

Untersuchungen über die Sexualität der Myxomyceten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Mathematisch-Naturwissenschaftlichen
Fakultät
der Georg - August - Universität
zu Göttingen

Vorgelegt von

Erich Schünemann

aus Rosche bei Uelzen

(Sonderabdruck aus
„Planta“, Archiv für wissenschaftliche Botanik
Bd. 9, Heft 4)

**Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH
1930**

Untersuchungen über die Sexualität der Myxomyceten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Mathematisch-Naturwissenschaftlichen
Fakultät
der Georg - August - Universität
zu Göttingen

Vorgelegt von

Erich Schönemann
aus Rosche bei Uelzen

(Sonderabdruck aus
„Planta“, Archiv für wissenschaftliche Botanik
Bd. 9, Heft 4)

Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH
1930

ISBN 978-3-662-40738-7
DOI 10.1007/978-3-662-41220-6

ISBN 978-3-662-41220-6 (eBook)

1. Fragestellung.

Es liegen bisher nur wenig eingehende Untersuchungen über die Sexualität der Myxomyceten vor.

Die ersten grundlegenden, bis heute anerkannten Mitteilungen verdanken wir JAHN. Er hat bei *Physarum didermoides* (1911) Amöbenteilung, Plasmodien- und Fruchtkörperbildung untersucht und den Phasenwechsel dahingehend festgelegt, daß zwei haploide Amöben zu einer diploiden Amöbe verschmelzen, auf Plasmaverschmelzung gleich die Kernverschmelzung folgt, diese diploiden Amöben zu Plasmodien weiterhin zusammenfließen und bei der Fruchtkörperbildung dann die Reduktionsteilung stattfindet. In neuerer Zeit bestätigten WILSON und CADMANN (1926) an *Reticularia lycoperdon* BULL. JAHNS Untersuchungen, fanden nur hier die Kopulation im Schwärmerstadium. SKUPIENSKY arbeitete (1927) mit *Didymium difforme* und kam zu dem gleichen Ergebnis.

Bezüglich der Geschlechtsdifferenzierung liegen von JAHN, PINOY und SKUPIENSKY Mitteilungen vor. JAHN stellte an *Didymium effusum* morphologische Isogamie fest. PINOY nahm für *Didymium nigripes* extreme Heterogamie an; er kam zu dem Ergebnis, daß die Abkömmlinge von $+$ - und $-$ -Sporen zur Bildung eines Plasmodiums zusammenkommen müssen. SKUPIENSKY fand für *Didymium difforme* ebenfalls Heterothallie; bei *Didymium nigripes* — das nach BUCHET ein *Physarum* ist — sollte die erste Teilung der Amöbe nach der Keimung geschlechtsdifferenzierend sein.

Soweit der Stand der Dinge. KNIEP faßt in seiner „Sexualität der niederen Pflanzen“ (1928, S. 252) sein Urteil über die bisherigen Untersuchungen dahin zusammen, daß „die Sexualität der Myxomyceten noch viele Rätsel in sich schließt und noch oft Gegenstand eingehender und mühsamer Untersuchungen wird bilden müssen“.

Ich stellte mir die Aufgabe, den Entwicklungsgang einer Art noch einmal möglichst vollständig unter besonderer Berücksichtigung des Kernphasenwechsels zu verfolgen. Ferner wollte ich versuchen, die Frage der Geschlechtsdifferenzierung wenigstens für einige Arten zur Lösung zu bringen.

2. Material, Kultur- und Arbeitsmethoden.

Bei der Keimung und Entwicklung traten bei den meisten Arten, mit denen ich arbeitete, schon unüberwindliche Schwierigkeiten auf. So konnte ich z. B. *Reticularia lycoperdon*, *Didymium melanospermum*, *Leocarpus fragilis*, *Amaurochaete atra* u. a. wohl zur Keimung bringen, die Amöben teilten sich auch recht häufig, doch erhielt ich infolge Cystenbildung nie Plasmodien. Ich beschränkte mich deshalb auf leicht kultivierbare Formen und bekannte Arten wie *Didymium difforme* DUBY, *Didymium nigripes* FRIES, *Physarum leucopus* LINK u. a. Zunächst kultivierte ich mit allen bekannten Medien z. B. Abkochungen von *Vicia Faba*, Maiskörnern, Erbsen, Heu, Heu mit 1% Milchzusatz, Holz, *Daucus carota*, mit BENECKE- und KNOP-Lösung. Am günstigsten für unsere Objekte erwiesen sich zweifellos Heuabkochung (20/1000, 1 Stunde gekocht) und Mohrrübindekokt (30/1000, 2 Stunden gekocht).

Ich kultivierte in Schalen, im hängenden Tropfen und auf Agarplatten (1,5% Agarzusatz zum Dekokt), bei einer Temperatur von 15—20°, und erhielt durchschnittlich in 20—25 Tagen eine junge Fruchtkörpergeneration von Spore zu Spore. Mit dem besten Erfolge kultivierte ich *Didymium nigripes* FRIES mit Heudekokt.

Sämtliche Kulturen wurden möglichst steril gehalten; Bakterien waren, zumal mit organischem Nährboden gearbeitet wurde, jedoch in großer Menge vorhanden.

Eingehendere Beobachtungen wurden ausschließlich im hängenden Tropfen gemacht. Zu diesem Zwecke befestigte ich mit Kanadabalsam auf Objektträgern Glasringe von 1,5 cm Durchmesser und 1 cm Höhe, plangeschliffen, die soweit wie möglich mit Wasser oder einer ganz dünnen Agarlösung gefüllt und am oberen Rand mit zwei Luftlöchern versehen wurden. Auf diese Glasringe wurden dann die Deckgläschen mit den hängenden Tropfen gelegt, gegebenenfalls mit ein wenig Vaseline festgekittet. Die Objektträger standen auf einem Stativ unter einer feuchten Glasglocke. Mit dieser doppelten feuchten Kammer konnte ich in einfachster Weise auch Tropfen von 1—2 Stecknadelkopfgröße 5—6 Tage vor dem Austrocknen bewahren, selbst wenn die Objektträger zur Beobachtung oft unter das Mikroskop gestellt wurden.

Die Sporen isolierte ich anfangs durch Aufschwemmen auf 3%igen Agar und Ausstechen kleiner Agarblöckchen. Später machte ich Einsporenkulturen mit einer feinen Pipette; doch erwies sich nach DRÖGE eine einfache Stahlfeder als außerordentlich brauchbar. Man kann mit ihr recht kleine Tropfen in kurzer Zeit anfertigen, die dann in hängenden Tropfen auf dem Glasring recht gut kontrollierbar sind.

Anschließend bringen wir die Arbeitsmethoden für die zytologischen Untersuchungen.

Zur Untersuchung der Amöben wurden verschiedene Wege eingeschlagen. Um eine möglichst große Zahl von Amöben im Präparat zu erhalten, zentrifugierte ich eine lebende Amöbenkultur, die einer Petrischale entnommen wurde. Darauf fixierte ich mit GILSONS Gemisch und ließ nach wiederholtem Auswaschen mit 70%igem Alkohol und Zentrifugieren die mit Amöben überfüllten Tropfen auf Deckgläsern eintrocknen. Diese Methode ist nicht zu empfehlen, da sich die

lebenden Amöben durch das Zentrifugieren abrunden. Ich fixierte deshalb zunächst in Petrischalen, zentrifugierte und ließ auf Deckgläsern eintrocknen. Schließlich ging ich dazu über, die Amöben gleich im hängenden Tropfen mit Osmiumdämpfen zu fixieren und eintrocknen zu lassen. Es ist ratsam, die Tropfen wirklich trocken werden zu lassen, weil sonst späterhin die Amöben zum größten Teil abschwimmen; das Eintrocknen verändert die Amöben nicht, wenn sie vorher 5—10 Minuten mit den Osmiumdämpfen des „Bonner Flemmings“ fixiert sind. Nach 24stündigem Beizen mit 3%iger Eisenalaunlösung wurden die Präparate 3—4 Stunden mit 1%iger Hämatoxylinlösung gefärbt und dann mit Eisenalaun so lange differenziert, bis, in Kanadabalsum eingebettet, schöne Kernfärbungen zustande kamen. Dies bot bei der Kleinheit der Objekte anfangs einige Schwierigkeiten. Oftmals habe ich die unter- oder überdifferenzierten Amöben zum zweiten Male färben müssen; trotzdem blieben sie jedoch meistens auf dem Deckglas haften.

Zum Studium der Kernverhältnisse des Plasmodiums schnitt ich aus 5 bis 6 Petrischalen gleichzeitig von größeren Plasmodien stündlich kleine Stücke ab, fixierte mit GILSONS Gemisch 5—6 Stunden und färbte mit Eisenalaun-Hämatoxylin. In Kanadabalsam überführt, wurde so auf dem Objektträger eine „Aufschwemmung“ von recht vielen kleinen Plasmodien erhalten. Bei der späteren Untersuchung erwies es sich als zweckmäßig, die in Mitose befindlichen Plasmodien quer zu schneiden. Zu diesem Zwecke wurden die gefärbten kleinen Plasmodien — oft nur von der Größe eines Stecknadelkopfes — aus dem Kanadabalsam herausgelöst, in Paraffin eingebettet, und 3 μ stark querschnitt.

Schließlich die Fruchtkörperstadien. Die Sporangien wurden 12—24 Stunden mit GILSONS Gemisch fixiert, 3—4 μ stark geschnitten und nach oben erwähnten Methoden gefärbt.

Für die zytologische Beobachtung benutzte ich auf Empfehlung von DRÖGE eine Differentialbogenlampe und das Binokular LEITZ, das mir mit den Okularen Periplanat 3 und 12 in Verbindung mit den Immersionen 2 mm und 1,4 mm (ZEISS-WINKEL) ausgezeichnete Dienste leistete.

3. Entwicklung von *Didymium nigripes* Fries.

a) *Experimentelle Studien.* Nach der Beschreibung der Methoden schreiten wir zur eigentlichen Beobachtung und untersuchen experimentell die Entwicklung von *Didymium nigripes*.

Keimung. *Didymium nigripes* keimte im allgemeinen außerordentlich gut; unter günstigen Bedingungen keimten 90—95% sämtlicher Sporen. Oftmals war die Keimung allerdings auch unerklärlichen Schwankungen unterworfen, die die Arbeit sehr erschwerten. Wir sehen von diesen „Stimmungen“ hier ab. Die Keimung setzt meist 1—2 Stunden nach dem Ansetzen der Sporen ein, wiederholt konnten wir auch schon nach 30 Minuten den Beginn der Keimung im hängenden Tropfen feststellen. Als Durchschnittszeit für die Keimung möchten wir für *Didymium nigripes* 2—3 Stunden einsetzen. — Sämtliche Zeitangaben sind sichere Durchschnittswerte, die aus eingehenden Beobachtungen gewonnen wurden. —

Bei der Keimung zerreißt die Sporenmembran und es schlüpft ein Plasmakörper, eine Amöbe im Laufe von $\frac{1}{2}$ Stunde heraus. Während und unmittelbar nach der Keimung ist diese Amöbe nicht begeißelt; vielmehr liegt sie kurze Zeit vollständig ruhig, meist in Kugelgestalt vor der Spore.

Also „Keimungstyp I“ (JAHN 1928). Bald beginnt die Plasmakugel sich an der Spore zu bewegen, feine Fortsätze werden ausgesandt und wieder eingezogen, der Körper streckt sich allmählich zu einer länglichen Form; in dieser Zeit bildet sich die Geißel aus. Nun setzt eine lebhaftere Bewegung um die Spore ein, bis schließlich der fertige Flagellat von der Spore abrückt und unermüdlich im Tropfen die bekannten Schwärmerbewegungen ausführt; am Vorderteile sind Geißel und Kern, am Hinterende die Vakuole deutlich sichtbar.

Eine besondere Eigentümlichkeit von *Didymium nigripes* ist die kurze Dauer des Flagellatenstadiums. Nach 4—6 Stunden durchschnittlich wird es durch das Amöbenstadium abgelöst. Eine Teilung im Schwärmerstadium findet bei *Didymium nigripes* niemals statt.

Entwicklung. Die erste Teilung der Amöbe setzt nach ungefähr 20 Stunden ein. Ein regelmäßig auftretendes Cystenstadium wurde bei *Didymium nigripes* nie gefunden. Vor der Teilung rundet sich die Amöbe ab; alsbald wird der lebende Kern unsichtbar, die Amöbe schnürt sich ziemlich rasch in der Mitte durch, und eine halbe Stunde nach völliger Trennung der Amöben wird der Tochterkern im lebenden Bilde wieder sichtbar. Die Zeit, die der ganze Teilungsvorgang beansprucht, möchte ich mit etwa 1 Stunde angeben.

Inzwischen haben sich zahlreiche Bakterien im Tropfen angesammelt und umtanzen unaufhörlich die Amöben, besonders deren Vakuolen.

Im Laufe der nächsten 10—15 Stunden erfolgt die zweite Teilung, 4 Amöben sind jetzt vorhanden, nach weiteren 5—10 Stunden beobachtete ich wieder eine Teilung usw.

Tabelle 1.

Spore Nr.	Keimung 1 Amöbe	1. Teilung 2 Amöben	2. Teilung 4 Amöben	8 Amöben	16 Amöben	24 Amöben
27	3 Std.	21 Std.	39 Std.	47 Std.	54 Std.	58 Std.
99	3 „	26 „	37 „	43 „	53 „	55 „
20	2 „	14 „	25 „	37 „	43 „	52 „
42	2 $\frac{1}{2}$ „	21 $\frac{1}{2}$ „	32 „	45 „	49 „	59 „
26	2 „	20 „	32 „	40 $\frac{1}{2}$ „	47 $\frac{1}{2}$ „	51 „
16	2 $\frac{1}{2}$ „	27 $\frac{1}{2}$ „	41 „	51 „	—	—

Didymium nigripes, *Einsporenkultur.* Dieses Schema stellt die regelmäßige Teilung der Amöben dar. Alle Zeitangaben sind gerechnet vom Ansetzen der Sporen ab.

Ist der Tropfen der Kulturflüssigkeit verhältnismäßig groß und somit reichlich Nahrung vorhanden, so teilen sich die Amöben sehr häufig. Zu beachten ist hier, daß das Flagellatenstadium recht selten wieder auftritt und dann auch nur für kurze Zeit, es macht alsbald dem Amöbenstadium Platz.

Die Amöben ordnen sich im Laufe des 2.—3. Tages zum Teil am Rande des Tropfens an und weisen reichlich große und kleine Vakuolen mit zahllosen Bakterien auf. Die Bakterien der Nährflüssigkeit sind zum größten Teil in den Ruhezustand übergegangen. Die Amöben nehmen an Größe zu und gleiten, ohne ihren Platz im Tropfen wesentlich zu verändern, aufeinander zu. Sie bleiben oft lange Zeit miteinander in Berührung, drehen sich umeinander, trennen sich aber immer wieder.

Ich habe bei *Didymium nigripes* lange nach der in der Literatur immer erwähnten Verschmelzung der Amöben gesucht, habe aber zunächst eine Verschmelzung von je 2 Amöben niemals gesehen. Die große Zahl der Amöben gestaltete eine genaue Beobachtung äußerst schwierig. Es war daher sehr wesentlich, der besseren Kontrolle wegen, die Amöben schon nach wenigen Teilungen zur Plasmodiumbildung zu veranlassen. Nach längeren Versuchen gelang es mir, die Teilungsrate dadurch herabzusetzen, daß ich die Sporen nur mit einem kleinen Tropfen verdünnter Nährlösung ansetzte. Die Plasmodien bildeten sich dann im hängenden Tropfen bei Einsporen- wie bei Mehrsporenkulturen in etwa 3—4 Tagen. Die Beobachtung war so weit übersichtlicher geworden. Eine Verschmelzung von je 2 Amöben konnte ich jedoch wieder nicht beobachten.

Anschließende Tabelle 2 gibt einen kurzen Ausschnitt einer solchen Beobachtung.

Tabelle 2. Angesetzt 8¹⁵, 30. X. 1928.

Tropfen Nr.	30. X.							31. X.			1. XI.		
	8 ¹⁵	10 ⁰⁰	10 ³⁰	12 ³⁰	15 ³⁰	18 ³⁰	22 ³⁰	9 ⁰⁰	15 ³⁰	21 ³⁰	7 ⁰⁰	12 ⁰⁰	20 ⁰⁰
1	o	g	1	1	1	1	2	4	8	14	24	45, B. Pl.	größ. Pl.
2	o	g	1	1	1	1	1	3	6	11	40	60, B. Pl.	größ. Pl.
3	o	g	1	1	2	2	2	4	8	15	33	55, B. Pl.	größ. Pl.
4	o	g	1	1	1	1	1	2	4	5	8	10	B. Pl.

o = ungekeimte Spore; g = keimende Spore. B.Pl. = Beginn d. Plasmodiumbildung.

Didymium nigripes, *Einsporenkultur*. Dieses Schema stellt Keimung der Sporen, Teilung der Amöben und Plasmodiumbildung dar.

Dauerbeobachtung. Schon DE BARY schreibt: „Der einzige Weg, um alle Zweifel vollständig zu beseitigen, besteht hier, wie bei so vielen ähnlichen entwicklungsgeschichtlichen Fragen darin, daß man möglichst reine Kulturen auf dem Objektträger beobachtet.“ Um in der entscheidenden Frage der Verschmelzung ganz sicher zu gehen, habe ich es unternommen, Dauerbeobachtungen anzustellen, d. h. ich ging von einer Spore aus und beobachtete in Abständen von 1/2 Stunde die weitere Entwicklung von der Sporenkeimung bis zur Plasmodiumbildung in 75—80 Stunden. Diese Methode, die ich mit der lebenswürdigen Unterstützung

einiger Herren unseres Institutes durchführte, war zwar sehr mühsam, aber doch lohnend. Es mußte so gelingen, einwandfrei festzustellen, ob und wann die Verschmelzung stattfindet, und wie sie sich gestaltet.

Didymium nigripes war für diese Beobachtung ein sehr günstiges Objekt, weil, wie oben ausgeführt, das Amöbenstadium vorherrscht. Wir waren dadurch in der Lage, den Platz einer jeden Amöbe im Tropfen festzustellen und in einem Protokoll in einem Kreise, der dem Tropfen entsprach, einzuzeichnen. Hatte eine Amöbe ihren Platz im Tropfen verändert oder sich geteilt, so konnte dies im Laufe der nächsten halben Stunde mit Sicherheit festgestellt und im Protokoll vermerkt werden. Wir beobachteten während einer solchen „Dauerbeobachtung“ gleichzeitig 6 Tropfen mit je einer Spore, gegen Schluß der Beobachtung nur 2—3 Tropfen; diese dafür um so eingehender. Anfangs gelang es uns, die Amöben schon bei einer Anzahl von 50—60 Stück zur Plasmodiumbildung zu veranlassen. Bei den späteren Versuchen erhöhte sich unglücklicherweise diese Zahl ungefähr auf das Doppelte; wir konnten natürlich, sobald die Zahl 50 überschritten war, nicht mehr jede einzelne Amöbe verfolgen. Um jetzt nicht die Übersicht zu verlieren, beschränkten wir uns gegen Schluß einer jeden Beobachtung darauf, einen kleinen Teil der Tropfen, einen Sektor mit vielleicht 10—20 Amöben, eingehend zu prüfen. Wir achteten jetzt besonders darauf, daß nicht Amöben aus einem anderen Sektor hinzukamen.

Während der ganzen Dauerbeobachtung stellten wir zunächst *niemals* eine Verminderung der Amöbenzahl fest unter besonderer Berücksichtigung des Platzes einer jeden Amöbe. Es war somit ausgeschlossen, daß etwa zu gleicher Zeit 2 Amöben verschmolzen und eine andere in der Nähe liegende Amöbe sich geteilt hatte und so die Gesamtzahl der Amöben konstant geblieben war. Wir betonen noch einmal, daß die einzelne Amöbe sich sehr wenig von ihrem Platze bewegte; außerdem waren die Amöben so weit voneinander entfernt, daß diese Beobachtungen unbedingt sichergestellt sind. Die Teilung einer Amöbe war an Form und Größe der Tochteramöben sogleich festzustellen.

Im Verlaufe unserer Dauerbeobachtung stellten wir fest, daß am Schlusse doch eine Verschmelzung von Amöben stattfand. Nach 75 bis 80 Stunden beobachteten wir, daß die einkernigen Amöben sich zu mehreren an verschiedenen Stellen des Tropfens ansammelten; sie wiesen zahlreiche Vakuolen auf und hatten sich wesentlich vergrößert; die Bakterien waren zur Ruhe gekommen und dadurch der Kern mit dem Nukleolus deutlich sichtbar. Die Amöben bewegten sich aufeinander zu und lagen oft lange beieinander. Es war der Augenblick gekommen, wo die Verschmelzung kurz bevorstand. In diesen entscheidenden Zeitabschnitten wurde von Minute zu Minute oder ununterbrochen beobachtet. Nach oft stundenlangem Protokollieren von Minute zu Minute

haben wir dann die Verschmelzung gesehen. Es fand ein deutliches Überfließen des Plasmas statt, das Verschmelzungsprodukt war zweikernig, Nukleolus und Vakuolen waren während des Aneinanderliegens vor der Verschmelzung und nach der Plasmaverschmelzung deutlich sichtbar.

Doch nun kommt das Entscheidende: Auf die Plasmaverschmelzung folgte überraschenderweise nicht sofort die Kernverschmelzung; vielmehr blieb die Zweikernigkeit des jungen Plasmodiums erhalten. Wir haben es wiederholt beobachtet, daß diesem durch Verschmelzen zweier Amöben entstandenen Plasmodium eine dritte einkernige Amöbe sich näherte, nach einiger Zeit Verschmelzung eintrat und das Produkt dann deutlich dreikernig war und dreikernig blieb. Waren noch eine oder mehrere Amöben in der Nähe, so verschmolzen auch diese mit dem jungen Plasmodium; die Kernzahl vermehrte sich entsprechend. Verschmelzungen kleiner mehrkerniger Plasmodien untereinander konnten wir oftmals feststellen. Es wurden sämtliche Kernzahlen gesehen von 2—10 Kernen und mehr.

Während dieser Beobachtung war es anfangs nicht leicht, ganz junge, zweikernige Plasmodien, bei denen noch keine Strömung vorhanden war, äußerlich von den Amöben zu unterscheiden. Beide waren stark vakuolisiert und voluminös. Wir stellten oftmals fest, daß eine Amöbe, besonders wenn sie kurz vor der Teilung stand, sich in der Größe manchmal nicht von einem zweikernigen jungen Plasmodium unterscheiden ließ.

Es ist in dieser Arbeit nicht möglich, das sehr umfangreiche Protokoll einer solchen Dauerbeobachtung mitzuteilen. Immerhin möchten wir einen ganz kurzen Ausschnitt aus der Beobachtung während der Verschmelzung geben und verweisen auf die Zeichnungen (siehe Abb. 1), die von Minute zu Minute gemacht, die Lage der Amöben zueinander schematisch darstellen.

Erster Fall:

- 5 Uhr morgens: zwei einkernige Amöben liegen beieinander.
 5 „ 1 Minute: sie nähern sich einander noch weiter.
 5 „ 2 Minuten: „ „ „ „ „ „ „ „
 5 „ 4 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „
 5 „ 9 „ sie entfernen sich voneinander.
 5 „ 12 „ sie berühren sich.
 5 „ 13 „ sie treten wieder auseinander.
 5 „ 14 „ „ nähern sich einander.
 5 „ 15 „ „ „ „ „ „ „
 5 „ 17 „ Verschmelzung findet statt, an einer Stelle fließt das Plasma über.
 5 „ 17¹/₂ Minuten, 5 Uhr 17³/₄ Minuten, 5 Uhr 18 Minuten: Plasmodium rundet sich ein wenig ab.
 5 „ 20 Minuten: Amöbenform wieder hergestellt. Zwei Kerne deutlich sichtbar.
 5 „ 22 Minuten, 5 Uhr 23 Minuten, 5 Uhr 24 Minuten, 5 Uhr 25 Minuten, 5 Uhr 28 Minuten, 5 Uhr 30 Minuten, 5 Uhr 34 Minuten, 5 Uhr 39 Minuten, 5 Uhr 40 Minuten: deutlich zwei Kerne sichtbar.

5 Uhr 41 Minuten: eine dritte einkernige Amöbe nähert sich dem zweikernigen Plasmodium.

5 „ 42 Minuten, 5 Uhr 44 Minuten: es tritt Berührung ein.

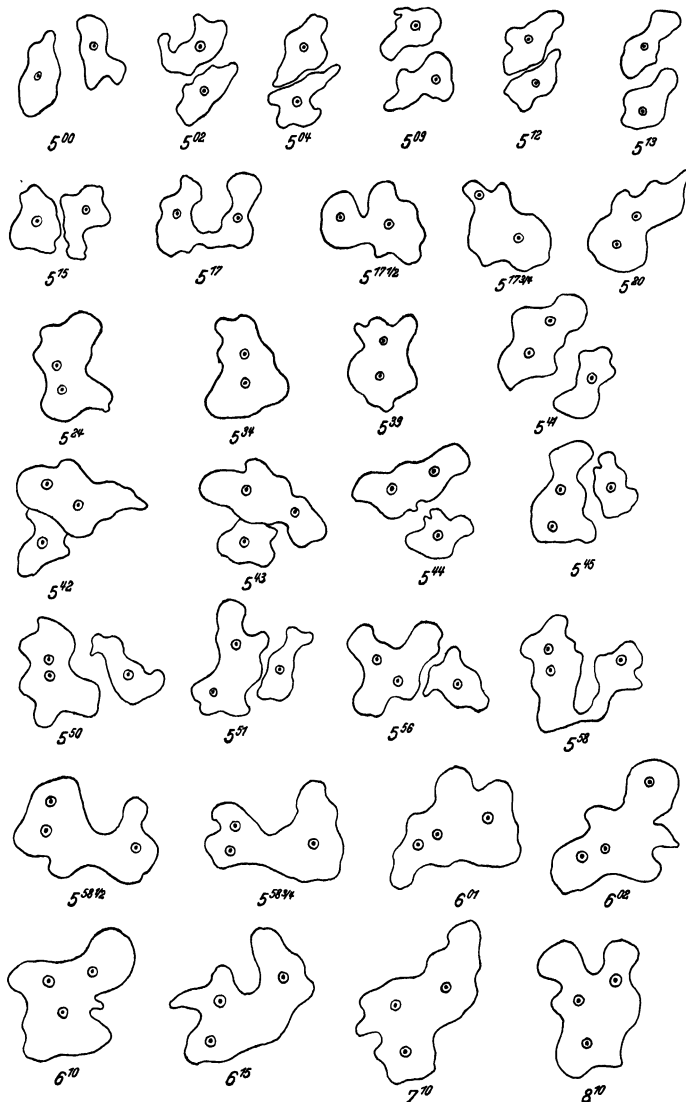


Abb. 1.

5 Uhr 58 Minuten: Verschmelzung des zweikernigen Plasmodiums mit der einkernigen Amöbe, Produkt dreikernig.

6 „ 10 Minuten, 6 Uhr 15 Minuten, 7 Uhr 10 Minuten, 8 Uhr 10 Minuten: drei Kerne vorhanden.

Also $2\frac{3}{4}$ Stunden nach der ersten Plasmaverschmelzung war noch keine Kernverschmelzung erfolgt. Die während der Beobachtung gemachten Zeichnungen siehe Abb. 1, S. 644.

Ein anderer Fall der Verschmelzung:

- 16 Uhr 27 Minuten: 2 Amöben, beide einkernig, liegen dicht beieinander.
 16 „ 28 $\frac{1}{2}$ Minuten: Verschmelzung dieser beiden Amöben, Produkt ist zweikernig.
 16 „ 30 Minuten: Ein dreikerniges Plasmodium kommt hinzu.
 16 „ 35 „ Die beiden Plasmodien liegen dicht aneinander.
 16 „ 35 $\frac{1}{2}$ Minuten: Verschmelzung zum fünfkernigen Plasmodium.
 16 „ 39 Minuten: Plasmodium bleibt fünfkernig.
 16 „ 42 „ Plasmodium bleibt fünfkernig.
 Es folgen die zugehörigen Zeichnungen (Abb. 2).

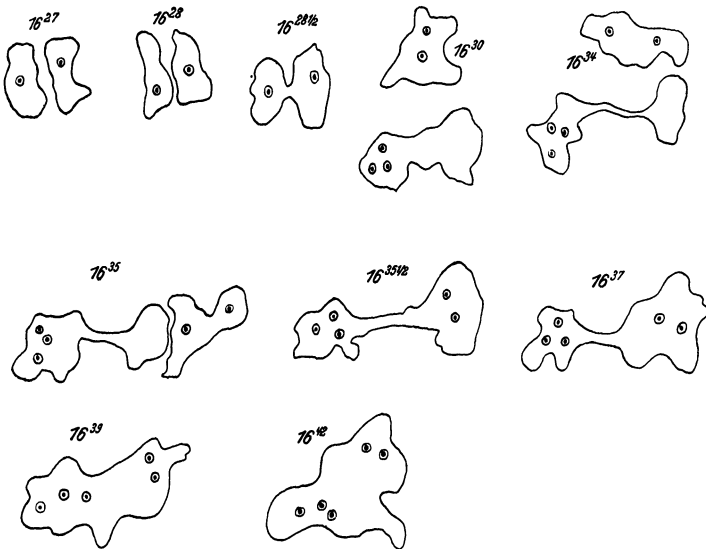


Abb. 2. Verschmelzung von zwei haploiden Amöben zum zweikernigen haploiden Plasmodium; ein dreikerniges haploides Plasmodium kommt hinzu, es findet Verschmelzung zum fünfkernigen haploiden Plasmodium statt. Schematisch dargestellt.

Wir könnten diese Beispiele um einige vermehren, im Rahmen dieser Arbeit möchten wir uns auf diese zwei Fälle beschränken.

Die Verschmelzung der kleinen Plasmodien untereinander schreitet fort. Nach Verlauf einiger Stunden finden wir nur noch wenige, vielleicht 5—10 Plasmodien im Tropfen, die schließlich zu einem großen Plasmodium zusammenfließen.

Wir haben uns bemüht, im jungen 2—4—6-kernigen Plasmodium eine etwa eintretende Kernverschmelzung lebend zu beobachten; alle derartigen Versuche waren vergeblich. Die Kerne liegen zwar häufig dicht beieinander, scheinen sich sogar ein wenig gegeneinander abzuflachen, doch im nächsten Augenblick ändern sie ihre Lage und Gestalt. Sobald

dann nach einigen Stunden die Protoplasmaströmung einsetzt und größere Vakuolen auftreten, wird jedes weitere sichere Verfolgen der Kerne im Plasmodium illusorisch. *Haploide Amöben* fließen also zum *haploiden Plasmodium* zusammen.

b) *Zytologische Studien*. Mit diesem Ergebnis war ich an der Grenze des experimentell Möglichen angelangt. Diese Dauerbeobachtung, die ich dreimal mit demselben Ergebnis durchführte, sowohl mit Einsporen- wie mit Mehrsporenkulturen (3 und 6 Sporen), gestattete mir nicht, weiter in das Problem des Sexualaktes einzudringen. Ob und wie lange die Plasmodien haploid blieben, konnte allein noch die zytologische Untersuchung klären, die ich nun bei *Didymium nigripes* aufnahm. Ich versuchte, den Phasenwechsel zu finden und zytologisch zu klären und mußte dazu folgendes feststellen:

1. Die Chromosomenzahl der Amöben.
2. Die Chromosomenzahl der Plasmodien.
3. Die Chromosomenzahl bei der Sporenbildung.

Amöbenuntersuchung. Die zytologischen Arbeitsmethoden sind oben mitgeteilt worden; wir treten also gleich in die Beobachtung ein.

Bei systematischem Durchsuchen eines Tropfens auf dem Kreuztisch gelingt es alsbald, Teilungen von Amöben zu finden. Jedoch verschwinden, wie wir wissen, vor der Teilung fast sämtliche Vakuolen der Amöben, die Zellen runden sich ab und besitzen so ein undurchsichtiges, kompaktes Protoplasma.

Metaphase und Anaphase sind so für zytologische Studien nicht geeignet; zum Zählen der Chromosomen bleiben allein die Prophasen und Telophasen. Besonders bei letzterem Stadium, oftmals bereits nach völliger Trennung der beiden Tochteramöben, ist die Zahl der Chromosomen einwandfrei festzustellen. Auch in der Prophase fand ich einige brauchbare Stadien.

Die Chromosomenzahl der Amöben von *Didymium nigripes* beträgt 8 ± 1 , 8 als Durchschnittswert, 7—9 Chromosomen wurden oftmals gezählt. Eine genaue Angabe möchte ich absichtlich vermeiden; in erster Linie war mir daran gelegen, die Chromosomenzahl der Größenordnung nach festzustellen.

Es bedarf anfangs einiger Vorsicht, um zu vermeiden, daß man in denjenigen Amöben, die in bezug auf Kernfärbung überdifferenziert sind, die Bakterien in den Vakuolen als Kernteilungsstadium ansieht.

Ich fand in den Amöbenteilungen die Chromosomenzahl 8, und zwar in einem Tropfen, in dem sich gleichzeitig schon sehr viele kleine Plasmodien mit allen denkbaren Kernzahlen befanden; der Tropfen war also im Stadium der Plasmodiumbildung. Dies erscheint uns außerordentlich wesentlich für die spätere theoretische Deutung.

Plasmodienuntersuchung. Für die Plasmodien fand ich als typisches

Merkmal, daß bei der Kernteilung die Teilungen nicht so synchron verlaufen wie wir es bei den später zu besprechenden Fruchtkörpern sehen werden; es befinden sich zwar mehr oder weniger alle Kerne in Mitose, doch ist das Teilungsstadium auch in einem ganz kleinen Plasmodiumstück sehr verschieden; man kann Metaphasen, Anaphasen und Telo-phasen dicht beieinander finden. Es ist fernerhin auffallend, daß meist sämtliche Spindeln in Polansicht im Plasmodium gelagert sind. Vielleicht wird dies hervorgerufen durch die Protoplasmaströmung im Plasmodium.

Um zum Zählen der Chromosomen brauchbare Platten zu bekommen, schnitt ich, wie oben ausgeführt, die in Mitose befindlichen Plasmodien quer. — Es wurde bei dieser Gelegenheit die Dicke eines Plasmodiums mit 10—12 μ ermittelt. — Ich erhielt auf diese Weise mehr Teilungen in Plattenansicht; später habe ich allerdings im Plasmodium, das noch nicht quergeschnitten war, auch in der Aufsicht zählbare Platten erhalten und die Chromosomenzahl der Metaphasenplatte des Plasmodiums mit 16 ± 2 festgestellt; 14—18 Chromosomen zählte ich oftmals, als Durchschnittswert von 20—25 Zählungen möchte ich 16 Chromosomen annehmen.

Es bedarf hier einer guten Beobachtung, um nicht gleich große Bakterien in den Vakuolen als Chromosomen zu zählen. Als sicheres Merkmal einer Mitose galt mir das Vorhandensein der Kernmembran, die bei einer Prophase- oder Metaphasenplatte noch ganz oder stückweise sichtbar ist.

Fruchtkörperuntersuchung. Es galt jetzt die Verhältnisse bei der Fruchtkörperbildung zu untersuchen. Es ist hier nicht der Ort, eine ausführliche morphologische Schilderung der Fruchtkörperbildung zu geben. Die einzelnen Stadien dieses Vorganges, wie Plasmaverdichtung, Einstellung der Strömung, Bildung des Stieles, Abrundung des Sporangiums und schließlich Ausbildung der Sporen, sind durch JAHNS und anderer Untersuchungen hinreichend bekannt. Uns interessieren in dieser Arbeit nur die zytologischen Verhältnisse bei der Sporenbildung.

Zu diesem Zwecke fixierte ich recht häufig sämtliche Stadien der Fruchtkörperbildung vom ganz jungen Fruchtkörper bis zum ausgereiften Sporangium. Oftmals beginnt die Fruchtkörperbildung am frühen Morgen. Vormittags sind die Sporangien in voller Größe ausgebildet und gegen Abend ausgereift. Die ganze Entwicklung währt 15 bis 20 Stunden. Der äußerlich sichtbare Reifungsvorgang der Sporangien verlief z. B. nach folgendem Schema:

Weißes Aussehen der Sporangien bis.	19 Uhr
Beginnende bräunliche Färbung der Sporangien um	20 „
Bräunliche Färbung der Sporangien um	21 „
Dunkelbraune Färbung der Sporangien um	21 ¹ / ₂ Uhr
Beginnende schwärzliche Färbung der Sporangien um	23 ¹ / ₂ „
Schwärzliche Färbung der Sporangien um	24 Uhr.

Ich fixierte nun gleichzeitig aus 5—6 Schalen heraus und entnahm jeder Schale in jeder Stunde 2 Fruchtkörper; es waren meist 20—30 Fruchtkörper auf einer Schale vorhanden.

Leider ist es nicht möglich, *einen* Fruchtkörper in Abständen zu fixieren. Man ist deshalb darauf angewiesen, die Kernteilungen durch zeitlich verschiedenes Fixieren der Fruchtkörper *einer Schale* zu finden. Dies ist meines Erachtens ohne Bedenken möglich, weil die Erfahrung lehrt, daß die Fruchtkörper einer Schale sich fast immer in demselben Reifestadium befinden und zu gleicher Zeit die Kernteilung vornehmen. So verdient der Einwand keine Geltung, daß durch das Fixieren von verschiedenen Fruchtkörpern in Abständen vielleicht nicht alle Stadien ermittelt seien. Durch Häufen, durch gleichzeitiges Fixieren aus vielen Schalen heraus, die sich ja alle wieder in verschiedenen Stadien befinden, werden diese Bedenken hinfällig.

Die jungen Fruchtkörperstadien zeigten schöne Kernfärbungen; oftmals waren mehrere Nukleoli in einem Kern sichtbar (Vierzahl vorherrschend), auch degenerierende Kerne waren zahlreich vorhanden, besonders an der Fruchtkörperwand. Doch niemals fand ich Kernteilungen in diesen jungen, schwach durchsichtigen, äußerlich glänzenden Sporangien. Kernteilungen fanden im Fruchtkörper nur ganz kurz vor der Sporenbildung statt; vielleicht 1—2 Stunden vor der beginnenden, äußerlich schwach sichtbaren bräunlichen Färbung des Sporangiums.

Dieses Stadium wurde nun durch $1/2$ — $1/4$ stündiges Fixieren weiterhin zerlegt und so die Gewißheit gewonnen, daß sämtliche Teilungen zunächst bis zur Sporenbildung ermittelt waren.

Als besondere Regelmäßigkeit fiel uns alsbald auf, daß innerhalb eines Fruchtkörpers sämtliche Kerne in demselben Teilungsstadium sich befinden, im Gegensatz zu den Beobachtungen im Plasmodium. Man hat oft 1000 und mehr Mitosen derselben Phase auf einem Objektträger, braucht jedoch, was die Arbeit sehr erleichtert, nur wenige oder gar eine Mitose auf ihr Stadium zu untersuchen. Damit ist das Stadium aller Mitosen dieses Fruchtkörpers festgestellt.

Wir fanden bei *Didymium nigripes* bis zur Sporenbildung regelmäßig 2 mitotische Teilungen im Fruchtkörper und zwar die erste Teilung bei der „*groben Zerklüftung*“ des Plasmas, die zweite Teilung bei der „*feinen Zerklüftung*“ des Plasmas, bei der Zerklüftung in 2—3fache Sporengröße. Fast das ganze Plasma des Sporangiums wird zur Sporenbildung aufgeteilt, denn das Capillitium ist bei *Didymium nigripes* nur sehr dürftig entwickelt. Die Zerklüftung setzt von den Rändern des Fruchtkörpers ausgehend sich ins Innere fort. Es treten zunächst schmale Risse und Spalten auf, die sich mehr und mehr vergrößern; das Plasma teilt sich in einige größere Portionen, „*grobe Zerklüftung*“. Bei der ersten mitotischen Teilung, die wir regelmäßig während dieses Stadiums fanden,

lagern sich die Mitosen mit besonderer Vorliebe am Rande dieser Spalten, die Spindelrichtung meist parallel zur Längsrichtung des Spaltes; dies ist ein sehr charakteristisches Phänomen, das jedem Beobachter sofort auffällt. — Die Zerteilung des Plasmas schreitet weiter fort, es setzt die „feine Zerklüftung“ ein. Die Plasmaportionen haben jetzt 2—3fache Sporengröße (oftmals auch größer); in diesem Stadium fand ich regelmäßig eine zweite mitotische Teilung. Eine besondere Spindelrichtung war hier nicht mehr zu beobachten. Befand sich diese zweite Teilung im vorgerückten Stadium, so konnte man die nächste und letzte Einschnürung des Plasmas oftmals deutlich feststellen. Jeder kleine Plasma- teil erhält *einen* Kern, von einigen Ausnahmen abgesehen, wo durch unregelmäßige Aufteilung einmal 2 Kerne auf eine Spore entfallen.

Wir setzen zunächst die Betrachtung der weiteren Entwicklung fort und fragen: Wie steht es mit Kernteilungen in der jungen und der reifenden Spore?

Alle Stadien, die eine halbe Stunde nach der zweiten Teilung und später laufend bis zur völligen Reife des Sporangiums fixiert wurden, waren einkernig, mit einigen Ausnahmen, wo 2 Kerne festgestellt wurden. Wenn schon die Kerne der ganz jungen Spore aus mir unbekanntem Gründen im allgemeinen nicht so deutlich färbbar sind wie die Kerne der reifen Spore oder die des zerklüfteten Plasmas, so waren sie, soweit sichtbar, in überwiegend großer Zahl einkernig und blieben einkernig bis zur Sporenreife (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3. *Didymium nigripes*. Fruchtkörper fixiert am 14. XII. 1928.

Aussehen d. Sporangien	Fixierungszeit	Mikrotombefund
rein weiß	13 Uhr	Fruchtkörper mit Kernfärbung, noch nicht reif zur Sporenbildung
„ „	14 „	schwach beginnende Zerklüftung des Plasmas
„ „	16 „	Plasma weiter zerklüftet
„ „	18 „	Plasma „grob“ zerklüftet, 1. Kernteilung in Metaphase
„ „	19 „	Plasma in Sporengröße, keine Kernteilung
beginnende bräunliche Färbung	20 „	Sporen 1-kernig, keine Kernteilung
bräunliche Färbung	21 „	1-kernige Sporen mit schwacher Membran
„ „	22 „	1-kernige Sporen mit deutlicher Membran
dunkelbräunl. Färbung	22 ^{1/2} „	1-kernige Sporen mit ausgebildeter Membran
beginnendeschwärzliche Färbung	23 „	Dasselbe
sich steigernde	23 ^{1/2} „	„
schwärzliche Färbung	24 „	„
„ „	24 ^{1/2} „	„

In jungen, noch membranlosen Sporen fand ich allerdings einige Male eine typische Spindel. Obwohl dieser Fall äußerst vereinzelt auftrat, habe ich daraufhin wiederholt gerade diese Stadien bis zur Sporenreife auf Kernteilungen in der Spore untersucht, aber niemals regelmäßig auftretende Kernteilungen gefunden.

Nun zu den beiden Kernteilungen selbst; diese beiden Mitosen verlaufen derartig rasch nacheinander, daß man bei $\frac{1}{2}$ —Istündigem Fixieren meistens nur das eine oder das andere Stadium findet (siehe Tabelle 3). Einmal ist es mir gelungen, beide Teilungen zeitlich nacheinander nachzuweisen (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4. *Didymium nigripes*. Fruchtkörper fixiert am 4. I. 1929. Schema stellt den Verlauf der beiden zeitlich rasch nacheinander folgenden Kernteilungen dar.

Fixierungszeit	Mikrotombefund
22 ¹⁰	Fruchtkörper noch nicht reif zur Sporenbildung, keine Zerklüftung des Plasmas, Kerne gefärbt
22 ¹⁷	Dasselbe
22 ²⁵	„
22 ³⁰	„
22 ⁴⁰	geringe Zerklüftung des Plasmas, Kerne gefärbt, Kerne nicht in Mitose
22 ⁵⁵	Zerklüftung sich vergrößernd
23 ⁰⁵	„ „ „
23 ²⁵	„ „ „
23 ⁴⁵	Zerklüftung nicht ganz so stark wie 23 ²⁵
24 ⁰⁵	Erste mitotische Kernteilung in Metaphase, grobe Zerklüftung des Plasmas
24 ¹⁵	Zweite mitotische Kernteilung in Anaphase, Plasma in 2- bis 3facher Sporengröße
24 ³⁰	Z. T. noch späte Telophasen der 2. Teilung, Plasma in Sporengröße, Sporen einkernig
24 ⁵⁰	Plasma in Sporengröße, keine Mitosen, Sporen einkernig
24 ⁵⁵	Plasma in Sporengröße, Kerne selten noch in ganz später Telophase, Sporen einkernig

Ich habe im Laufe der sehr ausgedehnten Untersuchung sämtliche Phasen der beiden Teilungen gefunden. Die Chromosomenzahl der einzelnen Stadien war folgende:

1. Die Metaphase der 1. Teilung 16 Chromosomen.
2. Die ganz frühe Anaphase der 1. Teilung 32 Chromosomen.
3. Die Metaphase der 2. Teilung 16 Chromosomen.
4. Die Anaphase der 2. Teilung 8 Chromosomen.

Die ganz frühe Anaphase der 1. Teilung mußte durch leichtes Verstellen der Mikrometerschraube festgestellt werden. Diese Anaphase zeigte überraschenderweise etwa 30 Chromosomen. Durch die 2. Teilung

wurde die Zahl der Chromosomen auf die Hälfte reduziert. Über Geminibildung wie über die Gestaltsverhältnisse der einzelnen Chromosomen ließ sich trotz stärkster Vergrößerung wegen der Kleinheit der Objekte nichts aussagen. Die Chromosomen waren rund und alle von gleicher Größe.

Der Ring der Entwicklung ist somit geschlossen.

Wie finden nun diese experimentellen und zytologischen Untersuchungen, die einander ergänzen, eine richtige Deutung?

Offenbar weisen bei *Didymium nigripes* die Amöben die haploide, die Plasmodien die diploide Chromosomenzahl auf. Die Dauerbeobachtung legt fest, daß eine Plasma- und Kernverschmelzung von Amöben bis zur Plasmodiumbildung nicht stattfindet, daß bei der Plasmodiumbildung zwei oder mehrere Amöben gleichzeitig plasmatisch verschmelzen. Eine Karyogamie erfolgt nicht unmittelbar auf diese Plasmogamie, vielmehr verschmelzen noch weitere Amöben, die in der Nähe sich befinden, mit dem Plasmodium.

Das zytologische Bild überzeugt uns davon, daß die Amöben während der Plasmodiumbildung nach haploid sind, sie weisen 8 Chromosomen auf. Im größeren Plasmodium sind die Kerne diploid. Eine Kernverschmelzung konnten wir weder experimentell noch zytologisch in fixierten Präparaten beobachten. Es bleibt keine andere Deutung als die, daß die Kerne im jüngeren Plasmodium zu je 2 miteinander verschmelzen und so die Diplophase, das ältere Plasmodium, entsteht. Die Reduktionsteilung liegt bei der Fruchtkörperbildung. Es finden zwei Kernteilungen statt. Durch die zweite Teilung wird die Chromosomenzahl von 16 auf 8 reduziert. In der Spore finden regelmäßig keine Kernteilungen mehr statt. Die sehr selten gefundenen mitotischen Teilungen in der Spore stellen wohl Ausnahmen dar, die zu zweikernigen Sporen führen. — Aus der Spore schlüpft eine Amöbe mit 8 Chromosomen im Kern.

4. Die Frage der Geschlechtsdifferenzierung bei einigen Arten.

Durch unsere Dauerbeobachtungen mit Einsporenkulturen hatten wir die Frage der Geschlechtsdifferenzierung für *Didymium nigripes* schon angeschnitten. Diese Frage, die bis heute bei den einzelnen Myxomycetenarten sehr umstritten ist, griffen wir nun auf und widmeten der Lösung eine besondere Sorgfalt und Ausdauer.

Es wurden folgende Arten auf die Frage Haplomonöcie oder Haplodöcie hin untersucht:

1. *Didymium nigripes* FRIES.
2. *Didymium difforme* DUBY. a) Göttinger Material, b) Material von SKUPIENSKY.
3. „*Didymium nigripes* SKUPIENSKY“ = *Didymium squamulosum* (ALB. + SCHWEINL.).

4. *Physarum leucopus* LINK.

5. Eine auf Gletschern der Stubaiier Alpen isolierte Myxomycetenart unbekannter Bestimmung.

Zunächst noch einmal zu *Didymium nigripes* FRIES. Ich machte Einsporenkulturen im hängenden Tropfen und beobachtete in gewissen Zeitabständen die Entwicklung. Um alle irgendwie möglichen Fehlerquellen auszuschalten, die ein ungenaues Arbeiten oder eine Störung der normalen Entwicklung mit sich bringen können, arbeitete ich mit großen Versuchszahlen. Ich habe im Laufe der Untersuchung insgesamt über 200 Einsporenkulturen von *Didymium nigripes* gemacht und unter günstigen Bedingungen nach 3—4 Tagen stets Plasmodien erhalten. Die Plasmodien vergrößerten sich im hängenden Tropfen in den nächsten Tagen außerordentlich und zogen sich oftmals durch den ganzen Tropfen hin. Sie waren dann mit bloßem Auge sichtbar. Zur weiteren Entwicklung brachte ich die Deckgläschen, mit den hängenden Tropfen nach oben, auf eine Heudekoktagarplatte unter Zusatz der nötigen Nährflüssigkeit. Ich erhielt nach weiteren 10—14 Tagen schöne große Plasmodien, die über die ganze Schale hinkrochen und nach weiteren 5 bis 6 Tagen stets fruktifizierten. In über 100 Fällen habe ich aus derartigen Einsporenkulturen Fruchtkörper von normaler Größe erhalten.

Bei Mehrsporenkulturen ging die Entwicklung nicht wesentlich rascher; es scheint somit jede Amöbe erst eine gewisse Anzahl von Teilungen durchmachen zu müssen, bevor sie zur Plasmodiumbildung befähigt ist (siehe Tabelle 5).

Außerdem spielt bei der Teilung der Amöben die Menge und Konzentration der Nährlösung eine wesentliche Rolle.

Ich habe dann das erste Teilungsstadium von *Didymium nigripes* isoliert, weil immerhin die Möglichkeit bestand, daß dieses die geschlechterverteilende Teilung ist.

Zu diesem Zwecke machte ich auf Objektträgern, die mit dünner, feinstfiltrierter 2,5% iger Agarschicht versehen waren, Einsporenkulturen, ließ die Sporen im hängenden Agarblöckchen keimen und verfolgte genau die ausschlüpfende Amöbe und den Eintritt der ersten Teilung. Es ist hierbei besonders darauf zu achten, daß das hängende Agarblöckchen stets genügend Feuchtigkeit behält, weil die Amöbe sonst sofort in das Cystenstadium übergeht. Sobald die beiden Tochteramöben nach Verlauf von 1—2 Stunden sich genügend weit voneinander entfernt hatten, durchschnitt ich mit einer feinen Lanzette das Agarblöckchen und trennte die Abkömmlinge der ersten Teilung. Ich habe dies Experiment, das anfangs schwierig erscheint, sehr häufig vorgenommen und nach einiger Übung mit großer Sicherheit durchgeführt. Diese isolierten Abkömmlinge der ersten Teilung ergaben ebenfalls in derselben Zeit Plasmodien und Fruchtkörper. Dieser Versuch wurde über 100mal gemacht.

Ich isolierte dann das zweite Teilungsstadium auf dieselbe Weise, trennte also die ersten vier Amöben. Auch hier erhielt ich Plasmodien und Fruchtkörper, die sich von den Plasmodien und Fruchtkörpern der Vielsporenkulturen in nichts unterschieden.

Die Fruchtkörper der Einsporenkulturen wurden als Einsporenkulturen wieder angesetzt und zeitigten *dasselbe* Ergebnis.

Dieselben Versuche wurden anschließend mit *Didymium difforme* DUBY (*Chondrioderma difforme*) gemacht. Es war Material aus der Umgebung von Göttingen. Diese Art unterscheidet sich im Entwicklungsgang von *Didymium nigripes* dadurch, daß stets zwei kugelige Plasmamasen oder auch zwei Schwärmer bereits aus der Spore ausschlüpfen. Hier findet also die erste Teilung in der Spore statt, denn die ungekeimte Spore ist ein-kernig.

Tabelle 5. Angesetzt am 6. XI. 1928, 20³⁰. *Didymium nigripes* FRÉES. Schema stellt Verlauf der Keimung, Entwicklung und Plasmodiumbildung dar.

Zahl der Sporen	6. XI.						7. XI.			8. XI.				9. XI.				
	21 ¹⁰	21 ³⁰	22 ³⁰	23 ⁰	24 ⁰⁰		8 ¹⁰	12 ³⁰	14 ¹⁰	18 ⁰⁰	20 ¹⁰	23 ¹⁰	1 ³⁰	7 ¹⁰	12 ¹⁰	22 ¹⁰	7 ³⁰	12 ³⁰
1	n. g.	n. g.	n. g.	n. g.	1 A.		1	1	1	2	2	2	4	4	5	13	24	B. Pl.
1	"	"	B. K.	B. K.	1 A.		1	1	1	1	2	2	2	3	4	10	24	"
1	"	"	"	"	1 A.		1	1	2	2	2	2	2	4	7	12	20	"
1	"	"	"	"	1		1	1	2	2	4	4	8	10	10	27	46	"
3	"	"	"	"	2 B. K., 2 B. K., 2 A.		3	5	6	6	6	8	10	16	20	45	B. Pl.	Pl.
3	"	"	"	"	1 n. g., 1 n. g., 1 n. g.		3	5	6	6	6	10	11	14	25	50	∞	B. Pl.
3	"	"	"	"	2 B. K., 2 B. K., 2 A., 2 A.		3	5	6	6	6	10	11	14	25	48	∞	"
3	"	"	"	"	1 n. g., 1 n. g., 1 n. g., 1 n. g.		3	3	6	6	6	7	8	13	20	50	∞	"
3	"	"	"	"	2 B. K., 2 A., 2 A.		3	3	6	6	6	7	8	13	20	50	∞	"
6	"	"	"	"	1 n. g., 1 n. g., 1 n. g., 1 n. g., 5 B. K., 5 A.		6	6	8	8	12	18	20	23	30	80	∞	Pl.

n. g. = nicht gekeimt; B. K. = Beginn der Keimung; A. = Amöbe; Pl. = Plasmodium; B. Pl. = Beginn der Plasmodiumbildung; ∞ = sehr viele Amöben.

Tabelle 6. *Didymium difforme* SKUPIENSKY. Einsporenkulturen im hängenden Tropfen. Plasmodium- und Frucht-

Tropfen Nr.	23. V.		24. V.		25. V.	26. V.		27. V.			28. V.
	9 ³⁰	18 ³⁰	6 ⁴⁰	15 ⁰⁰	9 ⁰⁰	8 ⁰⁰	22 ⁰⁰	7 ³⁰	16 ⁰⁰	21 ⁰⁰	7 ⁰⁰
15a	Spore ungekeimt	2	3	4	6	31	150	>200	∞	∞	∞
15b	dasselbe	2	4	4	10	60	160	>200	∞	∞	∞
94a	„	2	3	6	22	120	>200	∞	∞	B. Pl.	1 gr. Pl.
94b	„	2	4	4	20	130	>200	B. Pl.	kl. Pl.	Pl.	2 gr. Pl.
78a	„	nicht gekeimt	2	3	4	7	45	91	150	∞	∞
40a	„	2	4	5	9	67	250	∞	∞	∞	L. Pl.
16b	„	nicht gekeimt	2	4	4	25	75	170	∞	∞	1 kl. Pl.
48a	„	2	4	4	6	51	175	>200	B. Pl.	B. Pl.	2 gr., 4 kl. Pl.
48b	„	2	4	4	4	34	140	>200	∞	∞	∞
24a	„	2	2	3	8	56	200	>200	∞	∞	∞
66a	„	2	4	4	5	50	>200	∞	∞	B. Pl.	Pl.
86a	„	2	3	4	5	41	>200	∞	∞	B. Pl.	8 gr. Pl.
86b	„	2	4	4	6	24	95	∞	B. Pl.	45 A. 6 Pl.	5 gr. Pl. 32 A.
63b	„	2	4	4	6	10	15	24	48	105	145
95a	„	2	2	2	5	64	175	∞	∞	∞	∞
95b	„	2	4	4	7	31	125	240	∞	∞	∞
91a	„	2	4	4	4	14	88	>200	∞	∞	∞
23b	„	nicht gekeimt	2	4	4	16	46	115	>200	∞	∞
84a	„	2	2	4	30	90	250	∞	1 kl. Pl.	10 kl. Pl.	12 gr. Pl.
46a	„	2	2	4	26	115	∞	∞	∞	∞	∞
46b	„	2	3	4	9	95	∞	∞	∞	∞	∞
105b	„	2	4	4	8	63	175	∞	∞	B. Pl.	4 Pl.

Erläuterung der Abkürzungen: ∞ = sehr viele Amöben, über 200; A. = Amöben; Pl. = Plasmodium; kl. Pl. = kleines Plasmodium. Schale = hängender Tropfen wird

Angesetzt 23. V. 1929, 9⁰⁰ mit *Daucus carota*-Dekokt. Schema stellt Amöbenteilung, Körperbildung dar.

28. V.	29. V.	30. V.	31. V.	1. VI.	2. VI.	5. VI.	7. VI.	8. VI.	9. VI.	11. VI.	
20 ³⁰	9 ¹⁰	8 ⁰⁰	8 ⁰⁰	9 ⁰⁰	22 ⁰⁰	10 ⁰⁰	9 ⁰⁰	9 ⁰⁰	10 ⁰⁰	9 ⁰⁰	
∞	∞ Cysten	∞ A.	∞ Cysten	∞ A.	∞ A.	∞	∞	Pl. (Schale)			
∞	∞	∞	B. Pl.	viele Pl. (Schale)							25. VI. Fruchtk.
2 Pl.	1 sehr gr. Pl.	1 sehr gr. Pl.	Schale								
2 gr. Pl.	2 sehr gr. Pl.	1 sehr gr. Pl.	"								
∞	4 Pl.	4 Pl.	"								25. VI. Fruchtk.
Pl.	2 Pl.	2 gr. Pl.	"								
2 Pl.	2 gr. Pl.	2 gr. Pl.	"								24. VI. Fruchtk.
2 gr. Pl.	2 sehr gr. 4 gr. Pl.	4 sehr gr. 4 gr. Pl.	"								
∞	Cysten	∞ A.	∞	Cysten	∞ A.	Cyst.	Pl. Schale				20. VI. Fruchtk.
∞	"	1 Pl.	1 gr. Pl.	2 Pl.	Schale						
Pl.	1 gr. Pl.	1 sehr gr. Pl.	Schale								
4 gr. Pl.	3 gr., 4 kl. Pl.	5 sehr gr. Pl.	"								
7 gr. Pl.	7 sehr gr. Pl.	2 sehr gr. 1 kl. Pl.	"								
1 kl. Pl.	2 Pl.	2 sehr gr. Pl.	2 Pl.	Schale							
∞	∞	∞	1 kl. Pl.	1 Pl.	Schale						25. VI. Fruchtk.
∞	∞	∞	∞	∞	Cyst.	∞ A.	B. Pl.	viele Pl. (Schale)			25. VI. Fruchtk.
∞	∞	∞	∞	Cysten	∞ A.	Cyst.	∞ A	kl. Pl.	Schale		21. VI. Fruchtk.
∞	∞	∞	2 Pl.	4 Pl.	Schale						18. VI. Fruchtk.
12 gr. Pl.	gr. Pl.	4 sehr gr. 8 gr. Pl.	Schale								
∞	∞	Cysten	∞ A.	∞	∞	B. Pl.	sehr vie- le kl. Pl.	Schale			22. VI. Fruchtk.
∞	∞	"	∞ A.	∞	∞	B. Pl.	sehr vie- le kl. Pl.	"			25. VI. Fruchtk.
6 gr. Pl.	6 gr. Pl.	1 sehr gr. 6 gr. Pl.	Schale								

modium; B. Pl. = Beginn der Plasmodiumbildung; gr. Pl. = großes Plasmodium; auf Agarschale gebracht. Fruchtk. = Fruchtkörper.

Tabelle 7. *Didymium difforme* SKUPIENSKY. Einschwärmerkulturen, angesetzt am

Tropfen Nr.	24. V.	25. V.	26. V.		27. V.		28. V.		29. V.	30. V.
	16 ⁰⁰	9 ⁰⁰	9 ⁰⁰	22 ⁰⁰	8 ⁰⁰	21 ⁰⁰	7 ⁰⁰	21 ⁰⁰	9 ¹⁰	9 ⁰⁰
79b	1 Fl.	1	2	4	9	42	73	75, 2 Pl.	30, 2 gr. Pl.	4 gr. Pl.
49b	1 „	1	10	35	62	150	>200	∞	∞ Cysten	∞ A.
92b	1 „	1	12	40	68	170	>200	∞	∞	∞
92a	1 „	2	12	43	95	200	2 kl. Pl.	2 gr. Pl.	2 gr. Pl.	1 gr. Pl.
55a	1 „	1	32	36	41	85	125	∞	∞	∞
55b	1 „	2	20	45	48	65	120	∞	∞	∞
53b	1 „	1	3	10	18	50	110	∞	∞	∞
53a	1 „	1	16	26	65	6 kl. Pl.	4 gr. Pl.	4 Pl.	4 Pl.	2 gr. Pl.
41a	1 „	1	72	35	68	>200	∞	Cysten	∞ A.	∞
41b	1 „	2	15	35	48	75	>200	∞	∞	5 kl. Pl.
20a	1 „	1	9	29	55	56	73	150	175	∞
20b	1 „	1	4	17	38	74	95	105	120	∞
35a	1 „	2	2	7	8	30, 2 Pl.	65	kl. Pl.	2 Pl.	2 gr. Pl.

Erläuterung der Abkürzungen: Fl. = Flagellat; A. = Amöbe; Pl. = Plasmodium; kl. Pl. =
laten, mehr als 200.

Die Einsporenkulturen von *Didymium difforme* ergaben bei normaler Entwicklung stets Plasmodien. Nach 3—5 Tagen traten im hängenden Tropfen schon kleine Plasmodien auf. Dieser Versuch ist 120mal mit demselben Erfolge durchgeführt worden. Aus den Plasmodien bildeten sich stets Fruchtkörper.

Überhaupt habe ich bei allen Arten, mit denen ich arbeitete, aus Plasmodien unter günstigen Ernährungsbedingungen stets Fruchtkörper erhalten. Plasmodien, die nicht fähig sind zu fruktifizieren, habe ich nicht beobachtet.

Bei *Didymium difforme* wurde nun auch das erste Teilungsstadium isoliert. Es wurden die beiden ausschließenden Amöben voneinander getrennt, die oftmals schon begeißelt waren, aber auf dem Agarblöckchen sich nur wenig voneinander entfernen konnten. Es bildeten sich ebenfalls Plasmodien — 70mal durchgeführt —, die auf Schalen fruktifizierten.

24. V. 1929, 16⁰⁰. Schema stellt Teilung der Amöben und Plasmodiumbildung dar.

31. V.	1. VI.	2. VI.	5. VI.	7. VI.	8. VI.	9. VI.	11. VI.	13. VI.	
9 ⁰⁰	9 ⁰⁰	10 ⁰⁰	9 ⁰⁰	12 ⁰⁰	15 ⁰⁰	9 ⁰⁰	11 ⁰⁰	14 ⁰⁰	
Schale									20. VI. Fruchtk.
∞	∞	B. Pl.	Pl. Schale						
∞ Cysten	∞ A.	∞ A.	∞	∞ Cysten	∞	B. Pl. Schale			22. VI. Fruchtk.
Schale									
kl. Pl.	Schale								20. VI. Fruchtk.
∞	∞	∞	∞ Cysten	∞ A.	∞ Cysten	∞ A.	∞	Pl. Schale	18. VI. Fruchtk.
∞ Cysten	∞ A.	∞ Cysten	∞	∞	B. Pl.	4 Pl. Schale			25. VI. Fruchtk.
Schale									
∞	∞	B. Pl.	Pl. Schale						19. VI. Fruchtk.
Schale									20. VI. Fruchtk.
Cysten	∞ A.	kl. Pl.	gr. Pl. Schale						
„	∞ A.	∞	Pl.	Schale					21. VI. Fruchtk.
Schale									20. VI. Fruchtk.

kleines Plasmodium; gr. Pl. = großes Plasmodium; ∞ = sehr viele Amöben und Flagel-Fruchtk. = Fruchtkörper.

Ebenso wurden *Physarum leucopus* LINK und eine auf den Gletschern der Stubaier Alpen isolierte Myxomycetenart unbekannter Bestimmung untersucht. Sie zeigten die gleichen Verhältnisse: In Einsporenkulturen Plasmodien und Fruchtkörper.

Es war immerhin nicht ganz ausgeschlossen, wenn auch höchst unwahrscheinlich, daß diese Arten Rassen aufweisen, die sich in der Frage der Geschlechtsverteilung unterscheiden. Wir konnten so vielleicht die Gegensätze überbrücken, die unsere Untersuchungen zu denen anderer Forscher, besonders denen von SKUPIENSKY, darstellten. Um in dieser Frage sicher zu gehen, baten wir SKUPIENSKY um sein Material. Wir erhielten u. a. *Didymium difforme*, das wir mit unserem Material identifizierten, außerdem *Didymium nigripes*, das nach BUCHET ein *Physarum* ist und von JAHN als *Didymium squamulosum* bestimmt wurde.

Ich prüfte beide Arten auf Heterothallie, machte Einsporenkulturen

Tabelle 8. *Didymium nigripes* SKUPIENSKY. Einsporenkulturen, angesetzt am 9. IV. 1929, 11⁰⁰. Schema stellt Entwicklung bis zum Plasmodium dar.

Tropfen Nr.	9. IV.	10. IV.	11. IV.	12. IV.	14. IV.	15. IV.	16. IV.	18. IV.	21. IV.
	21 ⁰⁰	9 ³⁰	9 ³⁰	9 ⁰⁰	18 ⁰⁰	15 ⁰⁰	10 ⁰⁰	11 ⁰⁰	22 ⁰⁰
3a	1	2	5	7	∞	∞	∞	Plasm.	Plasm.
4b	2	2	4	12	∞	∞	∞	∞	
35a	1	2	3	9	∞	∞	Plasm.	Plasm.	Plasm.
35b	n. g.	n. g.	2	5	∞	∞	∞		
7a	2	2	4	7	∞	∞	∞	∞	Plasm.
40a	2	2	4	8	200	∞	∞	Plasm.	
40b	2	2	4	8	110	∞	∞	Plasm.	Plasm.
76a	2	2	4	31	∞	Plasm.	Plasm.	Plasm.	
76b	1	2	4	23	∞	Plasm.			
50a	n. g.	2	4	21	∞	∞	Plasm.	Plasm.	Plasm.
50b	1	2	4	12	∞	∞	∞		
92b	n. g.	2	—	12	∞	∞	∞	Plasm.	Plasm.
17a	n. g.	2	4	15	∞	∞	∞	Plasm.	
17b	1	2	6	23	∞	∞	∞	Plasm.	Plasm.
46b	2	3	5	11	∞	∞	Plasm.		
53a	1	2	4	15	∞	∞	∞	Plasm.	

Erläuterung der Abkürzungen: n. g. = nicht gekeimt; ∞ = sehr viele Amöben und Flagellaten, über 200.

und trennte wiederum das erste Teilungsstadium, das bei „*Didymium difforme* SKUPIENSKY“ in der Spore, bei „*Didymium nigripes* SKUPIENSKY“ außerhalb der Spore liegt. Bei beiden Arten erhielt ich in Einsporenkulturen stets Plasmodien, die nach einiger Zeit normal fruktifizierten.

Vorstehende Tabelle 6, die wir mit SKUPIENSKYS *Didymium difforme* aufgenommen haben, gibt einen Ausschnitt aus diesen Beobachtungen: von der Sporenkeimung bis zur Plasmodien- und Fruchtkörperbildung. Es ist die jeweilige Anzahl der Amöben eingetragen und so die Teilungsrate zu ersehen. Die Tabelle zeigt, daß die Plasmodiumbildung sich oftmals recht lange hinzog, es konnten 10—15 Tage vergehen, bis im hängenden Tropfen die ersten Plasmodien auftraten. Es bildeten sich — wahrscheinlich infolge Nahrungsmangels — häufig sämtliche Amöben in Cysten um. Die Cysten kehrten bei Hinzufügen frischer Nährlösung bald wieder in den Amöbenzustand zurück. Schließlich sammelten sich die Amöben zu Haufen an und verschmolzen nach kürzerer oder längerer Zeit sämtlich miteinander. Eine Dauerbeobachtung wurde mit *Didymium difforme* nicht gemacht, somit läßt sich über die Kernverhältnisse beim Verschmelzen nichts aussagen.

Genau so verhielten sich die Abkömmlinge der ersten Teilung von *Didymium difforme* SKUPIENSKY. Diese Einschwärmerkulturen bildeten stets Plasmodien und Fruchtkörper (siehe Tabelle 7).

Anschließend wurden dieselben Versuche mit *Didymium nigripes* SKUPIENSKY = *Didymium squamulosum* nach JAHN angestellt. Sowohl Einsporenkulturen wie die Abkömmlinge der ersten Teilung ergaben stets Plasmodien und Fruchtkörper. Wir teilen das Protokoll der Beobachtung einer solchen Einsporenkultur von *Didymium nigripes* SKUPIENSKY in Tabelle 8 mit.

Wir haben also nachgewiesen, daß bei den untersuchten Arten keine genotypische Geschlechtsdifferenzierung besteht, daß es weder + - und - - Amöben, noch + - und - - Plasmodien gibt, daß vielmehr die *Abkömmlinge einer Spore wohl umstände sind, Plasmodien und Fruchtkörper zu bilden*. Die untersuchten Arten sind also haplomonöisch.

5. Besprechung der Ergebnisse.

Inwiefern weichen nun die Ergebnisse dieser Arbeit von der herrschenden Lehrmeinung ab?

Sie unterscheiden sich von JAHNS Untersuchungen in zwei Punkten:

1. bei der Plasmodienbildung,
2. bei der Reduktionsteilung.

Wir führen zunächst als Lehrmeinung R. v. WETTSTEINS Handbuch der Systematik an: „Nach längerer oder kürzerer Zeit erfolgt die Kopulation je zweier Myxamöben und die Vereinigung der so gebildeten Myxamöbenzygoten zu größeren Plasmamassen, dem Plasmodium.“

Plasmogamie und unmittelbar folgende Karyogamie der Amöben leiten also die Diplophase ein. JAHN schreibt hierüber: „Tötet man ein möglichst junges Plasmodium, so läßt sich feststellen, daß die kleinsten Plasmodien immer nur einen Kern haben.“ „Eine Kernverschmelzung lebend habe ich nicht beobachtet,“ sagt JAHN ausdrücklich, „jedoch an fixierten Präparaten Stadien mit zwei eng aneinander liegenden, sogar gegeneinander abgeplatteten Kernen gesehen, die das Vorhandensein einer Kopulation zeigen.“ JAHN hat einmal ein einkerniges Plasmodium mit der diploiden Chromosomenzahl gefunden.

In der neuen Bearbeitung der Myxomyceten (1928) in ENGLERS „Natürliche Pflanzenfamilien“ führt JAHN folgendes aus: „Die Schwärmer können Nahrung aufnehmen und sich mehrfach teilen, schließlich kopulieren sie wohl bei den meisten Arten; die auf diese Weise entstandene Amöbe ist der einkernige Zustand des Plasmodiums. Dieses wächst unter fortgesetzten Karyokinesen der Kerne heran und verschmilzt mit großen und kleinen Plasmodien. Über alle diese Vorgänge liegen nur wenige zuverlässige Beobachtungen vor.“

Die Deutung unserer Versuche stimmt im wesentlichen, im Phasenwechsel, mit JAHNS Ansichten überein. Allerdings findet bei *Didymium nigripes* eine Verschmelzung von je zwei haploiden Amöben zu einer Amöbe mit einem diploiden Kerne nicht statt. Wir beobachteten ein

gleichzeitiges Verschmelzen mehrerer Amöben und möchten dies für *Didymium nigripes* als Normalfall annehmen. Eine Kernverschmelzung findet in dem jungen mehrkernigen haploiden Plasmodium nicht gleich statt, sondern erst im älteren Plasmodium sind die Kerne diploid. Im jungen Plasmodium finden wir alle Kernzahlen, die denkbar sind, nicht nur Potenzen von zwei, wie JAHN für *Didymium effusum* vorwiegend feststellte, sondern eben so oft ungerade Kernzahlen von drei an aufwärts.

WILSON und CADMANN stellten bei *Reticularia lycoperdon* eine Verschmelzung von je zwei Flagellaten fest, doch fanden sie des öfteren auch eine gleichzeitige Kopulation mehrerer Schwärmer; es erscheint uns dies sehr beachtenswert.

Mit unseren Ergebnissen stimmen auffallend die von SKUPIENSKY bei *Didymium difforme* überein: „... le plasmode peut être constitué non seulement par la fusion de deux myxamibes (+) et (—), mais par un plus grand nombre de ceux-ci. Donc le nouvel élément — appelé communément zygote — peut être bi-, tri-, quadri- ou même plurinucléé. Il est entendu qu'une zygote binucléée peut aboutir à un plasmode capable de fructifier aussi bien que les zygotes plurinucléées.

Les noyaux de ces éléments nouvellement formés ne se fusionnent pas immédiatement après la fusion des myxamibes, ils restent libres et se divisent après un certain temps de repos par le procédé caryocinétique. Que ces noyaux ne soient pas des noyaux diploides, mais haploides, le nombre de chromosomes pendant leur division nous l'indique très bien.

Aux plasmodes bien différenciés peuvent se joindre d'autres myxamibes gamètes, rencontrés sur leurs parcours. Plusieurs plasmodes peuvent se fusionner et former ainsi un grand plasmode.

A part cela, les myxamibes attardés dans leur développement et étant en état d'enkystement, deviennent la proie des plasmodes. Il arrive au bout de quelques jours, un moment capital de l'évolution d'un plasmode: les noyaux haploides, qui subissaient jusqu'à présent les divisions successives, entrent en copulation.“

In seinem beigefügten Schema gibt SKUPIENSKY ausdrücklich die jungen Plasmodien mit haploiden Kernen an. Er stellte die Kopulation an fixierten Präparaten fest. Wenn wir auch in bezug auf die Amöbenverschmelzung und Kernverschmelzung durchaus mit SKUPIENSKY übereinstimmen, so halten wir es für gewagt, aus fixierten Präparaten eine bevorstehende Kernverschmelzung feststellen zu wollen.

KNIEP schreibt in seiner „Sexualität der niederen Pflanzen“: „Vor allen Dingen müssen wir wissen, wo die Reduktionsteilung liegt.“

Sie liegt für *Didymium nigripes* zweifellos unmittelbar vor der Sporenbildung im Fruchtkörper.

Bisher nahm die herrschende Lehrmeinung bis zur Sporenbildung nur eine karyokinetische, heterotype Teilung, eben diese Reduktionsteilung,

an. WILSON und CADMANN fanden bei *Reticularia lycoperdon* eine heterotype und eine gleich darauf folgende homöotype Teilung.

Es finden bei *Didymium nigripes* FRIES bis zur Sporenbildung zwei Kernteilungen statt, und zwar, wie oben ausgeführt, je eine bei der groben und der feinen Zerklüftung des Plasmas.

Bei beiden Kernteilungen finden wir in der Metaphasenplatte die Chromosomenzahl 16. Diese Tatsache bietet zunächst eine gewisse Unklarheit, weil sonst die heterotype Teilung der homöotypen stets voranzugehen pflegt. Es gibt zwei Möglichkeiten, diese Abweichung zu erklären: Entweder ist die erste Teilung eine einfache homöotype Teilung und geht der heterotypen voraus, oder der Sekundärspalt, der die homöotype Teilung bewirkt, ist schon so weit ausgebildet, daß wir es mit einer Tetradenbildung zu tun haben; die Reduktionsteilung verläuft dann während der beiden Teilungen.

Diese Schwierigkeit findet übrigens ein Analogon in JAHNS Untersuchungen an *Ceratiomyxa* (1907): „Kurz vor der Sporenbildung erfolgt eine Karyokinese, aber gleich darauf eine zweite, die deutlich eine Reduktionsteilung ist.“

Nach der Reduktionsteilung nahm man bis jetzt keine weitere Teilung der Kerne an. Neuerdings berichtet JAHN in „ENGLERS natürlichen Pflanzenfamilien“ über zwei Kernteilungen, die DRÖGE¹ nach der Sporenbildung in der Spore feststellte. „Die Spore ist somit wie bei *Ceratiomyxa* zunächst vierkernig; drei Kerne degenerieren.“

Unsere Untersuchungen konnten eine regelmäßig auftretende doppelte Teilung in der Spore für *Didymium nigripes* nicht bestätigen.

Selbstverständlich gelten alle diese Feststellungen nur für unser *Didymium nigripes* FRIES und dürfen nicht beanspruchen, auf andere Arten ausgedehnt zu werden, bevor nicht weitere Untersuchungen zu dem gleichen Ergebnis kommen. Abb. 3 stellt schematisch den Entwicklungsgang von *Didymium nigripes* dar, wie wir ihn heute auf Grund der Beobachtungen auffassen. (Siehe Seite 662.) —

Bei Besprechung der Ergebnisse bezüglich der Geschlechtsdifferenzierung geraten wir in einen unüberbrückbaren Gegensatz zu den bisherigen Arbeiten.

Wir halten es für möglich, daß bei der verwirrenden Anzahl von Synonyma die einzelnen Forscher mit verschiedenen Arten gearbeitet haben und dadurch Mißverständnisse und anders lautende Ergebnisse zu erklären sind.

PINOY (1908) nahm bei *Didymium nigripes* Getrenntgeschlechtlichkeit der Sporen an, weil er in einigen Kulturen gelbe, in anderen schwarzviolette Plasmodien erhielt, die nicht fruktifizierten. In wieder anderen

¹ DRÖGES Arbeit ist bis heute nicht veröffentlicht worden.

Kulturen traten weißlich-graue Plasmodien auf, die Fruchtkörper bildeten. Die gelben und schwarz-violetten Plasmodien zusammengebracht ließen Fruchtkörper entstehen. PINOY macht keine Angaben darüber, ob er Einsporenkulturen gemacht hat. Die Frage der Getrenntgeschlechtlichkeit der Sporen läßt sich allein durch Einsporenkulturen entscheiden. Wir haben niemals gelbe und schwarz-violette Plasmodien in unseren Kulturen gesehen. Auch beobachteten wir unter normalen Bedingungen keine Sklerotien, von denen PINOY berichtet. „PINOYs Versuche haben also“, mit KNIEP gesprochen, „gewiß nichts mit der Sexualität der Myxomyceten zu tun und können nicht als Beispiel einer Getrenntgeschlechtlichkeit nach Art der Mucorineen herangezogen werden.“

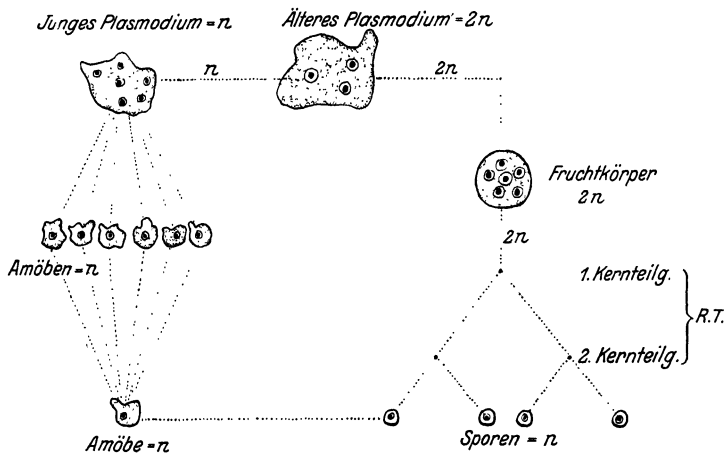


Abb. 3. Entwicklungsschema von *Didymium nigripes* FRIES.

Nach unseren Untersuchungen ist *Didymium nigripes* FRIES zweifellos haplomonöisch.

SKUPIENSKY arbeitete mit *Didymium difforme*. Er erhielt aus Einsporenkulturen keine Plasmodien und kam zu dem Schluß: „Les cultures monospermes m'ont permis, de résoudre complètement le problème de la sexualité chez le *Didymium difforme*. *Didymium difforme* est donc une espèce hétérothallique.“

Wir bedauern SKUPIENSKY nicht beipflichten zu können. Unsere Untersuchungen ergaben sowohl mit unserem eigenen *Didymium difforme* als mit dem *Didymium difforme* von SKUPIENSKY in Einsporenkulturen stets Plasmodien. Es ist uns das Ergebnis von SKUPIENSKY unerklärlich. Vielleicht wurde eine Störung der normalen Entwicklung durch Nahrungsmangel oder sonstige ungünstige Einflüsse hervorgerufen. Vielleicht wurde nicht so lange beobachtet, bis die Plasmodien sich bildeten. Tabelle 8 und 9 zeigen, daß oftmals 10—15 Tage vergingen, bis es zur Plas-

modiumbildung kam. Ein Versuchsfehler liegt bei uns nicht vor, da sämtliche Kulturen dasselbe Ergebnis zeitigten; z. B. erhielten wir in einer Versuchsreihe von 30 Einsporenkulturen in 30 Tropfen Plasmodien.

Die Methode von SKUPIENSKY, mit einer feinen Pipette einzeln die Sporen in die Röhrchen zu bringen und dort die Entwicklung abzuwarten, läßt ein Beobachten von Stunde zu Stunde nicht zu, wie wir es im hängenden Tropfen bei unseren Versuchen gemacht haben.

Für „*Didymium nigripes* SKUPIENSKY“, das nach BUCHET ein *Physarum*, nach JAHN *Didymium squamulosum* ist, postuliert SKUPIENSKY eine Geschlechtsverschiedenheit der Abkömmlinge der ersten Teilung. Wir untersuchten mit SKUPIENSKYS Material diese Frage und kamen zu dem Ergebnis, daß diese erste Teilung keine Geschlechteraufteilung vornimmt.

6. Zusammenfassung.

Als Ergebnis dieser Untersuchungen fasse ich den Entwicklungsgang des untersuchten Myxomyceten *Didymium nigripes* FRIES folgendermaßen zusammen:

Aus einer haploiden Spore entwickeln sich durch vegetative Teilung haploide Flagellaten und Amöben. Letztere treten zu zunächst haploiden Plasmodien zusammen. Während der Weiterentwicklung der Plasmodien treten wahrscheinlich bald die Kernverschmelzungen ein, wodurch diploide Plasmodien entstehen. Sie schließen mit der Reduktionsteilung ab, die in zwei Teilungsschritten wieder zur Bildung haploider Sporen führt. Es liegt also ein antithetischer Generationswechsel vor; die haploide Generation umfaßt Spore, Flagellaten, Amöben und junge Plasmodien, die diploide Generation besteht aus den alten Plasmodien und den Fruchtkörpern bis zur Sporenbildung.

Die Geschlechtsverteilung entspricht der Haplomonöcie. Die Geschlechtertrennung erfolgt phänotypisch in der haploiden Generation. Die Verschmelzung findet unter Abkömmlingen einer einzigen Spore statt. Letzteres wurde für die Myxomycetenarten *Didymium nigripes* FRIES, *Didymium difforme* (Göttinger Material und Material von SKUPIENSKY), *Didymium squamulosum* (Material von SKUPIENSKY), *Physarum leucopus* LINK und einen Myxomyceten unbestimmter systematischer Zugehörigkeit festgestellt.

Diese Untersuchungen wurden ausgeführt vom Wintersemester 1927 bis Sommersemester 1929 in den botanischen Anstalten der Universität Göttingen auf Anregung und unter Leitung des Herrn Prof. Dr. FR. v. WETTSTEIN. Ich darf auch an dieser Stelle meinem verehrten Lehrer herzlichst danken für das große Interesse und die stete Hilfsbereitschaft, die er meiner Arbeit entgegenbrachte. Herr Prof. Dr. JAHN, Hann.

Münden war so liebenswürdig, einige Arten zu bestimmen. Herrn Prof. Dr. SKUPIENSKY-Warschau danke ich für Überlassung seines Materials. Einen besonderen Dank schulde ich Herrn Lehrer DRÖGE-Berlin, der mir oftmals mit gutem Rat zur Seite stand. Die Doktoranden unseres Institutes, besonders Herr Dr. KARL ERICH MAASS und Herr cand. rer. nat. MELCHERS, unterstützten mich freundlicherweise bei den Dauerbeobachtungen.

7. Literaturverzeichnis.

de Bary: Die Mycetozoen. Leipzig 1864. — **Bruck:** Beiträge zur Physiologie der Mycetozoen. Z. Physiol. 1907. — **Cienkowski:** Zur Entwicklungsgeschichte der Myxomyceten. Jb. f. wiss. Bot. 3 (1893). — **Constantineanu:** Über die Entwicklungsbedingungen der Myxomyceten. Ann. Mycologicae 4 (1906). — **Jahn:** Myxomycetenstudien. 6. Kernverschmelzung und Reduktionsteilung. Ber. dtsch. bot. Ges. 25 (1907). — Myxomycetenstudien. 7. Ceratiomyxa. Ebenda 26 a (1908). — Myxomycetenstudien. 8. Der Sexualakt. Ebenda 29 (1911). — Myxomycetenstudien. 12. System der Myxomyceten. Ebenda 46 (1928). — Die Myxomyceten. In: Englers Natürl. Pflanzenfamilien 2 (1928). **Kniep:** Sexualität der niederen Pflanzen. Jena: Gustav Fischer 1928. — **Pinoy:** Sur l'existence d'un dimorphisme sexuel chez un myxomycète *Didymium nigripes* Fries. C. r. Soc. Biol. Paris 64 (1908). — **Schinz:** Myxogasteres. In: Rabenhorsts Flora 10 (1920). — **Skupiensky:** Sur la sexualité chez les Champignons Myxomycètes. C. r. Acad. Sci. Paris 165 (1917). — Sur le cycle évolutif chez une espèce de Myxomycètes Endosporée. *Didymium difforme*. Ebenda 184 (1927). — Etude biocytologique. *Didymium difforme*. Acta Societ. Bot. Poloniae 5, Nr 3 (1928). — **v. Wettstein, R.:** Handbuch der systematischen Botanik (1924). — **Wilson-Cadmann:** The Life-History and Cytology of Reticularia Lycopodon Bull. Trans. roy. Soc. Edinburgh. 55, Part. III, Nr 24 (1928).

Erklärung der Abbildungen auf Tafel I.

Material: *Didymium nigripes* FRIES.

- Abb. 1 und 2. Amöbe, Kernteilung in Prophase.
Abb. 3. Amöbe, Kernteilung in Anaphase.
Abb. 4. Amöbe, Kernteilung in später Telophase.
Abb. 5. Amöbe, Kernteilung in später Telophase. Tochteramöben schon fast getrennt.
Abb. 6, 7 und 8. Älteres Plasmodium, Kernteilung in Metaphase.
Abb. 9. Älteres Plasmodium, frühe Anaphase in Spindelansicht.
Abb. 10 und 11. Älteres Plasmodium, späte Anaphase in Spindelansicht.
Abb. 12. Fruchtkörper, 1. Kernteilung in Metaphase.
Abb. 13, 14, 15 und 16. Fruchtkörper, 1. Kernteilung in früher Anaphase in Plattenansicht.
Abb. 17 und 18. Fruchtkörper, 2. Kernteilung in Metaphase.
Abb. 19, 20, 21 und 22. Fruchtkörper, 2. Kernteilung in Anaphase in Spindelansicht.
Abb. 23. Fruchtkörper, sehr junge Spore, Kernteilung in Metaphase.
Abb. 24. Fruchtkörper, sehr junge Spore, Kernteilung in Anaphase.
Abb. 25. Fruchtkörper, „grobe Zerklüftung“ des Plasmas.
Abb. 26. Fruchtkörper, „feine Zerklüftung“ des Plasmas.

LEBENS LAUF.

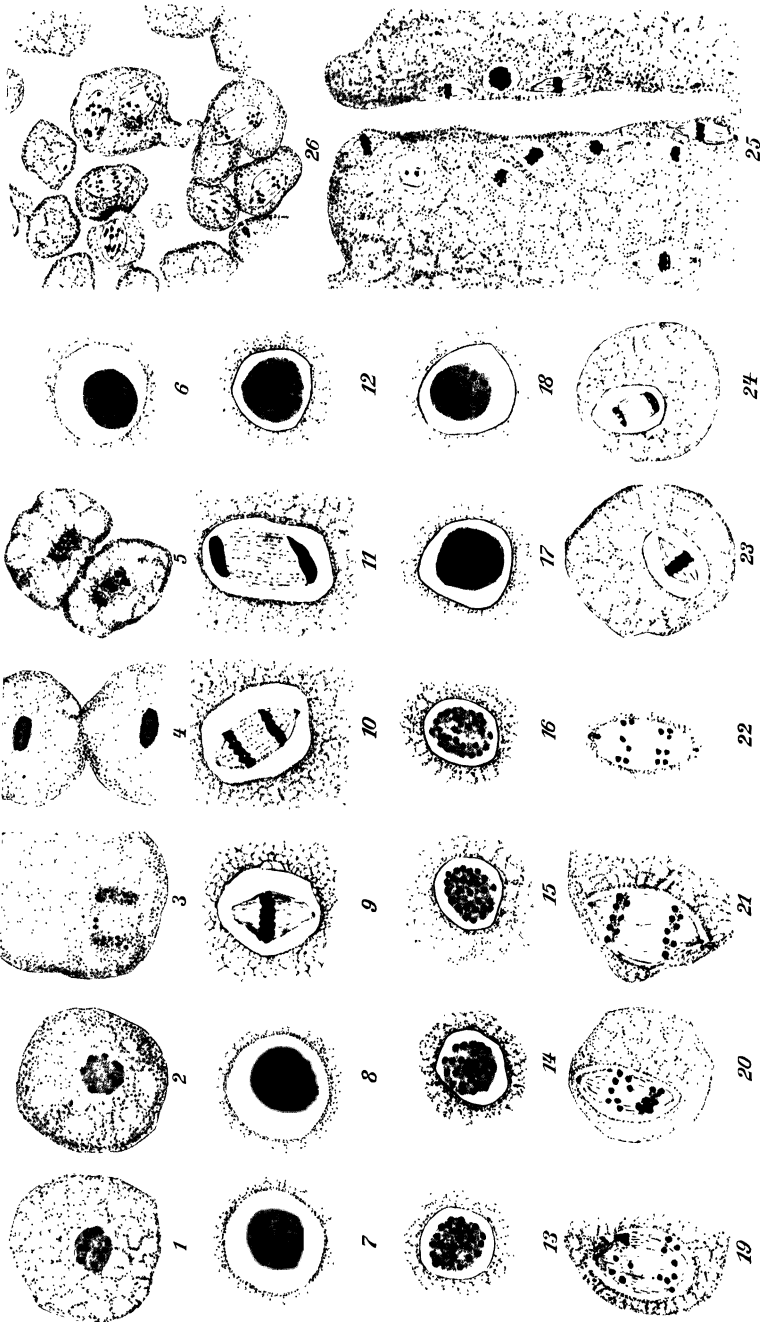
Ich, ERICH SCHÜNEMANN aus Rosche bei Uelzen, wurde am 29. November 1902 in Zwischenahn bei Oldenburg als Sohn des Pastors H. SCHÜNEMANN geboren.

Nach je dreijährigem Besuch der Volksschule und Privatschule in Rosche wurde ich in die Tertia des Realgymnasiums in Uelzen aufgenommen. An dieser Anstalt machte ich Ostern 1921 die Reifeprüfung.

Nach dreijähriger pharmazeutischer Praxis begann ich 1924 in Göttingen mit dem Studium der Pharmazie, das ich im November 1926 mit dem Apotheker-Staatsexamen beschloß. Anschließend arbeitete ich im Pflanzenphysiologischen Institut der botanischen Anstalten der Universität Göttingen und erhielt im Oktober 1927 von Herrn Professor Dr. von WETTSTEIN als Dissertationsarbeit das Thema: Untersuchungen über die Sexualität der Myxomyceten.

Am 24. Juli 1929 bestand ich das mündliche Doktorexamen.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.



Didymium nigripes Fries. Erläuterung der Zeichnungen auf Seite 672.