der Sporen des Pilzes noch nicht kannte, von Zeit zu Zeit um. Die Umimpfung geschah in vier- bis sechswöchentlichen Abständen in der Weise, daß ich aus der Ausgangskultur einen Steckling entnahm, ihn auf die Mitte einer Agarnährschicht in Petrischale setzte, aus dem Rande des aus ihm erwachsenen Mycels wieder einen Steckling austach, auch diesen auf die Mitte eines Agarnährbodens in Petrischale übertrug usw.

Die Ausgangskultur und sämtliche durch Abimpfung hergestellten Kulturen — ich bezeichne die letzteren im folgenden kurz als Abimpfungen — bewahrte ich auf. Zu meiner Überraschung stellte sich schon nach wenigen Wiederholungen des Verfahrens heraus, daß die Kulturen zunächst sparsam (fleckweise) in der Nähe der Impfstelle fruchteten und schließlich Fruchtkörper überhaupt nicht mehr lieferten.

Durch Zurückgehen auf die älteren fruchtenden Abimpfungen ließen sich Fruchtkörper wiedergewinnen. Wenn auch die Ursache für das Nachlassen der Fruchtkörperbildung ohne weiteres nicht zu ermitteln war, so ließ sich doch aus den Beobachtungen schließen, daß sie in den äußeren Bedingungen (Nährboden, Temperatur, Licht, Luftfeuchtigkeit, Form der Kulturgefäße) nicht liegen konnte. Eine Aufklärung der mir zunächst merkwürdig vorkommenden Erscheinung des Aufhörens der Fruchtkörperbildung brachte die genauere Untersuchung. Meine Bemühungen, die Sporenkeimung hervorzurufen, mißlangen zunächst, aber es wuchsen einige der wenigen Hyphenstücke aus, die mit den Sporen ausgestrichen waren. Die Kulturschale von 100 mm Durchmesser mit Bierwürzeagar, an der die entscheidenden Beobachtungen gemacht sind, wurde mit drei parallelen Strichen beimpft und stand dann bei Zimmertemperatur im Dunkelschrank. Die Striche enthielten, wie die mikroskopische Kontrolle kurz nach der Impfung zeigte, wenig Sporen und noch weniger mitübertragene Hyphenstücke von meist sehr geringer Größe. In der Schale traten fünf kleine Mycelien auf. Ich glaubte zunächst, sie seien aus Sporen entstanden, aber bei mikroskopischer Prüfung ergab sich, daß sie alle aus Hyphenstücken hervorgegangen waren. Im Laufe der nächsten Tage prüfte ich die Platte nochmals. Gekeimte Sporen fand ich auch jetzt nicht, aber ich sah nach etwa einer halben Woche, daß zwischen den mittlerweile herangewachsenen, den größten Teil der Nährbodenoberfläche bedeckenden Mycelien 1 und 2 und Mycel 5, ferner zwischen Mycel 3

und Mycel 4 zwei Fruchtkörperlinien in Bildung begriffen waren (Abb. 3, 1–5). Einige Tage später hatten sich die Linien schwarz verfärbt, also den für reife Fruchtkörper charakteristischen Farbton angenommen. Zwischen den Mycelien 2 und 3, 2 und 1 und 1 und 3 waren Fruchtkörperlinien nicht gebildet worden. Aus diesen Beobachtungen ging hervor, daß der Pilz heterothallisch (im Sinne Blakeslees) ist. Die Fruchtkörperbildung war früher nach wiederholtem Umimpfen offenbar deswegen ausgeblieben, weil die Kulturen nur mehr das eine der beiden Geschlechter enthielten. Wie die Entmischung der Mycelien zustande kommt, soll später im Zusammenhang mit anderen Geschlechtsfragen auseinandergesetzt werden. Durch Zufall war ich also in den Besitz der beiden Geschlechter des Pilzes gekommen.

Da ich volle Sicherheit, ob jedes der 5 Mycelien nur aus einer Hyphe entstanden sei, nicht hatte, so züchtete ich nochmals beide Geschlechter aus je einer Hyphe zweier solchen Mycelien, die bei dem oben beschriebenen Versuch miteinander Fruchtkörper gegeben hatten, also jedenfalls verschiedenen Geschlechts waren. Den Versuch führte ich in folgender Weise aus. Hyphen vom Rande eines Mycels hackte ich mit einem scharfen Messer in möglichst kleine Stücke, die ich in Bierwürze gleichmäßig verteilte und mit einer Platinöse auf Bierwürzeagar aufstrich. Die Verdünnung wurde so gewählt, daß jeder der drei Striche einer Schale nur wenige Hyphenstücke enthielt. Die sich entwickelnden Äste wachsen rasch aus dem Impfstrich heraus. Da junge Mycelien sehr locker sind, so gelingt es leicht, je eine Hyphe unter dem Präpariermikroskop herauszuschneiden, auf eine andere Schale mit Agar zu übertragen und hier zum Auswachsen zu bringen.

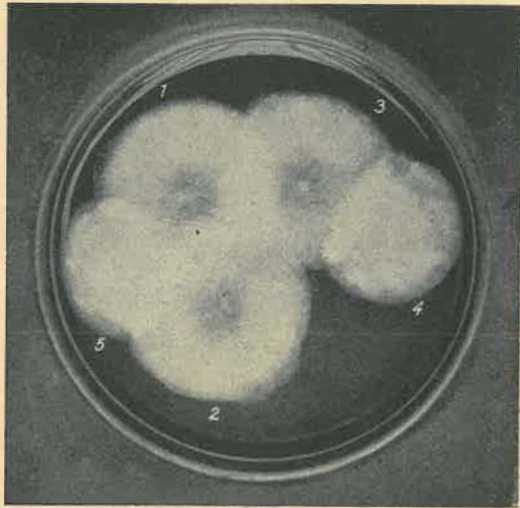


Abb. 3. Schale mit 5 aus Hyphenstücken, die auf 3 von rechts oben nach links unten verlaufenden Impfstrichen lagen, hervorgegangenen Mycelien, von denen 1, 2, 3 männlich, 4 und 5 weiblich waren. Zwischen 5 einerseits und 1 und 2 andererseits, ferner zwischen 3 und 4 waren Fruchtkörper in Bildung begriffen. Vergr. 6:10.

Auf diese Weise gewann ich zwei Mycelien verschiedenen Geschlechts, deren jedes bestimmt von nur einer Hyphe abstammte. Das eine bezeichnete ich willkürlich mit a, das andere mit i. Diese beiden Mycelien und die davon durch Abimpfung in Röhren gewonnenen haben zu allen von mir ausgeführten Geschlechtsprüfungen reingezüchteter Mycelien unbekanntem Geschlechts bis zum Juli 1915 gedient. Sie haben die Eigenschaft, miteinander Fruchtkörper zu liefern, dauernd behalten, und es hat sich gezeigt, daß, wenn ein Mycel von unbekanntem Geschlecht mit einem von ihnen kopulierte, die Kopulation mit dem anderen ausblieb. Das Geschlecht jedes der in der Natur vorkommenden Mycelien ist also ein ganz bestimmtes. Jedes Mycel gehört entweder dem einen oder dem anderen Geschlecht an. Von

einer Spore oder Hyphe abstammende Mycelien, die für sich allein oder sowohl mit a wie mit i Fruchtkörper bilden könnten, und Mycelien, die weder mit a noch mit i kopulieren (neutrale Mycelien), habe ich bei meinen zahlreichen Versuchen niemals beobachtet.

Die Verwendung von Stecklingen empfiehlt sich mehr als die der schwer und unregelmäßig keimenden Sporen.

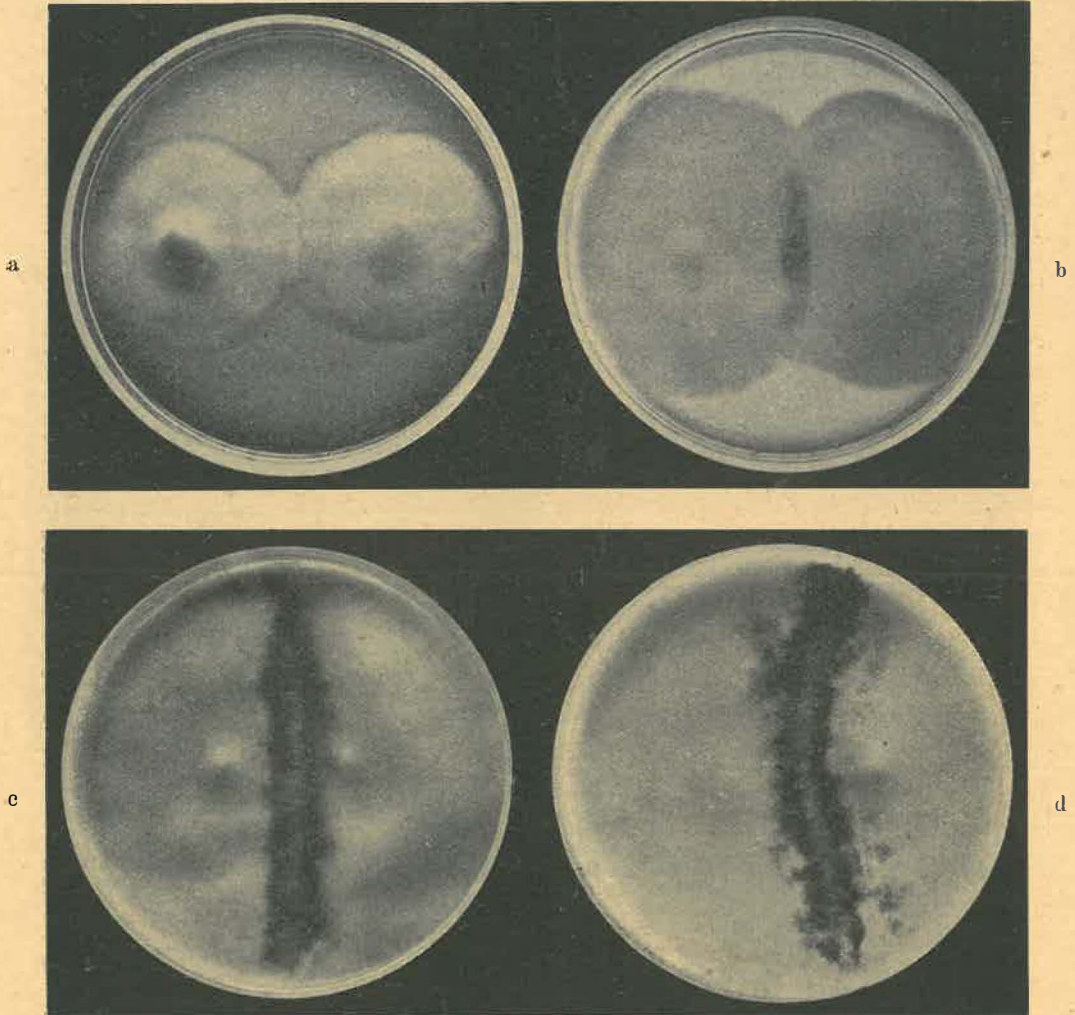


Abb. 4. Vier Schalen mit je zwei in Kopulation befindlichen Mycelien, links die männlichen, rechts die weiblichen. a Beginn der Kopulation; b Fortschreiten der Kopulation, Beginn der Schwärzung der Fruchtkörper in der Mitte der Kopulationslinie; c Kopulationslinie breit, quer durch die Schale laufend; d Kopulationslinie durch Hinüberwachsen der männlichen Hyphen nach rechts (stärker) und der weiblichen nach links (schwächer) unscharf geworden. Vergr. 6:10.

b) Die Fruchtkörperbildung.

Makroskopisch.

Impft man zwei Mycelstecklinge verschiedenen Geschlechts in der durch Abb. 4 erläuterten Weise auf Agar in Schalen von 100 mm Durchmesser, so

kommen die von ihnen gebildeten Mycelien nach einigen Tagen (die Zeit ist je nach der Entfernung der Impfstellen und der Temperatur länger oder kürzer) mit ihren einander zugekehrten Rändern zur Berührung: Es entsteht eine in auffallendem Licht weiße, in durchfallendem Licht dunkle Linie (Abb. 4 a), die sich bis zum nächsten Tage infolge Fortwachsens der Mycelien, durch das neue Randpartien der beiden Mycelien zur Berührung kommen, an beiden Enden verlängert hat (Abb. 4 b). Die Verlängerung ist zu Ende, wenn der Rand der Schale erreicht ist (Abb. 4 c). Bevor das geschieht, verfärbt sich die Linie in der Mitte schwarz (Abb. 4 b). Die Schwärzung schreitet langsam fort, bis sie ebenfalls am Rande angelangt ist (Abb. 4 c). Die Breite der Linie steigt bis zu einem gewissen Grade mit der Menge der zur Verfügung stehenden Nährstoffe. Die Linienränder sind anfangs ziemlich scharf (Abb. 4 c), werden aber später mehr oder weniger verwaschen, weil dadurch, daß einzelne Hyphen der Mycelien die Linie, das eine von rechts nach links, das andere von links nach rechts, überschreiten, immer neue Hyphen beiderlei Geschlechts miteinander zur Berührung kommen (Abb. 4 d). Die entstandenen schwarzen kugeligen Gebilde, die in Massen nebeneinanderliegend die schwarze Linie erzeugen, in geringer Zahl gebildet die Graufärbung bedingen, sind Fruchtkörper, die sich in keiner Weise von denen in den Bienenwaben unterscheiden.

Mikroskopisch.

Da die Einzelheiten der Entwicklung der Fruchtkörper in Petrischalen nicht gut zu beobachten sind, benutzte ich zu genauen Feststellungen feuchte Kammern von der auf S. 479 angegebenen Größe (Abb. 5 a u. b), in denen man das Wachstum einer und derselben Anlage längere Zeit verfolgen kann.

Man zieht in Petrischalen beiderlei Mycelien und entnimmt aus ihren Rändern kleine Stecklinge auf Agarstücken von prismatischer oder tetraedrischer Form, die, wie Abb. 5 a u. b zeigt, am Deckglase einer feuchten Kammer befestigt und eine Zeitlang in der Wärme gehalten werden.

Einige Zeit, nachdem die von den beiden Stecklingen verschiedenen Geschlechts gebildeten Hyphen zu gegenseitiger Berührung gelangt sind, beginnt die Anlage eines gestimmten Fruchtkörpers damit, daß zwei Hyphen verschiedenen Geschlechts an einer Berührungsstelle sich fest miteinander verbinden und dann an der Verbindungsstelle kurze Seitenhyphen hervorsprossen lassen (Tafelabb. 18), deren distale Enden also von vornherein fest aneinander haften (Tafelabb. 19a). Während man auf den Beginn des Aussprossens der Äste lange warten muß, offenbar deswegen, weil zur Herstellung der festen Verbindung längere Zeit nötig ist, wachsen sie von nun an rasch in die

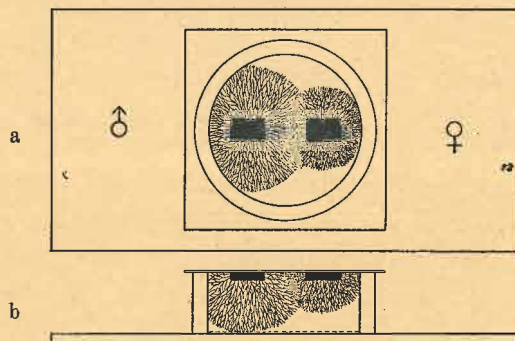


Abb. 5. Feuchte Kammer in natürlicher Größe, a von oben, b von der Seite gesehen. Die eingimpften Agarstücke mit Mycelien sind schwarz gehalten. Größe der neu entstandenen Mycelien auffallend verschieden. Kopulationsebene dem rechten Mycelsteckling näher (vgl. Abb. 21). Nat. Größe.

Länge (Tafelabb. 19 b) und werden bald derart geteilt, daß in der Regel der eine, zylindrisch bleibende Ast an der Basis, dagegen der andere, an seinem distalen Ende anschwellende in einiger Entfernung von seiner Basis eine Querwand erhält (Tafelabb. 20—26). Die abgeschnittenen, einander berührenden Zellen sind die Sexualorgane (Gametangien). Das eine zylindrische, meist sitzende, bleibt klein und wäre deshalb als Antheridium zu bezeichnen, während das größere, angeschwollene, in der Regel gestielte Oogonium zu nennen wäre.

Die Entstehungsorte der Sexualorgane können an Hyphen aller Ordnungen und in allen möglichen Entfernungen von ihren Spitzen liegen. Wenn ein Sexualorgan an oder in mäßiger Entfernung von der Hyphenspitze sich bildet, pflegt dadurch ihr Längenwachstum ganz oder fast ganz verhindert zu werden (bei der Oogonbildung in höherem Maße) (Tafelabb. 20—24), während bei größerer Entfernung der Anlage von der Spitze die Hyphe, wie es scheint, unter Umständen ungestört weiterwachsen kann (Tafelabb. 20—26). In der Lage der Sexualorgane zu den Enden der sie erzeugenden Hyphen herrscht also eine große Mannigfaltigkeit, die besser als durch Worte durch einen Hinweis auf die Abbildungen veranschaulicht wird.

Wie sich die Weiterentwicklung der Sexualorgane, soweit man sie äußerlich erkennen kann, gestaltet, ergibt Abb. 6, a—i, die durch Beobachtung derselben Fruchtkörperanlage in der Zeit vom 18. 9. 13 bis 3. 10. 13 bei einer Temperatur von rund 20° C. gewonnen ist. Nach den Zeitangaben in der Abbildungserklärung verläuft bei der angegebenen Temperatur vom Sichtbarwerden der Sexualorgananlage nicht viel mehr als ein Tag, bis das Oogon erwachsen ist. Es schwillt rasch an, wird immer kugelähnlicher, wobei die in den Figuren nach links oben gerichtete Seite der Kugeloberfläche weit stärker wächst als die ihr gegenüberliegende. Der Winkel, den die Verbindungslinien der Oogonmitte mit den Mitten der Ansatzflächen von Antheridium- und Oogoniumstiel bilden, wird immer kleiner. Das gilt ganz allgemein. Er sinkt vom Höchstwert 180° (wenn Antheridium- und Oogoniumstiel einander gegenüberstehen) auf etwa 25° als niedrigsten Wert. Sobald das Oogonium ausgewachsen ist, fängt seine Membran an, sich bräunlich-grün zu verfärben, also den Farbton anzunehmen, der vielen Sporen und manchen anderen Teilen von Pyrenomyceten eigen ist. Mit bloßem Auge betrachtet erscheinen die Oogonien schließlich schwarz. Etwa zur selben Zeit wie die Membranverfärbung setzt auch eine starke Membranverdickung ein. Durch Färbung, Membranverdickung und Oogoniumvergrößerung wird die Möglichkeit, die Vorgänge, die sich nun im Oogoninnern abspielen, zu verfolgen, sehr erschwert. Festzustellen, was im Oogon im einzelnen vor sich geht, muß der cytologischen Untersuchung vorbehalten bleiben. Soviel ist aber klar, daß eine Zerlegung des Inhalts in etwa kugelige Plasmaballen stattfindet, die nach einiger Zeit in zahlreiche Sporen zerfallen. Das anfangs prall gefüllte Antheridium (Abb. 6 a u. b) hat schon frühzeitig seinen Inhalt bis auf Spuren in das Oogonium hinein entleert und dabei an Größe wesentlich abgenommen (Abb. 6, c—i, Tafelabb. 22, 22a). Da die Sexualorgane erst infolge der Berührung zweier Hyphen entgegengesetzten Geschlechts entstehen, so ist klar, daß die Zahl der männlichen und weiblichen Sexualorgane genau gleich groß sein muß, daß also der Pilz im Gegensatz zu anderen Pflanzen,

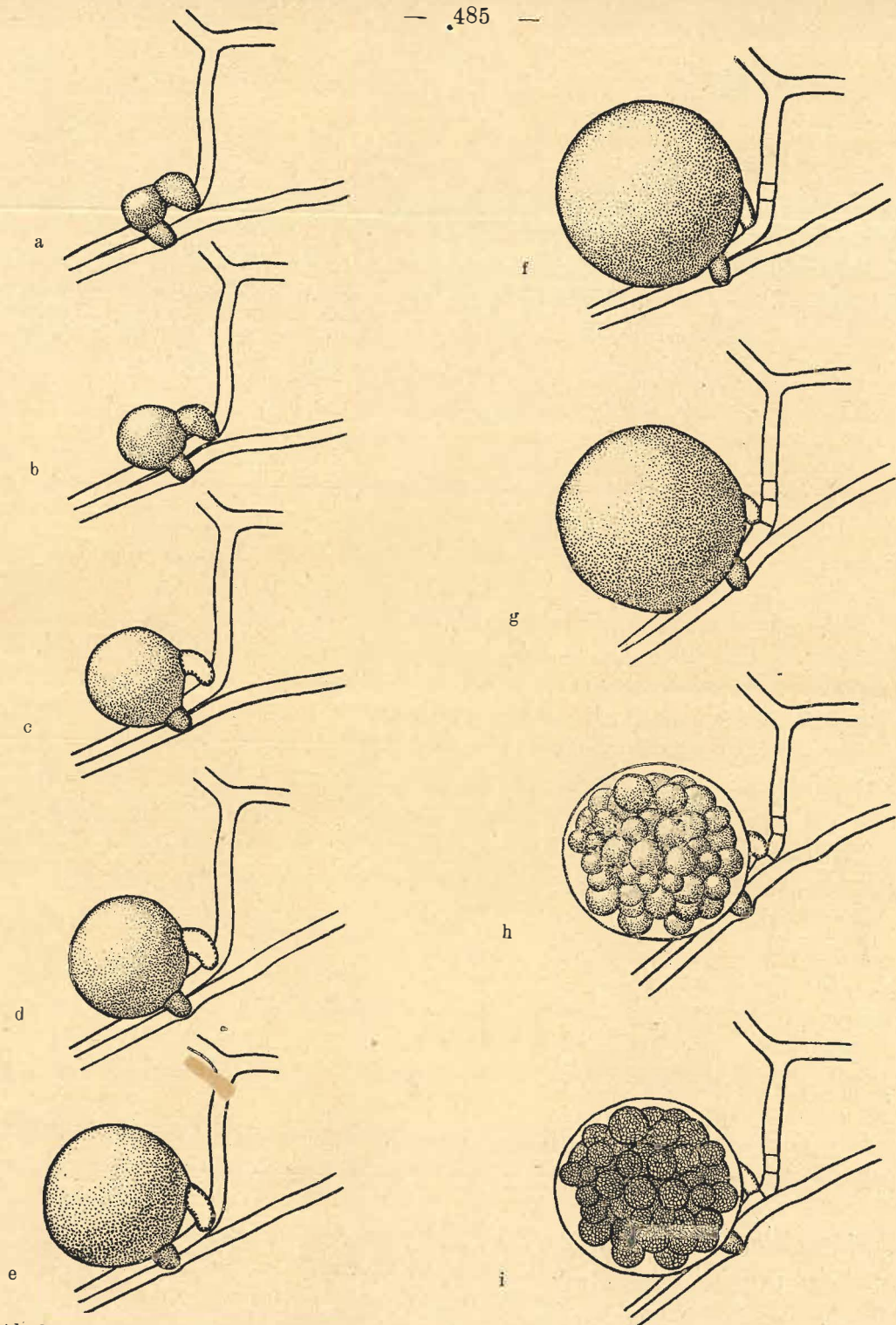


Abb. 6. Entwicklung eines Fruchtkörpers in feuchter Kammer bei Zimmertemperatur (rund 20° C.) vom 18. 9. 1913 bis 3. 10. 1913 verfolgt. a junge Sexualorgane 18. 9. 1913, 11⁴⁰ Vm.; b junge Sexualorgane 12³⁰ Nm.; c Antheridium entleert, Oogonium vergrößert, 2⁰⁵ Nm.; d Oogonium weiter vergrößert 3²⁵ Nm.; e 5⁰⁰ Nm.; f 19. 9. 13 11³⁰ Vm.; g 24. 9. 13 6³⁰; h Fruchtkörper mit Plasmaballen am 30. 9. 13 10⁰⁰ Vm.; i Fruchtkörper mit Sporenballen 3. 10. 13. Vergr. 420:1.

bei denen die Organe des einen Geschlechts in Überzahl gebildet werden, äußerst ökonomisch arbeitet.

Die Fruchtkörperanlagen und die reifen Fruchtkörper schieben sich an der ursprünglichen Kontaktstelle zwischen die sie erzeugenden Hyphen ein. Diese werden also notwendig aus ihrer ursprünglichen Lage gebracht. Die äußerst mannigfache Art, wie das geschieht, soll an der Hand der Abbildungen kurz geschildert werden. Bei der Anlage des Sexualorganpaares (Abb. 20) berührte die weibliche Hyphe die männliche da, wo die das Antheridium vom männlichen Faden trennende Wand liegt. Während die an beiden Enden befestigte männliche Hyphe ihre Lage nicht erkennbar änderte, wurde durch die Antheridium- und Oogonienstehung die Spitze der weiblichen Hyphe zurückgekrümmt (in der Abbildung nach links oben). In Tafelabbildung 21 kam infolge der eigentümlichen Lage der erzeugenden Hyphen zueinander neben einer Verschiebung der Traghyphen eine Stauchung des Antheridiums und des Oogonstiels und eine leichte Krümmung der weiblichen Hyphe zustande. In Tafelabbildung 19a (vgl. Tafelabb. 31a) ist die Sexualorgananlage ein etwa halbkreisförmiger Bogen. Männliche und weibliche Hyphe, die sich kaum merklich voneinander entfernt haben, müssen also Torsionen von zusammen etwa 180° ausgeführt haben. Auch bei der Anlage 19b war eine Torsion von sehr erheblichem Ausmaße zu beobachten. Verschiebungen der erzeugenden Hyphen gegeneinander, Torsionen dieser Hyphen und Krümmungen der Sexualorgane und ihrer Traghyphen kombiniert kamen an den Vorlagen für die Tafelabbildungen 22—26 vor. Besonders lehrreich ist Tafelabbildung 27. Die von links nach rechts verlaufende männliche Hyphe, die drei Antheridien trägt, erweist sich als stark verbogen. Man wird sich ihre ursprüngliche Lage zur weiblichen Hyphe leicht ausmalen können. Es muß hier darauf hingewiesen werden, daß weder diese, noch die Tafelabbildung 28—35 die räumliche Anordnung der Hyphen zueinander ausreichend wiedergeben. Man stellt sich nach den Abbildungen den Hyphenverlauf unwillkürlich viel zu eben vor. Es erscheint einfach, die Lageverhältnisse festzustellen, während mir das tatsächlich in nicht wenigen Fällen nur durch Herstellung von Plastilinmodellen möglich gewesen ist. Nicht selten kommt es vor, daß benachbarte Sexualorgane beim Wachstum durch die Verschiebungen, Krümmungen und Torsionen, die sie bewirken, sich gegenseitig stören. Als Beleg dafür möge die Tafelabbildung 17 dienen, die eine Anzahl mehr oder weniger verbildeter Sexualorganpaare zeigt. Durch Zusammenwirken der oben geschilderten mit korrelativen Störungen, die die sich entwickelnden Sexualorganpaaranlagen durcheinander erfahren, erklärt sich das Fehlschlagen und das Kleinbleiben gewisser Fruchtkörper.

Ein weibliches Sexualorgan kann zur Zerlegung seines Inhaltes schreiten, schon wenn es noch sehr klein ist (Durchmesser 15—20 μ) (Tafelabb. 38, 47, 48). In diesem Falle ist die Zahl der sich bildenden Plasma- oder Sporenballen klein. Im äußersten Falle entsteht ein einziger (Tafelabb. 38, 47). Mit steigendem Durchmesser nimmt sie zu und zwar zu so hohen Werten, daß es nicht mehr gelingt, sie festzustellen. Im Fruchtkörper kann man die Sporenballen nicht zählen, weil die oberen die unteren verdecken, und zerdrückt man ihn, so zerfallen viele Ballen in Sporen.

In der Tafelabb. 43 ist in der nach links verlaufenden weiblichen Hyphne eine Torsion zu beobachten. Auch die in Tafelabb. 46 links liegenden Hyphen, sowohl die männliche wie die weibliche, erscheinen tordiert.

c) Die Feststellung des Geschlechts der Mycelien.

Da die Untersuchung gezeigt hat, daß die Sexualorgane von ungleicher Größe sind, so wird man fragen, ob alle großen kopulierenden Zellen am einen und alle kleinen am anderen Mycel sitzen oder ob beide Mycelgeschlechter sowohl große wie kleine kopulierende Zellen tragen, wie etwa die getrenntgeschlechtigen Mycelien von *Rhizopus nigricans*. Daß bei *Rhizopus* die Kopulanten in der Regel von verschiedener Größe sind, wird schon von de Bary (1866) angegeben. Er sagt ausdrücklich: „In der weitaus größeren Mehrzahl der Fälle sind beide Kopulationszellen eines Paares ungleich groß: die eine so hoch wie breit, die andere nur etwa halb so hoch.“ Blakeslee bestätigt die Angaben de Barys, fügt hinzu, daß jedes Mycel sowohl große wie kleine Kopulanten liefern kann (1904; S. 269), und belegt seine Aussage durch eine Figur (1904, Taf. 1, Fig. 15). Die Richtigkeit der Beobachtungen Blakeslees ist mir von Reinhardt mündlich bestätigt und durch Präparate belegt worden. Van Tieghems Angaben (1875), nach denen bei *Rhizopus* die Verschiedenheit der Kopulantengröße ein Zeichen sexueller Differenzierung sein sollte, sind also hinfällig.

Bei unserm Pilz ist der Nachweis, ob die eine oder die andere Möglichkeit zutrifft, ohne wesentliche Schwierigkeiten zu führen. Man braucht nur aus einer in Bildung begriffenen Fruchtkörperlinie entnommenes Material in Bierwürze fein zu zerpupfen und nach Fadenstücken, denen mehrere Kopulanten anhängen, mikroskopisch zu durchsuchen, dann sieht man, daß, wenn an einem Fadenstück ein kleiner Kopulant hängt, auch die übrigen, die ihm ansitzen, klein sind. Für die großen Kopulanten gilt dasselbe. Also alle an einem Fadenstück anhängenden Kopulanten sind entweder groß oder klein. Die Abbildungen geben dafür einige Belege (Tafelabb. 16, 27, 32, 36, 43; Textabb. 12). Die Tatsache wurde bei den morphologischen Untersuchungen an Material in feuchter Kammer immer wieder beobachtet und steht unzweifelhaft fest,

Da von zweierlei Sexualorganen einer Pflanze die kleineren und abgebenden als männlich, die größeren und aufnehmenden als weiblich bezeichnet zu werden pflegen, so lassen sich auch die Mycelien unseres Pilzes als männlich und weiblich unterscheiden, denn ein Mycel trägt, wie oben dargelegt wurde, stets entweder nur männliche oder nur weibliche Sexualorgane. Da nun die beiden Mycelien, wenn sie ihrem Geschlecht nach kenntlich sind, stets miteinander zusammenhängen — man erkennt ja ihr Geschlecht zunächst nur an der Größe der Kopulanten, die sie liefern, und diese entstehen nur da, wo die beiden Geschlechter aufeinanderstoßen — so ist es notwendig, irgend eine Methode zu ersinnen, auch das Geschlecht der Mycelien a und i festzustellen, von denen man wohl weiß, daß sie verschiedenen Geschlechts sind, von denen man aber nicht sagen kann, welches männlich und welches weiblich ist.

Zu dieser Feststellung bieten sich zwei Wege, die prinzipiell nicht verschieden sind:

1. Man läßt ein Hyphenstück, dem ein männliches oder ein weibliches Gametangium anhängt, unter mikroskopischer Kontrolle zu einem Mycel heranwachsen. Von

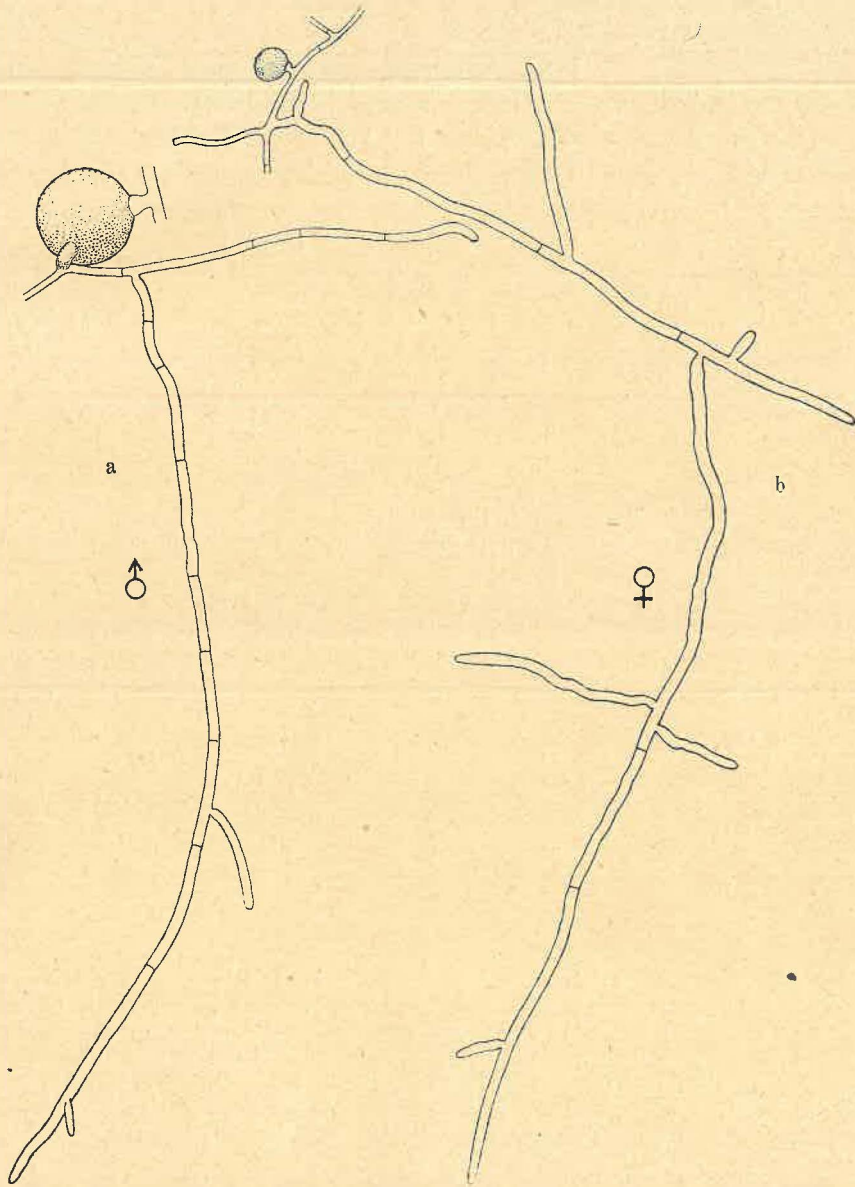


Abb. 7. Sexualorganen anhängende Hyphenstücke, die auf Bierwürzeagar ausgewachsen sind. a Eine einem männlichen Sexualorgan anhängende, von links nach rechts verlaufende Hyphe hat eine in der Abbildung nach unten gerichtete Seitenhyphengabelung gebildet. b Eine einem weiblichen Sexualorgan anhängende Hyphe hat einen in der Abbildung nach rechts abwärts laufenden und dieser einen nach unten gerichteten Seitenast gebildet. Vergr. 160:1.

diesem Mycel setzt man einen Steckling — er sei etwa männlich — in die Mitte einer Schale und rechts und links daneben je einen Steckling aus Mycelien von a und i. Die Mycelien a und i selbst bewahrt man auf. Alle drei Steck-

linge wachsen heran und die Mycelien aus den Stecklingen von a und i berühren schließlich das Mycel von dem männlichen Steckling. Da, wie oben erwähnt, scharfe Geschlechtstrennung besteht, kann entweder nur a oder i mit dem männlichen Mycel kopulieren. Kopuliert a, so ist a weiblich und i männlich, kopuliert i, dann gilt das Umgekehrte.

Die praktische Ausführung des Versuchs ist mühsam. Ich verfuhr so, daß ich in Bierwürze fein verteilte Hyphenstücke aus einer jungen Fruchtkörperlinie mit einer Platinöse auf Bierwürzeagar in parallelen Strichen aufimpfte. Die beimpften Schalen hielt ich 24 Stunden bei etwa 30° C. und musterte dann die Impfstrieche mit dem Mikroskop sorgfältig durch. Von den im Strich liegenden Hyphenstücken

sind meist einige zu kleinen Mycelien ausgewachsen. Auf diese kommt es an. Es gilt, ein solches zu finden, dem ein männlicher (Abb. 7 a) oder ein weiblicher (Abb. 7 b) Kopulant anhängt. Hat ein aus einem unzweifelhaft männlichen oder weiblichen Hyphenstück ausgewachsenes Mycel eine solche Größe erreicht, daß einige seiner Hyphen aus dem Impfstrich hervorragen, so kann man von ihm sofort einen Steckling frei von Sporen und fremden Hyphenstücken nach der durch Abb. 8 erläuterten Methode herstellen. Ist das nicht der Fall, so wird das Mycel markiert und nach einer Wartezeit von 12–24 Stunden ein Steckling von ihm entnommen. Dieser wird in der oben angegebenen Weise gegen a und i geprüft.

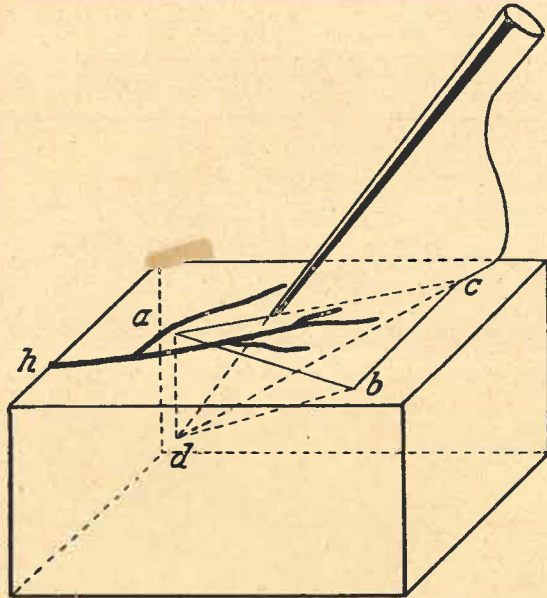


Abb. 8. Methode der Stecklingsherstellung. Mit einer scharf geschliffenen, feinen Lancette führt man einen in die Ebene a b d fallenden Schnitt schräg durch die Hyphe und dann Schnitte in den Ebenen a c d und b c d und hebt schließlich das losgetrennte, pyramidenförmige Agarstück aus und überträgt es.

Der erste Versuch ergab, daß das männliche Mycel mit i kopulierte, mit a dagegen nicht. Das Mycel a war also männlich, das Mycel i weiblich. Andere Versuche, die sowohl mit männlichen, wie mit weiblichen Mycelien ausgeführt wurden, bestätigten das Ergebnis (Abb. 9, vgl. die Abbildungserklärung).

2. Man bringt zwei Hyphen, eine vom Mycel a und eine vom Mycel i, die man dicht beieinander in feuchter Kammer ausgeimpft hat, zum Auswachsen und beobachtet die Kopulation der aus ihnen hervorgehenden Mycelien unter dem Mikroskop. Haben sich die Kopulanten hinreichend weit ausgebildet, so daß ihr Geschlecht außer Zweifel steht, dann verfolgt man von einem oder, wenn es geht, von beiden Kopulanten eines Paares aus die sie erzeugenden Hyphen nach rückwärts bis zu den Impfstellen. War der Kopulant z. B. groß, also

weiblich, und gelangt man bei der Verfolgung der ihn erzeugenden Hyphe zu der Impfstelle, an der das Hyphenstück von i ausgelegt war, dann ist Mycel i weiblich.

Bei der Ausführung des Versuchs stieß ich zunächst auf unerwartete Schwierigkeiten. Ich verfuhr anfangs so, daß ich auf ein Deckglas einen flachen Tropfen Bierwürze von 5—7 mm Durchmesser setzte und diesen an zwei einander gegenüberliegenden Randstellen mit je einem Agarstück impfte, deren eines mit i-, deren anderes mit a-Hyphen bewachsen war. a- und i-Hyphen wuchsen in feuchter Kammer in den Würzetropfen hinein, kamen zur Berührung, aber nicht zur Kopulation.

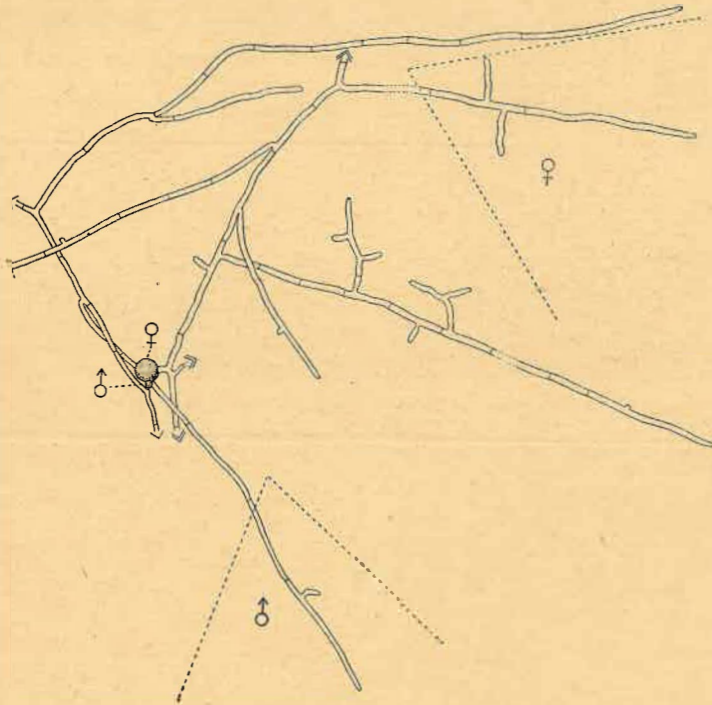


Abb. 9. Dem durch Punktierung hervorgehobenen Sexualorganpaar saß das mit einfachen Winkelhaken bezeichnete männliche und das mit doppelten Winkelhaken bezeichnete weibliche Hyphenstück an. Beide Hyphenstücke bildeten Seitenäste (in der Abbildung zum Teil verkürzt gezeichnet), von denen durch Schnitte längs den punktierten Linien Stecklinge entnommen wurden, ein männlicher links unten und ein weiblicher rechts oben. Vergr. 95:1.

Wenigstens sah ich auch bei wiederholter Durchsicht der Kammern bei starker Vergrößerung (Kompens.-Ocular 4, Apochrom.-Obj. 3 mm) keine Fruchtkörper. Ich wollte schon den Versuch als aussichtslos aufgeben, als ich bemerkte, daß unterhalb des Würzetropfens in dem feuchten Raum zwischen dem wasserbedeckten Kammerboden und dem Deckglase im Hyphengewirre zahlreiche schon dunkel gefärbte Fruchtkörper saßen. Vermutlich verhinderte also die Eintauchung in Flüssigkeit die Hyphen an der Kopulation.

Ich änderte daher das Verfahren in der durch Abb. 5 erläuterten Weise ab. Statt eines Tropfens brachte ich auf ein Deckglas zwei kleine Tropfen Bierwürze und übertrug in jeden ein winziges Bierwürzeagarstück mit einer Hyphe, in den einen

von einem a-Mycel, in den anderen von einem i-Mycel. Das Deckglas legte ich auf den Ring einer feuchten Kammer. Später ließ ich die Bierwürze ganz fort.

Selbstverständlich ist es nicht nötig, nur eine i- und eine a-Hyphe zu verwenden. Man kann auch größere Stecklinge benutzen. Aber je kleiner die benutzten Stecklinge sind, desto einfacher und leichter übersehbar sind anfangs die

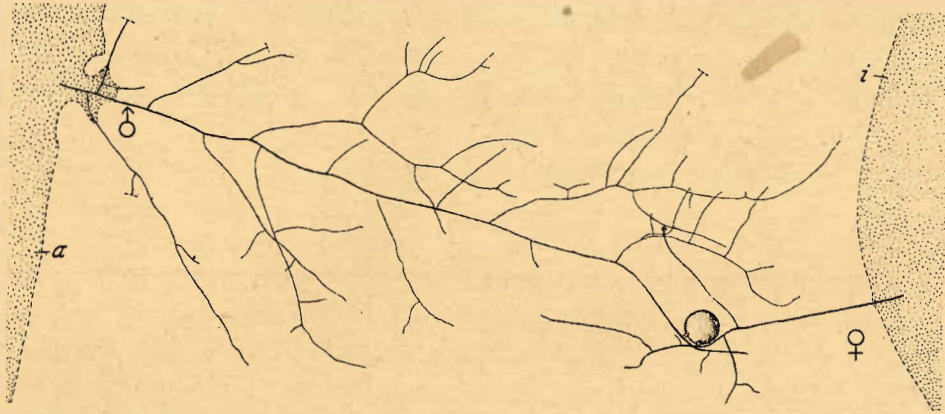


Abb. 10. Kopulation von i- und a-Hyphen in feuchter Kammer. Die i-Hyphen kommen von rechts, die a-Hyphen von links. Zwei Fruchtkörper sind in Bildung begriffen. Schwach vergr.

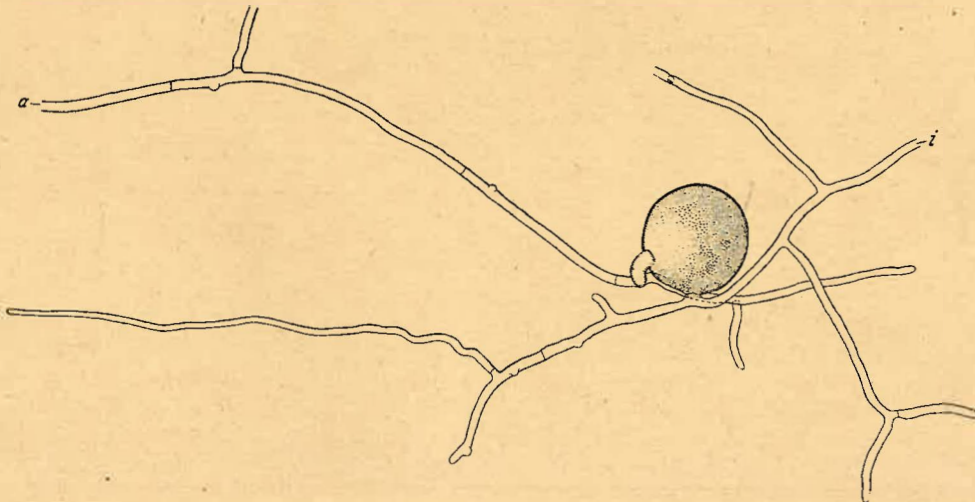


Abb. 11. Ältere Fruchtkörperanlage aus Abb. 10, stärker vergrößert. Die i-Hyphe trägt das Oogonium und ist daher als weiblich, die a-Hyphe das Antheridium und ist daher als männlich zu bezeichnen. Vergr. 240:1.

Bilder (Abb. 10 und 11). Aus beiden Abbildungen folgt, daß das männliche Mycel mit a, das weibliche mit i geschlechtsgleich ist, in Übereinstimmung mit den rüheren Ergebnissen.

Zahlreiche je auf eine a- und i-Hyphe zurückführbare männliche und weibliche Gametangien zeigt Abb. 12.

d) Die Geschlechtsverhältnisse der Sporen und andere Geschlechtsfragen.

Da die Mycelien geschlechtlich scharf differenziert sind, so müssen auch die Sporen, aus denen sie hervorgehen, geschlechtlich differenziert sein. Jeder Fruchtkörper enthält eine mehr oder minder große Zahl von Ballen, die aus zahlreichen Sporen bestehen. Man kann als fragen: Welches Geschlecht besitzen die vielen Sporen eines Fruchtkörpers?

Auf diese Frage sind nach den Erfahrungen über die Geschlechtsverhältnisse anderer Organismen verschiedene Antworten denkbar:

- I. Die Sporen eines Fruchtkörpers könnten alle von gleichem Geschlecht sein, also entweder alle männlich oder alle weiblich.
- II. Die Sporen eines Fruchtkörpers könnten verschiedenen Geschlechts sein, also teils männlich, teils weiblich. In diesem Falle könnten:
 - a) sämtliche Sporen eines Ballens von gleichem Geschlecht, also entweder alle männlich oder alle weiblich,
 - b) die Sporen eines Ballens teils männlich, teils weiblich,
 - c) einzelne Ballen (wie unter a) ganz männlich oder ganz weiblich und einzelne gemischt sein (wie unter b).

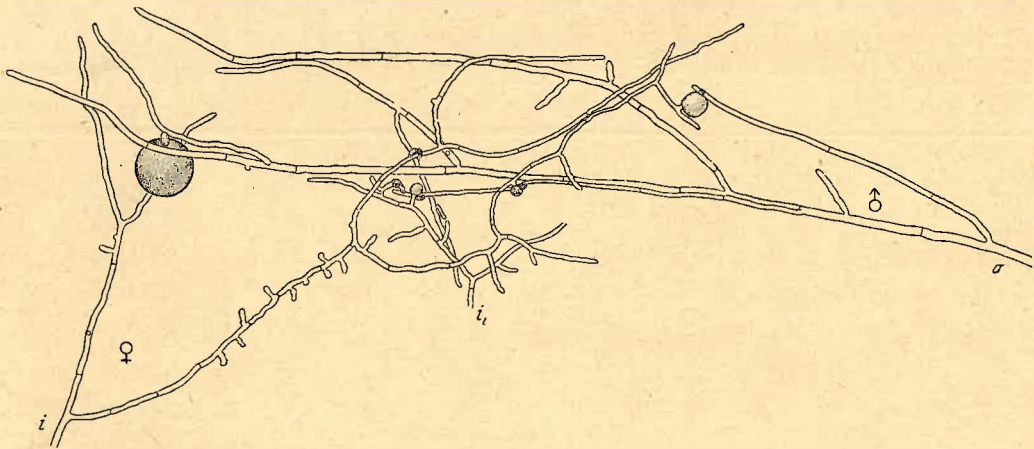


Abb. 12. Kopulationen zwischen von links kommenden i- und von rechts kommenden a-Hyphen. i_1 ist ein Ast einer rechten Seitenhyphe von i. Sämtliche Antheridien hängen an a, sämtliche Oogonien an i. Vergr. 95:1.

Im Falle I dürften die aus den Sporen desselben Fruchtkörpers entstehenden Mycelien immer nur mit einem der Mycelien bekannten Geschlechts — ich will sie Testmycelien nennen — kopulieren.

Im Falle IIa müßte dasselbe von den Mycelien aus Sporen desselben Ballens gelten, im Falle IIb dagegen müßten Kopulationen der aus den Sporen eines Ballens hervorgehenden Mycelien mit beiden Testmycelien eintreten.

Die Entscheidung kann nur der Versuch liefern. Er wird durch die geringe Keimfähigkeit der Sporen sehr erschwert.

Der Weg, durch Isolierung von Fruchtkörpern und von Sporenbällen zum Ziele zu kommen, erwies sich als mühsam und aussichtslos. Zwar gelang es mir, einzelne

ganze Fruchtkörper und einzelne Ballen unter Aufwendung großer Geduld frei von Einzelsporen in hängende Tropfen überzuführen, aber meine Erwartung, die Sporen unter mikroskopischer Kontrolle keimen zu sehen und die Keimlinge auf Bierwürzeagar übertragen und prüfen zu können, ob regelmäßig die aus einem Fruchtkörper oder aus einem Ballen durch Keimung einer größeren Anzahl von Sporen entstandenen Hyphen mit den Testmycelien Fruchtkörper liefern oder nicht, wurde getäuscht, da die Sporen fast niemals auskeimten. Es blieb daher nichts anderes übrig, als Fruchtkörper und Ballen mit Einzelsporen zusammen in größerer Zahl auszusäen.

Ich änderte deshalb den Versuch in folgender Weise ab. Eine große Zahl von älteren Fruchtkörpern, die einer reich fruchtenden Reinkultur entnommen waren, wurden in einer Uhrschale mit Bierwürze zu einem dickflüssigen Brei verrieben. Viele Fruchtkörper und Sporenballen bleiben unbeschädigt, wenn man nicht allzu stark reibt, während andere zertrümmert werden. Den Brei saugt man nach Verdünnung mit Bierwürze in eine Pipette und überträgt ihn mit Strichen auf Bierwürzeagar in Petrischalen (drei parallele Striche auf eine Schale von 7 oder 10 cm Durchmesser).

Die Schalen werden, je nach dem Alter der verwendeten Sporen, 48—72 Std. im Brutschrank bei 30—36° C. gehalten und dann bei schwacher Vergrößerung gemustert. Man findet einzelne isoliert liegende Sporen und einige Sporen in diesem oder jenem Ballen und Fruchtkörper mit Keimschläuchen. Die Keimschläuche verlaufen zum Teil im Strich, befinden sich also zwischen den ungekeimten Sporen, Sporenballen und Fruchtkörpern, zum Teil wachsen sie aus dem Strich heraus (Abb. 13). Von jedem Mycel mit freien, also nicht im Strich liegenden Enden, wird nach Feststellung seiner Zugehörigkeit zu einer bestimmten Spore, einem bestimmten Ballen oder einem bestimmten Fruchtkörper unter dem Präpariermikroskop ein kleines Stück ausgestochen (Abb. 8) und auf Bierwürzeagar zwischen je ein männliches und weibliches Mycel gesetzt, um auf sein Geschlecht geprüft zu werden. Selbstverständlich gelingt es nicht, von allen Mycelien, die aus dem Strich herauswachsen, Stecklinge zu erhalten, da oft die Hyphen so sehr durcheinander laufen, daß man entweder ihren Ursprung nicht feststellen oder sie nicht einzeln auspräparieren kann. Hyphen unsicherer Herkunft habe ich niemals ausgestochen, auch von jedem aus einer Spore stammenden Mycel immer nur einen Steckling hergestellt. Daß ein Mycel aus einer einzeln liegenden Spore stammt, und daß es aus einem Fruchtkörper kommt, ist meistens leicht festzustellen. Schwierig ist es, sicher zu sagen, ob Keimlinge, die von einer Sporengruppe strahlig ausgehen, alle aus einem Ballen stammen oder ob etwa einige aus solchen Sporen entstanden sind, die zufällig in seiner Nähe lagen. Die Sporen vergrößern sich nämlich bei der Keimung, wie später näher geschildert werden soll, ziemlich stark. Dadurch werden die Ballen gesprengt und zerfallen im Laufe der Zeit immer mehr. Sieht man bei der Musterung der Platten die Trümmer, so ist nicht mehr festzustellen, ob sie durch Zerfall eines Ballens entstanden oder ob sie vermischt sind mit Sporen, die zufällig neben dem Ballen lagen. Zur Beseitigung dieser Unsicherheit werden am besten die Kulturen schon nach 24- bis 48stündigem Aufenthalt im Thermostaten gemustert und eine möglichst große

Zahl von unbeschädigten, frei liegenden Sporenbällen durch Einschnitte in die Agar-schicht markiert. Findet man dann später einen von ihnen infolge von Keimung einzelner oder vieler seiner Sporen zertrümmert, so ist man sicher, daß die Trümmer zusammengehören. Man muß viele Ballen vergeblich markieren, ehe es einem gelingt, zu sicheren Schlüssen zu kommen, denn die Sporen der markierten Ballen keimen nur selten. Die Kulturen mußten deshalb monatelang fortgesetzt werden. Trotzdem ist es mir nur in einer beschränkten Anzahl von Fällen gelungen, Sporen von markierten Fruchtkörpern und Ballen keimen zu sehen und, wenn sie keimten, von den aus ihnen hervorgegangenen Mycelien Stecklinge in genügender Zahl zu entnehmen.

Keimen Sporen von Fruchtkörpern und Ballen aus, so hat man zunächst zu warten, bis die Keimschläuche aus dem Impfstrich seitwärts herausgewachsen sind



Abb. 13. Skizze eines kleinen Teils eines mit Pipette hergestellten Strichs von mit Bierwürze aufgeschwemmten Fruchtkörpern (teils heil, teils zertrümmert), Sporenbällen und Einzelsporen (am Rande angedeutet, über die ganze Strichfläche verteilt zu denken) etwa 3—4 Tage nach der Aussaat. Die Keimlinge liegen zum Teil im Strich, zum Teil überragen sie seinen Rand, so daß ihre Spitzen frei von Sporen angestochen werden können. Der Strich oben rechts in der Ecke der Abbildung stellt die Länge eines Millimeters dar.

(Abb. 13). Erst dann besteht die Möglichkeit, Stecklinge auszustechen, die frei von mitüberimpften Sporen sind, was unbedingt sicher sein muß, denn sonst könnte durch nachträgliche Keimung der mitübertragenen Sporen ein falsches Ergebnis zustande kommen.

Keimen viele Sporen eines Fruchtkörpers oder Ballens, so sind zwar in der Regel die einzelnen Keimlinge einander sehr nahe, aber es gelingt bisweilen doch, von etwa 10—20 vorhandenen Keimlingen 2—6 Einzelstecklinge auszustechen. Über 6 auszustechen, ist mir niemals geglückt. Zwei müssen es wenigstens sein, wenn überhaupt ein Ergebnis erzielt werden soll. Meistens liegen die Keimlinge so dicht und greifen mit ihren Zweigen so sehr übereinander, daß man nur von mehreren gleichzeitig einen bis mehrere Stecklinge (Sammelsteckling) entnehmen kann, d. h.

auf dem Stück Agar, das man aussticht, befinden sich Teile von mehreren Keimlingen. Manchmal gelingt es, ihre Zahl sicher festzustellen, manchmal aber nicht. Bestenfalls kann man sagen, daß es Teile von wenigstens soundsovielen Keimlingen sind.

Die Einzelstecklinge werden auf einem Durchmesser einer mit Würzeagar beschickten Petrischale der Reihe nach in Abständen von etwa 1—2 cm angeordnet. Auf dem dazu senkrechten Durchmesser bringt man im Abstand des halben Radius der Schale je einen Steckling eines Mycels von bekanntem Geschlecht an, etwa links

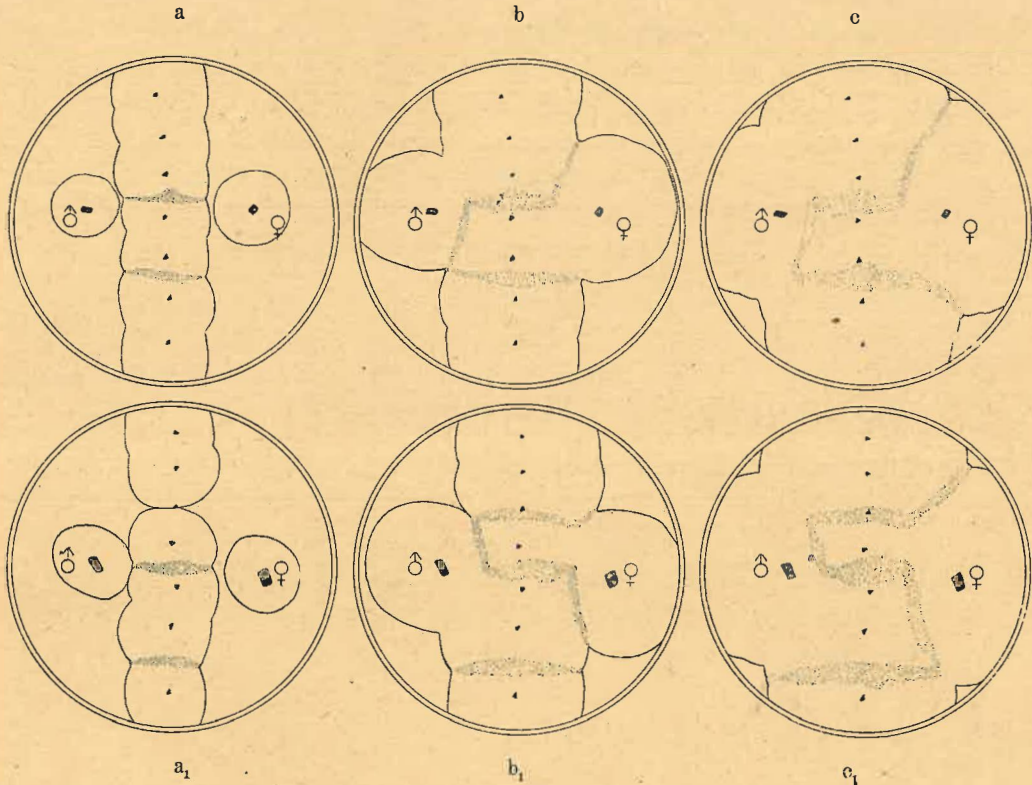


Abb. 14. In den Schalen a, b, c 7 zu prüfende, aus Stecklingen (angedeutet durch schwarze Dreiecke) erwachsene Mycelien zwischen den Testmycelien (weiblich und männlich). In a zwei Fruchtkörperlinien zwischen zu prüfenden Mycelien. In b sind die Testmycelien mit den zu prüfenden Mycelien in Berührung gekommen. Fruchtkörperlinien schwarz punktiert. In c sind die Fruchtkörperlinien weiter ausgebildet. Man sieht, daß zwei der zu prüfenden Mycelien weiblich und 5 männlich sind. Die einen liegen rechts, die andern links von der zickzackförmigen Fruchtkörperlinie. In den Schalen a₁, b₁, c₁, ist der 3. Steckling von oben nicht gewachsen. Aus Abb. c₁ folgt, daß zwei der übrig gebliebenen zu prüfenden Mycelien weiblich und 4 männlich sind. Vergr. 1:2.

einen männlichen und rechts einen weiblichen oder umgekehrt (Abb. 14 a—c). Die Schale wird beschriftet und dann in den Brutschrank (Temperatur etwa 30—36° C.) gestellt. Nach 24—36 Stunden wird geprüft, ob alle Stecklinge gewachsen sind. Ausfälle (Abb. 14 a₁, 3. Keimling von oben) werden sorgfältig gebucht. Es ist nötig, nach weiteren 24 Stunden abermals eine Prüfung vorzunehmen, weil bisweilen Stecklinge, besonders wenn sie klein waren, erst später auswachsen. War bei der zweiten Prüfung ein Auswachsen nicht erfolgt, so schnitt ich an der Stelle, an der der Steck-

ling lag, etwa einen Quadratcentimeter aus dem Agar aus, um jede Möglichkeit einer Täuschung auszuschließen. Daß die Testmycelien nicht auswachsen, kam nicht vor. Am dritten bis vierten Tage gelangen gewöhnlich die zu prüfenden Mycelien schon untereinander und mit den Testmycelien zur Kopulation (Abb. 14 ab, a₁b₁), einen bis zwei Tage später beginnen die Fruchtkörperlinien zwischen den Mycelien verschiedenen Geschlechts sich zu verfärben (Abb. 14) und damit wird die sichere Geschlechtsbestimmung der zu prüfenden Mycelien möglich. Wenn ein zu prüfendes Mycel mit dem männlichen Testmycel kopuliert, darf es mit dem weiblichen nicht kopulieren und umgekehrt. Das Resultat an der einen Seite der Schale wird also stets kontrolliert durch das an der anderen Seite und außerdem kontrollieren sich die zu prüfenden Mycelien gegenseitig, denn folgen zufällig zwei von verschiedenem Geschlecht aufeinander, so bildet sich zwischen ihnen eine Fruchtkörperlinie (Abb. 14 a u. a₁), während im Falle der Gleichgeschlechtigkeit diese Linie fehlt. Wie eine Platte mit fertigen Fruchtkörperlinien aussieht, zeigen Abb. 14 c und c₁. Wegen der Einzelheiten vergleiche man die Figurenerklärung.

Die Feststellungen über das Geschlecht der Sporen eines Fruchtkörpers hatten folgendes Ergebnis:

1. Fälle, in denen ein Agarstück mit Stecklingen von mehreren Keimmycelien (Individuen) ausgestochen wurde (Sammelsteckling):

- a) Die Zahl der übertragenen Individuen war nicht feststellbar, aber jedenfalls beträchtlich. 3 Fälle. In jedem trat Fruchtkörperbildung zwischen den übertragenen Hyphen untereinander und zwischen den Hyphen und den beiden Testmycelien ein.
- b) Die Zahl der in Stecklingsform übertragenen Individuen war feststellbar und zwar betrug sie in

1 Falle	3,
3 Fällen	4,
3 „	5,
4 „	6,
1 Falle	7.

In allen 12 Fällen trat Fruchtkörperbildung ein.

2. Fälle, in denen mit jedem Agarstück ein oder mehrere Stücke von nur je einem Keimmycel übertragen wurden.

Die Zahl der auf ihr Geschlecht geprüften Keimmycelien je eines Fruchtkörpers betrug in	Unter den geprüften Mycelien befanden sich beide Geschlechter in	befanden sich nur ein Geschlecht in
35 Fällen je 2	21 Fällen	14 Fällen
9 „ „ 3	8 „	1 Falle
3 „ „ 4	1 Falle	2 Fällen
1 Falle 5	1 „	—
1 „ 6	1 „	—

Aus diesen Versuchen ist also zu schließen, daß jedenfalls Fruchtkörper mit Sporen beiderlei Geschlechts vorkommen. Das wird bestätigt durch die Prüfung des Geschlechts der Sporen eines Ballens.

Wir unterscheiden wieder:

1. Fälle, in denen ein Agarstück mit Stecklingen von mehreren Keimmycelien (Individuen) übertragen wurde.

a) Die Zahl der übertragenen Individuen war nicht feststellbar, aber jedenfalls beträchtlich. 6 Fälle. In jedem Falle trat Fruchtkörperbildung ein.

b) Die Zahl der in Stecklingsform übertragenen Individuen war feststellbar und zwar betrug sie in

1 Falle	5 und in
1 „	3.

In beiden Fällen trat Fruchtkörperbildung ein.

2. Fälle, in denen mit jedem Agarstück ein oder mehrere Stücke von nur je einem Keimmycel übertragen wurden.

Die Zahl der auf ihr Geschlecht geprüften Keimmycelien je eines Ballens betrug in	Unter den geprüften Mycelien befanden sich beide Geschlechter in		befand sich nur ein Geschlecht in
16 Fällen je 2	8 Fällen		8 Fällen
6 „ „ 3	4 „		2 „
3 „ „ 4	3 „		—
3 „ „ 5	2 „		1 Falle
1 Falle 7	1 Falle		—

Aus diesen Versuchen folgt also, daß jedenfalls Ballen mit Sporen beiderlei Geschlechts vorkommen.

Ferner ergibt sich aus den beiden letzten Tabellen für die Fruchtkörper und Ballen, daß die Wahrscheinlichkeit, männliche und weibliche Sporen in ihnen nachzuweisen, um so mehr steigt, je mehr Keimmycelien man aus ihnen auf ihr Geschlecht prüft. Übersteigt die Zahl der geprüften Mycelien 5 oder 6, so sind fast immer beide Geschlechter unter ihnen vorhanden. Ist die Zahl geringer, so kann es der Zufall fügen, daß man das eine oder das andere Geschlecht nicht faßt. Man darf also als sicher annehmen, daß die Fruchtkörper und Ballen Sporen beiderlei Geschlechts enthalten, und daß die Fruchtkörper Sporen beiderlei Geschlechts eben deswegen enthalten, weil die Ballen aus männlichen und weiblichen Sporen zusammengesetzt sind.

Es liegt nahe zu fragen, in welchem Zahlenverhältnis die weiblichen und männlichen Sporen zueinander stehen oder, mit anderen Worten, wieviele Sporen unter hundert wahllos herausgegriffenen durchschnittlich weiblich und wieviele männlich sind:

1. insgesamt,
2. in einem einzelnen Ballen,
3. in einem einzelnen Fruchtkörper.

Zur Beantwortung dieser Fragen habe ich zum Teil dieselben Kulturen und dasselbe Verfahren benutzt, mit dem ich das Vorhandensein beiderlei Sporen in einem

Fruchtkörper und einem Ballen untersuchte. Stecklinge von Keimmycelien aus je einer Spore wurden wahllos den Kulturschalen frei von ungekeimten Sporen entnommen, reihenweise zu 5—8 auf Agar in Petrischalen angeordnet und nach dem Heranwachsen zu Mycelien mit Testmycelien rechts und links von dieser Reihe geprüft, wie bereits auf S. 493 geschildert wurde (Abb. 14).

Von 5000 auf ihr Geschlecht geprüften Mycelien waren 2454 weiblich und 2546 männlich oder unter 100 durchschnittlich 49,1 weiblich und 50,9 männlich. Das Zahlenverhältnis ist also nahezu 1:1. Die Untersuchungsergebnisse im einzelnen sind in einer besonderen Tabelle zusammengestellt. Die Zeilen sind fortlaufend von 1—500 numeriert (Spalte 1).¹⁾ Jede Zeile enthält 10 Varianten (Spalte 2), die in der Reihenfolge aufgeführt sind, die der Versuch ergab. Hinter jeder Zeile ist in der Spalte 3 die Zahl der weiblichen und männlichen Varianten in dieser Zeile angegeben. Die 4. Spalte gibt die Zahl aller Varianten der voraufgehenden Zeilen an, die 5., wie viele von der Gesamtzahl der Varianten weiblich und wie viele männlich sind, von 80 z. B. 46 weiblich und 34 männlich. Unter der Voraussetzung, daß für 100 Individuen das wahre Zahlenverhältnis 50:50 sei, müßte es für die Gesamtzahl 80 gleich 40:40 sein. Da es sich auf 46:34 beläuft, ist die erste Zahl um 6 zu groß, die zweite um ebensoviel zu klein. Das arithmetische Mittel von 46 und 34 ist 40, die Abweichung vom Mittel beträgt also für die beiden Zahlen ± 6 , wobei sich das + Zeichen auf die erste, das - Zeichen auf die zweite bezieht. Die Abweichung vom Mittel ist in Spalte 6 verzeichnet, während aus Spalte 7 das $\%$ -Verhältnis der Zahlen der weiblichen zu den männlichen Varianten zu ersehen ist. Bis zur Zeile 5 einschließlich beträgt die Zahl der weiblichen Varianten 27, die der männlichen 23 auf insgesamt 50. Das $\%$ -Verhältnis beläuft sich also auf 54:46. Für gewisse Zwecke ist es erwünscht, das $\%$ -Verhältnis weiblich zu männlich für die einzelnen Hunderter zu kennen. Da bis zur Variante 100 einschließlich 56 weibliche und 44 männliche gezählt wurden, beträgt es für das erste Hundert 56:44. Für das zweite Hundert findet man es, indem man von der Zahl der weiblichen Varianten in der Gesamtzahl 200, nämlich 101, die Zahl der weiblichen Varianten im ersten Hundert, nämlich 56, subtrahiert. Das gibt 45 weibliche Varianten für das zweite Hundert. In gleicher Weise findet man die Zahl der männlichen Varianten zu $99 - 44 = 55$. Das gesuchte Verhältnis für das zweite Hundert beträgt also 45:55 (Spalte 8).

Einer längeren Erläuterung bedarf die Spalte 9. Setzt man voraus, daß das wahre Zahlenverhältnis der ♀ zu den ♂ Sporen 50:50 beträgt, daß also unter einer vorliegenden großen Zahl von Sporen oder Mycelien ebensoviele weibliche wie männliche sich befinden, so kann es trotzdem der Zufall fügen, daß man — da die beiderlei Mycelien im jungen Zustande nicht unterscheidbar sind — bei 100 Griffen zunächst mehr von der einen Sorte herausgreift als von der anderen, also statt 50:50 etwa 56:44, wie tatsächlich in unserem Falle. In diesem Falle wäre die Abweichung vom Mittel (50), wie oben dargelegt wurde, ± 6 . Es erhebt sich die Frage: Ist das

¹⁾ Abgedruckt sind nur 16 Zeilen. Die ausführliche Tabelle kann in der Biologischen Reichsanstalt eingesehen werden.

Zahlenverhältnis 56:44, bei dessen Zustandekommen der Zufall mitspielte, vereinbar mit der Annahme, daß das wahre Verhältnis unter 100 Varianten 50:50 ist, oder mit anderen Worten: Wie groß kann die rein zufällige Abweichung vom Mittel in Prozenten sein, wenn n Varianten (in unserm Falle 100) und zwei Alternativen im %-Verhältnis p:(100 - p) (in unserm Falle also zwei Geschlechter im Zahlenverhältnis 50:50) vorhanden sind. Die mögliche Abweichung berechnet sich nach der Theorie zu

$$A = 3 \sqrt{\frac{p(100-p)}{n}}$$

In unserem Falle ist p = 50, 100 - p also auch gleich 50. Da

$$\sqrt{50 \cdot 50} = \pm 50$$

ist, so geht die Formel über in

$$A = \pm \frac{150}{\sqrt{n}}$$

Setzt man n = 100, so ergibt sich A = ± 15.

Wenn also das wahre Zahlenverhältnis der Weibchen zu den Männchen 50:50 ist, so kann der Versuch beim Herausgreifen von 100 Individuen Zahlen liefern, die für die männlichen Individuen zwischen 35 und 65 und für die weiblichen ebenfalls zwischen 35 und 65 liegen. Ergibt also der Versuch das Zahlenverhältnis 35 Weibchen zu 65 Männchen, so ist es gerade noch mit der Annahme 50:50 vereinbar.

Für n = 200 ist	A = ± 10,6
300	± 8,66
5000	± 2,12

Tabelle I. Geschlechtszahlenverhältnis der Sporen.

Nr. der Zeile	2		3		4		5		6		7		8		9																																																	
	Varianten		Unter 10 Varianten sind		Zahl aller Varianten		Zahl der ♀ ♂ Varianten		Abw. d. Var.-Zahl vom Mittel		% -Verh. der Zahlen der ♀ : ♂ Varianten		Verhältnis der ♀ : ♂ Varianten im Hundert		Zulässige Abweichung (in Klammer wirkrl. Abw.) in %																																																	
1	♀	♂	5	5	10	5	5	0	50,0	50,0	56 : 44					± 47,4 (± 0)																																																
2	♀	♂	6	4	20	11	9	± 1	55,0	45,0							45 : 55					± 33,5 (± 5,0)																																										
3	♀	♂	5	5	30	16	14	± 1	53,3	46,7													42 : 58					± 27,4 (± 3,3)																																				
4	♀	♂	5	5	40	21	19	± 1	52,5	47,5																			49 : 51					± 23,7 (± 2,5)																														
5	♀	♂	6	4	50	27	23	± 2	54,0	46,0																									48 : 52					± 21,2 (± 4,0)																								
6	♀	♂	7	3	60	34	26	± 4	56,7	43,3																															48 : 52					± 19,4 (± 6,7)																		
7	♀	♂	6	4	70	40	30	± 5	57,1	42,9																																					48 : 52					± 17,9 (± 7,1)												
8	♀	♂	6	4	80	46	34	± 6	57,5	42,5																																											48 : 52					± 16,8 (± 7,5)						
9	♀	♂	6	4	90	52	38	± 7	57,8	42,2																																																	48 : 52					± 15,8 (± 7,8)
10	♀	♂	4	6	100	56	44	± 6	56,0	44,0																																																						
20	♀	♂	3	7	200	101	99	± 1	50,5	49,5	48 : 52					± 10,6 (± 0,5)																																																
100	♀	♂	5	5	1000	489	511	± 11	48,9	51,1							48 : 52					± 4,7 (± 1,1)																																										
200	♀	♂	6	4	2000	965	1035	± 35	48,3	51,7													48 : 52					± 3,35 (± 1,7)																																				
300	♀	♂	3	7	3000	1432	1568	± 68	47,7	52,3																			48 : 52					± 2,74 (± 2,3)																														
400	♀	♂	6	4	4000	1921	2079	± 79	48,0	52,0																									48 : 52					± 2,37 (± 1,98)																								
500	♀	♂	7	3	5000	2454	2546	± 46	49,1	50,9																															48 : 52					± 2,12 (± 0,92)																		

Neben dieser zulässigen Abweichung steht in Klammern in Spalte 9 die wirklich beobachtete Abweichung. Sie berechnet sich leicht aus Spalte 7. Das $\%$ -Verhältnis sollte für $n=100$ betragen 50:50, es beträgt 56:44. Die wirkliche Abweichung ist also ± 6 . Für $n=200$ beträgt das $\%$ -Verhältnis 50,5:49,5. Die wirkliche Abweichung ist also $\pm 0,5$. Für $n=5000$ beträgt das $\%$ -Verhältnis 49,1:50,9. Die wirkliche Abweichung ist also $\pm 0,9$.

Die wirklichen Abweichungen bleiben hinter den zulässigen, wie die Tabelle zeigt, weit zurück. Noch klarer und übersichtlicher wird das durch graphische Darstellung mit Hilfe rechtwinkliger Koordinaten (Abb. 15 a). Eine Einheit der Abscisse bedeutet 1000 Varianten, eine Einheit der Ordinate 10 $\%$. Das wahre Zahlenverhältnis wird also für alle geradzahligen n dargestellt durch eine Parallele zur Abscissenachse im Abstände 50. Die aus der Formel

$$A = \pm \frac{150}{\sqrt{n}}$$

berechneten Werte (siehe Spalte 9) ergeben von der im Abstände 50 von der Abscissenachse verlaufenden Abscisse auf den Ordinaten nach oben und unten abgetragen zwei in bezug auf sie spiegelbildlich symmetrische Kurvenäste, die sich für $n=0$ der Ordinaten- und für $n=\infty$ der Parallelen zur Abscissenachse im Abstände 50 asymptotisch anlegen, wie man ohne weiteres einsieht, wenn man in die Formel für A die Werte $n=0$ und $n=\infty$ einsetzt.

In dem von den konvexen Seiten der beiden Kurvenäste begrenzten Flächenstücke müßte nach der Theorie die Kurve verlaufen, welche die Auszählungsergebnisse darstellt. Das ist tatsächlich der Fall. Die Kurve ist so konstruiert, daß für die Hunderter von n die $\%$ -Zahlen für weiblich aus Spalte 7 von der Abscissenachse aus auf den betreffenden Ordinaten nach oben abgetragen (oder, was dasselbe Ergebnis liefert, daß für die Hunderter der n die $\%$ -Zahlen für die Männchen aus Spalte 7 von der der Abscissenachse im Abstände 100 parallellaufenden Abscisse nach unten abgetragen) und je zwei benachbarte Ordinatenpunkte geradlinig verbunden wurden. Die für alle ganzzahligen Werte von n , also bedeutend genauer konstruierte Kurve schneidet die im Abstand 50 von der Abscissenachse verlaufende Abscisse 5 mal, bei $n=466$, $n=480$, $n=610$, $n=780$ und $n=810$.

Der Fehler erreicht sein relatives Maximum (in Prozent des überhaupt zulässigen Fehlers) etwa bei $n=3400$. Dort beträgt er 91 $\%$.

Aus Spalte 9 der Tabelle ergibt sich, daß der Fehler der Auszählungsergebnisse für die einzelnen Hunderter der Varianten den höchsten zulässigen Wert ± 15 niemals erreicht. Der größte Fehler beträgt ± 12 . In Abb. 15 b sind die Zahlenverhältnisse der Hunderter graphisch dargestellt. Das erste Hundert wird durch die erste Vertikalreihe von 100 Feldern von je 1 qmm Größe veranschaulicht, das zweite Hundert durch die zweite Reihe usw. Von der Abscissenachse aus sind den $\%$ -Zahlen der weiblichen Individuen entsprechende Zahlen von Quadraten abgezählt. Die schraffiert gezeichneten qmm-Felder veranschaulichen die weiblichen, die weißgelassenen die männlichen Individuen. Schon der Augenschein lehrt, daß der schraffierte und der weiße Flächenteil annähernd gleich groß sind. In 22 von 50 Hundertern sind die Weib-

chen in der Überzahl, in 26 in der Minderzahl, und in zwei Hundertern sind je 50 männliche und weibliche Individuen vorhanden. Die Zahl der schraffierten qmm-Felder über der Abscisse im Abstand 50 von der Abscissenachse sollte gleich der Zahl der weißen qmm-Felder unter dieser Abscisse sein. In Wirklichkeit ist eine Differenz von 46 vorhanden, d. h. um soviel übertrifft die Zahl der männlichen Individuen den Durchschnitt und die der weiblichen bleibt um soviel hinter ihm zurück.

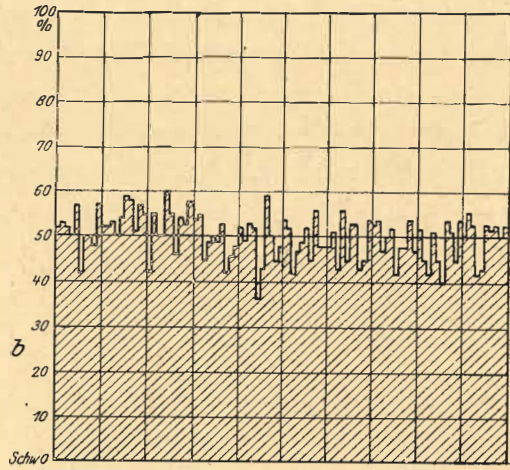
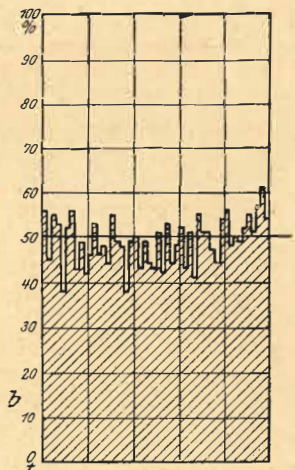
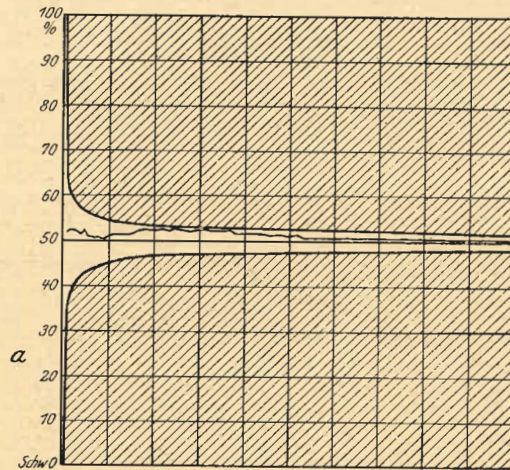
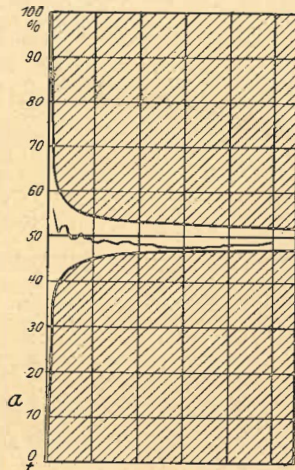


Abb. 15. Graphische Darstellung der Geschlechtszahlenverhältnisse der Sporen.
a 1 Einheit der Abscisse bedeutet 1000 Sporen,
1 Einheit der Ordinate 10 %.

Abb. 16. Vgl. den Text.

Welche Annäherung an den wahren Wert sich durch eine Zählung, wie die eben angeführte, erreichen läßt, darüber kann man sich auch durch einen Versuch

1) Glatte weiße Erbsen färbte ich schwarz durch zweistündige Behandlung mit Kaliumpermanganat und nachfolgende Trocknung. Da die Erbsen bei diesem Prozeß etwas runzlig wurden, so machte ich die zum Versuch bestimmten weißen Erbsen durch zweistündiges Einlegen in Wasser und nachfolgende Trocknung ebenfalls runzlig, damit sie sich durchs Gefühl nicht von den schwarzen unterscheiden ließen.

Aufklärung verschaffen. Man braucht nur etwa weiße und dunkelgefärbte Erbsen im Verhältnis 50:50 zu mischen, in einen Beutel zu tun, eine Erbse herauszugreifen, zu notieren ob sie weiß oder dunkel ist, sie in den Beutel zurückzulegen, die Erbsen durchzuschütteln, abermals eine herauszugreifen usf. eine größere Anzahl von Malen. Diesen Versuch habe ich mit 100 weißen und mit 100 dunklen Erbsen ausgeführt. Von 5000 herausgegriffenen Erbsen waren 2553 dunkel und 2447 weiß (oder 51,08% dunkel und 48,92% weiß). Die Abweichung gegen das Mittel beträgt in diesem Falle also ± 53 ($\pm 1,08\%$), d. h. von den dunkeln waren es 53 mehr als man nach dem Mischungsverhältnis hätte erwarten sollen und von den weißen 53 weniger. Die Abweichung war also in diesem Falle etwas größer als im vorigen. Von 10 000 herausgegriffenen Erbsen waren dunkel 5016, hell 4984 (oder 50,16% dunkel und 49,84% hell). Die Abweichung gegen das Mittel beträgt in diesem Falle also nur ± 16 ($\pm 0,16\%$).

Die graphischen Darstellungen (Abb. 16 a u. b), die denen in den Abbildungen 15 a und b entsprechen, ergeben im ganzen ein etwas ungünstigeres Bild als diese.

Die Annahme, daß der wahre Wert des Zahlenverhältnisses der Geschlechter unseres Pilzes 50:50 beträgt, ist also mit den Beobachtungen vereinbar.

Vom Standpunkt der Wahrscheinlichkeitslehre aus können wir freilich nur sagen: Es besteht die Wahrscheinlichkeit 0,997, daß der wahre Wert der Geschlechtswahlen (in Prozenten) zwischen $50 + 2,12$ und $50 - 2,12$ liegt. Die oben gemachte Annahme kommt also jedenfalls der Wahrheit nahe. Arbeiten wir also mit ihr weiter.

Eine in der beschriebenen Weise durchgeführte Auszählung braucht selbstverständlich das wahre Zahlenverhältnis nicht zu liefern. Von den verschiedenen Möglichkeiten, durch die ein falsches Geschlechtswahlenverhältnis vorgetäuscht werden könnte, sollen hier nur einige naheliegende angeführt werden. Sie könnten liegen:

1. bei den Sporen:

- a) Die Lebensdauer,
- b) die Keimfähigkeit und
- c) die zur Keimung bei gleicher Temperatur nötige Zeit könnten bei den weiblichen und männlichen Sporen verschieden sein.
- d) Die Keimung könnte durch die gleichen Nährböden bei den beiden Geschlechtern verschieden beeinflusst werden.

2. bei den Mycelien:

- a) Die Wachstumsgeschwindigkeit der Mycelien und
- b) die Anwachsbarkeit der Stecklinge beim Überimpfen und ihre Widerstandsfähigkeit gegen äußere Schädigungen könnten verschieden sein.

Da sich mit großer Annäherung das Zahlenverhältnis 50:50 ergeben hat und die tatsächlichen Fehler die nach den Zufallsgesetzen zulässigen niemals überschreiten, so liegen sehr wahrscheinlich Verschiedenheiten von solchem Betrage, daß sie zu einem falschen Untersuchungsergebnis führen könnten, in den angedeuteten Richtungen nicht vor.

Durch die auf S. 490 ff beschriebenen Versuche ist sicher festgestellt, daß sowohl Fruchtkörper wie Sporenballen mit Sporen beiderlei Geschlechts vorkommen. Gegen die Annahme, daß sämtliche Ballen Sporen beiderlei Geschlechts enthalten, bestehen triftige Gründe nicht. Sie ist im Gegenteil sehr wahrscheinlich, wie bereits oben (S. 497) ausgeführt wurde. Da oben gezeigt wurde, daß das Geschlechtszahlenverhältnis der Sporen 50%:50% beträgt, so ist ferner die Annahme gestattet, daß dieses Verhältnis auch für jeden einzelnen Ballen gilt. Jede andere Annahme würde, da die Ballenzahl der Fruchtkörper und die Sporenzahl der Ballen sehr großen Schwankungen unterworfen ist, auf große Schwierigkeiten stoßen.

Die Richtigkeit der Annahme des Geschlechtszahlenverhältnisses 50:50 dadurch zu erweisen, daß ich sämtliche Sporen einer größeren Zahl beliebig herausgegriffener Ballen auf ihr Geschlecht prüfte, war mir leider nicht möglich, denn es gelang mir selbst im günstigsten Falle nur, einen kleinen Bruchteil der Sporen eines Ballens zum Keimen zu bringen, und von den wenigen Keimlingen ließen sich begreiflicherweise nur einzelne ausstechen und zur Prüfung auf ihr Geschlecht auf neuen Agar übertragen, im Höchsfalle 7. So kleine Zahlen genügen natürlich ebensowenig zur Bestimmung des wahren Geschlechtszahlenverhältnisses, wie es die Kinderzahlen einzelner Elternpaare beim Menschen tun. Beim Menschen liegt das tatsächliche Verhältnis dem Wert 50%:50% nahe und trotzdem kommt es, wenn auch selten, vor, daß z. B. die 7 Kinder eines Elternpaares alle männlich sind. Zur Feststellung des wahren Geschlechtszahlenverhältnisses kann man hier wie dort also nur kommen, wenn man die Ergebnisse einer größeren Zahl von Einzelfällen summiert.

Das Ergebnis der Untersuchung von Keimlingen aus 29 beliebig herausgegriffenen Ballen ist in Tabelle III in derselben Weise zusammengestellt, wie das Ergebnis des großen Versuchs in Tabelle I. Die Geschlechtszeichen der Keimmycelien, die aus Sporen eines Ballens stammen, sind durch dicke vertikale Striche von denen aus Sporen des nächstfolgenden getrennt. Aus dem ersten Ballen stammten zwei Keimmycelien, aus dem zweiten 2, aus dem dritten 4 usw. Von 84 Keimlingen waren 49 (58,3%) weiblich und 35 (41,7%) männlich. Die zulässige Abweichung darf $\pm 16,4\%$ betragen; in Wirklichkeit ist sie nur etwa halb so groß, nämlich $\pm 8,3\%$. Da die wirkliche Abweichung, wie ein Blick auf Spalte 9 zeigt, stets hinter der zulässigen zurückbleibt, so ist auch dieser Versuch mit der Annahme, daß das Geschlechtszahlenverhältnis 50%:50% beträgt, vereinbar.

Sind die Sporen jedes der Ballen in diesem Verhältnis gemischt, so müssen es selbstverständlich auch die Sporen jedes der Fruchtkörper sein. Auch das habe ich durch den Versuch bestätigt gefunden. Die Ergebnisse finden sich in Tabelle II zusammengestellt. Aus 49 Fruchtkörpern wurden 120 Keimlinge geprüft. 67 (55,8%) waren weiblich, 53 (44,2%) männlich. Die zulässige Abweichung beträgt für 120 Varianten $\pm 13,7$. Die wirkliche belief sich auf $\pm 5,8$. Spalte 9 der Tabelle II zeigt wieder, daß der zulässige Fehler stets größer ist als der wirkliche. Es mag noch darauf hingewiesen werden, daß die Zahl der weiblichen Keimlinge in Tabelle II und III größer ist als die der männlichen, während in der Haupttabelle I das Umgekehrte der Fall ist. Das ist natürlich Zufall.

Tabelle II. Geschlechtszahlenverhältnis der Sporen einzelner Fruchtkörper.

1 Nr. der Zeile	2 Varianten										3		4 Zahl aller Varianten	5		6 Abw. d. Var.-Zahl vom Mittel	7		8 Verhältnis der ♀ : ♂ Varianten im Hundert	9 Zulässige Abweichung (in Klammer wirkrl. Abw.) in %	
											Unter 10 Varianten sind			♀	♂		♀	♂			♀ : ♂
	+	○	+	○																	
1	+	○	+	○	+	○	+	○	+	○	5	5	10	5	5	+	0	50	50	57 : 43	± 47,4 (± 0)
2	+	○	+	○	+	○	+	○	+	○	8	2	20	13	7	+	3	65	35		± 33,5 (± 15)
3	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	5	5	30	18	12	+	3	60	40		± 27,4 (± 10)
4	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	8	2	40	26	14	+	6	65	35		± 23,7 (± 15)
5	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	5	5	50	31	19	+	6	62	38		± 21,2 (± 12)
6	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	3	7	60	34	26	+	4	56,7	43,3		± 19,4 (± 6,7)
7	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	3	7	70	41	29	+	6	58,6	41,4		± 17,9 (± 8,6)
8	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	6	4	80	47	33	+	7	58,8	41,2		± 16,8 (± 8,8)
9	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	4	6	90	51	39	+	6	56,7	43,3		± 15,8 (± 6,7)
10	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	6	4	100	57	43	+	7	57,0	43,0		± 15 (± 7)
11	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	5	5	110	62	48	+	7	56,4	43,6		± 14,3 (± 6,4)
12	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	5	5	120	67	53	+	7	55,8	44,2		± 13,7 (± 5,8)

Tabelle III. Geschlechtszahlenverhältnis der Sporen einzelner Ballen.

1 Nr. der Zeile	2 Varianten										3		4 Zahl aller Varianten	5		6 Abw. d. Var.-Zahl vom Mittel	7		8 Verhältnis der ♀ : ♂ Varianten im Hundert	9 Zulässige Abweichung (in Klammer wirkrl. Abw.) in %	
											Unter 10 Varianten sind			♀	♂		♀	♂			♀ : ♂
	+	○	+	○																	
1	+	○	+	○	+	○	+	○	+	○	6	4	10	6	4	+	1	60	40	—	± 47,4 (± 20)
2	+	○	+	○	+	○	+	○	+	○	7	3	20	13	7	+	3	65	35		± 35,5 (± 15)
3	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	2	8	30	15	15	+	0	50	50		± 27,4 (± 0)
4	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	8	2	40	23	17	+	3	57,5	42,5		± 23,7 (± 7,5)
5	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	6	4	50	29	21	+	4	58,0	42,0		± 21,2 (± 8,0)
6	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	3	7	60	32	28	+	2	53,3	46,7		± 19,4 (± 3,3)
7	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	7	3	70	39	31	+	4	55,7	44,3		± 17,9 (± 5,7)
8	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	7	3	80	46	34	+	6	57,5	42,5		± 16,8 (± 7,5)
9	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	7	3	84	49	35	+	7	58,3	41,7		± 16,4 (± 8,3)
10	○	+	○	+	○	+	○	+	○	+	7	3	84	49	35	+	7	58,3	41,7		± 16,4 (± 8,3)

Alle Versuche sind mit der Annahme vereinbar, daß sämtliche Ballen 50% weibliche und 50% männliche Sporen enthalten.

Daraus ergibt sich, daß die Ballen vor ihrer Zerlegung in die eingeschlechtigen Sporen Zwitter sein müssen und daß auch der junge Fruchtkörper von einem gewissen Zeitpunkte ab sich im zwitterigen Zustande befinden muß.

Der Ausdruck zwitterig bedarf näherer Erläuterung. Bei der Bildung des Fruchtkörpers wandern aus dem Antheridium Kerne ins Oogonium ein. Es enthält

also zunächst — wie lange bleibt zu untersuchen — männliche und weibliche Kerne. Findet früher oder später die Kernverschmelzung statt, so wird der Fruchtkörper Zwitterkerne enthalten. Von einer gewissen Kernteilung ab ist dieser Zustand beseitigt. Wir sehen es daran, daß die Sporen immer nur ein Geschlecht zeigen (phänotypisch).

Es liegt also zunächst rein theoretisch die Möglichkeit vor, dadurch, daß man junge Fruchtkörper vor der Zerlegung ihres Inhaltes in Ballen oder die in älteren Fruchtkörpern eben entstandenen Ballen zum Auswachsen bringt, Mycelien zu erzeugen, die entweder männliche und weibliche Kerne gemischt oder Zwitterkerne enthalten könnten.

Die Versuche wären Parallelen zu den Blakesleeschen und Burgeffschen Versuchen mit *Phycomyces* und den Marchalschen Moosversuchen.

El. und Em. Marchal gelang es bekanntlich, Teile von Sporophyten heterothallischer Moose zur Bildung von *Protonema* zu veranlassen und an diesem *Protonema* Moosstämmchen entstehen zu sehen. Die Moosstämmchen erzeugten schließlich Antheridien und Archegonien. Eine Befruchtung fand aber nicht statt.

Der Sporophyt heterothallischer Moose entsteht aus dem Vereinigungsprodukt eines Spermatozoids von einer männlichen und einer Eizelle von einer weiblichen Pflanze. Der Vereinigung der Geschlechtszellen folgt sehr bald die Vereinigung der Gametenkerne. Aus dem Zygotenkerne entstehen alle Kerne des Sporophyten durch Äquationsteilungen. *Protonema* kann, wie ich mich selbst überzeugt habe, aus einer Zelle des Sporophyten hervorgehen. Alle seine Kerne rühren also von dem einen Kern derjenigen Zelle her, aus der es hervorging. Wenn ein aus einer Zelle entstandenes *Protonema* auf den aus ihr erwachsenen Moosstämmchen also männliche und weibliche Sexualorgane erzeugt, so zeigt damit indirekt die *Protonema*ursprungszelle ihre Zwittereigenschaft. Die Zellen der männlichen und weiblichen Pflanzen zeigen Zwittereigenschaft nicht — was sie innerlich sind, ist eine andere Frage —, denn aus ihnen gehen nur Sexualorgane eines Geschlechts hervor. Da für jede Zelle des Sporophyten eines heterothallischen Moooses mit Ausnahme der Sporen, für die der Satz nicht gilt, die Möglichkeit vorliegt, auszuwachsen und schließlich zwitterige Stämmchen zu erzeugen, so darf man mit El. und Em. Marchal annehmen, daß alle Zellen des Moossporophyten zwitterig sind. Macht man die Annahme, das Geschlecht sei an den Kern gebunden, so kann man den Kernen der Sporophytzellen heterothallischer Moose ebenfalls nur Zwittercharakter zuschreiben. Der zwitterige Zustand beginnt also mit der Vereinigung der Sexualkerne und dauert bis zum Zeitpunkt der Sporenbildung.

Die gleichen Annahmen liegen für unseren Pilz nahe. Da aber die Pilze verzögerte Kernverschmelzung haben, sind die Kerne der Fruchtkörper in gewissem Sinne nur vom Augenblick der Sexualkernverschmelzung bis zum Wiederauftreten männlicher und weiblicher Kerne den Kernen des Sporophyten der Moose vergleichbar und, wie diese, diploid. Gelingt es, den Pilz-Sporophyten in diesem Zustande zum Auswachsen zu bringen, so müßte ein zwitteriges Mycel mit zwitterigen Kernen entstehen, d. h. ein solches, dem die Fähigkeit zur Bildung von männlichen und

weiblichen Sexualorganen zukommen könnte, genau wie der aus dem Sporophyten der herothallischen Moose entstandenen Moospflanze.

Wüchse dagegen ein junger Fruchtkörper vor der Kernverschmelzung oder ein junger vielkerniger Ballen nach der Entstehung der männlichen und weiblichen Kerne, aber vor der Bildung der Sporen aus, so könnte das entstehende Mycel männliche und weibliche Kerne gemischt, aber unverschmolzen enthalten. Das Mischungsverhältnis wäre im ersten Falle abhängig von der Zahl der Kerne jeder der kopulierenden Zellen, könnte sich allerdings durch Kerndegeneration ändern. Im zweiten Falle dürfte es 50%:50% betragen, denn das Geschlecht der Kerne bestimmt mutmaßlich das Geschlecht der Sporen und für diese ist das Geschlechtszahlenverhältnis 50:50 oben festgestellt. Das mit männlichen und weiblichen Kernen ausgestattete Mycel könnte ähnliche Eigenschaften zeigen wie das bei *Phycomyces* aus der keimenden Zygospore hervorgehende, das nach den Ergebnissen der schönen Versuche Burgeffs offenbar männliche und weibliche Kerne gemischt enthält, denn das künstlich durch Vermischung von Plasma zweier Hyphen verschiedenen Geschlechts hergestellte Mycel gleicht dem aus der Zygote entstandenen in seinen Eigenschaften vollkommen und zeigt durch seine Eigentümlichkeit, vegetativ aufzuspalten, daß eine Verschmelzung männlicher und weiblicher Kerne nicht stattfindet.

Die Versuche, die ich anstellte, um diese Fragen zu beantworten, hatten gewisse Ergebnisse, wenn auch nicht die erhofften.

1. Versuche, Fruchtkörper zum Auswachsen zu bringen.

Ich verfuhr so, daß ich aus einer Fruchtkörperlinie kleine Stücke ausschnitt. Wenn man von den beiden Enden einer solchen Linie, die etwa halb so lang wie der Schalendurchmesser ist, Stücke zu entnehmen anfängt und mit der Entnahme nach dem Mittelpunkt der Schale allmählich fortschreitet, so erhält man nacheinander Fruchtkörper aller Altersstufen. Sie werden mit dem sie tragenden Mycel in Bierwürze gebracht, möglichst von Hyphen befreit und dann mit der Bierwürze, in der sie liegen, in eine Pipette gesaugt und mit dieser auf Bierwürzeagar in Petrischalen aufgestrichen.

Man erhält Striche, die vorwiegend kleine, solche die vorwiegend mittlere und solche, die ältere Fruchtkörper enthalten. Junge Fruchtkörper sah ich niemals auswachsen. Zwar entstanden aus den Resten der sie tragenden männlichen und weiblichen Hyphen dann und wann Mycelien,¹⁾ über die bereits Näheres mitgeteilt ist, aber die Fruchtkörper selbst sterben nach einiger Zeit ab.

Die Fruchtkörper mittleren Alters wuchsen zwar auch nicht zu Mycelien aus, aber sie entwickelten sich weiter und zwar in normaler Weise. Ihre Membran nahm den charakteristischen braungrünen Ton an, ihr Inhalt zerfiel in Ballen und diese zerfielen weiter in Sporen. Eine Ausnahme machten nur die stark beschädigten

¹⁾ Diese stören die Versuche stark, denn sie durchwachsen bei höherer Temperatur in wenigen Tagen die ganze Schale. Ich machte sie unschädlich entweder dadurch, daß ich sie, wenn sie noch klein waren, austach und entfernte, oder dadurch, daß ich die zum Auswachsen bestimmten Fruchtkörper mit ihrer Agarunterlage in andere Schalen übertrug, je nachdem mir das eine oder das andere zweckmäßiger erschien.

Fruchtkörper, die bald abstarben. Von den entstandenen Sporen keimten einige und lieferten durchaus normale, untereinander und mit den Testmycelien kopulationsfähige Mycelien.¹⁾ In Fruchtkörpern, die bereits Ballen enthielten, bildeten sich diese zu Sporen um.

Mycelien mit männlichen und weiblichen Kernen und mit zwitterigen Kernen durch Auslegen von Fruchtkörpern zu gewinnen, gelang also nicht. Trotzdem der Versuch mit einigen Tausend Fruchtkörpern ausgeführt wurde, ist damit seine Unmöglichkeit natürlich nicht bewiesen.

2. Versuche, Ballen zum Auswachsen zu bringen.

Da in solchen auf Agar gebrachten Fruchtkörpern, die bereits Ballen enthielten, die Ballen niemals zu Hyphen auswachsen, sondern in Sporen zerfielen, so schien es mir notwendig, die Ballen aus ihrer Hülle, der Fruchtkörperwand, zu befreien. Zunächst versuchte ich, unter dem Präpariermikroskop mit Nadeln die auf dem Nähragar liegenden Fruchtkörper zu zertrümmern, aber ohne Erfolg. Selbst auf hartem Agar weichen die Fruchtkörper vor der Präpariernadel aus. Ich legte daher auf dem Agar in der Nähe der Fruchtkörper sterile Deckglassplitter aus, rollte die Fruchtkörper hinauf, zerdrückte sie und versuchte nun, die befreiten Ballen auf den Agar zurückzubringen. Das gelang entweder gar nicht oder nur in seltenen Fällen, denn die Ballen verlieren in der trockenen Zimmerluft etwas Feuchtigkeit und kleben, auch wenn man schnell arbeitet, an der Glasfläche fest.

Zum Ziele führte endlich das folgende Verfahren. Ich rollte die Fruchtkörper mit der Nadel gegen die zur Agarschicht vertikale Kante eines auf der Agaroberfläche liegenden Deckglassplitters, zerdrückte sie und schob dann den Deckglassplitter um einige Millimeter in der Druckrichtung weiter. Einige Ballen bleiben zwar am Deckglasrande hängen, aber die Mehrzahl befindet sich auf der Agaroberfläche. Einige haben die normale kugelige Form. Nicht wenige sind mehr oder minder stark in ihrer Form verändert.

Bei einem Versuch, mit dem ich am 27. 10. 15 1 Uhr nachmittags begann, waren bei einer Thermostatentemperatur von 31—32° C. schon nach 24 Stunden (am 28. 10. 15 1 Uhr nachmittags) ziemlich viele der Plasmaballen, auch der deformierten, in Sporen zerlegt. Nach 48 Stunden (am 29. 10. 15 2 Uhr nachmittags) hatte die Zahl der Sporenballen bedeutend zugenommen. Am folgenden Tage (30. 10. 15) musterte ich die Kulturen nur flüchtig. Ich kann daher nicht sagen, ob das merkwürdige Keimungsprodukt einer Gruppe unzerlegter Ballen, das ich am 1. 11. 15 zwischen 1 und 2 Uhr nachmittags fand und zwischen 2 und 3 Uhr nachmittags zeichnete (siehe Abb. 17), schon vorhanden war oder nicht.

Um aus ihm einige Mycelien zu ziehen, stach ich die ganze gekeimte Ballengruppe aus und übertrug sie in eine neue Schale mit Agar, die ich wieder bei 31 bis 32° C. im Thermostaten hielt. Am 2. 11. 15 war das Keimungsprodukt kaum

¹⁾ Dieser Versuch ist insofern von einiger Bedeutung, als es mit seiner Hilfe gelingt, Fruchtkörper in größerer Anzahl zu erhalten, in deren Nähe freie Sporen nicht liegen. Solche Fruchtkörper sind zur Feststellung des Geschlechtszahlenverhältnisses der Sporen in den Fruchtkörpern nötig. Vgl. S. 496.

erkenntbar weitergewachsen. Ich habe es bis zum 15. 11. 15 beobachtet und hatte immer noch den Eindruck, als sei es lebendig.

Da normale Mycelien unter denselben Umständen auf dem verwendeten Nährboden wuchsen, so können die äußeren Bedingungen an der mangelhaften Entwicklungsfähigkeit der Keimmycelien wohl nicht schuld gewesen sein. Sie sind mutmaßlich aus inneren Gründen nicht existenzfähig.

Durch die Untersuchungen Blakeslees wissen wir, daß bei den Mucorineen homo- und heterothallische Arten zu unterscheiden sind. Die homothallischen können an einem aus einer einzigen Spore hervorgegangenen Mycel Zygoten bilden. Die Mycelien sind also Zwitter.



Abb. 17. Von 12 aus jungen Fruchtkörpern isolierten Plasmaballen sind die Mehrzahl zu unförmlichen Schläuchen ausgewachsen, die bald ihr Wachstum einstellten. Vergr. 70:1.

Bei den heterothallischen sind dazu mindestens zwei verschiedene Mycelien nötig, wenn auch nicht immer ausreichend.

Blakeslee hat die getrenntgeschlechtigen Mycelien als +- und - Mycelien zunächst provisorisch unterschieden. Es erwies sich als ausreichend, das eine Geschlecht einer bestimmten Art A willkürlich zu benennen. Das entgegengesetzte Geschlecht derselben Art ließ sich dann durch einen Versuch ermitteln. Es zeigte sich weiter, daß mit Hilfe des so gewonnenen +- und - Mycels auch eine Bestimmung der beiden Geschlechter anderer Arten, etwa B, C, D möglich war. Setzte man ein Geschlecht von B zwischen die beiden Geschlechter von A, so kopulierte es mit einem von diesen, etwa mit +. Freilich entstanden keine Bastardzygoten, wohl aber Anfänge von solchen, die eine sichere Geschlechtsbestimmung ermöglichten. Zur Kon-

trolle konnte man dann das andere Geschlecht von B ebenfalls zwischen die Geschlechter von A setzen. Es mußte dann, wenn überhaupt, mit dem — Mycel kopulieren. Blakeslee bezeichnet die unvollkommene Kopulation als „Hybridisation“ Freilich war eine „Hybridisation“ von A nicht mit allen Arten möglich, aber wenn sie sich etwa mit den Geschlechtern einer Art nicht durchführen ließ, so gelang es auf dem Umwege über eine dritte Art, die mit ihr und A zu hybridisieren war, eine Geschlechtsbestimmung vorzunehmen.

Sind also die Geschlechtscharaktere der Mycelien verschiedener Mucorineen in dieser Weise gleichsam systematisch durchbestimmt, so bedarf es nur für eine Mucorinee der Feststellung, ob + gleich weiblich oder männlich ist, dann ist damit die Geschlechtsbestimmung für alle diese Pilze durchgeführt.

Bei unserem Pilz sind die Geschlechter morphologisch unterscheidbar. Es lag daher nahe, zu versuchen, ihn mit Mucorineen zu hybridisieren. Für die Versuche standen mir die beiden Geschlechter von *Phycomyces nitens*, *Absidia glauca* und *Mucor hiemalis* zur Verfügung, von denen ich der Sicherheit halber nochmals beide Geschlechter aus je einer Spore rein zog und auf ihre Kopulationsfähigkeit prüfte. Die beiden Geschlechter jeder Art gaben sämtlich auf Bierwürzeagar, auf dem auch unser Pilz vorzüglich wächst, miteinander viele Zygoten. Den Versuch führte ich zunächst in der Weise aus, daß ich auf einem Durchmesser der Agaroberfläche einer Petrischale einen männlichen und einen weiblichen Steckling ausimpfte, beide in der Entfernung eines Vierteldurchmessers vom Schalenrande. Da der Kalkbruterreger langsamer wächst als die drei verwendeten Mucorineen, so ließ ich die Schalen zunächst zwei bis drei Tage im Thermostaten oder bei Zimmertemperatur stehen, um seinen Mycelien einen Vorsprung zu geben. Erst dann impfte ich Stecklinge von den +- und - Mycelien dazu. Die neuen Impfstellen jeder Schale bildeten mit den beiden alten die vier Ecken eines Quadrats. Jeder Versuch wurde fünfmal mit Nährböden verschiedener Dicke angestellt. Zur Kontrolle beimpfte ich je einige Schalen mit dem Kalkbruterreger, weiblich und männlich, *Phycomyces* + und -, *Absidia* + und - und *Mucor hiemalis* + und - und hielt sie unter denselben Bedingungen wie die übrigen Versuchsschalen. Die Kontrollmycelien kopulierten sämtlich, dagegen zeigte sich in keinem Falle Hybridisation oder eine Andeutung davon. Über die einzelnen Versuche mag noch folgendes angeführt werden.

1. Versuche mit *Phycomyces* und dem Kalkbruterreger.

Die viererlei Mycelien wuchsen ineinander ein. Die *Phycomyces*mycelien gaben eine schmale scharfe Zygotenlinie miteinander, die auf der breiten Fruchtkörperlinie vom Kalkbruterreger senkrecht stand. An den Grenzen zwischen Kalkbruterreger männlich und *Absidia* + und - und zwischen Kalkbruterreger weiblich und *Phycomyces* + und - traten keinerlei bemerkenswerte Erscheinungen ein.

2. Versuche mit *Absidia* und dem Kalkbruterreger.

Die breite, wenig scharfe Linie der in der Luft hängenden Zygosporen von *Absidia* wurde etwa senkrecht von der Fruchtkörperlinie des Kalkbruterregers durchschnitten. An der Grenze zwischen Kalkbruterreger männlich und *Absidia* + und -

traten in einigen Schalen ziemlich viele Absidiasporangen auf, die als dunkle Linie erschienen.

3. Versuche mit *Mucor hiemalis* und dem Kalkbruterreger.

Die scharfe Zygotenlinie von *Mucor* wurde etwa senkrecht von der Fruchtkörperlinie des Kalkbruterregers geschnitten. Die Grenzen zwischen den vier Mycelien erschienen im durchfallenden Licht als dunkle Linien. Mikroskopisch war aber keine Hybridisation nachzuweisen.

Trotzdem die Versuche negativ ausgefallen waren, habe ich sie in abgeänderter Form, die eine bessere mikroskopische Beobachtung gestattete, wiederholt. Ich impfte in jede Schale nur je ein Geschlecht vom Kalkbruterreger und der zu prüfenden Mucorinee, beide in Stecklingsform. Der Kalkbruterreger erhielt einen Vorsprung von drei Tagen (bei Zimmertemperatur). Jeder Versuch erfordert vier Schalen für die Kombinationen Kalkbruterreger weiblich: Mucorinee +; K. weibl.: Muc. —; K. männl.: Muc. +; K. männl.: Muc. —. Wenn man die Nährböden in möglichst

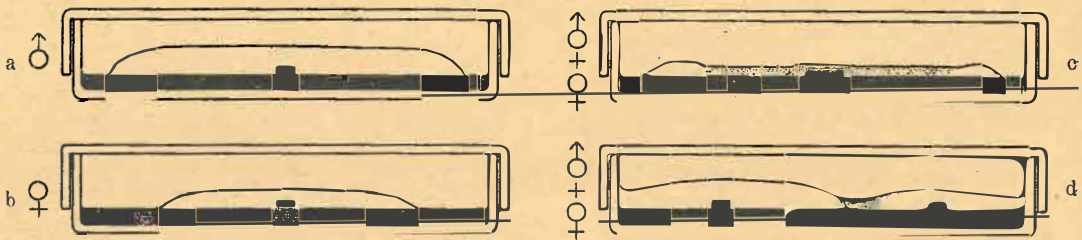


Abb. 18a, b. Zwei gleichalte Mycelien in Seitenansicht, oben (a) ein männliches, unten (b) ein weibliches. c Ein Steckling aus männlichen und weiblichen Hyphen hat ein Mycel geliefert, dessen Höhenwachstum infolge Bildung zahlreicher Fruchtkörper (durch Punktierung angedeutet) geringer gewesen ist, als das der Einzelmycelien (Seitenansicht). d Ein mit zwei Mycelien, links einem männlichen und rechts einem weiblichen, beimpfte Schale in Seitenansicht. Linkes Mycel höher (wie das in Schale a), rechtes Mycel niedriger (wie das in Schale b), Fruchtkörperlinie vertieft. Ihre Höhe entspricht der Höhe der fruchtenden Mycelpartien in c. Vergr. 17:30.

dünnen Schichten benutzt, läßt sich mikroskopisch so genau beobachten, daß eine etwa eintretende Hybridisation kaum zu übersehen ist.

Auch diese Versuche hatten, obwohl sie zweimal angestellt wurden, keinen Erfolg. Der Kalkbruterreger läßt sich mit den verwendeten Mucorineen offenbar nicht hybridisieren. Es mag hier erwähnt werden, daß inzwischen das von mir erstrebte Ziel, die provisorischen Geschlechtszeichen + und — durch die Zeichen weiblich und männlich zu ersetzen, von Blakeslee auf anderem Wege erreicht ist.

Einen morphologischen Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Sporen habe ich beim Kalkbruterreger nicht feststellen können. Wenn er vorhanden ist, so kann er jedenfalls nicht groß sein, denn der mittlere Fehler der Sporengröße (siehe S. 514) ist gering, aber trotzdem wäre es denkbar, daß aus den größeren Sporen vorwiegend das eine, aus den kleineren vorwiegend das andere Geschlecht hervorginge. Man hätte zahlreiche Sporen zu isolieren, ihre Größen zu messen, sie keimen zu lassen, das Geschlecht der Keimlinge zu ermitteln, die Durchschnittsgröße der männlichen und weiblichen Sporen zu bestimmen, beide miteinander zu vergleichen

und festzustellen, ob der Unterschied die Fehlergrenze überschritte. Die geringe Keimfähigkeit der Sporen machte mir diesen Versuch unmöglich.

An jungen, im Substrat verlaufenden Mycelien konnte ich keine Geschlechts-

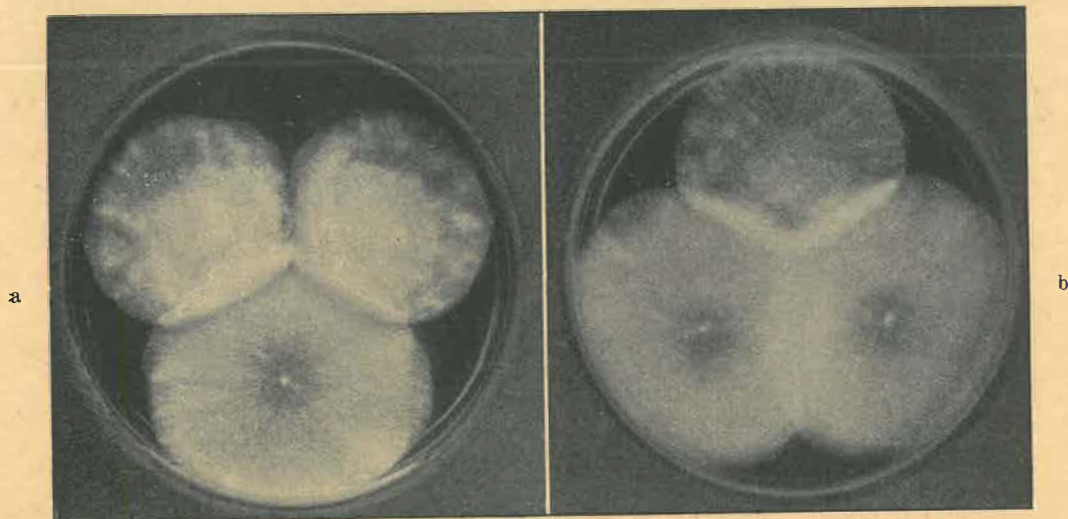


Abb. 19. Zwei Schalen mit je 3 Mycelien des Kalkbruterregers im Dreieckverbande, in a zwei weibliche oben und ein männliches unten, in b zwei männliche unten und ein weibliches oben. Kopulationslinien zwischen den männlichen und weiblichen Mycelien. Die männlichen Mycelien sind stark, die weiblichen schwach ineinander gewachsen. Vergr. 6:10.

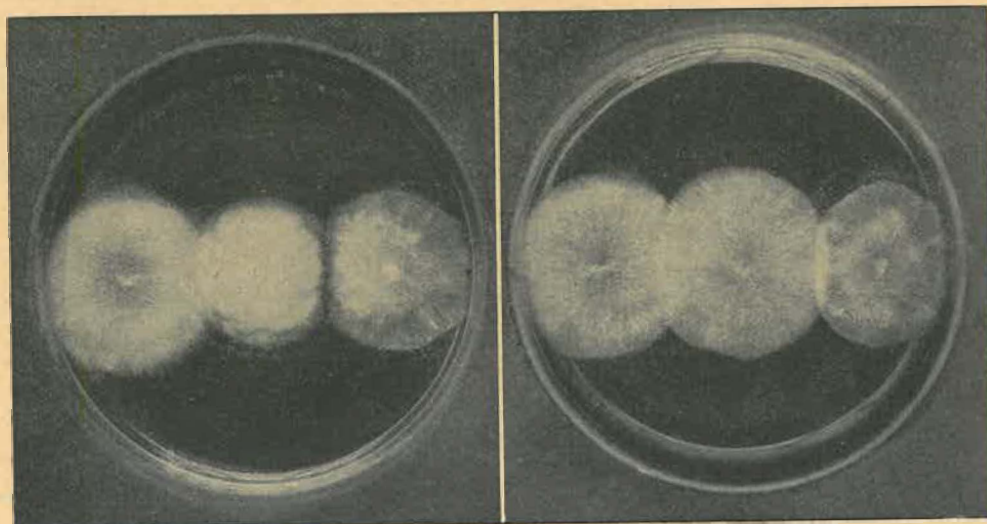


Abb. 20. Zwei Schalen mit je drei Mycelien in Reihe nebeneinander, in a ein männliches links und zwei weibliche rechts; in b zwei männliche links und ein weibliches rechts. Zwischen den männlichen und weiblichen Mycelien Kopulationslinien. Die weiblichen Mycelien wachsen kaum (Schale a), die männlichen stark (Schale b) ineinander ein. Vergr. 6:10.

unterschiede entdecken (Abb. 13). Sie treten erst auf, wenn sich reichlich Luftmycel entwickelt. Impft man gleich große Mycelstecklinge der beiden Geschlechter auf Bierwürzeagar gleicher Herkunft und Schichtdicke in gleichen und vor allen Dingen

auch gleich gut schließenden Petrischalen, so ist nach drei bis vier Tagen bei einer Temperatur von etwa 30° C. das männliche Mycel meist weiter ausgebreitet und in Seitenansicht in der Regel höher als das weibliche. Ersteres berührt daher den Deckel 1,5—2 cm hoher Schalen nach längerer Kultur (2—3 Wochen) eher als das letztere.

Das weibliche Mycel hat einen weißeren Farbton als das männliche, das schwach gelblich weiß ist. Der gelbliche Farbton wird um so auffälliger, je älter das Mycel wird. Nach 14 Tagen ist er meist schon unverkennbar.

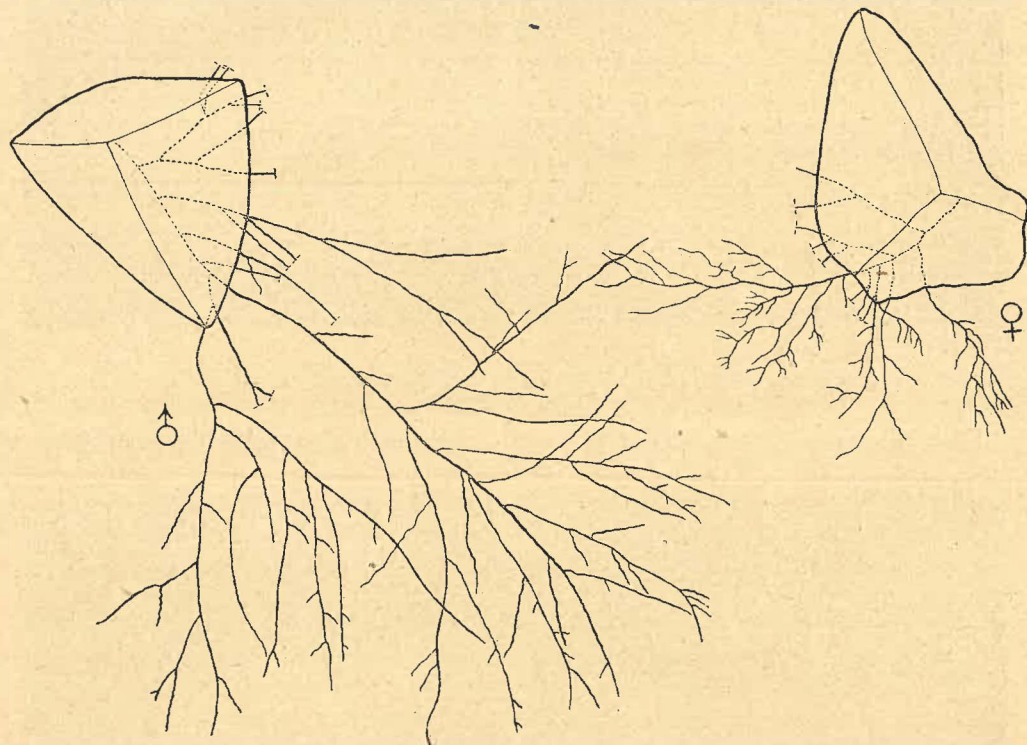


Abb. 21. Ein männlicher und ein weiblicher Steckling auf pyramidenförmigem Agarstücke am Deckglase einer feuchten Kammer zu Luftmycelien ausgewachsen. Das männliche Mycel mit schlanken, das weibliche mit sparrigen Ästen. Berührung ist noch nicht eingetreten. Schwach vergrößert.

Das Luftmycel des weiblichen Geschlechts erscheint an drei bis vier Tage alten Stecklingskulturen glänzender und mehr radial fädig als das männliche, das matt aussieht und eine mehr flockige Oberfläche besitzt. Der Unterschied ist mit Worten schwer zu beschreiben. In den Abb. 19 und 20 tritt er deutlich hervor.

Mikroskopisch sind die Luftmycelien der beiden Geschlechter leicht und sicher zu unterscheiden. Um sie in einem Gesichtsfeld des Mikroskops beieinander zu haben, verfuhr ich so, daß ich zwischen zwei in einer Schale wachsenden Mycelien verschiedenen Geschlechts kurz vor dem Zusammentreffen der Mycelränder einen schmalen Streifen senkrecht zur Verbindungslinie der Impfstellen aus dem Nährboden ausschnitt. Die beiden Mycelien wuchsen vom Rande her in den entstandenen schmalen Graben hinein und ließen sich durch den Boden der Schale hindurch bei schwacher

Vergrößerung bequem beobachten. Man sieht auf den ersten Blick, daß das weibliche Luftmycel viel sparriger ist als das männliche, das viel schlankere Hyphen besitzt, und dessen Seitenhyphen mit den Haupthyphen durchschnittlich kleinere Winkel bilden. Die Hyphendurchmesser $\frac{1}{2}$ des männlichen Mycels scheinen in der Regel kleiner zu sein, natürlich nur, wenn man Äste etwa der gleichen Ordnung miteinander vergleicht. Die Formverschiedenheiten dürften in Abb. 21, gezeichnet nach Material in feuchter Kammer, und Abb. 22 und 23, gezeichnet nach Material

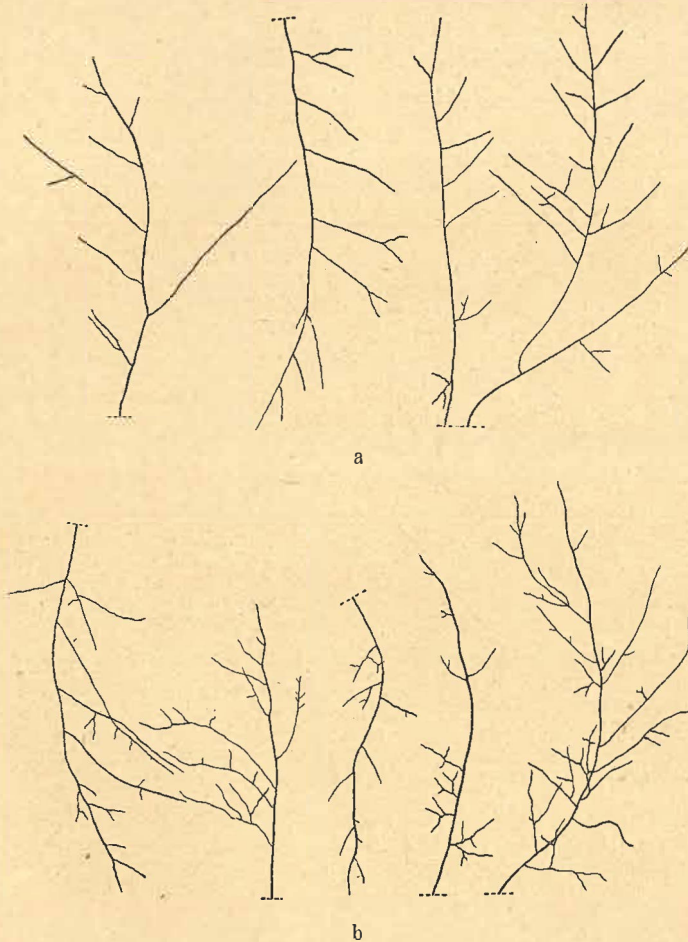


Abb. 22. Substrathyphen des männlichen (a) und weiblichen (b) Mycels. Schwach vergrößert.

in Agar, hinreichend zum Ausdruck kommen. Vollkommen lassen sich die tatsächlichen Verschiedenheiten durch eine ebene Zeichnung nicht wiedergeben.

Im Sinne Blakeslees ist also der Kalkbruterreger heterothallisch, homosporophytisch und homosporangisch. Da diese Art der Geschlechtsverteilung auch in andern Pflanzenklassen vorkommt, aber besonders in bezug auf die Geschlechtszahlenverhältnisse der Gametophyten wenig untersucht ist, so schien es mir angebracht, diese Zählung besonders genau vorzunehmen. *Pericystis* wächst verhältnismäßig rasch. Mit Algen und Mosen würden sich derartige Untersuchungen in größerem

Umfange nur mit ungeheurem Aufwand an Zeit und Arbeitskraft ausführen lassen. Bei den Pteridophyten scheint diese Art der Geschlechterverteilung überhaupt nicht vorzukommen, denn bei *Equisetum* ist offenbar eine scharfe Geschlechtstrennung bei den Sporen nicht vorhanden. Wenigstens sah ich wiederholt neben vielen Prothallien männlichen Geschlechts auch einige, die sowohl Antheridien wie Archegonien trugen.

e) Die Sporen und ihre Keimung.

Die einzeln stark lichtbrechenden, fast farblosen, in Massen schwach bräunlich gefärbten Sporen haben in der Regel ungefähr rotationsellipsoidische Gestalt bei einer

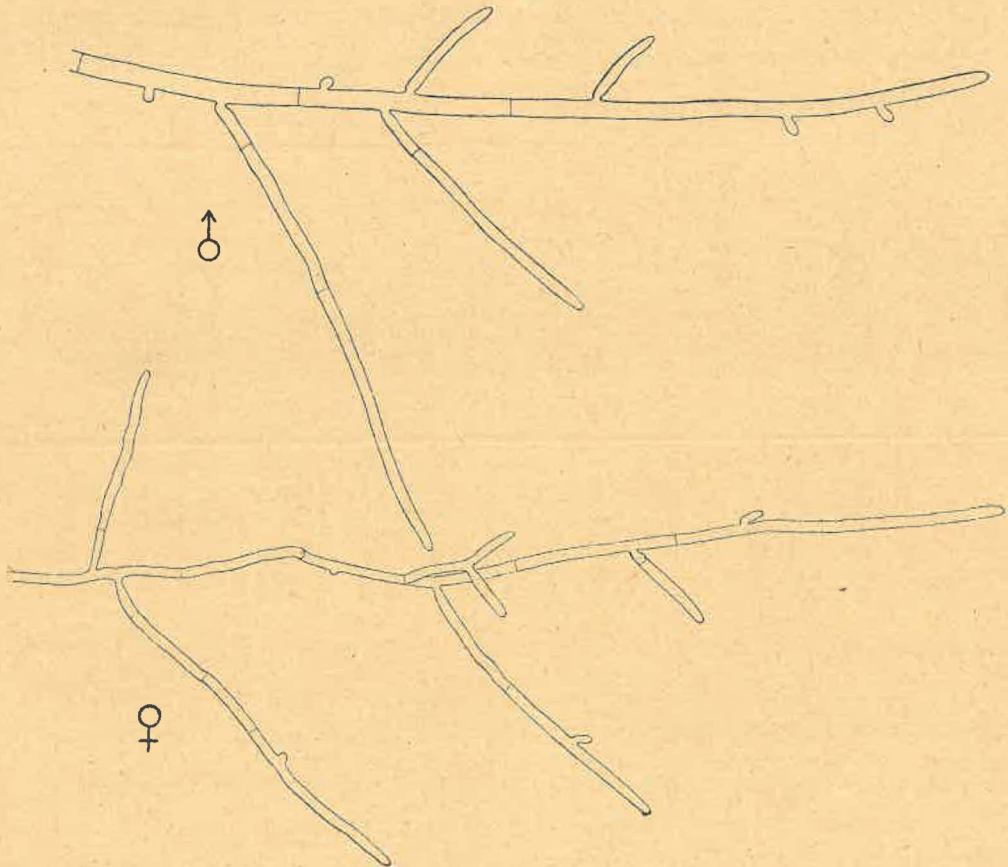


Abb. 23. Substrathyphen des männlichen und weiblichen Mycels. Vergr. 140:1.

Länge der Rotationsachse von $3,15 \pm 0,06 \mu$ und einem Durchmesser von $1,79 \pm 0,03 \mu$ (Tafelabb. 1—3). Manche sind an einer Längsseite etwas abgeplattet, vereinzelt sogar wie eine Bohne schwach konkav. In diesen Fällen weicht auch die Querschnittsfigur von einem Kreise ein wenig ab. Äußerst selten beobachtete ich wurstförmige Sporen von doppelter Länge der normalen. Vermutlich handelte es sich in diesen Fällen um Gebilde, die zwei Sporen gleichwertig waren. Störungen bei der Sporenbildung durch Ausbleiben von Teilungen kommen ja auch sonst bei Pilzen häufig vor (in den Zoosporangien der Saprolegniaceen, den Sporangien der Mucoraceen usw.).

In der Sporenmembran habe ich Schichtung auch bei Anwendung der stärksten Vergrößerung nicht erkennen können.

Daß sie aber aus mindestens zwei Schichten besteht, ergibt sich, wenn man die Sporen kurze Zeit mit konzentrierter Schwefelsäure behandelt. Die Sporenumrißform bleibt dann völlig erhalten, aber die Membrandicke nimmt etwas ab. Daraus dürfte zu schließen sein, daß die Membran aus einem gegen Schwefelsäure widerstandsfähigen, cutinisierten Exospor und einem in Schwefelsäure löslichen Endospor besteht. Da mit Schwefelsäure behandelte und sauber gewaschene Sporenballen wie die Sporen selbst schwach bräunlich erscheinen, so dürfte die die Sporen färbende Substanz im Exospor sitzen. Der Inhalt lebender Sporen erscheint durchaus gleichförmig. Fetttropfen oder andere Inhaltsbestandteile von charakteristischer Form sind im Protoplasma nicht zu erkennen. Nach Vacuolen suchte ich vergebens. Jodjodkaliumlösung, die sofort den Hypheninhalt braun färbte, scheint in die Sporen nur unvollkommen oder gar nicht einzudringen, denn ihr Inhalt ändert seine Farbe nach Jodjodkaliumzusatz kaum. Erst nach Einwirkung von verdünnter Schwefelsäure färbt sich auf Jodjodkaliumzusatz der Sporenhalt wie der der Hyphen. Plasmolytieren konnte ich die Sporen auch mit KNO_3 -Lösung stärkster Konzentration nicht.

Morphologie der Keimung.

Die Sporen zeigen auf dem Substrat selbst bei einer für die Keimung günstigen Temperatur eine je nach den Umständen kürzere oder längere Zeit hindurch keine meßbare Größen- und Formänderung. Erst nach wenigstens 24 Stunden setzt sie rasch ein. Die rotationsellipsoidische Spore nimmt die Gestalt einer Kugel von $5,8 \pm 0,06 \mu$ Durchmesser an (Tafelabb. 4). Bei der Keimung können die Exosporflächen, die die Enden der ungekeimten Spore überzogen, als kleine Kappen erhalten bleiben. Sie sitzen der Kugel als glänzende Knöpfe auf, sind aber nur bei starker Vergrößerung sichtbar. Vielfach liegen beide an den Enden eines Durchmessers, aber nicht selten erscheinen sie gegen diese Lage verschoben (Tafelabb. 4, 9). Aus der Tatsache, daß die Kappen erhalten bleiben, schließe ich, daß die äquatorialen Teile des Endospors stark, die polaren dagegen schwächer in die Fläche wachsen, denn wenn letzteres nicht der Fall wäre, müßten die Exospor-kappen abgehoben werden. Ob das nicht manchmal geschieht, kann ich nicht sagen. Ich habe niemals eine Kappe abfallen sehen. Man findet zwar häufig bloß eine Kappe (Tafelabb. 5—8, 10—12, 15) aber diese Tatsache hat oft, wenn nicht immer, ihren Grund darin, daß die andere auf der abgekehrten Seite der Kugel liegt und sich der Beobachtung entzieht. Daß gekeimte Sporen nur an den Polen mit Exospor-kappen überzogen, dagegen am Äquator exosporfrei sind, läßt sich leicht am schnellen Eindringen von Jodjodkaliumlösung in gekeimte Sporen erkennen.

Ich erinnerte mich, früher schon Pilzsporen in ähnlicher Weise haben keimen zu sehen, nämlich bei *Piptocephalis Freseniana*. Bilder keimender Sporen dieser Pflanze finden sich bei Brefeld (1872), Tafel V, Abb. 2.

Die Volumzunahme der Spore bei der Keimung ist außerordentlich groß. Legt man die oben genannten Durchschnittswerte zugrunde, so ergibt sich für das Volumen der ungekeimten Spore (als Rotationsellipsoid berechnet) $5,3 \text{ cb}\mu$, für das der ge-

keimten (als Kugel berechnet) 102,2 cb μ . Es findet also eine Volumenzunahme auf das 20 fache statt (genau: auf das 19,3 fache).

In der Regel keimen die Sporen mit einem (Tafelabb. 5—9, 11—13, 15), seltener mit zwei Schläuchen (Tafelabb. 10, 14), die sich mit verschmälerter Basis an die kugelig angeschwollene Spore ansetzen, so daß es leicht ist, den Ursprung selbst älterer Keimlinge aufzufinden.

Die Form junger Keimlinge ist aus den Tafelabb. 4—12 zu entnehmen. Die Keimschläuche sind mit dichtem, gleichmäßigen Protoplasma gefüllt. Hier und da sieht man einzelne körnige, stark lichtbrechende Einschlüsse. Die Hyphen besitzen scheinbar Querwände. In Wirklichkeit laufen diese Wände aber nicht durch, sondern sind lediglich ringförmige Leisten, die von der Innenwand der zylindrischen Hyphen schätzungsweise um ein Drittel des inneren Hyphendurchmessers nach innen vorspringen. Die aneinanderstoßenden Zellen bleiben also durch ein kreisförmiges Loch mit einem Durchmesser von etwa einem Drittel des inneren Hyphendurchmessers verbunden. Auch in älteren Hyphen sind sie es noch, was man daran sieht, daß kleine feste Körperchen, ja sogar große Vacuolen unter Einschnürung bei dem lebhaften Fluten des Hyphenprotoplasmas durch die Wandöffnung hindurchgeschoben werden.

Die Keimschläuche verzweigen sich bald (Tafelabb. 12, 13, 15). Seitenhyphen entstehen zuerst in acropetaler Folge. Später können an beliebigen Stellen Hyphen eingeschoben werden. Die Seitenhyphen sitzen in der Regel mit verschmälerter Basis den Haupthyphen an und verzweigen sich ihrerseits wie die Haupthyphen, so daß ein dichtes farbloses Hyphensystem entsteht. Die Mycelien verlaufen in jungem Zustande in oder auf dem Substrat, haben einen unregelmäßig lappigen Umriß und sind wenig auffallend. Erst wenn sie größer geworden sind, etwa nach zwei Tagen, werden sie nahezu kreisrund (Abb. 19, 20) und erscheinen infolge von Luftmycelbildung rein weiß, etwa so wie feinste gebleichte Watte. Ihren kreisförmigen Umriß behalten sie, wenn sie in gleichförmigem Substrat störungsfrei wachsen können, dauernd bei. Tagesringe oder Ringe ähnlicher Art werden niemals gebildet. Die Hyphen anastomosieren nie miteinander.

Auf die Unterschiede zwischen den beiden Geschlechtern ist an anderer Stelle bereits eingegangen.

Die Außenwände sehr alter Hyphen zeigen oft nach innen vorspringende, unregelmäßig knotige Membranverdickungen.

Die glashellen Hyphenwände färben sich bei der Behandlung mit Jod und Schwefelsäure bräunlich, geben also keine Zellulosereaktion, die im Kontrollpräparat (Querschnitt des Sprosses von *Scirpus holoschoenus*) sofort auftrat.

Junge Hyphen sind mit Protoplasma gefüllt. In älteren bilden sich Vacuolen, die immer größer werden, bis schließlich nur noch ein wandständiger Protoplasmaschlauch übrig bleibt.

Auf das Fluten des Zellinhaltes wurde oben schon hingewiesen. Die Strömung kann in derselben Hyphe bald zur Spitze, bald zur Basis laufen, bald für längere oder kürzere Zeit stillstehen.

f) Der Pilz in der Bienenwabe.

Der Pilz kann Bienen aller Entwicklungsstadien vom Ei bis zur Puppe (Nymphe) einschließlich befallen, aber bei den Puppen geschieht es, soweit meine Beobachtungen reichen, selten. Übereinstimmend geben alle Beobachter an, daß in der Regel zuerst die Drohnenbrut erkrankt. Die Seuche kommt dann entweder zum Stillstand oder sie geht auf die Arbeitsbienen über. In einigen wenigen Fällen war die in den mir zugegangenen Waben allein vorhandene Arbeiterinnenbrut infiziert. Eine unmittelbare Ansteckung von Arbeiterinnenbrut ist jedenfalls möglich. Befallene Königinnen sind mir bisher zwar nicht vorgekommen, aber ich bezweifle nicht, daß sie befallen werden können. Kranke Waben sind sehr ungleich leicht kenntlich. Bei geringem Befall bedarf es einer genauen Musterung jeder einzelnen, während bei starkem ein Blick genügt, um die Krankheit zu erkennen.

Die Erkrankung der Larven geht in der Weise vor sich, daß der Pilz sie in der Zelle allmählich umspinnt. Obwohl sie schließlich in dichten, weißen, muffartigen Hüllen sitzen, sind sie vielfach noch lebendig. Das Absterben findet erst statt, wenn die Hyphen in den Larvenkörper eingedrungen sind und ihn mehr oder weniger stark durchwachsen haben. In der Regel ist das Larveninnere später von Hyphen vollkommen erfüllt. Sie sehen anfangs weiß aus und bilden eine weiche Masse, die auch den Raum der Wabenzellen um die Larve herum mehr oder weniger einnimmt. Sind Eier oder kleine Larven befallen, so reicht die Füllung gewöhnlich nur bis etwa zur halben Höhe der Zellen. Sind die Larven groß, so können die Hyphen den verfügbaren Raum in der Zelle nicht nur vollkommen einnehmen, sondern, falls die Zelle ungedeckelt oder unvollkommen gedeckelt ist, sich auch noch von ihrer Öffnung aus strahlig auf der Wabenoberfläche ausbreiten (Abb. 24). Geschieht das von mehreren Zellen aus, so entstehen große, auffällige, zunächst weiße Überzüge, an denen die Krankheit auf den ersten Blick kenntlich ist. Nicht selten werden aber die Zellen, bevor es soweit kommt, von den Bienen gedeckelt. In diesen Fällen können, wie es scheint, die Hyphen den Raum der Zelle nicht verlassen. Wenigstens habe ich niemals beobachtet, weder daß sie die Wachswände der Zellen durchdringen, noch auch, daß etwa der Druck der die Wabenzellen füllenden, durch Wachstum zunehmenden Hyphenmasse die Zellenwände gesprengt hätte.

Die hyphendurchwachsenen Maden erhärten später (werden zu Mumien) und nehmen einen bräunlichweißen Farbenton an. In den allermeisten Fällen kommt es vorher zur Fruchtkörperbildung. Diese können entweder so massenhaft entstehen, daß die Mumien überall, auf der Bruchfläche sowohl wie auf der Oberfläche, schwärzlich erscheinen, oder aber ihre Bildung kann sich auf einige Stellen der Oberfläche oder des Innern beschränken. Nicht selten sah ich die Fruchtkörper einen kappenförmigen Überzug an dem der Zellenbasis zugekehrten Ende der Mumie bilden. Die auf der Wabenoberfläche wachsenden Hyphen erzeugen Fruchtkörper in ähnlicher Verteilung wie die Hyphen in Petrischalen, also entweder reihenweise, wenn zwei Hyphen verschiedenen Geschlechts nebeneinanderherlaufen, oder fleckweise, wenn Hyphen männlichen und weiblichen Geschlechts durcheinanderwachsen.

Infizierte Nymphen (Puppen) fand ich nur ausnahmsweise. In den Fällen stärkster Erkrankung waren sie — im Vergleich zu den Larven — schwach besponnen und von Mycel mäßig durchwachsen. Im trockenen Zustande erwiesen sie sich dann und wann als hohl. In einigen Fällen konnte ich nicht entscheiden, ob tote Nymphen in einer „kalkbrutkranken“ Wabe wirklich an der „Kalkbrutseuche“ oder ob sie aus anderen Ursachen zugrunde gegangen waren.

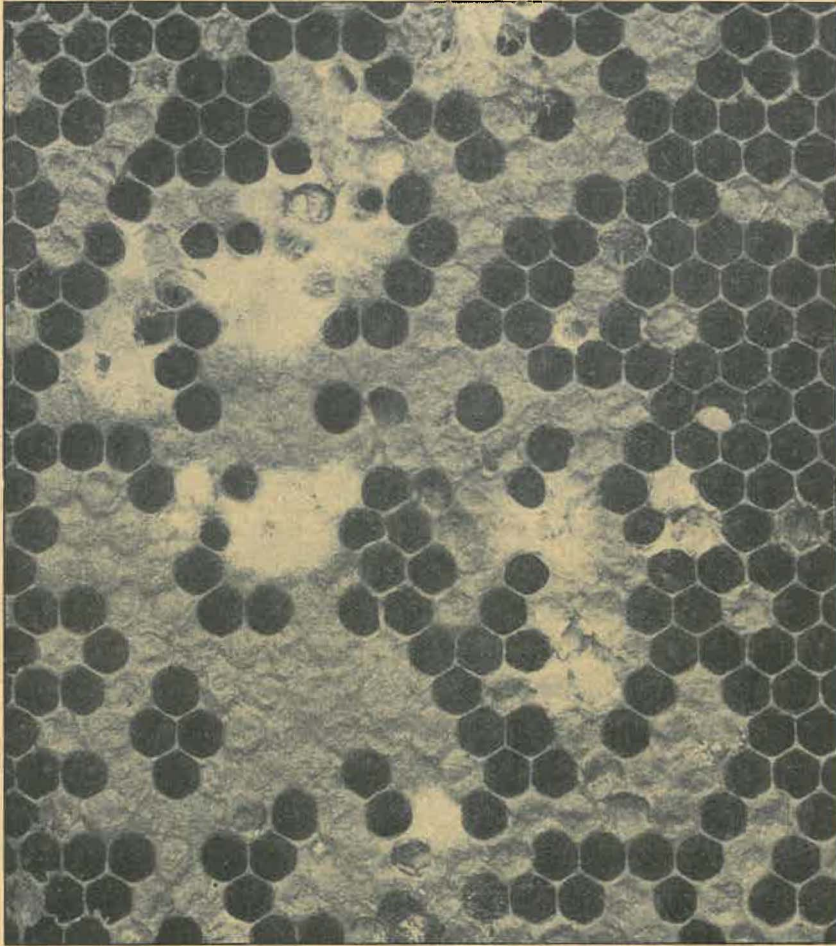


Abb. 24. Befallene Wabe. Der Pilz hat sich an mehreren Stellen spinnwebartig auf der Wabenoberfläche ausgebreitet. Die gedeckelten Zellen enthalten fast alle mumifizierte Larven. Nat. Größe.

Kranke Tiere jeden Alters und in jedem Stadium des Krankheitsbefalles und tote Tiere werden von den Arbeitsbienen aus dem Stock entfernt. Bei sorgfältiger Beobachtung dessen, was aus dem Stock herausgeschafft wird, gelingt es, die Krankheit festzustellen, auch ohne daß man die Waben zu untersuchen braucht. Voraussetzung dafür ist natürlich, daß man frisch befallene Tiere und Mumien mit und ohne Fruchtkörperbildung sicher kennt. Das ist aber für den, der die Krankheit einige Male gesehen hat, nicht schwer.

Weitere Beobachtungen von seiten der Imker über den Beginn des Befalls, die

Ausbreitung der Krankheit, ihre Verbreitung bei Königinnen, Drohnen und Arbeitsbienen, ihr Vorkommen bei den verschiedenen Entwicklungszuständen (Ei, Larve, Puppe, erwachsenem Insekt), die Stärke des Befalls bei verschiedenen Rassen, die Wirkung der Krankheit, ihren Ausgang und vieles andere mehr, wären sehr erwünscht. Ich selbst bin außer in Ausnahmefällen nicht in der Lage, derartige Feststellungen auf dem Bienenstande selbst zu machen. Für Angaben mit Belegstücken wäre ich sehr dankbar.

g) Die Reinzucht des Pilzes aus befallenen Bienenwaben.

Will man den Pilz reinziehen, so verfährt man zweckmäßigerweise je nach der Art des Materials etwas verschieden. Die zur Untersuchung eingesandten Waben sind in der Regel stark mit überall verbreiteten Pilzen verunreinigt (*Penicillium*, *Aspergillus* und *Mucoraceen*). In solchen Fällen habe ich ein Stück der Wabenoberfläche um die Entnahmestelle herum mit einem in 50prozent. Alkohol getauchten Lappen gesäubert. Die befallenen Tiere werden dann mit einer abgeflammt Pinzette einzeln aus ihren Zellen (wenn möglich, wählt man gedeckelte) herausgeholt und auf eine sterile Glasunterlage gelegt.

Sind sie noch weich (ist der Pilz also noch jung), so werden sie zerzupft und von jeder von ihnen zwei bis drei kleine mit Hyphen durchwachsene Stücke auf die Oberfläche von Bierwürzeagar in Petrischalen übertragen, etwa 6 Stücke auf eine Schale von 70 bis 100 mm Durchmesser. Es genügt stets, etwa drei bis vier Schalen zu beimpfen.

Mumifizierte Tiere, die mit Fruchtkörpern besetzt sind, werden am besten mit einigen Tropfen Bierwürze in einem keimfreien Porzellan-Mörser zu einem gleichförmigen Brei verrieben, der nach Verdünnung (mit Bierwürze) in eine Pipette gesaugt und in Strichen auf Bierwürzeagar aufgetragen wird (drei parallele Striche auf eine Schale).

Die beimpften Platten werden bei 30—36° C. gehalten.

Nach 24 Stunden sind etwa vorhandene lebende Hyphen soweit ausgewachsen, daß man Teile der neuentstandenen Hyphen unter dem Präpariermikroskop ausstechen kann. War das Mycel tot, so dauert es etwas länger, bis Sporen auskeimen und die Keimschläuche weit genug aus dem Impfstrich herausragen. Ist dies der Fall, dann entnimmt man Stecklinge, wie oben geschildert wurde.

Hat man auf die eine oder die andere Art eine Anzahl reiner, von je einer Hyphe entwickelter Mycelstücke erlangt, so werden diese in der Art, wie Abb. 14 zeigt, auf Agar zwischen je ein vorrätig zu haltendes männliches oder weibliches Mycel gesetzt und bei 30—36° C. gehalten. Bilden sie mit einem von diesen Fruchtkörper, so ist damit zugleich die Art- und Geschlechtsbestimmung erledigt. Die letztere hat praktische Bedeutung nur dann, wenn nur ein Geschlecht vorliegt, wie es bei Untersuchung geringer Materialmengen vorkommen kann.

Literatur.

- Betts, Annie D., A bee-hive Fungus, *Pericystis alvei*, gen. et spec. nov. *Annals of Botany*. **26**. 795—799. 1912.
- — The fungi of the bee-hive. *The journal of economic Biology*. **7**. 129—162. 1912.
- Brefeld, O., Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze. 1. Heft. *Mucor Mucedo*, *Chaetocladium Jonesii*, *Piptocephalis Freseniana*. Leipzig 1872.
- von Buttell-Reepen, H., Der heutige Stand der Forschungen über die Brutkrankheiten (Faulbrut, Steinbrut, Sauerbrut usw.) und die Maikrankheit (Sandläuferei, Tollkrankheit) der Honigbiene. *Bienenwirtschaftl. Centralbl.* 1919. Nr. 3, 4. Abschnitt 6. Die Kalkbrut (*Pericystismykose*).
- Küstenmacher, M., Verhandlungsbericht über die Beratungen von Bienenzuchtfragen am 17. und 18. März 1919 im Preuß. Minist. f. Landw., Dom. u. Forsten. Berlin 1919. S. 68.
- Maaßen, A., Weitere Mitteilungen über die seuchenhaften Brutkrankheiten der Bienen, insbesondere über die Faulbrut. Mitteilungen aus der Kaiserlichen Biologischen Anstalt f. Land- u. Forstwirtschaft. Heft **14**, 48—58. 1913. S. 56 u. 57 *Pericystis*.
- — Die übertragbaren Brutkrankheiten der Bienen. Mitteilungen aus der Kaiserlichen Biologischen Anstalt f. Land- u. Forstwirtschaft. Heft **15**, 34—36. 1914. S. 36 *Pericystis*.
- — Über Bienenkrankheiten. Mitteilungen aus der Kaiserlichen Biologischen Anstalt f. Land- u. Forstwirtschaft. Heft **16**, 51—58. 1916. S. 52 *Pericystis*.
- — Weitere Mitteilungen über Bienenkrankheiten und ihre Bekämpfung. Mitteilungen aus der Biolog. Reichsanstalt für Land- u. Forstwirtschaft. Heft 17, 37—45. 1919. Siehe auch *Archiv f. Bienenkunde* I. Jahrg., 30—40. 1919.
- Morgenthaler, O., Sind unsere gewöhnlichen Schimmelpilze die Ursache der Maikrankheit, Flügel lähme und Zitterkrankheit der Bienen. *Schweizer. Bienenzeitung* Nr. 3. 1918.
- — Bienenkrankheiten im Jahre 1918. *Schweizer. Bienenzeitung* Nr. 4. 1919.
- — Bienen- und Wabenuntersuchungen im Jahre 1917. *Schweizer. Bienenzeitung* Nr. 4, 1918.
- — Bienenkrankheiten im Jahre 1919. *Schweiz. Bienenzeitung* Nr. 4, Jahrg. 1920.
- Zander, E., Die Brutkrankheiten der Bienen und ihre Bekämpfung. Stuttgart. *Handbuch der Bienenkrankheiten* I, 1919. S. 13—16 *Pericystis alvei* Betts. S. 16—17 *Pericystis apis* Maaßen.

Tafelerklärung.

Die Pfeile an den dargestellten Hyphen bezeichnen die Richtung von der Basis zur Spitze.

Tafel III. Sporen, Sporenkeimung und Anlage der Sexualorgane.

Abb. 1. Sporenhaufen und zwei einzelne Sporen. 2. Drei Sporenhaufen. 3. Sporen, z. T. einzeln liegend, z. T. zu mehreren zusammen in verschiedenen Ansichten. 4. Spore in Keimung. Rechts und links sind als (schwarz gezeichnete, im frischen Präparat glänzende) kappenartige Gebilde die Exosporenteile sichtbar, die die äußerste Schicht der Enden der ungekeimten Spore bildeten. 5. Kleiner Keimling mit einer links gelegenen Exosporkappe. Die andere lag unter der Spore. 6. Kleiner Keimling. Kappe links unten. 7.—9. Kleine Keimlinge, etwas größer als 6; 7, 7a und b und 8 mit einer, 9 mit zwei Exosporkappen. 10. Mit zwei Schläuchen gekeimte Spore, an der oben links eine Exosporkappe liegt. 11.—15. Keimlinge verschiedener Größe mit einer bis mehreren Querwänden und beginnender Seitenhyphenbildung, 11, 12, 13 und 15 aus einem, 14 aus zwei Keimschläuchen entstanden. In Abb. 11, 12, 13 und 15 je eine Exosporkappe dargestellt, an dem in 14 abgebildeten Keimling Exosporkappen nicht nachweisbar. Bei den Keimlingen 13 und 14 einige ungekeimte Sporen. 16. Verschiedene Entwicklungsstadien der nach Berührung von männlichen (a, b) mit weiblichen

(l, m, n, o) Hyphen entstehenden Sexualorgane. a, b von links nach rechts (im Sinne der Pfeile) verlaufende männliche Hyphe, kenntlich daran, daß an ihr die kleineren, männlichen Sexualorgane, Antheridien, an c und d sitzen, die sich bereits deutlich von den größeren, weiblichen Sexualorganen, Oogonien, oog. e und f an m und o unterscheiden. Aus den Ästen i und h werden sich Oogonien, aus g und k Antheridien bilden. H und k jüngste, i und g etwas ältere Kopulationsäste. 17. Teil einer weiblichen Hyphe (a, b), der mit einem Teil einer männlichen (c, d) bei Berührung 7 Sexualorganpaare gebildet hat, die zum Teil mißgestaltet sind. Hyphe a, b ist als weibliche daran zu erkennen, daß sie alle großen Sexualorgane trägt, während alle kleinen an Hyphe c, d sitzen, die daher als männlich zu benennen ist. Wegen der Einzelheiten vergleiche man den Text.

Vergrößerung der Abb. 2 und 3 920 : 1, der Abb. 1, 4—17 600 : 1.

Tafel IV. Stadien der Entwicklung der Sexualorgane bis etwa zur Halbreife.

Abb. 18. An der Berührungsstelle einer männlichen und einer weiblichen Hyphe, die beide in diesem Falle eine Knickung von der Kopulationsstelle fort erfahren haben, sind zwei Kopulationshyphen ausgewachsen. 19. Jüngere Sexualorganpaaranlage bei a, etwas ältere bei b, bei der die Gametangien bereits gebildet sind (vgl. Abb. 31). Ein merklicher Unterschied in ihrer Größe ist noch nicht vorhanden. 20. Unterschied in der Größe der Gametangien bereits deutlich. 21.—26. Junge Sexualorganpaare von verschiedener Form und Lage. Fig. 22a optischer Schnitt der in Fig. 22 dargestellten Anlage. 27. Drei Sexualorganpaare. Die männlichen Sexualorgane hängen alle an einer Hyphe, die stark geknickt erscheint. 28.—30. Weiter herangewachsene Sexualorganpaare. 31. Dasselbe Objekt, wie das in Abbildung 19 dargestellte. Die Anlage a ist in der Entwicklung fast stehen geblieben (vgl. Abb. 19a), während die Anlage b sich der Reife nähert.

Vergrößerung aller Abbildungen 600 : 1.

Tafel V. Entwicklung der Sexualorgane von der Halb- zur Vollreife.

Abb. 32—36. Entleerte männliche Sexualorgane und weibliche Sexualorgane von verschiedener Form und Größe. 37.—41. Verschiedene Stadien der Bildung der Plasmaballen in den weiblichen Sexualorganen. Die Zahl der Ballen ist äußerst wechselnd. Sie schwankt zwischen einem und vielen. 42.—48. Weibliche Sexualorgane mit Sporenballen.

Vergrößerung der Abb. 32—45 und 47—48 600 : 1, der Abb. 46 920 : 1.