



De perithecium-ontwikkeling van *Monascus purpureus* Went en *Monascus Barkeri* Dangeard in verband met de phylogenie der Ascomyceten

<https://hdl.handle.net/1874/254207>

A 40192

Phys. 8 juli 1904

De perithecium-ontwikkeling van
Monascus purpureus Went en
Monascus Barkeri Dangeard in
verband met de phylogenie der
Ascomyceten :- :- :-

H. P. KUYPER

ht

DE PERITHECIUM-ONTWIKKELING VAN
MONASCUS PURPUREUS WENT EN MONASCUS
BARKERI DANGEARD IN VERBAND MET DE
PHYLOGENIE DER ASCOMYCETEN

Diss. Utrecht 1904

**De perithecium-ontwikkeling van *Monascus purpureus*
Went en *Monascus Barkeri* Dangeard in verband
met de phylogenie der Ascomyceten**

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN

DOCTOR IN DE PLANT- EN DIERKUNDE

AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT

NA MACHTING VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS

Dr. H. C. SPRONCK

Hoogleraar in de Faculteit der Geneeskunde

VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAAT DER UNIVERSITEIT

TEGEN DE BEDENKINGEN VAN

DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUURKUNDE

TE VERDEDIGEN

op Vrijdag 8 Juli 1904 des namiddags ten 3 ure

DOOR

HENDRIK PIETER KUYPER

geboren te HEERENVEEN



Aan mijn Vader.

*Bij het eindigen van mijne akademische opleiding
betuig ik allen, die tot mijne vorming hebben bijgedragen,
mijnen dank.*

*Behalve aan Prof. Hubrecht en Prof. Wichmann,
denk ik hierbij in de eerste plaats aan Prof. Went, die
niet alleen tijdens het bewerken van het voorliggende
proefschrift, maar gedurende mijnen geheelen studietijd,
mij zijne deelnemende belangstelling heeft geschonken.*

INHOUD.

	Pag.
INLEIDING	1
HOOFDSTUK I.	
KRITISCHE BESCHOUWINGEN OVER DE NIEUWERE OPVATTINGEN VAN DEN ASCUS	3
HOOFDSTUK II.	
DE HEMIASCI	
<i>A.</i> Algemeene beschouwingen	19
<i>B.</i> Bijzondere vormen	24
Protomyces	25
Taphridium	39
Endogone	42
Ascoidea	47
Oscarbrefeldia	60
Conidiascus	63
Dipodascus	63
Thelebolus	70
Helicosporangium	75
Papulaspora	80
Monascus	82

HOOFDSTUK III.

ONDERZOEK VAN MONASCUS

Monascus purpureus Went	99
Monascus Barkeri Dang.	109

HOOFDSTUK IV.

PHYLOGENIE DER ASCOMYCETEN	117
CONCLUSIES	137
LITERATUUR	141
VERKLARING DER FIGUREN	145

INLEIDING.

Het oorspronkelijk doel van het werk, waarvan de resultaten in de volgende bladzijden zijn neergelegd, was, met behulp der nieuwe techniek, de bijzonderheden van de sporenontwikkeling bij *Monascus purpureus* Went aan het licht te brengen.

Tijdens mijne werkzaamheden verscheen er een artikel van IKENO over 't zelfde onderwerp en even te voren waren door BARKER resultaten gepubliceerd, verkregen bij het onderzoek van eene schimmel, welke hij meende tot het geslacht *Monascus* te moeten brengen. IKENO'S waarnemingen waren totaal afwijkend van die van BARKER en buitendien waren ten opzichte van beide *Monascus*-soorten, eenige vragen onopgelost gebleven, zoodat het alleszins gerechtvaardigd scheen het eens begonnen onderzoek voort te zetten.

De aard der resultaten, welke hierbij verkregen werden, leidde er toe ze in verband te brengen met de feiten, welke omtrent de sporenontwikkeling bij de *Ascomyceten* in de laatste jaren aan het licht zijn gekomen. Tengevolge hiervan ontstond er sterke twijfel aangaande de juistheid der opvatting, welke de *Ascomyceten* afleidt van de *Zygomyceten*. Eene kritische beschouwing van de wijze, waarop

die opvatting was ontstaan en van de feiten, welke tegen haar kunnen worden aangevoerd, versterkten dien twijfel nog en brachten me er toe eene poging te wagen de phylogenie der Ascomyceten langs eenen anderen weg aannemelijk te maken, waarbij dan tevens de groep der Hemiasci in een ander, zij het ook minder scherp, licht komt te staan, dan tot nu toe.

Om dit doel te bereiken deel ik de stof in als volgt:

1. Kritische beschouwingen over de homologie van ascus en Zygomyceten-sporangium.
2. Behandeling der Hemiasci.
3. Onderzoek van *Monascus purpureus* Went en *Monascus Barkeri* Dangeard.
4. Phylogenie der Ascomyceten.

HOOFDSTUK I.

Kritische beschouwingen over de homologie van ascus en zygomycetensporangium.

Nadat DE BARY in 1863 een begin had gemaakt met zijne publicaties over de sexualiteit der Ascomyceten, is dat werk door hem zelf, door zijnen medewerker WORONIN en door verschillende zijner leerlingen voortgezet.

DE BARY'S eigen verdere onderzoekingen, welke het geheele gebied der Fungi betreffen, zijn achtereenvolgens neergelegd in zijne „Beiträge zur Morph. und Phys. der Pilze”, welke hij in verbinding met WORONIN uitgaf.

In 1881 verscheen de IV Reihe, waarin we een hoofdstuk „Grundlagen eines natürlichen Systems der Pilze” vinden. Hierin heeft DE BARY zijne „Ascomycetenreihe” ontwikkeld, bestaande uit :

Chlorophyceæ

|

Mycoidea

Monoblepharis

|

Perenosporæ

|

Erysipheæ

|

Ascomyceten.

Aan deze reeks sloten zich volgens DE BARY zijdelings op verschillende plaatsen de overige natuurlijke groepen der Fungi aan.

Het is moeilijk te ontkennen, dat men zich in dien tijd blind gekeken heeft op deze „Ascomycetenreihe” en alle werkkraft in de mycologie besteed werd of om sexualiteit bij verschillende Ascomyceten-vormen te ontdekken of, door de tegenstanders, om deze sexualiteit te kunnen tegenspreken.

Een der verdienstelijkste leerlingen van DE BARY is ongetwijfeld OSCAR BREFELD. In het begin van zijn wetenschappelijken loopbaan was hij tevens DE BARY'S volgeling, zooals dat o.a. bleek in Heft II zijner „Bot. Unters. über Schimmelpilze”. Later is hij DE BARY'S tegenstander geworden.

In de latere deelen van zijn grooten arbeid heeft hij met eene bewonderenswaardige volharding het hoofddoel van zijn streven trachten te bereiken, n.l. het bewijs te leveren, dat de hogere schimmels, Ascomyceten en Basidiomyceten, asexueel zijn. Niet genoeg kan de quantiteit zoowel als de qualiteit van dezen arbeid geprezen worden. De alles bezielende gedachte is eene geniale geweest, het uitwerken er van eene reuzendaad en nog lang zal BREFELD'S systeem datgene zijn, dat door den moed, waarmede eens opgevatte principes zijn doorgevoerd, geleid heeft tot eene tot nu toe ongekenne eenvoudigheid.

Het vuur, soms een onheilig vuur, waarmede hier de asexualiteit der Ascomyceten bepleit wordt, is alleen te begrijpen als reactie op de sexualiteitenjacht van DE BARY'S school en het mag ons zeker niet verwonderen, dat dit dogma zijnen verdediger hier en daar verleid heeft tot zeer gewaagde

conclusies, die niet altijd den toets der kritiek kunnen doorstaan.

De methode van onderzoek, welke door BREFELD is gevolgd, is eene vergelijkend-morphologische, maar te veel gespecialiseerd naar ééne richting, die der uitwendige morphologie. Van den beginne af is de inwendige morphologie en meer in 't bijzonder de cytologie ter zijde geschoven; op eenige zeer dun gezaaide plaatsen komt deze even te voorschijn; nooit wordt er dieper op cytologische quaesties ingegaan, hoogstens worden ze met een machtwoord ter zijde gezet. Ook deze fout is tot op den laatsten tijd met verbazingwekkende halsstarrigheid volgehouden en heeft geleid tot uitingen ten opzichte van de beste jongere onderzoekers, die den objectieven beoordeelaar zeer onaangenaam treffen.

Een der zwakste punten in BREFELD'S systeem lijkt bij nadere beschouwing zijne groep der Hemiasci.

In de Hemiasci zijn — getuige de geschiedenis van haar ontstaan, zooals deze in het IXde Heft der Bot. Unters. über Schimmelp. beschreven is — Ascomyceten voorondersteld, en het zal dus voor ons doel noodig zijn BREFELD'S opvatting over deze groote groep van schimmels in hare ontwikkeling na te gaan.

Zooals boven reeds kort vermeld werd, leverde BREFELD in 1874 met z'n onderzoekingen over de ontwikkeling van de ascusvrucht bij *Penicillium* nog eene bijdrage tot DE BARY'S Ascomyceten-sexualiteit en we lezen in dat IIde Heft ¹⁾ steeds over „ascogon” en „pollinodium”.

1) Waar in 't vervolg sprake is van 't zooveelste Heft, wordt bedoeld een deel van BREFELD'S Bot. Unters. über Schimmelpilze I—XII.

In het IVde Heft 1881 vinden we den schrijver reeds terug als heftig bestrijder van z'n leermeester. De opvatting, welke daar op pag. 140 en volg. over de Ascomyceten gegeven wordt, is niet overal even duidelijk. De physiologische beteekenis van pollinodium en ascogonium, zooals die door DE BARY en z'n school was vastgesteld, wordt ontkend, maar niet de mogelijkheid, dat de ascusvrucht homoloog is met geslachtelijke vruchtvormen bij phylogenetisch oudere thallophyten.

Op pag. 147 l. c. vinden we dit in de volgende woorden uitgedrukt :

„Die drei Fruchtförm der Ascomyceten würden demnach den Fruchtförm niederer Pilze und anderer Thallophyten homolog so gedeutet werden können, dass die keimenden Conidien der dort vorkommenden ungeschlechtlichen Sporenfructification; die beiden anderen, die Spermatienträger und Früchte, und die Ascusfrüchte den geschlechtlichen Früchten, den männlichen und weiblichen entsprechen. Da nun aber bei den untersuchten Ascomyceten die Ascusfrüchte ungeschlechtlich entstehen und ihre Sporenkeimfähig sind, so müsste angenommen werden, dass sie den weiblichen Charakter verloren haben und ungeschlechtlich geworden sind, und dass nur in den Spermarien der vermuthete männliche Charakter in ihrer Keimungsunfähigkeit als das Rudiment einstiger Sexualität dieser Pilze oder vielmehr der Geschlechtlichkeit ihrer Fruchtförm sich erhalten hätte.“

Alleen STAHL'S waarnemingen aangaande de apotheciën van sommige Lichenen worden niet geheel verworpen, ofschoon ze weinig overtuigend worden genoemd.

In het bovenstaande citaat wordt niet duidelijk, waarmee de ascus homoloog is en een logisch verband met het daaropvolgende ontbreekt daardoor.

Op pag. 155 n.l. stelt BREFELD de vorming der sporen in een ascus — het characteristicum der Ascomyceten — en in een sporangium aan elkaar gelijk en „damit hat der Ascus seinen Charakter verloren; er kann für nichts anderes mehr gelten als für ein Sporangium (l. c. pag. 156) — — — — —

„Jede unbefangene Beurtheilung muss zu der Ueberzeugung führen, dass die Classe, dem Ascus nach, für nichts anderes gelten kann, wie für eine künstliche Abgrenzung von Formen;“ (l. c. pag. 157).

't Is van belang nog eens nadrukkelijk te verklaren, dat, volgens BREFELD,

- 1^o. het aantal sporen in den ascus en de wijze van hun ontstaan niets karakteristieks heeft tegenover dit aantal en deze wijze bij een sporangium (IV Heft, pag. 84 en 155, laatste al.);
- 2^o. er geene andere vergelijking te maken is tusschen eenigerlei vorming in de lagere schimmelgroepen en den ascus, dan dat deze opgevat kan worden als een sporangium.

BREFELD is zich hierna gaan wijden aan een breed opgevatte studie der Basidiomyceten, waarvan de resultaten in hooftzaak in het VII en VIII Heft zijn neergelegd. Uit deze resultaten heeft hij gemeend te mogen concludeeren:

„Es konnte aus dem Vergleiche der Conidienträger, welche für die verschiedensten Formen der Basidiomyceten neu aufgefunden wurden, mit den zugehörigen Basidien in der überzeugendsten Art der Nachweis geführt werden, dass die typische Basidie der Basidiomyceten, welche der Classe den Namen und die natürlichen Grenze gibt, nichts ist, wie der zur bestimmten Sporenzahl fortgeschrittene Conidienträger.“ (VIII pag. 246.)

Het is merkwaardig na te gaan langs welken weg BREFELD nu in dezelfde verhandeling komt tot bepaling van het karakteristieke van den ascus. Op pag. 247 l.c. schrijft hij:

„Nachdem somit für die Basidie als eine höhere morphologische Bildung der natürliche Anschluss an die einfacheren Conidienträger hergestellt und damit zugleich die Verbindung der Basidien-tragenden höheren Pilze, der Basidiomyceten, mit den nur Conidienträger-besitzenden niederen Pilzen, *den Zygomyceten*¹⁾, aufgefunden ist, **erübrigt es nur noch, auch für den Ascus der Ascomyceten selbst,**²⁾ welche durch den Ascus genau ebenso charakterisirt sind, wie die Basidiomyceten durch die Basidien, die gleiche morphologische und systematische Aufklärung durchzuführen.“

Op pagina 248 schrijft hij verder:

„Wir haben also in den so eben gegebenen Ausführungen über die Beziehungen des Conidienträgers zur Basidie

1) Ik cursiveer.

2) BREFELD spatieert, ik onderstreep.

gleichsam schon für *eine* Kategorie von Sporangienträgern, nämlich für solche, welche nur mehr eine Spore in ihrem Sporangium bilden und darum als „Conidienträger“ von diesen ausgeschieden sind, die höchste Formsteigerung nachgewiesen, die eben in den Basidien der Basidiomyceten gegeben ist. Mit dieser Nachweise ist nun für die *zweite* Kategorie von Sporangienträgern, die nicht Conidienträger geworden, sondern eigentliche Sporangienträger geblieben sind, die homologe Formsteigerung so bestimmt bezeichnet, dass über sie von vorn herein jeder Irrthum ausgeschlossen ist.

„Können wir uns den Sporangienträger mit bestimmter Gliederung, mit bestimmter Formausbildung und mit bestimmter Sporenzahl ¹⁾ also die der Basidie homologe Bildung, überhaupt nur anders denken, als sie in dem Ascus der Ascomyceten vorliegt? — Es ist unmöglich“ ¹⁾

Maar dat is niet de vraag! De quaestie zou hier alleen dan zijn opgelost, als men omgekeerd het recht had te zeggen: De ascus is niet anders op te vatten dan als „ein Sporangienträger mit bestimmter Gliederung, mit bestimmter Formausbildung und mit bestimmter Sporenzahl“ en dit heeft BREFELD geenszins aannemelijk gemaakt.

Evenmin is zijn betoog, dat het sporangium, waarvan de ascus af te leiden is, een Zygomyceten-sporangium is, overtuigend. Hij begint hiermee al op l. c. pag. 248:

„Die Aufklärung, welche wir — — — über

1) BREFELD spatieert, ik onderstreep.

dem morphologischen Werth der Basidie ——— gewonnen haben, führt **ganz von selbst**¹⁾ auch zur richtigen Werthschätzung des Ascus und zur klaren Beurtheilung der Stellung der Ascomyceten im natürlichen System der Pilze d.h. zu ihrer Verbindung mit dem noch Sporangienführenden Formen derselben niederen Pilze, der Zygomyceten.

Hoogst merkwaardig zijn nu in het VIII Heft de pag. 250—259, waarin de schrijver eenige beschouwingen geeft over de vruchtlichamen der Ascomyceten. Er wordt daar bewezen :

- 1^o. dat het vruchtlichaam geen systematisch kenmerk der Ascomyceten is, maar „innerhalb der Formem der Ascomyceten ——— aufgetreten ist, dass sie also, ——— nur als ein secundäres Moment ——— angesehen werden darf, ein Moment, welches eben darum auch nur innerhalb der Classe einen systematischen Werth beanspruchen kann;“ (l. c. pag. 251)
- 2^o. dat het op den voorgrond treden van het vruchtlichaam in de vroegere beschouwingen over de Ascomyceten het gevolg is van het feit, dat slechts zoo weinig vormen geen vruchtlichaam hebben en
- 3^o. dat zoowel voor de Ascomycetenvormen zonder vruchtlichaam als voor die met een vruchtlichaam, waarin men vroegtijdig eene scheiding in fertiele en steriele elementen vindt, uitgangspunten te vinden

1. BREFFELD spatieert, ik onderstreep.

zijn in de groep der Zygomyceten en wel respectievelijk bij MUCOR en bij RHIZOPUS en MORTIERELLA.

Dit laatste is blijkbaar zeer moeilijk te rijmen met het onder 1^o bewezene en om het groote belang der quaestie zij het vergund nogmaals te citeeren:

„In diesen zwei verschiedenen Formen von Sporangienträgern¹⁾ bei den Zygomyceten unter den niederen Pilzen, in einfachen Sporangienträgern und in den von Rhizoiden, also von sterilen Fäden begleiteten oder umkapelten Trägern, sind die zwei **natürlichen Ausgangspunkte**²⁾ für die einfachen und dann für die höher differenzirten Sporangienträger der Ascomyceten, also für die freien Ascen und für die Ascen-Früchte, gegeben.

Lassen wir den Mucor-Fruchtträger, wie er unmittelbar auf dem Mycelium auftritt, zum Ascus fortschreiten, der ebenfalls unmittelbar aus dem Mycelium hervorgeht, so haben wir die erste Formenreihe der Ascomyceten mit freien Ascen, also die Formen der Exoasci; lassen wir die Mortierella-Fruchtträger, die an Ausläufern mittelbar und dan noch mit einer Differenzirung in sterile und fertile Fäden, gebildet werden, zur Ascusbildung fortschreiten, so haben wir die Ascus-Früchte mit

1) Von MUCOR-ARTEN und von RHIZOPUS, von MORTIERELLA und von anderen (l.c. pag. 258).

2) BREFELD spatieert, ik onderstreep.

einer Differenzierung in fertile und sterile Fäden; ja wir brauchen uns nur zu denken dass die Fruchträger von Mortierella verkürzt sind und nicht aus den Rhizoiden heraustreten, wie es zufällig jetzt geschieht, so haben wir schon die umkapselten Sporangien-Früchte, dieselben Früchte, welche bei den Ascomyceten, aber natürlich mit der hier fortgeschrittenen Differenzierung der Sporangien zu Ascen, vorliegen." (l.c. pag. 259.)

Op deze gedachte wordt nu in het IX Heft voortgebouwd en op pag. 75—85 vinden we daar eene eenigszins uitvoerigere uiteenzetting derzelfde feiten als in het bovenstaande citaat, om weer te eindigen met: „Die vorstehenden vergleichenden Untersuchungen über die Formausbildung und das Formverhältniss der einzelnen bekannten Sporangienfructificationen bei den niederen Pilzen zu den einzelnen, hier besprochenen und geklärten Ascenfructificationen bei den höheren Pilzen, also bei den Ascomyceten, lassen über die Homologie dieser beiden Fruchtformen einen Zweifel nicht mehr bestehen. Die **einzig mögliche natürliche**¹⁾ Ableitung der Ascen tragenden Pilze als höhere Bildungen aus den noch Sporangien-bildenden Formen der niederen Pilze ist hiermit von selbst gesichert." (l.c. pag. 85.)

De voorgaande argumenten voor de afleiding van den ascus van een zygomycetensporangium mogen niet klem-

1) BREFELD spatieert, ik onderstreep.

mend zijn, het zijn ten slotte ook slechts theoretische overwegingen, waartegen men alleen, met feiten gewapend, met goed gevolg kan optrekken en deze feiten zijn na het verschijnen van BREFELD'S ascomycetenstudiën door verscheidene der beste onderzoekers aan het licht gebracht.

Ten eerste is gebleken, dat BREFELD'S opvatting, zooals deze geformuleerd is in het IV Heft pag. 155 en 156, een onjuiste is. We lezen daar:

„Die früher angenommene freie Zellbildung im Ascus existirt so wenig, wie die im Embryosack der Phanerogamen. Die Vorgänge zur Sporenbildung durch Theilung sind keine anderen, wie diejenigen, welche in Sporangien überhaupt vorkommen — — — — —

— — — — — Sobald wir nur die Untersuchungen weit genug ausdehnen, finden wir in Sporangien und in Ascen ganz dieselben Vorkommnisse.

Wir treffen hier wie dort die Abscheidung von gallertartiger, aufquellender, kleberiger und wasserentziehender Zwischensubstanz an, welche für die Bildung der Sporen nicht in Verwendung kommt, aber für ihre Entleerung und Verbreitung Dienste leistet, und welche früher den Charakter der freien Zellbildung zum Unterschiede von der simultanen Theilung wesentlich bestimmte; — — —

Früher, wo man nur einige wenige Ascen und noch weniger Sporangien und selbst diese nicht genau untersucht hatte, war es freilich möglich, indem man die einzelnen untersuchten Fälle gegen einander stellte, in diesen Unterschiede, wenn auch nur schlecht begründete, zu finden zwischen den Ascen einerseits und den Sporangien ander-

seits. Jetzt sind diese Unterschiede hinfällig und damit hat der Ascus seinen Charakter verloren, er kann für nichts anderes mehr gelten als für ein Sporangium."

Deze zelfde quaestie is ook aangeroerd op pag. 84 l. c. en in: Ueber copulirende Pilzen. Vortrag bei den naturf. Freunde zu Berlin, 1875. Op de eerstgenoemde plaats luidt het:

„In sehr mageren Nährlösungen, welche fast dem Wasser gleichkommen, keimen die Sporen von *Mortierella* noch aus. — — — Die Sporangien, die sonst Tausende von Sporen enthalten, sinken auf 2—4 Sporen zurück. Die Zahl der Sporen war stets die Paarzahl, wenn mehr wie 2 vorkanden waren, dagegen hab ich eine einzige Spore nicht angetroffen — — —; auch in den Sporangien der Ascomyceten, in den Ascen, habe ich niemals unpaarige Sporenzahlen angetroffen. ²⁾

2) — — — — diese Beobachtungen im Verein mit anderweiten Erwägungen (hatten) mich schon seit längerer Zeit zu der Auffassung hingeführt, — — — — dass die verschiedenen Zellbildungsvorgänge bei der Erzeugung von Sporen auf fortgesetzte Zweitheilung natürlich zurückzuführen seien, dass mithin Vorgänge die man als simultane Theilung und freie Zellbildung unterscheidet, nur graduell aber nicht principiell abweichende Vorgänge der Zweitheilung seien, bei welchen die Theilungsvorgänge nur äusserlich auffallende Abweichungen zeigen — — — — —."

BREFELD'S tegenstander in deze zaak was allereerst DE BARY, zooals hij zich in 1863 geuit had in: „Die

Fruchtentw. der Ascom." en zooals hij het in 1884 ook in zijn *Vergl. Morph. und Biol. der Pilze*, p. 78 en volg. uiteenzette, en in dien tusschentijd verschenen ook van STRASBURGER hierover onderzoekingen (*Zellbildung und Zelltheilung* 3. Aufl. p. 49 ff.), welke zich bij DE BARY'S meening aansloten.

't Was echter aan de nieuwere microscopische techniek gegeven in deze materie onder leiding van een harer beste dienaren eene harer schoone overwinningen te behalen.

In *Ber. d. deutschen Bot. Ges. Bnd. XIII 1895* en *Jahrb. f. wiss. Bot. XXX 1897* verschenen artikelen van HARPER over de vorming der sporen in den ascus en nieuwe bijdragen over dit onderwerp naast eene studie over de sporenvorming in 't sporangium der Zygomyceten vinden we in *Annals of Botany* vol. XIII 1899.

De conclusies, welke HARPER uit de door hem onderzochte vormen, *Ascobolus*, *Peziza*, *Erysiphe*, *Lachnea*, *Pilobolus* en *Sporodinia* trekt, luiden:

„If we compare now the methods of spore-formation in the ascus and in the sporangia studied, the differences in the two cases are at once apparent. In the ascus, as in the higher plants, the cutting out of the daughter cell from the mother cell is effected by the agency of the same fibrous kinoplasmic elements as were concerned in the division of the nucleus. In the higher plants the flat cell-plate is formed by the „coneprincipal” of the karyokinetic figure as named by van Beneden, while in the ascus the daughter cell is cut out of the protoplasm of the mother cell by an ellipsoidal cell plate formed from the fibres of the antipodal cone. In this process the daughter

cell is cut out of the interior of the protoplasm of the mother cell, so that it remains surrounded on all sides by the material of the mother cell.

The daughter cells do not contain all the protoplasm of the mother cell, a considerable mass remaining as the so-called epiplasma. This is typical free cell-formation, as I have pointed out before. In all the sporangia studied, the cleavage is from the surface of the protoplasm, or from the surface of vacuoles of the mother cell. The daughter cells are thus separated by cleavage-furrows, and the nature of the division from the surface inwards, precludes the possibility of the formation of an epiplasm." (l. c. pag. 516.)

„If we consider now the bearing of the observations presented, on the doctrine that the Ascus is a more highly developed and specialized modification of the sporangium of the Zygomycetes, it is plain that the very different methods of cleavage in the two cases are opposed to the assumption of any close relationship between them. In fact, it seems rather difficult to imagine any intermediate stages which could connect the process of cleavage by surface-furrows, as seen in the sporangium, with the free cell-formation of the ascus. It must be noted too, that Popta's work on Ascoidea and Protomyces, which Brefeld considers intermediate forms between the lower Fungi and the Ascomycetes, has failed in any way to bridge this gap. — — — — —

The presence of epiplasm has always been considered one of the most distinctive features of the ascus, and those, who have contended for the relationship of the

sporangium and ascus have been much concerned to discover a similiarity between the epiplasm and the intersporal slime in the sporangium. It is, however, sufficiently apparent that these two substances are entirely, distinct in their origin and consistency." (l. c. pag. 519.)

Ten opzichte der sporangia van PHYCOMYCES en RHIZOPUS is onlangs SWINGLE tot volkomen dezelfde resultaten gekomen, als HARPER bij de door hem onderzochte Zygomyceten. (Formation of the spores in the Sporangia of Rhizopus nigricans and of Phycomyces nitens. Bulletin 37. U. S. Dep. of Agric. 1903.)

Misschien geeft SWINGLE's artikel ook nog eenige opheldering over BREFELD's „Zwischensubstanz" en HARPER's „intersporal slime".

SWINGLE vond n.l. bij Phycomyces, waar de verdeeling van het protoplasma in het sporangium plaats heeft met behulp van uitloopers der grootere vacuolen, in deze vacuolen na kleuring der praeparaten met gentiaanviolet, eene licht blauw gekleurde massa, die steeds omgeven was door eene ongekleurde zone en overal in de uitgroeiingen der vacuolen meeding. Misschien hebben we hier te doen met een slijmachtig bestanddeel van 't celvocht, bij fixatie geprecipiteerd en daarbij of later gecontraheerd, dat bij rijpheid der sporangiën de massa tusschen de sporen levert.

Behalve deze resultaten van HARPER en SWINGLE zijn ook die van DANGEARD ten opzichte der ascusontwikkeling moeilijk te rijmen met BREFELD's opvatting omtrent samenhang van Zygomyceten-sporangium en ascus.

In Le Botaniste 4e Série pag. 21 en volg. heeft deze onderzoeker aangetoond voor vormen uit de meest ver-

schillende Ascomyceten-groepen, dat de ascus ontstaat uit eene cel, welke aanvankelijk twee kernen bevat, welke versmelten tot een, welke ééne kern dan door drie achtereen volgende deelingen de kernen voor de acht sporen levert.

Andere onderzoekers, o. a. HARPER, IKENO, DITTRICH en GUILLERMOND zijn voor andere Ascomyceten-vormen tot hetzelfde resultaat gekomen, terwijl daarentegen HARPER en SWINGLE bij de Zygomyceten hebben waargenomen, dat er in de jonge sporangia tot het oogenblik, waarop de sporen resp. „protosporen” gevormd zijn, geene kerndeelingen noch kernversmeltingen plaats hebben en ze dus van den beginne af veelkernig zijn.

Tegen al deze feiten, welke de opvatting van BREFELD over de beteekenis van den ascus minder aannemelijk maken, heeft noch hij zelf noch zijn school, voornamelijk vertegenwoordigd door MÖLLER, veel belangrijks ingebracht. BREFELD zelf vervalt in eenige korte opmerkingen, zooals in Jahresber. der Schles. Ges. für. vaterl. Cultur 1900 en 1902 en MÖLLER behandelt de quaesties vrij uitvoerig in „Phycomycete und Ascomycete”, Bot. Mitth. a. d. Tropen IX Heft 1901, maar tracht alleen aan te toonen, dat de verschijnselen, door HARPER en DANGEARD beschreven, niet als bewijzen voor een bestaande sexualiteit zijn te beschouwen.

Uit het voorgaande blijkt voldoende, dat BREFELD's theorie aangaande den ascus en de afleiding daarvan uit het Zygomyceten-sporangium niet meer houdbaar is, verondersteld al dat BREFELD's zwakke redeneering haar ooit aannemelijk heeft gemaakt.

HOOFDSTUK II.

De Hemiasci.

A. ALGEMEENE BESCHOUWINGEN.

Erkent men de conclusie van het vorige Hoofdstuk, dat de Ascomyceten niet kunnen beschouwd worden als eene groep van vormen, welke afgeleid kunnen worden van de Zygomyceten, in dezen zin, dat de ascus zou vertegenwoordigen een sporangium, waarvan de vorm en het aantal endogene sporen constant zou zijn geworden, dan vervalt daarmee ook de mogelijkheid tot het opstellen van eene groep der Hemiasci, waarin tusschenvormen tusschen Zygomyceten en Ascomyceten hunne plaats zouden vinden.

Maar afgezien van deze overweging zal het wenschelijk zijn de houdbaarheid der Hemiasci in den zin zooals de groep door BREFELD is opgesteld na te gaan en daarbij kunnen we uitgaan van de theoretische beschouwingen, welke BREFELD tot het opstellen der groep hebben geleid, of van de feiten, welke omtrent de verschillende vormen der Hemiasci bekend zijn.

Beginnen we met het eerste, dan zal blijken, dat BREFELD zelf min of meer het zwakke der theorie heeft gevoeld.

In het VIII Heft was van de latere Hemiasci alleen

Protomyces nog maar bekend en in het overzicht van het systeem, dat op die plaats pag. 275 gegeven wordt, vinden we daaromtrent deze schematisering:

Mycomyceten

höhere, ungeschlechtliche, Fadenpilze

Ustilagineeën

(Zwischenformen)

Fructification in

Sporangien (Ascenähnlich) Conidien (Basidien ähnlich)

Protomyces

Ustilago, Tilletia,

Sorosporium.

In het IX Heft vinden we nu o.a. l.c. pag. 22: „Die Untersuchungen führen aber, — — — zu einer weiter gehenden und wichtigen Aufklärung, nämlich zu der Unterscheidung und sicheren Umgrenzung von Formen, welche bisher den Ascomyceten nahe oder ganz angeschlossen wurden; welche aber als „Hemiasci“ neu und natürlich vereint und benannt, eine den „Hemibasidii“, den Ustilagineen gleichwerthige, natürliche systematische Stellung einnehmen, und sich mit diesen zu einer natürlichen Abtheilung von „Mittelformen“ Vereinigen.

— — — — — Die Mtttel-
formen haben gegliederte Mycelien und also in ihren vegetativen Zuständen den Charakter der höheren Pilze, sie haben dagegen in der Fructification den Charakter der niederen Pilze, also Sporangien (oder Conidienträger) mit schwankender Grösse und Sporenzahl und noch keine in der Form und Sporenzahl bestimmt und typisch ausge-

bildeten Ascen (oder Basidien). Sie sind vorerst nur noch durch wenige — — — Formen vertreten, von welchen die neue Ascoidea, den Typus der Exoasci, der schon länger bekannte Thelebolus den Typus der Carpoasci und endlich die alte Gattung Protomyces einen Typus mit eingeschlossenen Chlamydosporen vertritt, der unter den eigentlichen Ascomyceten noch gar nicht vertreten ist, dafür aber um so mehr an die Formen der Hemibasidii erinnert.

Na deze inleiding vinden we later nog eene eenigszins meer gedetailleerde uiteenzetting, waar we lezen:

l. c. pag. 93: „Bei den formenarmen, bisher uur allein durch die Gattung Protomyces vertretene Reihe der Hemi-asci, — — — sind dagegen in den hier bestehenden Sporangien die Formbeziehungen zu den Ascen der Ascomyceten **weniger leicht und klar ersichtlich** ¹⁾ — — — und eben darum liegen die Umstände für eine richtige Beurtheilung hier weniger günstig. Verschiedene Typen von Ascen gleich denen der Basidien giebt es überhaupt nicht, und ebensowenig kann es verschiedene typische Formen von Sporangien geben, welche ja den Uebergang zu den eigentlichen Ascen vermitteln. — — — — — und Bildungen welche gleich den Fruchtträger der Hemibasidii die verschiedenen und eigenartigen Gestalten der Basidien bereits ausgeprägt zeigen und nur allein noch in der Zahl und auch in der Form der Sporen schwanken, sind — — — ausgeschlossen — — — — —.

— — — — — Nur allein in **einer** ¹⁾

¹⁾ Ik onderstreep.

mehr charakteristischen Gestaltung ¹⁾ des Sporangiums bei **geringeren Formschwankungen** ¹⁾ und in **einer bestimmteren Formbildung der Sporen** ¹⁾ kann der besondere Charakter der Formen — — — — — ausgeprägt sein."

l.c. pag. 94: — — — — da diese grössere Uebereinstimmung in der Fructification mit den niederen Algen-ähnlichen Pilzen unleugbar besteht, so ist es von nicht zu unterschätzender Wichtigkeit, dass in den vegetativen Zustände gerade das Umgekehrte der Fall ist, dass hier eine ebenso unverkennbare Abweichung von den niederen Pilzen und eine Uebereinstimmung mit den Formen der Ascomyceten hervortritt.

Die Phycomyceten, also die niederen Sporangien-tragenden, Algen-ähnlichen Pilze, sind durch ein schlauchige Mycelien ausgezeichnet, also durch Vegetationskörper welche diese Pilze mit den Siphoneen unter den Algen gemein haben. Die höheren und eigentlichen Pilze, die Mycomyceten, haben diese vegetativen Zustände nicht, sie besitzen gegliederte, d. h. von Scheidewänden durchsetzte Mycelien. Zwar giebt es (z. B. in den Entomophthoreen) auch Formen von niederen Pilzen, welche (freilich nur wenig) gegliederte Mycelien haben, also Formen, welche zeigen, dass der Charakter in den vegetativen Zuständen **kein allzu scharf ausgeprägter** ¹⁾ ist;"

De Entomophthoreeën, welke BREFELD zelf aanhaalt, zijn niet de eenige vormen, welke aantoonen, dat de septering van het mycelium geen scherp onderscheid is

1) Ik onderstreep.

tusschen Phycomyceten en Mycomyceten. Myceliumdraden van *Chlamydomucor* tijdens de chlamydosporenvorming doen weinig aan eene Phycomyceet denken. Trouwens alle Phycomyceten hebben in hunne voortplantingsorganen het vermogen septa te vormen, maar geenszins kan ontkend worden, dat een gesepteerd mycelium een kenmerk is der hoogere vormen onder de schimmels tegenover de lagere, al zijn er enkele uitzonderingen, zooals de pas ontdekte vorm, *Coenomyces consuens*, door DECKENBACH in FLORA 1903 beschreven.¹⁾

Aan den anderen kant dient echter weer niet uit het oog te worden verloren, dat het optreden van septa bij de Mycomyceten niet gelijkwaardig mag gesteld worden met het optreden van celwanden bij de hoogere planten. De septa bij de eerste groep verdeelen het mycelium in de meeste gevallen niet in onderling gelijkwaardige eenheden, wat de celwanden het lichaam der hoogere planten wel doen.

Het voorkomen van gesepteerd mycelium bij de *Hemiasci* mag dus waarschijnlijk wel opgevat worden als een bewijs van hoogere ontwikkeling ten opzichte van de groote massa der Phycomyceten, maar niet als een bewijs voor eene nauwere verwantschap met de *Ascomyceten* speciaal.

1) In dit verband is ook te herinneren aan KLEBS' proeven, waarbij het hem gelukte *Mucor racemosus* een gesepteerd mycelium te laten voortbrengen, „so dass man das Mycelium eines höheren Pilzes zu sehen glaubt". (Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen von Dr. GEORG KLEBS JENA 1896, pag. 513, fig. 14 C, pag. 494.)

Langs den weg, welke hiervoor in 't kort is weergegeven, is BREFELD tot eene groepsdiagnose der Hemiasci gekomen, welke uitmunt door vaagheid en hieraan is het dan ook toe te schrijven, dat vormen als *Protomyces*, *Ascoidea* en *Thelebolus*, welke in hunne ontwikkeling zoozeer uiteenloopen, eene plaats onder de Hemiasci hebben ingenomen.

B. BIJZONDERE VORMEN.

Ten tweede zullen we nu overgaan tot een kritisch overzicht van de feiten, welke omtrent de vormen, door BREFELD en na hem door anderen tot de Hemiasci gerekend, bekend zijn. Hierbij zal de nadruk gelegd worden op de ontwikkeling der sporangiën en der daarin gevormde sporen, omdat in het eerste hoofdstuk aangetoond is, dat juist hierin het groote verschil der Zygomyceten en Ascomyceten ligt.

De volgorde, waarin de vormen behandeld zullen worden, sluit zich aan bij de indeeling van de groep der Hemiascineæ, zooals ze door SCHROETER gegeven is in Engler en Prantl I 1. pag. 145, in de drie families der

- 1^o. PROTOMYCETACEÆ met de geslachten
Protomyces en *Endogone*
- 2^o. ASCOIDEACEÆ met de geslachten
Ascoidea, *Oscarbrefeldia* ¹⁾, *Conidiascus* ¹⁾ en *Dipodascus*.
- 3^o. MONASCACEÆ met de geslachten
Monascus, *Thelebolus*, *Helecosporangium* en *Papulaspora*.

1) Engler en Prantl I 1** pag. 531.

Na 't verschijnen van SCHROETERS werk is nog 't geslacht *Taphridium* beschreven, dat volgens zijne indeeling tot de *Protomycetaceæ* moet gerekend worden.

PROTOMYCES UNGER.

Het geslacht *Protomyces* werd in 1833 door Unger opgesteld (*Exantheme der Pflanzen* p. 341) met vier soorten. Eén der vier vormen, *Pr. macrosporus*, werd in 't zelfde jaar door WALLROTH als *Physoderma gibbosum* (*Flora cryptogamica Germaniae Pars 2* p. 192 1833) beschreven.

Vele der beschreven *Physoderma* soorten zijn later, o.a. door SCHROETER, (*Die Pilze Schlesiens* 1889) onder denzelfden naam in de onder-familie der *Cladochytriëi* gezet of tot het geslacht *Cladochytrium* zelf gebracht, zooals door A. FISCHER (*RABENHORST's Kryptogamen Flora I* 4). Andere vormen zijn gebleken soorten van *Sclerospora*, *Peronospora*, *Melanotænium*, *Entyloma*, *Doassansia*, *Tuburcinia*, *Ustilago* enz. te zijn.

ED. FISCHER noemt in *RABENHORST's Kryptogamen Flora I* 5 (1897) voor midden Europa vier soorten: *Pr. macrosporus* Unger, *Pr. pachydermus* Thümen ('t eerst beschreven in *Hedwigia* 1874 p. 97), *Pr. Kreuthensis* J. KÜHN (*Hedwigia* 1877 p. 124) en *Pr. Bellidis* Krieger (*Fungi saxonici* No. 1101). Van *Pr. Kreuthensis* zijn de zoogenaamde sporangiën en endosporen onbekend, zoodat voor ons alleen de drie overige van belang zijn.

Het zijn alle intercellulaire parasieten van groene plantendeelen, met een gesepteerd mycelium, dat op een bepaald moment in zijne ontwikkeling intercalair hyphe-opzwel-

lingen voortbrengt, welke overgaan in eenen rusttoestand. De buitenwand van deze lichamen barst bij „kieming” en laat dan een dunwandig sporangium naar buiten treden, waarin zich een onbepaald aantal endogene sporen ontwikkelen.

DE BARY danken we de eerste ontwikkelingsgeschiedenis (Beiträge zur Morph. und Phys. der Pilze I Reihe pag. 3 en Abh. der Senckenb. naturf. Gesellschaft Band V pag. 139 1864) van *Pr. macrosporus*.

Van de opgezwollen hyphen, die zich met eenen drie lagen dikken wand omgeven, zegt DE BARY l.c. pag. 5 :

„Die mehrfach erwähnten Fortpflanzungszellen, welche von den meisten Schriftstellern als Sporen bezeichnet werden, sind, ihrer weiteren Entwicklung nach, Sporangien, sporenerzeugende Zellen oder Ascis, Sporenschläuche, zu nennen.”

De verdere ontwikkeling van dezen rusttoestand noemt hij „Keimung” (l.c. pag. 8) „insofern man unter diesem Ausdruck die Fortentwicklung von Reproductionsorganen, welche einen Ruhestand durchgemacht haben, im Allgemeinen versteht.”

Op DE BARY's resultaten omtrent de sporenvorming zal verder beneden teruggekomen worden, in verband met latere onderzoekingen, maar reeds nu is het niet te verwonderen, dat zijn resultaat is: „*Protomyces macrosporus* dürfte den Ascomyceten an die Seite zu stellen sein als einfachste Ascomycetenform, von den typischen Schlauchpilzen ausgezeichnet durch — — — — die Eigentümlichkeit, dass in seinen Ascis die Sporenbildung erst nach vorangegangenen Ruhezustand und Häutungsprocess

stattfindet" (l.c. pag. 33). Met geenen lageren vorm, noch met Peronosporae, noch met Ustilagineae, noch met Uredineae vertoont Protomyces eenige overeenkomst (l.c. pag. 32). Hierbij dient te worden opgemerkt, dat de copulatie der sporen, nadat deze uit het sporangium zijn getreden, blijkbaar door DE BARY niet van belang werd geacht.

In de Bot. Zeitung van 1874 verscheen een artikel van DE BARY over *Pr. microsporus* Unger, waarvan alleen de „intercalare Fortpflanzungszellen" bekend waren. Bij de ontwikkeling hiervan, welke DE BARY beschreef, bleek, dat *Pr. microsporus* Unger een Ustilaginee was en ze kreeg den naam van *Entyloma Ungerianum*.

Over *Protomyces* zegt DE BARY (l. c. pag. 105): „Zu den Ustilagineen ist diese Gattung nicht zu stellen, wenn sie auch dieser Familie weniger fern stehen mag, als ich früher annahm."

Deze aanhaling geeft den overgang tot DE BARY'S meening in 1884 bij het verschijnen van den 2^{en} druk van zijne *Vergl. Morph. und Biol. der Pilze*. Op pag. 185 van dit werk vindt men een hoofdstuk: „*Protomyces* und die Ustilagineen", aanvangende met de behandeling van *Pr. macrosporus* en geplaatst tusschen de „Chytridieen" en „Ascomyceten".

In de laatste paragraaf van dit hoofdstuk (pag. 198 en 199) luidt het: „Sicht man sich nach den specifisch charakteristischen Eigenthümlichkeiten der Ustilagineen um, so tritt unter diesen jene der copulirenden Paare ganz besonders hervor. Diese Erscheinung findet sich, soweit bekannt, nur bei einer nicht-Ustilaginee an demselben Orte des Entwicklungsganges und in ganz ähnlicher Form

wieder, nämlich bei den *Pr. macrosporus*. — — — — —
 — — — — — Ein näherer Anschluss (der Ustilagineen)
 an andere Gruppen wäre gefunden, wenn dies für *Protomyces* möglich wäre, und hier liegt die Heranziehung von *Cladochytrium* nahe."

Wat de endogene sporenvorming betreft, dient vermelding, dat DE BARY (l. c. pag. 78 en volg.) drie wijzen hiervan onderscheidt: in sporangiën der *Phycomyceten*, in asci en in de sporangiën van *Prot. macrosporus*.

Overeenkomstig deze veranderde opvattingen spreekt hij nu ook van „Dauersporen”, welke kieming hierin bestaat, dat „das Endosporium zur kugeligen Blase anschwillt, ins Freie tritt und nun zum Sporangium wird.” (l. c. pag. 185)

SACCARDO noemt *Protomycetaceæ* DE BARY de 6de familie der *Phycomyceteæ*, welke in het VIIde deel zijner *Sylloge fungorum* in 1888 verschenen, bewerkt door BERLESE en DE TONI. In 't geheel worden 27 soorten opgenoemd (VII pag. 319; IX pag. 363; XI pag. 251; XIV pag. 829 en XVI pag. 1153). van welke echter door ED. FISCHER (zie later) verscheidene als niet tot deze groep te behooren, worden beschouwd.

SCHROETER heeft in 1889 (Die Pilze Schlesiens) eene orde der *Protomycetes*, bestaande uit *Protomyces* en *Endogone* Link, opgesteld, voorafgegaan door de *Oömycetes*, gevolgd door de *Ustilaginei*.

SCHROETER's opvatting wordt het best gekenschetst door de volgende aanhaling (l. c. pag. 82) „Hier (nach den *Zygomyceten*) ist wohl die passendste Stelle, die kleine Gruppe der *Protomyceten* und die *Ustilagineen* der allgemeinen Entwicklungsreihe anzuschliessen. Bei *Protomyces*

bilden sich grosse Dauersporen intercalär an dem intercellulär verlaufenden Mycelium. Sie sind in ihrer Gestalt den Oosporen der Peronosporen ähnlich, es ist aber kein Befruchtungsvorgang nachgewiesen. In ihrer Weiterentwicklung kommen sie auch den Oosporen gewisser Peronosporen oder den Dauersporen der Chytridieen nahe, indem sie zu Sporangien werden, in welchen sich durch Theilung des Gesamtinhaltes eine grosse Zahl von unbewegten Sporen bildet."

Later (Engler en Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien I Teil 1 Abth. pag. 143 Hemiascineae 1894) komt hij, wat de plaatsing van *Protomyces* in 't systeem betreft, geheel met BREFELD (zie beneden) overeen, alleen dient het volgende vermelding:

„Schläuche in der Continuität der Hyphen gebildet — — — — —; Inhalt lange Zeit gleichförmig, erst nach längerer Ruhezeit Sporen bildend."

A. FISCHER uit zich in 1892 (RABENHORST's Kryptogamenflora I 4 pag. 10) als volgt:

„Die Gruppe der Hyphochytrieen, welche an die Sporochytrieen (*Polyphagus*) anschliesst, setzt sich in *Protomyces* und den Ustilagineen fort."

Volledigheidshalve kan hier nog eene uitlating van denzelfden schrijver aangehaald worden (l. c. p. 439), naar aanleiding eener *Sclerospora*, waarvan de conidiën onbekend zijn.

„Nicht unmöglich ist es, dass sich Formen finden werden, bei denen die Conidienbildung ganz unterdrückt ist; es liesse sich dann von hier aus ein Uebergang zu *Protomyces* und den Ustilagineen denken unter gleichzeitiger Annahme von Apogamie."

In 1897 verscheen in RABENHORST's Kryptog. Flora I 5 de bewerking der Hemiasceæ door ED. FISCHER. Deze heeft zich geheel bij BREFELD aangesloten, zoowel wat betreft de plaats, die Protomyces in 't systeem inneemt, n.l. in genoemde groep, als wat betreft de beteekenis der rusttoestanden in hare ontwikkeling, wat blijkt uit de volgende woorden l. c. pag. 110: „Sie (die Sporangien) gehen bei Protomyces aus Dauersporen (Chlamydosporen im Sinne BREFELD's) hervor, durch austreten des Endospors aus den äusseren Schichten der Wandung.”

Zooals boven reeds aangeduid is, verscheen inmiddels BREFELD's IX Heft 1891, waarin ook Protomyces behandeld werd. De invloed hiervan op SCHROETER en ED. FISCHER bleek reeds.

BREFELD brengt allereerst op den voorgrond (l. c. pag. 109) de fructificatie in sporangiën, „welche von Chlamydosporenbildung in dem Gange der Entwicklung unterbrochen werden: Sporen, welche ihrer Bildung nach mit dem Chlamydosporen der Brandpilze übereinstimmen.”

Reeds vroeger (Heft IV pag. 152) had BREFELD zich over Protomyces uitgelaten bij de bespreking der reductie van sporangium tot conidië in de volgende woorden: „— — — —; bei den Entomophthoreen und den Ustilagineen sind auch die Oogonien zu Oosporen geworden, in Protomyces macrosporus bestehen allein noch, und zwar in der ungeschlechtlichen Fruchtform, die Sporangien fort, die sonst bei allen bekannten Ustilagineen und Entomophthoreen zur Conidie zurückgegangen sind.”

Vervolgens wordt uitvoeriger de kieming der Chlamydosporen van *Pr. pachydermus* Thümen behandeld. Bij

rijpheid der sporen vergaan de hyphen, door welke ze verbonden waren en de plant is dus, wat A. FISCHER (RABENII. Kryptog. Flora I 4) monocarpisch heeft genoemd. Bij kieming verdwijnt langzamerhand het in de spore opgehoopte vet. Nadat de buitenwand der spore is gebarsten, treedt de binnenwand naar buiten en het protoplasma vormt eene dichte laag tegen den wand dezer uitstulping. Na twee dagen zijn de endogene sporen gevormd, maar de bijzonderheden dezer vorming waren niet te vervolgen. „(Die Sporen sammeln) sich dann, ganz wie es in den Schläuchen der Ascomyceten geschieht, an der Spitze des Keimschlauches an, während das übrige Epiplasma fast körnchenfrei und durchsichtig wie Wasser geworden ist.” (l. c. pag. 111.)

De vrij geworden sporen fusioneeren, soms zelfs al in de sporangiën. Buitendien is het BREFELD gelukt in kunstmatige voedingsbodems zoowel de enkele als de gecopuleerde sporen zich op de wijze van gistcellen te laten vermeerderen en de nieuwe cellen, die hierbij gevormd worden, noemt BREFELD conidiën. Voor *Pr. macrosporus* was ditselfde reeds door B. MEIJER (Landw. Jahrb. 1888) medegedeeld.

BREFELD's conclusie luidt nu (l. c. pag. 113):

„Die Untersuchungen des *Pr. pachydermus* ergeben als Gesamtergebnisse, dass der Pilz in Ascen-ähnlichen Sporangien und in Conidien, die sich in directer Sprossung in Hefenform vermehren, fructificirt. Der Pilz gehört hiernach den hemiascenen Formen an.”

Verder dient vermeld eene mededeeling van SAPPIN

TROUFFY (Le Botaniste 5e Serie, pag. 285. 1897). De schrijver toont de veelkernigheid der „Kysten” (Dauersporen, Chlamydo-sporen) aan en beeldt een „Kyste” af, niet-opensprongen en gevuld met éénkernige sporen, wat niet overeenstemt met hetgeen door de andere onderzoekers is medegedeeld. SAPPIN-TROUFFY's slotzin luidt: „Pour trouver un développement semblable dans les champignons, il faut se rapporter à la famille des Chytridinées, et notamment aux Cladochytrium, où la reproduction se fait par kystes et par sporanges.” (l.c. pag. 288.)

We zijn nu genaderd tot de onderzoekingen, die zich bezighouden met de details der sporenvorming en der verhouding van protoplasma en kernen daarbij. De resultaten zijn te vinden

- 1^o. in de bovengenoemde verhandeling van DE BARY (Beiträge I) en
- 2^o. in een artikel van Mej. CANNA POPTA: Beiträge zur Kenntniss der Hemiasci (Flora 1899).

Stellen we eerst naast elkaar de resultaten der beide onderzoekers, om tot eene vergelijking daarvan te kunnen komen:

D E B A R Y.		P O P T A.	
I.	In den rusttoestand der „Dauersporen” is het protoplasma grofkorrelig, alleen de uiterste omtrek is homogeen. De inhoud bestaat voor 't grootste deel uit vet.	De inhoud der „Dauersporen” is dichtkorrelig zonder differentiatie. Met osmiumzuur kleurt zich alleen eene zeer dunne, buitenste laag niet zwart. 20 % KNO_3 plasmoliseert.	I.
II.	Het vet verdwijnt langzamerhand van buiten naar binnen en in dezelfde richting wordt het protoplasma achtereenvolgens fijnkorrelig. Eene centrale protoplasma-massa is donkerder dan de daarom gelegen zone; in deze zijn zeer vaag enkele vacuolen zichtbaar.	Het protoplasma splitst zich in eene donkere, centrale massa en eene lichtere, buitenste zone. De eerste bevat het meeste vet volgens de osmium-kleuring. In 't midden treden vacuolen op, welke, zich vermeerderende, de geheele centrale massa en ten slotte ook de buitenzone in beslag nemen, zoodat 't geheel eene schuimachtige structuur heeft.	II.
		De donkere, centrale massa verdwijnt; de zone wordt breder en alles wordt doorzichtiger.	IV.
III.	De wand der „Dauerspoore” barst open en het endosporium treedt naar buiten, omgeven door het mesosporium, dat langzaam in het omgevende water vervloeit; de mesosporiumlaag is het dunst aan den top van 't sporangium.		V.
IV.	De vacuolen, eerst in 2 of 3 onregelmatige lagen, rangschikken zich in ééne kring om de centrale massa.	De vacuolen in de centrale massa versmelten tot één. De vacuolen in de buitenzone blijven. Men ziet korrels, welke zich in het protoplasma bewegen.	VI.
V.	Deze massa stroomt tusschen de vacuolen door in de buitenzone, welke tegelijk breder wordt en ten slotte aan den binnenkant vrij scherp afgeteekend is, terwijl	De laatste vacuolen worden onduidelijk en verdwijnen en de zoeven genoemde korrels komen tot rust.	VII.

D E B A R Y.	P O P T A.
<p>de ruimte daarbinnen met eene vloeistof is opgevuld.</p>	
<p>VI. Het protoplasma wordt steeds doorzichtiger en de korreltjes erin rangschikken zich in korte rijen tot een net, waarvan de mazen gevuld zijn met eene homogene zelfstandigheid.</p>	
<p>VII. De wanden der mazen worden breeder, de mazen zelf kleiner, de geheele protoplasma-laag wat smaller.</p>	
<p>SPOREVORMING.</p>	
<p>VIII. Elke groep korreltjes, die eene zijde van eene maas vormen, worden tot eene spore, waarvan de omtrek langzaam duidelijker wordt. Tusschen de sporen ligt de homogene zelfstandigheid.</p>	<p>VIII. Het protoplasma deelt zich plotseling in vele kleine stukken, welke aanvankelijk in 3 lagen liggen. Dadelijk daarop raken deze sporen los van elkaar, maar blijven, ofschoon onregelmatig, in eene wandstandige laag liggen. Tusschen de sporen is niets te merken van eene tusschenstof.</p>
<p>IX. De sporen ballen zich samen aan den sporangiumtop. De homogene zelfstandigheid trekt zich ook naar 't midden samen, maar langzamer.</p>	<p>IX. Uit de groote centrale vacuole dringen kleine in de omgevende zone. De sporen stellen zich regelmatig in radiaire rijen, door de vacuolen gescheiden.</p>
<p>X. De centrale vloeistof komt tusschen den sporenbal en den sporangiumwand te liggen.</p>	<p>Het aantal lagen van sporen is aan beide zijden van 't sporangium niet meer gelijk.</p>
<p>XI. De homogene stof vervlocit.</p>	
<p>XII. Tegen den sporangiumwand blijft tot na het uitwerpen der sporen een dun laagje protoplasma aanliggen.</p>	<p>X. De sporenmassa contraheert zich. XI. De kleine vacuolen treden aan</p>

D E B A R Y.	P O P T A.	
	<p>den buitenkant uit de sporen-massa en gaan over in een nu duidelijk zichtbaar protoplasmalaagje, dat die sporenmassa omgeeft.</p> <p>Hier vergrooten zich deze vacuolen, doordat ze zich met nieuw aankomende vereenigen.</p> <p>De sporen vormen zoo ten slotte eenen bal boven in 't sporangium. De wandstandige protoplasmalaag bevat kernen. De sporen bevatten dikwijls ééne, meest 2, soms 3 of 4 kernen.</p> <p>Nadat de sporen uitgeworpen zijn, blijft de wandstandige protoplasmalaag aanwezig en gaat met den sporangiumwand te gronde.</p> <p>Voor en na copuleering der uitgeworpen sporen bevat elk daarvan 4—7 kernen.</p>	<p>XII.</p> <p>XIII</p> <p>XIV.</p>

Men dient in 't oog te houden, dat DE BARY's onderzoek dateert van 1864 en in dat licht ook te beschouwen de volgende woorden (l.c. pag. 32): „Sieht man ab von Verschiedenheiten in der Gestalt und Grösse der Theile, so verhält sich das Endosporangium nach seinem Austritte aus der umgebenden Aussenhaut im Wesentlichen ganz, wie diejenigen Asci, in welchen der primäre Zellkern nicht gefunden wird, und die Sporen ohne Zellkerne entstehen. Diese werden aus einem Theile des Protoplasma

gebildet, der zu ihrer Bildung nicht verwendete Rest nach und nach aufgelöst."

Terecht zegt DE BARY in 1884 (Allgem. Morph. pag. 87): „Die der Trennung (der Sporen) vorausgehenden Umlagerungen in dem Protoplasma bedürfen neuer Nachuntersuchung."

Deze heeft door mej. POPTA met behulp der nieuwere techniek plaats gehad en, helaas, niet dat resultaat gegeven, waarop gehoopt had kunnen worden, al hebben toch enkele der beste onderzoekers hare uitkomsten later gebruikt.

De toegepaste kleurmethode (osmiumzuur en gentiaan-violet) heeft niet bijzonder goede resultaten geleverd. Microtoomdoorsneden zijn slechts verkregen van de stadia I, II en XII. (Zie pag. 33 en 35.)

Zeer opmerkenswaard is fig. 20 en hare interpretatie, nl. het voorkomen van vele mitotische kerndeelingen in stadium I.

De blijvende, niet in de sporenvorming opgenomen wandstandige protoplasmalaag, voor 't eerst vermeld in stadium XI, maar eerst afgebeeld in fig. 27b = stad. XII, is niet te ontdekken in fig. 25, 26a en 27a, waar men haar ook zou verwachten. Wel lezen we in mej. POPTA's artikel [l.c. pag. 23 (de plaats der beschrijving komt overeen met 't eind van stad. VIII)]: „Dass die Sporen nicht in die innere Vacuole dringen, beweist, dass auch hier eine dünne plasmatische Haut zwischen Vacuole und Sporen liegt. Ebenso muss auch zwischen Wand und Sporen eine dünne Plasmaschicht liegen." De in dit citaat het eerst genoemde laag is echter in geene harer teekeningen afgebeeld.

Fig. 27a geeft zeer onduidelijk weer, hetgeen in de tekst vermeld is. Volgens de teekening zou hier niet van vacuolen gesproken mogen worden.

Behalve *Pr. macrosporus* is door mej. POPTA ook voor 't eerst de ontwikkeling van *Pr. Bellidis* nagegaan. De resultaten van dit onderzoek kunnen als volgt worden samengevat:

- I. De onontwikkelde chlamydospore is met korrelig, ondoorzichtig protoplasma gevuld, zonder differentieering; ze plasmoliseert met 20% KNO_3 .
- II. De chlamydospore-wand barst en het endosporium treedt door opzwellling naar buiten en groeit uit tot eene lengte gelijk aan driemaal de breedte, maar blijft, wat het basale gedeelte betreft, door exo- en mesosporium omgeven.
- III. In het zoeven genoemde basale gedeelte treedt eene groote vacuole op; het overige protoplasme is nog ongedifferentieerd.
- IV. In het naar buiten getreden gedeelte van het endosporium treden centraal vele vacuolen op, die zich langzamerhand vereenigen tot een geringer aantal en ten slotte ééne vacuole vormen, omgeven door eene wandstandige protoplasmalaag.
- V. Deze laag wordt plotseling verdeeld in een groot aantal radiair gestelde stukjes, elk met cirkelvormige doorsnede, de sporen. Er is geene tusschenzelf standigheid.

- VI. De sporen blijven in eene wandstandige laag, maar komen onregelmatig, in alle richtingen ten opzichte van elkaar te liggen.
- VII. De sporen begeven zich alle langs den wand naar den top van 't sporangium, ballen zich samen en worden uitgeworpen.

Aan de beschrijving dezer ontwikkeling gaat (l.c. pag. 13) het volgende vooraf:

„... Mangel an Sauerstoff (schreibe ich es zu), dass ein Sporangium nach dem anderen nur wenig über das Stadium hinauskam, in welchem es unter das Deckglas gebracht wurde. In einem Falle gelangte ein Sporangium unter Deckglas zu vollständiger Entwicklung. An diesem Sporangium hauptsächlich wurden die nun folgenden Beobachtungen gemacht.“

Na de beschrijving van stad. III (dat zeer moeilijk te herkennen is in fig. 15) lezen we (l.c. pag. 15): „... wir können uns dies unmöglich anders erklären als dadurch, dass wir annehmen, es liegen die Sporen gewissermassen in einem Sack, gebildet von einer äusseren und inneren protoplasmatischen Schicht.“ Geen dezer beide lagen is echter in eene enkele figuur afgebeeld; vooral fig. 14 is met deze opvatting zeer moeilijk in overeenstemming te brengen.

Vatten we onze kennis der *Protomyces*-ontwikkeling samen, dan mogen we zeker de woorden, welke DE BARY in 1884 schreef, tot de onze maken: „Die der Trennung der Sporen vorausgehenden Umlagerungen in dem Protoplasma bedürfen neuer Nachuntersuchung“.

TAPHRIDIDIUM LAGERH. EN JUEL.

Het geslacht *Taphridium* Lagerh. en Juel is door den laatsten auteur gepubliceerd in Bull. soc. myc. de France Bd. 17. 1901 en nader behandeld in Bihang till K. Svenska Vet.-Akad. Handlingar Bd. 27 Afd. III no. 16 1902 met twee soorten: *Taphr. umbelliferarum* (Rostr.) Lagerh. en Juel en *Taphr. algeriense* Juel.

Beginnen we met de verschijnselen der ontwikkeling dezer beide vormen ter vergelijking naast elkaar te zetten:

T. UMBELLIFERARUM.		T. ALGERIENSE.	
I.	In jonge bladeren vindt men alleen subepidermale hyphen, waarvan de cellen in sporangiën overgaan en dan aan de ventrale zijden hyphen uitzenden, welke tusschen de palissadenparenchymcellen dringen (om zich te voeden?). De vegetatieve cellen en de zeer jonge sporangiën zijn veelkernig en de kernen in beide even groot.	Het vegetatieve mycelium vindt men in jonge bladeren tusschen alle weefsellagen. De hyphen onder de bovenste epidermis leven de sporangiën; sommige cellen blijven vegetatief. Alle cellen zijn veelkernig. De jonge sporangiën worden grooter en waarschijnlijk heeft ondertusschen vermeerdering van kernen plaats gevonden, maar kerndeeling werd niet waargenomen.	I.
II.	De sporangiumwand wordt dikker; het cytoplasme dichter.	De sporangiumwand wordt dikker.	II.
III.	De kernen worden van 2—3 maal grooter (nucleolus en chromatedraad). De middelste wandlaag verslijmt.	De kernen worden grooter en bezitten nucleolus en chromatedraad.	III.
IV.	Intranucleaire mitotische deeling van alle kernen (misschien 2 op elkaar volgende deelingen.)	Alle kernen liggen in ééne rij, in een wandstandige laag protoplasma. Deze kernen zijn kleiner dan die van stad. III.	IV.
V.	Eenige kernen van den bouw	Elke kern wordt het centrum	V.

T. UMBELLIFERARUM.	T. ALGERIENSE.	
	<p>van eene protoplasmamassa, die zich scherp afscheidt van een wandstandig dun laagje, van eene centrale protoplasmamassa, die sterk gevacuoleseerd is en van protoplasma verbindingen, die tusschen de verschillende massa's doorloopen.</p>	
<p>VI. Het overblijvende protoplasma is zeer weinig en heeft eene draderige structuur. De cellen uit het vorige stad. zijn de sporemoeder-cellen of de sporen zelf.</p>	<p>In dit stadium zijn de jonge sporen gevormd, talrijker en kleiner dan de protoplasmamassa's van 't vorige stadium. Ze liggen niet in ééne laag, maar wandstandig in groepen. Deeling niet waargenomen.</p>	<p>VI.</p>
<p>VII. Het sporangium is met sporen gevuld, die alle 1-kernig zijn. Protoplasma resten zijn er bijna niet, behalve een dun wandstandig laagje. Nergens vindt men normale of degenererende vrije kernen.</p>	<p>De sporen worden grooter, omgeven zich met eenen wand, blijven éénkernig, soms fusioneeren ze. De resten van cytoplasma bevatten geene kernen.</p>	<p>VII.</p>

Uit dit korte overzicht blijkt duidelijk genoeg, dat *T. umbelliferarum* te voren op ondeugdelijke gronden tot de *Exoasceae* gebracht is.

Tusschen de ontwikkeling der beide *Taphridium*-soorten zijn verschillen, welke echter bij nog nauwkeurigere kennis ongetwijfeld grootendeels zullen wegvallen. Doordat de resultaten uitsluitend met microtoom-doorsneden verkregen zijn, heerscht er altijd eenige onzekerheid over de volgorde der verschillende stadia.

T. algeriense vertoont ongetwijfeld de meeste overeen-

komst met de nauwkeuriger bekende *Protomyces*-soorten, zoowel doordat vóór de sporevorming alle kernen met de hoofdmasse van het protoplusma zich wandstandig plaatsens, als door de fusioneering der sporen.

Juist bij dezen vorm echter wijkt de wand van de sporangiën het meest af van dien der *Chlamydosporen* bij *Protomyces*. Geheel zeker zijn de opgaven van JUEL hierover niet, maar hij zag bij *T. algeriense* geenen laagsgewijzen bouw van den wand en geen endosporium naar buiten treden.

Eenvoudiger dan deze toestand is af te leiden van eene *Chlamydospore*, volgens BREFELD'S opvatting, welke dan zelf tot sporangium zou zijn geworden en het stadium der kieming zou hebben uitgeschoven, is de toestand bij *Protomyces* af te leiden van dien bij *Taphridium* in verband met den rusttoestand, dien de eerste, tengevolge van het klimaat moet doormaken. Is deze opvatting echter juist, dan zal het moeilijk zijn de sporangiën van *Protomyces* en *Taphridium* phylogenetisch te verklaren langs denzelfden weg als BREFELD het den ascus doet, daar ze intercalair ontstaan.

Het zal zeker van belang zijn ook de ontwikkeling na te gaan van de *Magnusiella*-soorten, welke naast *T. umbelliferarum* door SADEBECK (Jahrb. der Hamb. wissensch. Anstalten X Jahrg. 2te Hälfte 1893) tot het eerstgenoemde geslacht zijn gebracht en meer speciaal van *M. Githaginis* (Rostr.) Sadeb., de eenigste vorm naast *M. umbelliferarum* door GIESENIAGEN (Flora Bd. 81 1895) in het geslacht gelaten.

ENDOGONE. LINK.

Endogone, het eenigste saprophytische geslacht der Protomycetaceae is 't eerst vermeld in LINK's Annalen der Naturgeschichte 1791 I, pag. 33.

Het mycelium, eerst uit vrije hyphen bestaande, verbindt zich later tot meer of minder ronde ballen, algemeen vruchtlichamen genoemd, waaraan we eenen wand, uit los met elkaar vervlochten hyphen bestaande, kunnen onderscheiden en eenen inhoud, die bestaat uit een groot aantal, onregelmatig door elkaar gelegen blazen, de sporangiën der verschillende auteurs, aan 't eind van hyphevertakkingen gezeten.

Van de details der vorming van de vruchtlichamen is niets bekend. Over vorming van „sporen” in de sporangiën vinden we de eerste mededeeling bij SCHROETER (Pilze Schlesiens 1889, pag. 259):

„Einigemal sah ich in ihrem Inhalt (der Sporen) die Bildung von unregelmässigen länglich ovalen Zellen eintreten, welche die ganze Spore erfüllten, sie zeigten keine weitere Entwicklung und es blieb mir ungewiss, ob es sich um eine typische Entwicklungsform handelte.”

Vijf jaar later (Engler en Prantl I Teil s Abt. p. 148) schrijft hij:

„Die Stellung dieser Gattung ist noch nicht sicher, da die Entwicklung der groszen, sackförmigen Gebilde im Inneren der Fruchtkörper, welche Schläuchen der Tuberaceae ähnlich sind, noch nicht genau genug beobachtet ist. Ich habe bei *E. macrocarpa* und einer anderen Art (wahrscheinlich *E. microcarpa*) nach längerer Ruhezeit im Inneren der

Schläuche rundliche, sporenartige Gebilde auftreten sehen, bin aber über die Entwicklung derselben noch nicht ins Klare gekommen."

Wat SCHROETER hier „Schläuche" noemt, vermeldt hij in 1889 nog als „Sporen" (zie beneden).

ED. FISCHER, die in Rabenh. Kryptog. Flora I 5 1897 vier Midden-Europeesche soorten noemt, schrijft over de sporevorming (l. c. pag. 124).

„In den groszen dickwandigen Blasen — — — — hat schon SCHROETER — — — — rundliche, sporenartige Gebilde auftreten sehen — — — — Ich kan diese Beobachtung bestätigen und ergänzen. Bei den Exemplaren, welke in Rabenhorst, Fungi europaei N^o. 2516 unter der Bezeichnung *E. microcarpa* Tul., Syn. *Episiformis* Lk. ausgegeben und von Cesati bei Neapel gesammelt sind, konnte ich nämlich ebenfalls Sporenbildung beobachten. Nach Erwärmung im Milchsäure zeigte sich bei den einen der in Rede stehenden blasenförmigen Gebilde das dichte, körnige Protoplasma durch scharfe, dunkle Linien in zahlreiche, polyedrische Portionen getheilt (p 121 Fig. 4).

Bei anderen, offenbar in der Entwicklung weiter vorgeschrittenen, erscheinen diese Portionen gegeneinander abgerundet, von einander isolirt und jede derselben ist umgeben von einer farblosen, dünnen Membran (siehe Fig. 5) — — — Bei der Sporenbildung scheint das ganze Protoplasma des Sporangiums aufgebraucht zu werden."

Zooals blijkt is onze kennis gering aangaande de geheele ontwikkeling.

En nu de plaatsing van het geslacht in het systeem. TULASNE beschrijft aan 't eind zijner *Tuberacei* (Fungi

hypogaei pag. 178 en volg. 1851) eenige vormen met den aanhef: „Ad Tuberaceos insuper vulgo referentur”.

Hieronder vermeld hij ook het geslacht *Endogone* met vier soorten, waarvan hij zegt:

„Genus singulare vix e Tuberaceorum ordine. saltem hos inter spurius civis, Ciliciocarpo Cord., ut videtur, praecipue analogum, sed stipitis defectu fructificationeque omnino diversum; Testicularia Klotz et Arachnion Schw. illi forsan nonnihil affines.”

SCHROETER brengt *Endogone* in 1889 tot zijne orde der Protomycetes, maar terecht zeer weifelend. Hij spreekt hier van „Sporen” bij *Endogone* in verband met de „Dauersporen” van Protomyces.

In 1894 geeft hij van de Hemiascineae de vroeger genoemde indeeling, die hier gemakshalve gevolgd is, maar laat daaraan voorafgaan:

„Jede der bisher bekannt gewordene Gattungen der Hemiascineae trägt ein so besonderes Gepräge, so dass man versucht wird, auf jede derselben eine eigene Familie zu gründen. Um eine zu grosze Zersplitterung zu vermeiden, möge vorläufig folgende Einteilung festgehalten werden.”

In de dichotomische tabel vallen dan de Ascoideaceae en Protomycetaceae onder de Exohemiasci (Sporangien ohne jede Hülle) en de Monascaceae vormen de Carpoemiasci (Sporangien mit mehr oder weniger stark entwickelter Hülle), ofschoon beide namen niet gebruikt worden.

FISCHER doet dat wel in 1897 en brengt dan juist *Endogone* tot de Carpoemiasci en zelfs nauwer in verband met *Monascus* op gronden ontleend aan de sporenvorming,

die latere onderzoekingen hebben doen vervallen. Hij legt in dit verband den nadruk op *E. luctiflua* Berkeley, waar elk sporangium binnen het vruchtlichaam nog weer eene eigene omhulling heeft.

Vermeld dient, dat BREFELD in SCHROETER's mededeeling van 1889 geene aanleiding heeft gevonden *Endogone* onder zijne *Hemiasci* op te nemen.

Eene eigenaardigheid van 't geslacht is nog, dat het mycelium eerst ongesepeteerd is en de sporangiën zeer laat door een septum van de hen dragende hyphen worden afgescheiden.

Andere fructificatievormen dan de sporangiën zijn niet bekend.

Van jongen datum is een kritisch artikel over 't geslacht *Endogone* van Baccarini (*Nuovo Giorn. Bot. Ital.* 1903).

't Eerste resultaat, waartoe de schrijver komt, is, dat verschillende beschreven vormen (bij Saccardo 13) uit het geslacht verwijderd moeten worden. Zoo b.v. de *Endogone pisiformis* Link, door het Museum te Weenen als n^o. 210 verspreid, waarschijnlijk een sclerotium van eenen onbekenden vorm; de „sporangien" (ampullen van Baccarini) ontbreken in elk geval. *Endogone Torziana* Cav. et Sacc. zou een *Leucogaster* zijn, waarvan Baccarini in het authentieke exemplaar de bacidië en basidiosporen meent te hebben gevonden. Belangrijker is hier, dat ook *E. microcarpa* Tul. (*Rabenh. Fungi europaei* N^o. 2516) geen *Endogone* zou zijn, maar een *Mucoracee* in de buurt van *Mortierella* en dat dus de waarnemingen van SCHROETER en FISCHER over dezen vorm van geen belang voor *Endogone* zouden zijn.

Uitvoeriger is nu door BACCARINI de meest voorkomende

E. macrocarpa onderzocht, de tweede vorm, waarbij SCHROETER eene vermoedelijke sporenvorming waarnam BACCARINI nam in de ampullen geene andere verschijnselen waar dan in het volgende citaat zijn uitgedrukt:

„Talune (ampolle) infatti hanno membrana robusta a colorito castagno, un contenuto denso ed opaco; altre membrana sottile ed incolora, un contenuto chiaro ricco di vacuole poliedriche per mutua pressione, in modo da ricordare, mutatis mutandis, le figure alveolari del BUTSCHLI.

La figura del FISCHER ricorda sino ad un certo punto queste apparenze e chi non avesse veduti gli esemplari Cesatiani della *E. microcarpa* potrebbe essere indotto a ritenere che si tratti dello stesso fenomeno: ma cadrebbe in errore; poichè nel caso della *E. microcarpa* si tratta di linee o pareti di separazione tra inizi di vere e proprie spore: e qui al contrario di lamine protoplasmiche che separano delle vacuole piene di succo cellulare.” (l.c. pag. 83.)

't Resultaat, waartoe de schrijver komt, is, dat volgens zijne meening *Endogone* in de buurt der *Perenosporaeën* gezet moet worden. Hij vat de ampullen op als oösporen, zonder copulatie ontstaan, waarvan de wand met den oögonium-wand samenvalt en verwijst daarbij naar *Sclerospora*. Tevens wordt een vroeger (*Bull. Accad. Gioenia, Catania 1900*) door hem beschreven fossiele vorm *Pythium Disodilis*, in 't geding betrokken.

Overtuigend kunnen deze laatste beschouwingen niet genoemd worden en *Endogone* is ook nu nog eene onbegrepen vorm.

ASCOIDEA BREFELD.

BREFELD stelde dit geslacht op en publiceerde in Heft IX de resultaten van het onderzoek, hetwelk hij samen met LINDAU uitvoerde, van de eenigste soort, *A. rubescens*.

A. rubescens werd door LINDAU gevonden in bloedingsvocht van beuken en vormde aanvankelijk witte, later roodachtig bruine viltachtige massa's, uit bijzonder dikke (30 micr.) dooreengevlochten hyphen bestaande, die sterk gesepteerd zijn. Eerst worden conidiën gevormd, tot 70 micr. lang, daarna ontstaan ook sporangiën, welke vorming langzamerhand de eerste verdringt. Beide fructificatievormen ontstaan eindstandig aan hyphevertakkingen.

De conidiën worden eindstandig aangelegd, door eene korte hyphevertakking, die er vlak onder ontstaat, ter zijde geschoven, en ook deze vertakking vormt aan haar uiteinde eene conidië. De conidiëndragers worden dus sympodia, welke tot 30 conidiën kunnen dragen. De conidiën, welke zoowel aan hyphen in eene voedingsvloeistof ondergedoken, als daarboven uitstekend, gevormd worden, nemen gaandeweg in grootte af. Kiemen deze conidiën weer in dezelfde, nu minder geconcentreerde voedingsvloeistof, dan leveren ze direct eenen conidiëndrager, welke soms weinig ontwikkeld is, zoodat men dikwijls den indruk van eene gistachtige vermenigvuldiging krijgt.

De sporangiën worden ook eindstandig aangelegd en hebben eerst, evenals de conidiën, schuimachtig protoplasma. Over de sporevorming wordt eerst medegedeeld (l. c. pag. 101):

„Die Einleitung zur Sporenbildung in der Sporangien-

anlage verräth sich durch eine dunklere Färbung des Protoplasmas, welches körnerreich und weniger durchsichtig erscheint. Es verharrt in diesem Zustande beinahe einen Tag, ohne dass es möglich wird auch mit den besten Linsen, die engeren Vorgänge zu verfolgen, die sich im Innern vollziehen. Nur eine eigenartige Kappenbildung an der Spitze des Sporangiums — — — — deutet in stetiger Zunahme den fortschreitenden Verlauf der Sporenbildung an. Diese Kappe bereitet die Oeffnung und spätere Entleerung des Sporangiums an dieser Stelle vor. — — — — — Wenn die Kappenbildung vollendet ist, klärt sich der vorher dunkle Inhalt etwas auf, er erscheint gebrochen, und nun sieht man mit starker Vergrößerung, dass die Bildung der zahlreichen, aber sehr kleinen Sporen inzwischen eingetreten ist."

Verder is van belang :

„Schon durch diese Membranverquellungen der inneren Membranschichten (der Kappe) muss ein Druck auf die Sporenmasse entstehen, der noch gesteigert wird durch eine Verquellung der Sporenmasse selbst, resp. der eigenartigen Zwischensubstanz, welcher die gebildeten Sporen eingebettet sind." (l. c. pag. 101.)

Door dezen druk worden de sporen gedeeltelijk naar buiten gebracht en de rest wordt uitgeschoven, doordat de bodem van 't sporangium hierin uit gaat groeien. De top van de doorgroeiende hyphe, omhuld door den wand van 't geleege sporangium, wordt nu door eenen dwarswand afgescheiden en levert een nieuw sporangium, waarvan de bodem, nadat het opengesprongen is, hetzelfde doet als die van zijn voorganger. Zoo kunnen achtereenvolgens aan

't einde der zelfde hyphe verscheidene sporangiën gevormd worden, elk binnen den wand van zijn voorganger. De na elkaar ontstaande sporangiën worden steeds kleiner.

Van belang, om BREFELD's opvatting over de genoemde „Zwischensubstanz” te leeren kennen, is nog (l. c. pag. 104): „Diese Verklebung ist nicht durch die Sporen an sich bedingt, sondern durch eine eigenartige feinkörnige Zwischenmasse, welcher die Sporen eingebettet sind. Diese Zwischenmasse von mattgelber Farbe wird besonders deutlich sichtbar, wenn wir eine ausgedrückte Sporenmasse unter Deckglas bringen und dann mit starken Vergrößerungen besehen. Hier bekommt man Bilder, die zeigen, dass die Zwischenmasse sehr beträchtlich und mächtig ist, und dass die Sporen einzeln oder auch zu zweien verbunden von ihr allseitig umgeben sind, ja man sieht ein förmliches Loch, an den Stellen, wo einzelne Sporen aus der Zwischensubstanz ausgefallen sind. Zweifellos ist die Zwischensubstanz bei der Sporenbildung übrig geblieben, wie es so häufig, namentlich bei Sporangien in Ascen, aber auch bei gewöhnlichen z. B. Mucorsporangien geschieht; sie ist nur hier ganz besonders reichlich vorhanden und fällt durch ihre feste Verkittung der Sporen zu einer förmlichen Masse auf. — — — — —
Es ist sogar schwer und oft gar nicht möglich die Sporen ihr zu befreien, so fest heftet sie diesen an.”

Over de ascosporen en hare kieming is vermeld (l. c. pag. 107): „Die Sporen — — — — — haben eine eigenthümliche Kappenform — — — — — gleich den Sporen von *Endomyces decipiens* — — — — —
Die Sporen sitzen nämlich, — — — — — zu zweien

zusammen und haben so in der Verbindung ein bisquit förmiges Ansehen, ganz wie die Schlauchsporen von *E. decipiens*. Wenn sie in der Mitte auseinander gefallen sind, ist die Kappenform nach der einen, die gerade Fläche der anderen Seite als ihre natürliche Form selbstverständlich. Diese Verbindung der Sporen zu zweien und ihre hierdurch erklärte Gestalt ist das einzige sichere, was man über die Bildung der Sporen sehen und aussagen kann. Die Verbindung ist aber nicht anders als der Ausdruck der letzten Zweitheilung, die zur Ausbildung und Gestaltung der Sporen führt, zu beurtheilen. Man kan mit aller Wahrscheinlichkeit schliessen, aber nicht direct sehen, dass dieser letzten Theilung die Reihe der Zweitheilungen vorausgegangen ist, welche die Bildung der Sporen in so grosser Zahl herbei führte und also mit mehr als blosser Vermuthung aussagen, dass die Sporen im Sporangium durch fortgesetzte Zweitheilung gebildet werden." Onwillekeurig komt de vraag op, wat zich voortdurend in tweeën deelt!

Aan de feiten, die BREFELD bij de ontwikkeling van *A. rubescens* heeft waargenomen, ontleent hij argumenten voor zijne opvatting van het genetisch verband tusschen conidië en sporangium, welke quaestie hier van belang is, omdat ze het verband tusschen conidië en ascus insluit.

„Bis zum Beginn dieser Sporenbildung ist es geradezu unmöglich, die Anlagen der einen oder der anderen Fruchtform als solche zu erkennen, so ununterscheidbar sind beide in der Form und im morphologischen Ort. Selbst die Configuration des Protoplasma in einer reifende Conidie in der Form alsob eine endogene Sporenbildung wie im Sporangium erfolgen sollte, lässt sich noch

unterscheiden. Erst von da ab ändert sich die Sache.

Die Conidie setzt den Entwicklungsgang nicht fort, sie fällt ab und bleibt eine einheitliche Riesenspore; das Sporangium bleibt sitzen und erreicht ohne weitere Vergrößerung durch endogene Sporenbildung den Abschluss der Entwicklung" (l. c. pag. 101).

„Die Sporangien schwanken also in der Grösse ganz so, wie es die Conidien thun" (l. c. pag. 105).

„Bemerkenswerth ist nur, dass die bereits eingetretene Sporangienbildung durch Zusatz von neuer Nährlösung, welche ein weiteres Auswachsen der Träger spitzen zur Folge hat, immer wieder durch Conidienbildung unterbrochen werden kann (l. c. pag. 105).

„Die — — — — angeführten Bilder in Fig. 1, Fig. 9—15 und Fig. 23 (Tafel III B) sind die unmittelbarsten Zeugen für die Zusammengehörigkeit der beiderlei Fruchtformen im Conidien und in Sporangien. Noch sind die Conidienträger mit den Conidien dicht besetzt, wenn die von ihnen eingeschossene Spitze zu der anderen Fruchtform in Sporangien übergeht. (l. c. pag. 105.)

„Schon die unmittelbare Ablösung der Conidien durch die Sporangien an demselben Orte legt die Beziehungen beider Fruchtformen zu einander so nahe als möglich. Diese werden aber noch bestärkt durch die gleiche Grössenform und über die Formübereinstimmung hinaus durch den gleichen Bildungsmodus. Die Conidien werden apical gebildet und durch das Nachwachsen der Axe, die immer wieder zu neuer Conidienbildung übergeht, stets wieder zur Seite gedrängt. Genau das gleiche geschieht

bei der succedanen Sporangienbildung. Auch hier wächst die Axe nach der Bildung des ersten Sporangiums zu neuen, stets apical stehenden Sporangien aus. Der einzige Unterschied ist der, — — — — dass die Sporangien nicht zur Seite geschoben, sondern ihre entleerten Hüllen einfach und direct an der unteren Seite durchwachsen werden. Dieser Unterschied betrifft aber gar nicht die Grundform der Bildung, er hat also nur einen äusserlichen und keinen eigentlichen morphologischen Werth". (l.c. pag. 106.)

„Selbst die Configuration des Protoplasma in der Conidie als ob sie zur endogenen Sporenbildung fortgehen wollte, ist die gleiche wie im Sporangium. Die Sporenbildung in den Conidien ist angedeutet, aber sie vollzieht sich nicht mehr, sie ist erloschen und indem sie erlischt, ist das Sporangium zum Schliess-Sporangium, zur Conidie geworden." (l.c. pag. 106.)

Van de voorgaande aanhalingen, waarvan geen enkele een bijzonder klemmend argument inhoudt, geeft de laatste tot een paar opmerkingen aanleiding.

Aan de „Configuration des Protoplasma", zooals ze afgebeeld is in BREFELD's Tafel III B Fig. 8, wordt zonder grond eene bijzondere beteekenis gehecht, terwijl we hier blijkbaar eenvoudig met gevacuoliseerd protoplasma te doen hebben.

BREFELD merkt zelf op, dat zijne voorstelling van 't ontstaan der conidië hier eene geheel andere is, dan die, gegeven ten opzichte der conidiën van Chaetocladium (l.c. pag. 65.) Maar principieel staat dit geval tegenover de woorden, welke BREFELD l.c. pag. 67 schrijft: „Die

Zahl der Sporen, deren stete Schwankung den kleinen Sporangien, den Sporangiolen, den Charakter einer noch einfachen Sporangienform deutlich aufprägt, geht bis auf die Einzahl im Sporangium zurück, also bis auf den möglichen Punkt, der den Charakter der endogenen Sporenbildung noch nicht aufhebt.

Erst in der Gattung *Chaetocladium*, verglichen mit den Sporangiolen in *Thamnidium*, ist die endogene Sporenbildung und mit ihr der Charakter des Sporangiums erloschen, und eine neue Fruchtform „die Conidie“ ist an ihre Stelle getreten.”

Hier valt de nadruk op de ééne spore, bij *Ascoidea* op den stilstand, die er in de ontwikkeling van den Sporangiumaanleg met vele sporen voor het eind daarvan intreedt. Vergelijken we hier nu nog eens mee, wat we in Heft I pag. 42 en 43 en Heft IV pag. 95 over conidiën van *Piptocephalus* vinden, dan wordt het vrij duidelijk, dat alle voortplantingsorganen, welke door BREFELD conidiën zijn genoemd, geene vormingen van gelijke morphologische waarde zijn en, bezien van BREFELD's standpunt ten opzichte der „Conidie”, mag deze benaming door hem niet voor al die vormingen gebruikt worden.

In verband met BREFELD's streven om de homologie van conidië en sporangium te bewijzen uit hunnen overeenkomstigen aanleg, mag nog even gewezen worden op eene mededeeling van DAVIS (*Bot. Gaz.* vol. XXXV 1903, pag. 234) over de afhankelijkheid van de voortplantingsorganen, welke door *Saprolegnia* worden voortgebracht — zoösporangien of oögonien — van den voedingsbodem. Hij zegt: „It was always possible to get oospores, as

Klebs (1899) has shown, by placing cultures developing zoosporangia under such conditions that the hyphae were no longer submerged. This may readily be done by removing material from water and placing it in a dish of cold agar-agar, which will furnish enough moisture to support the fungus for several weeks. The filaments out of water promptly developed *oogonia*, even when they had the form characteristic of zoosporangia.¹⁾ Such cultures frequently showed club-shaped oogonia, whose eggs were arranged approximately in a line."

En tegen de homologie van oögonium en zoösporangium zou BREFELD waarschijnlijk bezwaren maken.

Details der Sporangium-ontwikkeling bij Ascoidea heeft Mej. POPTA gegeven in hetzelfde artikel, waarin ook Protomyces is behandeld, (Flora Bd. 86, 1899).

Hare resultaten kunnen op de volgende wijze worden samengevat:

- I. De cel, welke tot sporangium zal worden, heeft eerst een wandstandig protoplasma. De centrale vacuole wordt in steeds meerdere en kleinere vacuolen verdeeld. Eene teekening van een gekleurd praeparaat vertoont vele kernen en eene kerndeelingsfiguur.
- II. De cel deelt zich in tweeën; de onderste helft krijgt langzamerhand weer ééne centrale vacuole. De bovenste helft, 't eigenlijke sporangium, bevat vele hoekige vacuolen.

Deze verdeeling in twee cellen is afgebeeld in fig. 2 l. c., eene teekening, welke vergeleken moet

1) Ik cursiveer.

worden met fig. 18, 19, 21 en 25, Taf. III B van BREFELD en men krijgt dan den indruk, dat de voorstelling, welke Mej. POPTA geeft, niet geheel juist is.

- III. De vacuolen ronden zich af en zijn zeer ongelijk van grootte. In 't protoplasma treedt een groot aantal kleine oliedruppeltjes op en buitendien nog zich bewegende korreltjes.
- IV. De omtrek der vacuolen wordt onduidelijk; de vacuolen verdwijnen, zonder haren vorm te hebben veranderd.

„Man muss offenbar annehmen, dass die Wand der Vacuolen immer dünner geworden sei, bis diese endlich aufgelöst werde. Die Körner vermehren sich immer mehr, (l. c. pag. 6 en 7).

- V. „Körnerstadium, (l. c. pag. 7). Homogeen protoplasma met vele korrels. Sommige plekken vertoonen geene korrels. („Reste der ursprünglichen Vacuolen“). Gekleurde praeparaten vertoonen (met osmiumzuur en Gentiaanviolet) vele bruine en blauwe stippen op licht-blauwen ondergrond en de ongekleurde „Vacuolenresten“. Sommige der blauwe stippen zijn misschien kernen.
- VI. „Sporenbildendes Stadium“, (l. c. pag. 7). „Das lebende Material (Fig. 5, Taf. I) lässt viele Körner erkennen, dazwischen homogene Plasmatheile. Letztere sind in Bildung begriffene Sporen. Die umgebenden Körner sehen bei schwacher Vergrößerung aus, als ob sie sich zu Platten angeordnet hätten.“ (l. c. pag. 7.)

De gekleurde praeparaten zijn als in 't vorige stadium. De kernen zijn als donkerblauwe stippen te zien. Sommige hiervan hebben homogeen protoplasma om zich verzameld. Deze lichamen zijn volgens schrijfster de sporen.

VII. De jonge sporen vormen eenen wand en bezitten meerdere kernen.

De korrels tusschen de sporen verdwijnen langzamerhand. De sporen liggen nu in eene tusschenzelfstandigheid, die nog olieachtig is.

Verder verdienen nog vermelding de volgende regels, (l. c. pag. 10):

„Die herausgetriebene Masse hat eine längliche Form und bleibt in der Nähe des Sporangiums liegen. Auf gefärbten Schnitten ist zu constatiren, dass ausser der hellbraunen Zwischensubstanz auch noch eine rein blau sich färbende Aussenschicht um die Sporenmasse herum liegt; diese ist sehr dünn. Dass es wohl eher Hyaloplasma ist, als eine innere Schicht der Wand, lässt sich schliessen aus der Art der Blaufärbung und auch aus der sehr starken Dehnung, welche sie beim Austreten erfährt. Kerne sind in der Zwischensubstanz zwischen den Sporen nicht nachzuweisen, auch nicht in der vorhin erwähnten äusseren Schicht, von der ich mir vorstelle, es sei die nicht an der Sporenbildung beteiligte äussere hyaline Plasmaschicht des Sporangieninhalts.“

Over den aard der lichtbruine tusschenzelfstandigheid laat de schrijfster zich niet verder uit.

De biscuitvorm der dubbelsporen, zooals die beschreven is door BREFELD, wordt hier ontkend, maar het groote

vormverschil tusschen de vrij geworden spore en zooals ze in Stad. VII ontstaan is, wordt niet verklaard.

Daar de vergrooting der verschillende teekeningen niet is aangegeven, is onderlinge vergelijking moeilijk, maar toch maken de sporen van fig. 8 eenen relatief kleineren indruk dan die van fig. 6*a* en *b*. Ook stemt het aantal sporen in fig. 8 hoogstwaarschijnlijk niet overeen met 't aantal kernen in fig. 6*a* en vermoedelijk zijn de sporen van fig. 6*b* sporenmoedercellen.

Ten slotte is hier de plaats om het eindresultaat van Mej. POPTA's verhandeling aan te halen (l. c. pag. 44):

„— — — Die Hemiasci (stellen) in Bezug auf ihre Sporenentwicklung keine einheitliche Gruppe (dar), ein Theil derselben (Ascoidea) zeigt mehr Analogie mit den Ascomyceten, andere dagegen (Protomyces) nähern mehr den Phycomyceten.“

Deze opvatting steunt hoofdzakelijk op het al of niet aanwezig zijn van eene na de sporenvorming overblijvende tusschenzelfstandigheid.

Erkent men echter den samenhang van de geslachten *Protomyces* en *Taphridium* en de meerdere waarde, welke aan JUEL's resultaten moeten gehecht worden, dan aan die van Mej. POPTA, dan is hare uitspraak omtrent den samenhang van *Protomyces* met de *Phycomyceten* op de door haar aangevoerde gronden van twijfelachtige waarde.

Eene tweede soort, *A. saprolegnioides*, is beschreven door HOLTERMANN in zijne „Mykologische Untersuchungen aus den Tropen“ 1898. Deze vorm stemt in hoofdzaken met den eersten overeen.

We vinden ook hier conidiën en sporangiën, welke beide, op dezelfde wijze als bij *A. rubescens*, verscheidene na elkaar, aan 't eind van eene hyphe kunnen ontstaan. De conidiën zijn hier aanmerkelijk kleiner dan de sporangiën (30 micr. en 500 micr.)¹⁾, terwijl bij *A. rubescens* zelfs 't omgekeerde voorkomt.

Eene zeer eigenaardige conidiënvorming wordt aangeduid door de volgende zinnnetjes :

„— — — —; wieder andere Conidien zeigten sich in den geschlossenen Zellen als grosse Riesensporen (siehe Fig. 15 en 16, Tafel II)” (l. c. pag. 19) en :

„Zuweilen habe ich auch beobachtet, dass das Plasma geschlossener Zellen sich conidienartig zusammenzieht. Solche eigenthümlichen Bildungen liessen sich auch leicht zur Keimung bringen, — — — — —; die endogenen Conidien quollen auf, sprengten die Zellwände und lagen bald frei.” (l. c. pag. 21.)

Met nadruk dient hier te worden opgemerkt, dat deze opvatting totaal afwijkt van BREFELD's voorstelling der conidië en moeilijk verdedigbaar blijkt. Een cytologisch onderzoek van dit verschijnsel in verband met vrije celvorming zal van belang zijn.

HOLTERMANN wijst er met eenigen nadruk op, dat het doorgroeien van eene hyphe binnen den wand van een geleege sporangium tot een nieuw, ook bij *Saprolegniaceae* en *Monoblepharidaceae* voorkomt.

Over de sporenvorming schrijft HOLTERMANN :

1) Volgens de opgaven l. c. pag. 19; maar volgens de fig. 1 en 19 Taf. II, zijn deze maten respectievelijk 60 micr. en 100 micr.

„Die einzelnen Vorgänge bei der Sporenbildung liessen sich nicht verfolgen. Das Protoplasma der Schläuche erschien allmählig dunkler und körnig und wurde schliesslich so undurchsichtig, dass jede genaue Beobachtung ausgeschlossen war.“ (l. c. pag. 22.)

De sporen zijn rond en ontstaan niet twee aan twee met elkaar verbonden.

Ten slotte stelt HOLTERMANN de volgende theoretische beschouwing tegenover die van BREFELD:

„Es unterliegt keinem Zweifel, dass die Conidien und die Sporangien in diesem Falle nur zwei Modificationen derselben Anlagen sind. Man kann folglich die Sporangien als Conidien mit endogener Sporenbildung bezeichnen, oder aber die Conidien als Sporangien ohne Sporenbildung, — — — — — aber zu phylogenetischen Betrachtungen geben solche Beobachtungen keinen Anhaltspunkt und die BREFELD'sche Hypothese über die Ableitung der Conidie entbehrt jeder sicheren Grundlage, solange sie nur auf Analogien, die nichts beweisen können, angewiesen ist.“ (l. c. pag. 22.)

Uit de voorgaande mededeelingen en aanhalingen blijkt voldoende, dat een nader onderzoek van 't geslacht *Ascoidea*, vooral cytologisch zeer gewenscht mag genoemd worden.

't Zelfde geldt voor de geslachten *Oscarbrefeldia* en *Conidiascus*, door HOLTERMANN in de reeds genoemde publicatie beschreven, maar de fout is door dezen schrijver bewust begaan, omdat hij 't bestaan van kernen in den *ascus* ontkent.

Klemmend is z'n bewijsvoering, vooral tegenover de resultaten van de meeste der beste onderzoekers, niet. Jammer is het zeker, dat hij den kern-dogmatici niet het genoegengegund heeft, zijne pseudo-cytologische resultaten in beeld te brengen, daar hij „die meisten von HARPER z. B. gezeichneten „karyokinetischen Figuren“ leicht zusammenstellen (konnte).“ (l.c. pag. 18.)

OSCARBREFELDIA HOLTERMANN.

HOLTERMANN's mededeelingen over *Oscarbrefeldia pellucida* zijn vrij uitvoerig. Ook hier beschrijft hij conidiën en asci. De conidiën ontstaan eindstandig, soms in rijen, maar niet vindt men eene sympodiale vertakking van den conidiëndrager. Wel kan eene hyphe onder de eindstandige conidië uitgroeien tot een sporangium. Uit Fig. 1 Taf. I blijkt vrijwel, dat elke cel van een mycelium in een sporangium kan overgaan. Het aantal sporen wisselt van 1—70. Uit deze twee feiten volgt eene verwarrende vormenrijkdom en we lezen dan ook (l.c. pag. 10):

„Durch den Umstand, dass die Sporangien so grossen Formschwankungen unterworfen sind, lässt sich die Differenzierungsweise der Sporen nicht in einheitlicher Weise darstellen. Die verschiedenen Kategorien, die wir mit Rücksicht auf die Sporenbildung aufstellen können, sind nicht scharf von einander zu scheiden. Denn so eigenartig die extremen Fälle sein mögen, so gehen sie doch vielfach in einander über.

In den endständigen Sporangien liegt so zu sagen die normale Bildungsweise vor.“ (Sic.)

Deze mededeeling is het begin van eene min of meer

tendenzieuse behandeling der sporenvorming. Het geval, afgebeeld in Fig. 9 A Taf. I, wordt als volgt beschreven: (l.c. pag. 13 en 14.)

- I. „Der Inhalt des Schlauches war eine helle durchsichtige Flüssigkeit von zäher Consistenz“.
- II. „In der mittleren Partie auf der rechten Seite des Schlauches zeigte sich eine kleine, in der Mitte helle, körnige Ansammlung von Protoplasma.“
- III. „Die Ansammlung hatte sich etwas vergrößert.“
- IV. „Am unteren Ende kam eine neue Ansammlung zum Vorschein. Die linke Seite an der Spitze nahm zu dieser Zeit einen dunkleren Farbenton an.“
- V. „Links an der unteren Seite waren zwei neue Ansammlungen hinzugekommen; in dem oberen Ende hatte ein feinkörniges Protoplasma die innere Wand belegt und umschloss vacuolenartig die obere Hälfte des Schlauchinhaltes.“
- VI. „Die ersten Querwände zwischen den seitlichen Ansammlungen waren schon sichtbar.“

De beschrijving wordt nu onvolledig. Ook in de onderste helft vindt men nu eene wandstandige protoplasmalaag en de inhoud van den ascus is door dwarswanden van protoplasma verdeeld.

- VII. „Die Form der Sporen war deutlich zu erkennen.“
- VIII. „Das umliegende Protoplasma, das bis dahin körnig erschien, wurde von diesem Zeitpunkt ab glasig.“
- IX. „Die Sporenbildung war vollendet; die Sporen lagen in einer homogenen, hellen, lichtbrechenden Masse eingebettet.“

We zien hier dus eene verticale rij van sporen ontstaan,

zooals we in eenen rijpen ascus terugvinden. Ditzelfde is het geval in de overige afgebeelde ontwikkelingsrijen. (Fig. 9 B—F.)

Het is noodig ook nog enkele zinnen uit het meer algemeene gedeelte te citeeren :

„Schon wenn die Scheidewand in der Mitte des Schlauches eben sichtbar geworden ist, beginnen die beiden Theilstücke in ähnlicher Weise sich zu zerlegen, wie der Mutterschlauch, indem jeder Theil in der Mitte eine neue Theilungsebene zeigt. Durch diese wiederholte Zweitheilung wird der Schlauch in vier übereinanderliegende Zellen abgegrenzt, und so kann die Theilung in geometrischer Progression sich weiter vollziehen, indem jede Theilzelle eine neue Scheidewand in der Mitte bildet. Wir finden Schläuche mit 8 und 16, oft sogar mit 32 Zellen. Der Seitliche Wandbeleg verdickt sich bei jeder Theilung, oft bekommt er deshalb einen Durchmesser, der der Weite des Hohlraums entspricht.

Die Hohlräume runden sich an den Enden ab und nehmen eine elliptische Form an; ihre Wände bekleiden sich mit einer dünnen, körnigen Schicht. Die Hohlräume bilden das Innere der zukünftigen Sporen: sie grenzen sich durch eine cuticularisirte Schicht (das spätere Epispodium) van der Zwischensubstanz ab. Die oft reichlich vorhandene Zwischensubstanz ist eine zähe, stark lichtbrechende Masse" (l. c. pag. 11).

Het vermijden van 't woord „vacuole" valt hier op en de voorstelling is op meerdere punten vaag.

Aan het eind van voorgaande beschrijvingen volgt dan (l. c. pag. 14) :

„Was uns bei allen diesen Vorgängen besonders interessirt, ist die Thatsache, dass die Kerntheilung keine Rolle bei der Differenzirung der Sporen spielt. Wir haben gesehen, dass die acht Sporen eines Ascus durch wiederholte Zweitheilung des gesammten Plasma's gebildet werden können. Es entsteht nun die Frage: Bildet dieser von mir beschriebene Fall eine Ausnahme, oder sind die bei den übrigen Ascomyceten gemachten Beobachtungen als irrtümlich anzusehen.“

Bewerkt naar de methoden der nieuwere techniek zou dit materiaal haast ongetwijfeld vele belangrijke feiten aan het licht hebben doen komen.

CONIDIASCUS HOLTERMANN.

Ten slotte *Conidiascus paradoxus*, een vorm, welke eerst langen tijd in culturen alleen conidiën voortbracht. Ten slotte gelukte het, door een mycelium uit eene voedingsvloeistof in water over te brengen, de conidiën in sporangiën met 3—5 sporen „te doen overgaan“. Het bewijs, dat deze sporangiën geene nieuwe vormingen waren, ontbreekt echter.

De sporevorming kon niet worden nagegaan. We vernemen hier ook iets omtrent verkregen resultaten na kleuring der praeparaten:

„In der Mitte (der Sporen) befand sich eine Vacuole, während die Zellwand von einem homogenen, stark lichtbrechenden Protoplasma ausgekleidet war. In Methylgrün-Fuchsin färbte dieses sich in der Nähe der Wand kaum merklich; die nach innen liegende Schicht nahm eine röth

liche Färbung an; das Lumen erschien dunkelgrün wie die angewandte Reaction."

DIPODASCUS LAGERH.

In 1892 heeft LAGERHEIM in *Jahr. f. wiss. Bot.* Bd. 24 eenen merkwaardigen vorm beschreven, dien hij in Ecuador in het bloedingsvocht van Puya-stengels vond. Zijne uitvoerige beschrijving is zuiver uitwendig-morphologisch, daar hem de middelen tot cytologisch onderzoek ontbraken.

Het mycelium is door tusschenschotten in cellen verdeeld. Als voortplantingscellen zijn bekend geworden sporen, in sporangiën ontstaan, en oidiën, welke optreden, nadat de sporangiumfructificatie is afgelopen.

De sporangiën ontstaan zonder uitzondering door copulatie van twee cellen, welke òf van dezelfde òf van verschillende hyphen korte uitstulpingen zijn. In 't eerste geval ontstaan ze in den regel één aan elke zijde van eenen dwarswand in 't mycelium.

Het tweede geval komt veel zeldzamer voor. De beide uitstulpingen groeien uit tot hare wanden elkaar voor een gedeelte aanraken, ze worden dan door eenen dwarswand van de hyphen, welke haar hebben voortgebracht, gescheiden en daarna lossen de membranen, voor zoover ze met elkaar in aanraking zijn, op, wat aan hare protoplasten gelegenheid geeft met elkaar te versmelten.

De beide cellen, welke LAGERHEIM gameten noemt, hebben eene neiging om zich om elkaar te winden, vooral als ze eenigszins gesteeld zijn, zooals vaak voorkomt.

Na de copuleering gaat een der gameten uitgroeien, terwijl de andere zich niet vergroot, op welke wijze een

sporangium ontstaat, in welks bovineinde het protoplasma zich verzamelt; het onderste gedeelte heeft groote vacuolen en aan den top van 't sporangium is het protoplasma lichter en bijna zonder korrels.

LAGERHEIM gebruikt hier o. a. de volgende woorden: (l. c. pag. 555): „Die Sache verhält sich so, dass nach dem Verschmelzen der eine der Gameten an Grösse zunimmt, während der andere seine ursprüngliche Grösse beibehält. Die Zygote entwickelt sich von jetzt ab schnell weiter, indem der ehemalige weibliche Gamet zu einem Schlauch auswächst.“

De sporangiën verlengen zich sterk en gaan vrij dun uitloopen met stompen top.

Over sporevorming en het vrijkomen der sporen deelt de schrijver mede:

„Bei der Kleinheit der Sporen war es mir nicht möglich, den Vorgang der Sporenbildung näher zu verfolgen. Nicht das ganze Protoplasma wird zur Ausbildung der Sporen verbraucht, sondern ein beträchtlicher Theil davon bleibt als eine die Sporen umhüllende Zwischensubstanz übrig. Diese Zwischensubstanz hat eine gelbliche Farbe und erscheint stark lichtbrechend.“ (l. c. pag. 156.)

„Die Sporen mitsammt der Zwischensubstanz werden als ein Faden ausgestossen, der sich vor der Mündung des Sporangiums sofort zu einer Kugel aufrollt, welche wie ein Köpfchen der Sporangiummündung aufsitzend bleibt.“

Enkele sporen blijven in het sporangium achter. Deze zwellen in eene voedingsvloeistof iets op, de wand wordt dunner en er komen kiembuizen voor den dag. In arme

voedingsbodems vallen die pas ontstane hyphen spoedig in oidiën uiteen.

De uitgedreven sporen, in eene voedingsvloeistof gebracht, zwellen langzamerhand op tot bollen met 2—3 maal grootere middellijn, terwijl de inhoud korrelig wordt. De omhullende massa is eerst, van buiten beginnende, opgelost. De sterk vergrootte sporen hebben een „feste Membran” en „sehen ganz wie Dauerzellen aus”.

LAGERHEIM heeft deze cellen zich niet verder zien ontwikkelen. Ook zag hij nooit eene vermeerdering der sporen op de wijze van gistcellen.

Nadat de sporangiënvorming eenigen tijd gaande is, ontwikkelen zich de oidiën, eerst aan hyphen van het luchtmycelium, later ook in den voedingsbodem.

Opgemerkt dient nog, dat LAGERHEIM de oidiën als bijzonderen vorm van conidiën behandelt, geheel in afwijking van BREFELD's opvatting, ofschoon diens onderzoekingen hem bekend waren.

Verder maakt de schrijver eene voor de hand liggende vergelijking van *Dipodascus* met *Eremascus* Eid.

Beide houdt hij voor sexueele vormen, ofschoon eerst een cytologisch onderzoek dit vermoeden tot zekerheid voor hem kan maken. Beide vormen voert hij terug tot de zygosporen der *Piptocephalideae* en besluit dan:

„Diese beiden Pilze zeigen in überzeugender Weise wie richtig die Ansicht verschiedener Forscher ist, dass ein Theil der Ascomyceten von Zygomyceten seinen Ursprung nimmt.”

Een vorm der *Hemiasci* is het dan echter niet, want de sporangiën der *Hemiasci* stammen volgens BREFELD

niet af van zygosporen, maar van ongeslachtelijke sporangien

De titel van LAGERHEIM's artikel „Dipodascus, eine neue geschlechtliche Hemiascee" is in den zin, dien hij er aan hecht, eene contradictio in terminis.

LAGERHEIM's culturen zijn verloren gegaan, voordat iemand de cytologie van Dipodascus had nagegaan.

JUEL heeft dezen arbeid kunnen volbrengen, doordat hij zoo gelukkig was de schimmel opnieuw te vinden in Zweden, in bloedingsvocht van berken. De resultaten van zijn onderzoek zijn vermeld in Flora Bd. 91. 1902.

Omtrent de uitwendige morphologie heeft JUEL niets aan LAGERHEIM's mededeelingen toe te voegen en hij deelt het volgende mede:

- I. De beide gameten van LAGERHEIM bevatten elk 10—12 onderling gelijke kernen.
- II. De gameten vereenigen zich, kernen gaan van de eene in de andere over (men vindt ze in 't copulatiekanaal) en de laatste begint uit te groeien, waardoor JUEL in staat wordt gesteld ze nieuw te benoemen en ze te onderscheiden als Carpogonium en Pollinodium.
- III. In het Carpogonium vindt men ééne kern, grooter dan de andere en met grooteren nucleolus, welken JUEL zich denkt te zijn ontstaan door de versmelting van eene carpogonium- en eene pollinodium-kern. Deze „Fusionskern" werd ook soms in 't copulatiekanaal gevonden.
- IV. De „Fusionskern" deelt zich. Men vindt soms twee grootere kernen tusschen vele kleinere kernen uit carpogonium en pollinodium. De grootere kernen deelen zich verder, en doordat hierbij de grootte

vermindert, zijn de beide soorten van kernen spoedig niet van elkaar te onderscheiden. Of de vegetatieve kernen zich deelen is twijfelachtig.

Eene figuur, die dit stadium weergeeft, vertoont „sowohl Kerne als Plasma recht dunkel und diffusgefärbt, so dass keine Nucleolen in den Kernen zu sehen sind.”

- V. De top van 't sporangium gaat zich differentieeren in verband met het vrijlaten der sporen, welke vorming in dit stadium begint. Daar de resultaten hier en daar geen scherp beeld doen ontstaan van 'tgeen gebeurt, is 't beter JUEL's eigen woorden te gebruiken :

„Wie diese (die Sporenbildung) eigentlich vor sich geht, konnte ich nicht eruiren. Im Cytoplasma, das jetzt weniger dicht erscheint als vorher, liegen zweierlei Körper. Die einen, die sehr zahlreich sind, erscheinen als kugelförmige Körper von der Grösse der Kerne im vorhergehenden Entwicklungsstadium, aber sie sind aus einer völlig homogenen Substanz gebildet und färben sich nur schwach. Die anderen, weniger zahlreichen Körper sind deutliche Kerne mit stark tingirten Nucleolen. Es kann wohl keinem Zweifel unterliegen, dass die letzteren die vegetativen Kerne sind, während die ersteren, die homogenen Körper, aus den Abkömmlingen des Fusionskernes entstanden sind. Die Natur dieser Körper scheint mir zweifelhaft. Einerseits scheinen sie in ihrem Auftreten, sowie in ihrer Grösse den Kernen des vorigen Stadiums zu

entsprechen, aber andererseits deutet ihr ganzes Aussehen darauf hin, dass sie mit den jungen Sporen der folgenden Stadien identisch sind. Auch scheint das Aussehen des jetzt deutlich inhaltsärmer gewordenen Cytoplasmas dafür zu sprechen, dass ein Theil desselben durch freie Zellbildung in diese Körper abgelagert worden ist, dass dieselben also nicht Kerne, sondern Zellen sind.

Der nicht viel ältere, in Fig. 13 abgebildete Sporenschlauch enthält sicher junge Sporen. Auch hier sind es homogene Körper, die sich diffus, und schwach färben. Viele sind nicht ganz rund, sondern fangen an ellipsoidisch zu werden. Ausser diesen Sporen enthält der Sporenschlauch noch ein ziemlich reducirtes Cytoplasma, sowie hie und da vegetative Kerne, die aber schon ihre Structur verloren haben, und nur als intensiver gefärbte Massen erscheinen."

Even later is de hierboven uitgesproken twijfel verdwenen en schrijft hij:

„Die Sporen werden durch freie Zellbildung, wahrscheinlich um die vom Fusionskern abstammenden Kerne, angelegt."

De medegedeelde resultaten rechtvaardigen echter meer den twijfel dan de zekerheid.

VI. De rijpe sporen zijn grooter en zuiver ellipsoidisch. De buitenste laag van den sporewand is gelatineus. Protoplasma resten zijn in hoofdzaak wandstandig en bevatten nog gedegenerceerde vegetatieve kernen.

De omtrek der sporen schijnt soms polygonaal

door den wederzijdschen druk, welke deze op elkaar uitoefenen.

Deze sporen bevatten ééne zeer kleine kern.

Raadselachtig is de relatieve grootte der kernen, in fig. 10, 11 en 12 en die der jonge sporen in fig. 13 en van den sporeinhoud in fig. 14 en 15.

Ook met het oog op het door JUEL zelf vermelde feit, dat hij nooit eene kerndeeling heeft gezien, mag eene herhaling van dit onderzoek niet overbodig geacht worden. Een cytologisch onderzoek van Eremascus, zou in verband hiermee, hoogstwaarschijnlijk van belang kunnen zijn.

THELEBOLUS, TODE.

’t Geslacht *Thelebolus* is door haren auteur met ééne soort, *Th. stercoreus*, beschreven in *Fungi Mecklenburgenses selecti* en Albertini en Schweiniz beschreven in *Conspectus Fungorum* eenen tweeden vorm, *Th. terrestris*.

De plaats van het geslacht in het systeem was vrijwel onbepaald door de gebrekkige kennis, vooral van zijne ontwikkeling. Afwisselend werd het tot de Ascomyceten en Gasteromyceten gerekend.

ZUKAL was de eerste, die in 1885 uitvoerigere mededeelingen publiceerde over *T. stercoreus* in de *Denksch. der Kais. Akad. d. Wissenschaften in Wien*. Bd. LI, 1886.

Deze onderzoeker beschrijft de peritheciën als volkomen gesloten, met eenen wand, welke uit 3—5 lagen van polygonale cellen bestaat. Brengt men een perithecium in water, dan zwelt het vooral aan den top op, de wand barst en er treedt een sporangium naar buiten met eenen vrij dikken

wand, waarvan de buitenste laag eenigszins verslijmd is. Het bovenste gedeelte van dezen sporangiumwand is eigenaardig gedifferentieerd. Het is minder lichtbrekend dan de rest en ZUKAL noemt het poreuser, waardoor op die plaats gemakkelijk water kan worden opgenomen. Met jodium kleurt zich alleen dit gedeelte van den wand. De inhoud van het sporangium bestaat uit een groot aantal sporen ($8 \times 64\dot{r}$), omgeven door eene wandstandige laag protoplasma, die vooral bij plasmolyse duidelijk wordt.

In water vergroot zich het sporangium voortdurend en spoedig trekt zich de geheele sporenmassa samen tot eenen bal, welke in het bovenste gedeelte komt te liggen. Deze bal van sporen is door eene laag van hyaloplasma omgeven en tusschen deze laag en de ook nu nog aanwezige wandstandige laag zwelt eene slijmachtige massa zeer sterk op, waardoor het sporangium zich passief vergroot, totdat ten slotte de gedifferentieerde plek in zijnen wand onregelmatig openscheurt en de sporen, 5 micr. groot, over eenen afstand van $1\frac{1}{2}$ c.M. worden weggeslingerd.

Het stadium voor het openbarsten van het sporangium is afgebeeld in ZUKAL's Fig. 3 en het is eigenaardig deze tekening te vergelijken met DE BARY's Fig. 41 e (pag. 86) uit zijn *Vergl. Morph. und Phys. der Pilze etc.* 1884 over *Protomyces*, wegens de treffende overeenstemming.

De jongste stadiën, welke ZUKAL onderzocht heeft, laten eene dooreenvlechting van hyphen zien (15 micr. groot), te midden waarvan het latere sporangium als een dunwandig blaasje met ééne groote kern (!) te zien is. Eene enkele maal zag hij op dezelfde plaats twee dergelijke blaasjes, waarvan de

schrijver veronderstelt, dat steeds maar één zich tot sporangium ontwikkelt.

Spoedig gaat het hyphekarakter van het sporangium-omhulsel verloren en verandert in een pseudoparenchymatisch. De nu doorschemerende jonge ascus is meerkernig. Spoedig is hij geheel met kleine kernen (?) gevuld. In deze stadiën wordt eene rij van paraphysen vermeld, welke den ascus geheel omhullen en deze zouden door vervloeiing het slijmachtige laagje vormen, dat den rijpen ascus bedekt, als hij uit den peritheciumwand te voorschijn komt.

Als monstrositeit maakt ZUKAL melding van een klein gebleven vruchtlichaam, waarvan de sporen vier maal grooter zijn dan de normale, welk verschijnsel ZUKAL toeschrijft aan het achterwege blijven der twee laatste deelingen dezer reuzensporen. ZUKAL's conclusie omtrent de systematische plaats van THELEBOLUS is, dat ze geplaatst moet worden dicht bij PODOSPHEAERA. Hierbij wordt het verschil in sporenaantal zelfs niet genoemd, al is het waar, dat in de meest verschillende Ascomyceten-geslachten soorten voorkomen, welke dit verschijnsel vertoonen, bijv. Ryparobius, Chaetomium, Gymnoascus, enz.

DE TONI bewerkte in het VIIde deel van Saccardo's Sylloge Fungorum (1888) de Gasteromyceteae en tot de 2de Fam. hiervan, de Nidulariaceae, rekent hij ook Thelebolus met 4 soorten. Later in het Xde en XIde deel (1892 en 1894) zijn onder de Ascobolaceae nog drie nieuwe vormen beschreven.

In Engler en Prantl II wordt THELEBOLUS door SCHROETER onder de Hemiascineae niet genoemd, terwijl door LINDAU,

l.c. pag. 188, de opvatting van BREFELD wordt gedeeld (zie beneden) om haar toch wel daartoe te rekenen.

In den Nachtrag (ENGLER en PRANTL I 1^{er} pag. 532, 1899) wordt het geslacht door LINDAU weer onder de Ascobolaceae opgenomen.

WINTER had in RABENHORST's Krypt. Flora I 3, 1896 THELEBOLUS met 3 soorten naast RHYPAROBIUS onder de Ascoboleae gebracht.

Ondertusschen was in BREFELD's IX Heft THELEBOLUS ook verschenen (1891).

BREFELD had in 1880 reeds met *T. stercoreus* kennis gemaakt, maar haar, „da in damaliger Zeit der Begriff des Ascus noch im Argen lag" en hij buitendien over weinig hulpmiddelen beschikte, aangezien voor eene Rhyparobius-soort met éénen Ascus, welke vele sporen bevatte. (Heft IV, pag. 134 en 135.)

Later werd ze herkend en „nun bei abermaliger Cultur als eigenartiger Typus der hemiascen Formen an die jetzt richtige Stelle gebracht". (Heft IX, pag. 114.)

De resultaten van dit laatste onderzoek zijn de volgende:

De ascosporen, welke bij het openbarsten van 't sporangium gemakkelijk opgevangen kunnen worden, kiemen in eene voedingsvloeistof (mestdecoct) gemakkelijk tot een mycelium, dat uit fijne, gesepteerde hyphen bestaat. Ongeveer na acht dagen begint het mycelium weer sporangiën voort te brengen, en nooit heeft BREFELD andere voortplantingsorganen waargenomen.

De eerste aanleg van een sporangium treedt op als een kort zijtakje van eene hyphe, dat neiging tot kromming en tot 't aannemen van eene kurkentrekkervormige winding

vertoont. Op dezelfde plaats treden meerdere kleine hyphen op, 't zij als vertakkingen van dezelfde hyphe of van dichtbijliggende. Al deze korte hyphen groeien door elkaar heen tot een kluwen. De fructificeerende hyphe in 't midden komt eerst te zien, als ze door toenemende grootte op den voorgrond treedt. Men ziet ze dan als een blaasje, dat snel in grootte toeneemt, en „bei einer verkümmerten Stielanlage, dauernd von den umhüllenden Hyphen eingeschlossen (bleibt)". (l. c. pag. 114.)

Deze woorden zijn geheel aangepast aan de gewilde vergelijkbaarheid met *Rhizopus* en *Mortierella*. Van een „Stielanlage" is bij de behandeling van *Protomyces* en *Ascoidea* nooit sprake geweest, d. w. z. van het ontbreken daarvan.

De beschrijving gaat als volgt voort:

„Die centrale Blase wächst in wenigen Tagen bis zur Grösse des zukünftigen Sporangiums heran. Sie ist erfüllt von dichtem Inhalt, im welchem man durch die Hüllgewebe hindurch die Bildung der Sporen nicht sehen, noch auch durch Zerdrücken des Sporangiums beobachten kann. Nach etwa 3—4 Tagen werden die Hyphen in der Umgebung des Sporangiums heller und durchsichtiger, als ob sie aufgelöst würden. Damit zugleich wird die Umgrenzung des Sporangiums durch seine dicke lichtbrechende Membran sichtbar und im Inneren die Masse der inzwischen gebildeten Sporen, welche das Sporangium anfüllen. Wenn die Sporangien nun richtig in Profil gestellt sind, so sieht man unten die kurze Stielanlage, oben die Papille für die Entleerung in Form einer dünneren Membranstelle. (Fig. 11.)

Na de sporevorming blijft weinig tusschenzelfstandigheid over en BREFELD zoekt de krachtbron voor het wegslingeren

der sporen eerder in het verslijmen van den sporangium wand of van de binnenste lagen van het omhullende weefsel.

Wat dit sporangium-omhulsel betreft, dient te worden opgemerkt, dat het door BREFELD relatief veel dikker en uit veel meer cellagen bestaande, wordt afgebeeld dan door ZUKAL. De door dezen vermelde, regelmatig geplaatste paraphysen (?) noemt BREFELD niet.

Vruchtlichamen met 2 of 3 sporangiën worden door BREFELD verondersteld te zijn ontstaan, doordat eenige jonge vruchtlichamen, elk met den aanleg van één sporangium, met elkaar vergroeid zijn door het dooreenwoelen van hunne hyphen tot een gemeenschappelijk omhulsel.

Ook in dit geval zal cytologisch onderzoek alleen den waren stand van zaken aan het licht kunnen brengen. Misschien dat met behulp der nieuwere techniek men ook iets meer te weten kan komen omtrent den oorsprong van de ascogene hyphe en hiermee in verband omtrent BREFELD's steelcel.

HELICOSPORANGIUM, KARSTEN.

In 1865 beschreef H. KARSTEN in *Botanische Unters. aus dem phys. Lab. der Landw. Lehranst. in Berlin* Band I, p. 80 eene schimmel, welke door hem op eene gele peen was gevonden.

De uiteinden van bepaalde hyphen rollen zich spiraalsgewijze op en verdeelen zich door dwarswanden in een aantal cellen. De topcel, die het middelpunt van de spiraal vormt, zwelt op en de daarop volgende vergrooten zich ook min of meer. De verdere ontwikkeling wordt dan beschreven met de woorden:

»Der Inhalt dieser erweiterten Stielzellen wird jetzt klar

und durchsichtig, die oberste derselben bekommt in der Mitte ihrer gegen die kugelige Endzelle abgeplatteten Basis eine Herabsenkung in die jetzt mittlere kugelförmige Endzelle, welche darauf eine ziemlich rasch sich vergrößernde mit eiweissartiger, undurchsichtiger Flüssigkeit angefüllte Kernzelle enthält.

Gleichzeitig wachsen die Seitenränder der die mittlere kugelige Zelle umgebenden Stielzellen über diese kugelig gewordene Endzelle hinüber, wodurch dieselbe ihre vollständige, zellige Rindenschicht erhält."

EIDAM beschrijft in Jahresbericht der Schles. Gesellsch. f. vaterl. Cultur 1877 Bot. Sektion pag. 122 eene schimmel, welke hij met de zoo pas beschreven *Helicosporangium parasiticum* Karsten identificeert.

Voor zoover we hierboven Karsten's mededeelingen gevolgd hebben, komt daarmee EIDAM's beschrijving vrij wel overeen, zoodat we in elk geval meenen te doen te hebben met eene nauw verwante soort. EIDAM's woorden luiden als volgt (l. c. pag. 123):

»Die anfangs lockeren Windungen der Spirale schmiegen sich nun ohne Zwischenraum zusammen und es entstehen entweder nahe dem Ende der Spirale oder von demselben weiter entfernt beiderseits zwei kleine Hervorragungen, während sie seitlich lappenartig sich ausstülpfen und so ein unregelmässiges Ansehen erhalten. Jetzt wird auch in der Spirale eine Septirung erkennbar und damit eine Differenzirung des ganzen Gebildes. Man kann an demselben eine Art von gegliederten Ring unterscheiden zu welchem die erste und äusserste Windung der Spirale sich umgestaltet; ferner vergrössert sich jetzt erst auffallend

das Ende der Spirale, dasselbe hat sich durch eine Scheidewand selbständig abgetrennt, während über seinem Rücken und Scheitel der Ring sich hinwegzieht; endlich werden ausser jenen ersten, lappig verzweigten Ausstülpungen auch von den Ringzellen seitlich Auswüchse hervorgetrieben, welche ebenfalls über die mächtig aufschwellende Endzelle hinwachsen. Sehr bald aber sind die sämtlichen Seitenäste an der Grenzen ihres Wachstums angelangt, sie theilen sich durch Scheidewände, legen sich innig an einander und stellen so eine Rindenschicht dar aus blasig vorgetriebenen und durch gegenseitigen Druck parenchymatischen Zellen bestehend, rings die vergrösserte Centralzelle, das ursprüngliche Ende der Spirale, umgebend."

In deze »Centralzelle" heeft EIDAM, niettegenstaande hij er opzettelijk naar gezocht heeft, geene verdere ontwikkeling kunnen waarnemen. Hij noemt haar »Spore" en heeft haar in 24 uur op drie plaatsen tegelijk kiembuizen zien vormen, welke een mycelium deden ontstaan, waaraan dezelfde voortplantingsorganen opraden.

KARSTEN daarentegen beschouwt de »Centralzelle" als eenen ascus, waarvan hij zegt: (l. c. 81 en 82)

»Während des Anschmiegens der obersten Stielzelle an die mittlere Endzelle und des Abplattens oder geringen Hineinsinkens in diese, welches mit dem Klären ihres Inhaltes zusammenfällt, erweitert sich die Kernzelle der Endzellen, und in ihr entstehen eine Anzahl, wie es scheint acht, kleinere Zellen, die sich mehr und mehr zu freien, elliptischen Sporen ausdehnen, während die Kernzelle die Grösse ihrer Mutterzellen erreicht."

Nadat de sporen naar buiten zijn getreden, deelen ze

zich in tweeën en KARSTEN teekent kiemingsstadia dezer tweecellige sporen.

EIDAM is later nog eens op *Helicosporangium* teruggekomen (COHN's Beitr. z. Biol. d. Pflanzen III 1883 pag. 411), maar de daar meegedeelde feiten zijn voor ons hier van minder belang. Hij vond eene tweede fructificatievorm in conidiën, welke er min of meer verticilliumachtig uitzag.

Van ZUKAL verscheen in de Verhandlungen der K. K. Zool.-botan. Gesellsch. in Wien Band XXXVI, 1886 een artikel over zoogen. „Pilzbulbillen”, waarin deze lichaampjes ook beschreven worden bij *Helicosporangium coprophilum* n. sp. (l. c. pag. 126.)

Deze „Bulbillen” ontwikkelen zich vrijwel als de spore-lichamen bij *H. parasiticum* en de volwassen toestand onderscheidt zich van deze, doordat er eenige „Centralzellen” worden gevonden.

We lezen l. c. pag. 127:

„Fast gleichzeitig mit der Vergrößerung der Endzelle beginnt die Einrollung der ganzen Hyphe in einer Ebene um die Endzelle als Mittelpunkt.

Kurz darauf entwickeln sich aus der ersten Zelle unter der Endzelle durch Sprossung zuerst zwei, dan vier (selten sechs) Tochterzellen, welche sich seitlich dicht an die Endzelle anlegen. Diese zuletzt entstandenen Zellen vergrößern sich rasch, verdicken ihre Wände und füllen sich mit einem körnigen, gelblichen Inhalt. Sie bilden nun im Vereine mit der Endzelle die Mitte eines Zellballens, dessen Rinde von einer Lage viel kleinerer, dünnerer und inhaltsarmer Zellen zusammengesetzt wird. Die Rindenzellen stammen von den unteren, respective hinteren Zellen der

Spirale und vervielrältigen sich durch Sprossung in ähnlicher Weise wie die Centralzellen."

ZUKAL vindt dergelijke vormingen ook bij de conidiën-vormen *Dendryphium bulbiferum* n. sp. en *Haplotrichum roseum* Link. Verder vertoonen sommige *Peziza* soorten ook de vorming van „Bulbillen", welke volwassen denzelfden bouw vertoonen als die der bovengenoemde vormen, maar op eene andere wijze ontstaan en buitendien bij verdere ontwikkeling ascusvruchten kunnen leveren. 't Zelfde vindt hij bij *Melanospora fimicola* Hansen en *M. Zobelii* Corda.

De schrijver is van meening, dat de „Bulbillen" „mehr oder minder unentwickelte Fruchtkörper" zijn en dat KARSTEN juist kan hebben waargenomen, toen hij de „Centralzelle" zich tot ascus zag ontwikkelen.

Hoe het zij, eene reden om *Helicosporangium parasiticum* KARSTEN tot de *Hemiasci* te brengen, is in het voorgaande niet gelegen. Hoogstens zou men haar als twijfelachtige *Ascomyceet* kunnen behandelen.

Helicosporangium parasiticum EIDAM en *H. coprophilum* ZUKAL zijn tot de *Hyphomyceten* te rekenen, zoolang men geene verdere bijzonderheden kent.

DE BARV meent reden genoeg te hebben om *H. parasiticum* EIDAM eene plaats te geven in het hoofdstuk „Zweifelhafte *Ascomyceten*" zijner *Vergl. Morph und Biol. der Pilze* etc. pag. 284.

Hierop volgde een verweer van H. KARSTEN in *Hedwigia* 1888, pag. 132, waarin hij op niet zeer overtuigende wijze de niet-indentiteit van *H. parasiticum* Karst. en den onder dien naam door EIDAM beschreven vorm tracht aan te toonen. KARSTEN noemt den laatsten *Baryeidamia* en stelt

hem naast *Sorosporium*. EIDAM had trouwens ook reeds op eene overeenkomst met *Urocystis* gewezen. (l.c. 1883, pag. 412.)

Zijn eigen *Helicosporangium*, welke hij vroeger tot de *Gasteromyceten* rekende, brengt hij nu onder de *Mucoreeën* thuis.

HARZ geeft in *Bot. Centralbl.*, Band XLI, 1890, pag. 409, als zijne meening, dat *H. parasiticum* EIDAM een *Papulaspora* is en stelt den vorm naast zijn *Physomyces* = *Monascus* v. TIEGHEM, evenals *H. parasiticum* H. KARSTEN, welke drie vormen hij vereenigt in eene orde der *Leptoömycetes*, „den Ordnungen der Oomycetes und der Zygomycetes als gleichwertig anzureihen“. (l. c. pag. 410.)

In het IXde en XIde deel (1891 en 1894) van SACCARDO'S *Sylloge* worden *Papulaspora parasitica* HARZ (zie boven), *H. parasiticum* H. KARSTEN nec EIDAM en *H. coprophilum* ZUKAL tot de *Mucoraceae* gebracht.

SCHROETER plaatst *Helicosporangium* KARSTEN en *Papulaspora* PREUSZ op gezag van HARZ onder de *Hemiascineae*. (*Engler en Prantl*, I 1, pag. 149.) De *Helicosporangium* en *Papulaspora* van EIDAM, welke SCHROETER kent, hooren volgens hem zeker niet tot deze groep.

ED. FISCHER plaatst *Helicosporangium* H. KARSTEN onder de „Zweifelhafte Gattungen der Monascaceen“. (*Rabenh. Kryptog. Fl.* I 5.)

PAPULASPORA PREUSZ.

Omtrent *Papulaspora* is onze kennis haast nog geringer.

Het geslacht met de soort *P. sepedonioides* is door PREUSZ beschreven in *Linnaea* 1851, pag. 112 en afge-

beeld in STURM's Flora von Deutschland III, Abth. VI, p. 89, Tafel 45, 1862. De beschrijving is zeer onvolledig en onduidelijk: ramulis pedicelliformibus adscendentibus septatis, apice sporem heterogeneam solitarium referentibus; sporis rotundis coloratis, cellulosis; episporio koilomorfo, conferto toto vestito.

EIDAM beschrijft tegelijk met *Helicosporangium Papulaspora aspergillusformis*, eenen vorm met chlamydo-sporen, aspergillusachtige conidiëndragers en „Bulbillen”, welke behalve op andere wijze ook kunnen ontstaan door het spiraalvormig oprollen van een hyphe-uiteinde. Nadat dwarswanden zijn opgetreden groeien zijdelings kleine hyphen uit, welke alle te zamen een pseudo-parenchymatisch lichaampje vormen, waarvan waarschijnlijk elke cel tot een nieuw mycelium kan kiemen.

Volgens HARZ (l.c.) is deze *Papulaspora* dezelfde vorm, die door hem als *Monosporium acremonioides* is beschreven.

(Einige neue Hyphomyceten etc. 1870 T 1, fig. 3).

In de Sylloge Fungorum dl. IV van SACCARDO staan *P. sepedonioides* en *P. candida* SACCARDO (*Michelia* II) onder Mucedineae — Macronemeae — Cephalosporeae als „species dubia”.

In het IXde deel vindt men nog *P. parasitica* HARZ (zie boven), *P. Dahliae* Cost. en *P. acremonioides* (= *Monosporium acremonioides* HARZ) onder de Mucoraceae.

De zoeven genoemde vorm *P. Dahliae* is door zijnen auteur COSTANTIN beschreven in Journal de Botanique T.II 1888. Een paar aanhalingen uit het artikel, dat niet overal zeer scherp is gesteld, mogen hier voldoende zijn:

„Le mycélium forme un nombre considérable de boules

rougeâtres — — — — —

J'ai donné — — — — le nom d'organes reproducteurs à ces sphérules, car, en isolant une d'entre elles, j'ai obtenu sa germination dans les chambres humides — — — — Toutes les cellules de la sphère peuvent pousser des tubes incolores. — — — — C'est — — — — par des cultures en grand sur des milieux stérilisés, que je suis arrivé à obtenir la reproduction de ces sphérules. Le développement de ces boules rappelle celui des périthèces des Ascomycètes. On voit de courts filaments se courber au sommet, s'enrouler quelquefois autour d'eux mêmes, bourgeonner autour d'une partie centrale qui se différencie, se colorer bientôt en jaune clair, puis en rouge orangé". (l. c. pag. 93) » — — — ; au milieu de ce mycélium apparaissent des boules sphériques d'un rouge brunâtre, qui sont détachées presque constamment du mycélium. Au centre de ces sphères, on distingue un nombre variable (2—3 jusqu'à 6) de cellules plus colorées — — — ; elles contiennent de nombreuses gouttelettes huileuses", (l. c. pag. 91).

Reden om *Papulaspora* tot de *Hemiascineae* te brengen is er blijkbaar niet: de cellen, welke kunnen kiemen tot een mycelium, zijn geene sporangiosporen en hoogstens kan men, bouwende op analogieën, besluiten, een onvolkomen Ascomyceet voor zich te hebben.

MONASCUS v. TIEGHEM.

Het geslacht is door van Tieghem opgesteld met 2 soorten, welke beschreven zijn in Bull. de la Soc. Bot. de

France T 31 1884. Het zijn beide schimmels met een gesepteerd mycelium, dat conidiën voortbrengt, en buitendien sporangiën draagt, waarin zich een groot aantal sporen ontwikkelen en welke omgeven worden door een hypheweefsel, dat z'n oorsprong vindt in eenige hyphen, welke uit den steel van 't sporangium te voorschijn komen, zich vertakken en om 't sporangium heen groeien.

v. TIEGHEM'S beide vormen verschillen in de grootte van 't sporangium en der sporen en verder is bij *M. ruber* het sporangium vaster door de omhullende hyphen omsloten dan bij *M. mucoroides*.

Wat de ontwikkeling der peritheciën aangaat, legt v. TIEGHEM er vooral den nadruk op, dat speciaal bij *M. mucoroides* »les ramuscules nés sous la dernière cloison, en grandissant, en se ramifiant pour se rejoindre et s'enchevêtrer latéralement, en se recourbant enfin au-dessus du sommet, forment une enveloppe sphérique, d'abord réticulée, bientôt pleine, beaucoup plus grande que la cellule terminale surbaissée, qu'elle recouvre, — — — —

— — les ramuscules formateurs de l'enveloppe ne touchent pas d'abord la cellule ascogène, que l'enveloppe se constitue dans une entière indépendance vis-à-vis de cette cellule, circonstance, qui exclut du même coup l'hypothèse, d'une relation sexuelle entre la cellule ascogène et l'un quelconque des rameaux de l'enveloppe.»

In zoo verre zijn deze regels van belang, dat er uit volgt, dat òf VAN TIEGHEM over het hoofd heeft gezien, wat WENT later »le premier filament couvrant" heeft genoemd, òf VAN TIEGHEM'S beide vormen dat orgaan

missen. 't Gemis aan afbeeldingen doet zich hier sterk gevoelen.

In het IXde deel der Sylloge zijn VAN TIEGHEM's beide vormen tot de Pyrenomyceten gebracht, terwijl de hieronder vermelde *M. purpureus* WENT in het 14de deel beschreven is onder de Discomyceten.

SCHROETER rekent in Engler en Prantl eenen vorm tot dit geslacht, welke in 1890 door HARZ in het Bot. Centralblatt vermeld was als *Physomyces heterosporus*.

Als voortplantingsorganen noemt HARZ :

- 1^o. Stylosporen, van welke hij nog weer macro- en microsporen onderscheidt en welke hij als eenen *Acremonium*vorm aanduidt.
- 2^o. Gonidiën, welke in ketens aan 't eind van hyphen ontstaan en overeenkomst met een *Torula* vertoonen en
- 3^o. omhulde sporangiën, met endogene sporen.

Merkwaardig is, dat de sporangiën alleen optraden aan »schwimmende oder halb untergetauchte Rasen des Pilzes» welke zich op eenen vloeibaren voedingsbodem ontwikkelden, terwijl »auf festen d. h. gelatinisirten Substraten» alleen de beide eerste vruchtvormen zich ontwikkelden.

Omtrent het ontstaan der sporangiën deelt HARZ l. c. pag. 408 het volgende mede :

»Die jüngsten Zustände, —, zeigten auf der Spitze der Traghyphe 2—3 kleine, kaum 3—4 micr. dicke, und etwa 2—4 Mal so lange Zellchen. Das eine Gipfelständige Zellchen schien mir gerade; das oder die 1—2 anderen etwas seitlichen waren mehr oder weniger stark gekrümmt. Ich halte das mittlere dieser Zellchen, für die weibliche Zelle (Oogon, Carpogon); jedenfalls geht aus ihr das grosse,

centrale, spätere Sporangium hervor. Ob die seitlichen Aeste als männliche Zellen zu betrachten sind oder nicht, wage ich nicht zu entscheiden, da man wohl ein dichtes Anschmiegen an das centrale Zellchen, aber auch sonst nichts Bemerkenswerthes sehen kann; sie erscheinen zur Zeit der Entstehung sowie etwas später weder inhaltsreicher noch inhaltsärmer. Die Beobachtung etwaiger Befruchtungsvorgänge wird sehr früh zur Unmöglichkeit, indem rasch weitere, basal entspringende Zweige das Carpogon umhüllen, und dabei selbst mehrfache Verästelungen erfahren.

Auf Querschnitten der in Alkohol gehärteten Pilzrasen sieht man bei noch unreifen Früchten das Oogonium dicht erfüllt mit Protoplasma und grossen und kleinen Fetttropfen. Etwas später wird das Protoplasma gleichmässig feinkörnig; zuletzt bilden sich, nach Art der Entstehung der Mucorgonidien und der Zoosporen der Saprolegniaceen, gleichzeitig zahlreiche, erst polygonale, zuletzt gerundet glatte, endlich mit einer Membran versehene Sporen."

Omtrent de plaats, die HARZ aan *Physomyces heterosporus* toekent, is reeds vroeger gezegd, dat hij haar met *Papulaspora* en *Helecosporangium* tot eene orde der Leptoömyceten brengt, welke naast de Oömyceten en Zygomyceten gesteld moet worden.

De boven reeds genoemde *M. purpureus* Went is door haren auteur beschreven in *Ann. d. Sc. nat. Botanique Serie VIII T I 1895*. De morphologie van dezen vorm is vrij uitvoerig, wijkt in enkele opzichten van die van *Physo*

mycès HARZ af, is echter meer die van het geslachtstype en mag dus eenigszins nader beschouwd worden.

Het gesepteerde mycelium kan onder sommige omstandigheden eene roode kleurstof afzonderen. Voortplanting geschiedt door sporen, ontstaan in een sporangium, door conidiën, chlamydo-sporen en oidiën.

Omtrent het ontstaan van een sporangium diene het volgende: l.c. pag. 3.

„Dans la figure 2, on voit que le sommet d'un filament a fait pousser deux branches l'une à droite, l'autre faiblement courbée; celle-ci se courbe davantage, jusqu'à ce qu'elle soit devenue un peu plus d'un pas-de-vis d'un tire-bouchon; c'est la branche ascogène. L'autre branche sera nommée le premier filament couvrant. — — — —

La figure 3 nous fait voir le cloisonnement définitif de cette branche (ascogène); nous y voyons deux cloisons, de manière que la branche est divisée en trois cellules presque égales. — — — — Je distingue les trois cellules de la branche ascogène comme cellule pédicelle (l'inférieure), cellule terminale (la supérieure) et sporange (celle de milieu), — — — —.

Over de „cellule terminale” kan de schrijver weinig mededeelen: „— — — —; ici la cellule terminale n'est plus visible; ce qu'elle devient, je n'ai pu le constater. Si elle est résorbée, ou bien s'il y a un fusionnement d'elle et du sporange, ou bien elle se trouve encore parmi les filaments couvrants sans qu'on puisse l'y distinguer, je ne saurais le dire.”

La cellule pédicelle” begint „des filaments couvrants” te ontwikkelen, welke, zich vertakkende, het sporangium

omgeven, welk laatste zich ondertusschen sterk heeft vergroot. Ten slotte ontstaat er rondom het sporangium een pseudoparenchym van enkele celrijen dik; omtrent de veranderingen binnen het sporangium zegt de schrijver l. c. pag. 5:

„La figure 17 nous fait voir un jeune sporange contenant un protoplaste avec plusieurs vacuoles, assez grandes; dans la fig. 18, celles-ci se sont divisées de manière, que le protoplaste est devenu écumeux. Puis le protoplaste devient trop opaque, et les vacuoles deviennent en même temps trop petites pour pouvoir les distinguer encore; — — — —. Enfin, le contenu du sporange se divise en une quantité de spores; quoique j'aie cherché bien longtemps, je n'ai jamais pu découvrir le moment de la division; elle doit se faire dans un temps bien court.”

En op de volgende pagina lezen we verder:

„Quand on étudie la surface de la masse de spores, on voit que, là du moins, il n'y a aucune substance entre ces spores, — — — —; bien plus, on voit que les spores se pressent de manière à devenir angulaires, comme des cellules d'abeille”, en nog eene pagina verder: „Au moment de devenir libres, les spores ont encore leurs contours angulaires, mais bientôt elles s'arrondissent et prennent une forme ovale.”

De sporangiën wisselen in grootte van 25—75 micr. middel-lijn en bevatten van 6—500 sporen, welke \pm 5 micr. bij 6,5 micr. groot zijn.

De vorming der conidiën is als die der gonidiën, door HARZ bij *Physomyces* beschreven. Aan myceliën, welke in eene vloeistof zijn ondergedoken, ontwikkelen zich geene

peritheciën en geene conidiën, maar chlamydosporen, welke zich elk afzonderlijk aan 't eind van eene hyphe vormen.

't Is de vraag of BREFELD's onderscheiding van chlamydospore tegenover de conidiën hier geoorloofd is.

Eene enkele maal zag de schrijver eene myceliumdraad in oidiën-achtige cellen uiteenvallen.

De waargenomen feiten brengen den schrijver er toe het geslacht *Monascus* naast *Thelebolus* te plaatsen, in den zin van BREFELD en het dus tot de carpo-hemiasci te rekenen. Verschillen met *Thelebolus* zijn het ontbreken van de door BREFELD in den laatsten vorm aangeduide steelcel en het ontbreken van de eveneens daar aanwezige inrichting tot opening van 't sporangium. Bij *Monascus* moet de wand op eene willekeurige plaats scheuren of eenvoudig vergaan.

Naar aanleiding van abnormale ontwikkeling, van „le premier filament couvrant”, welke WENT in enkele gevallen heeft waargenomen, meent hij deze hyphe als een gereduceerd sporangium te mogen opvatten en deze opvatting te mogen uitbreiden tot het pollinodium van de Ascomyceten, behalve enkele vormen als *Eremascus*, *Dipodascus* en *Pyronema*. Bij de hogere Ascomyceten zou dit zeker, in verband met BREFELD's opvatting van den ascus, tot eene onwaarschijnlijke conclusie voeren.

In de Bot. Magazine Vol. XV 1902 vinden we een artike van UYEDA over de „Beni-koji-Pilz aus Formosa”, welke identiek blijkt te zijn met *M. purpureus* en UYEDA's resultaten stemmen blijkbaar overeen met die van WENT 1).

1) Tot mijn spijt heb ik het artikel zelf niet kunnen raadplegen

UYEDA heeft microconidiën zich gistachtig zien vermeerderen en meent, dat *Saccharomyces rosaceus* met deze cellen verwant zou zijn.

In de *Annals of Botany* Vol. XVII verscheen een artikel van BARKER, getiteld „The Morphology and Development of the Ascocarp in *Monascus*”.

Hieronder zal dit artikel nog eens behandeld worden, maar voorloopig diene het volgende.

BARKER's materiaal was afkomstig van Malakka, en verkregen van een koekje, zooals ze gebruikt worden bij de bereiding van „samsu”. De resultaten van het onderzoek zijn voor een deel aan microtoom-doorsneden verkregen en wijken zeer van WENT's meening omtrent de ontwikkeling van *Monascus purpureus* af, maar niettemin brengt BARKER zijnen vorm tot het geslacht *Monascus*.

Zijne waarnemingen vat de schrijver in de volgende punten samen: l. c. pag. 187:

- I. The ascocarp arises from an archicarp — — — — .
The archicarp consists of two organs; one a male organ, the antheridial branch, and the other, the ascogonium, or female organ.
- II. A sexual process, represented by an undoubted fusion between the two, and probably also by multiple fusion between male and female nuclei, undoubtedly occurs, the antheridial branch appearing to take the most active part in the process of fusion, as indicated by the formation of the small papilla.
- III. As a result of this process, a fertilized cell, the central cell, is formed. From this, with the aid of the investing hyphae, the development of which

seems to be called forth by the act of fertilization, the ascocarp is produced.

- IV. The central cell swells enormously, the investing hyphae keeping pace with it.
- V. The next step in the development consists in the formation of ascogenous hyphae from the central cell. It has not been possible to observe the earliest formation of these hyphae, owing among other things to difficulties in distinguishing them from hyphae. Nevertheless at a very young stage they have been observed as short-coiled, comparatively stout hyphae, situated in a kind of little nest or depression in the side of the central cell.
- VI. It (the nest) soon begins to increase in size, being all the while completely filled with closely entwined hyphae.
- VII. The ascogenous hyphae eventually produce small spherical eight-spored asci.
- VIII. The asci are very thin-walled, and soon break down, liberating the spores into the cavity of the nest and at the same time the ascogenous hyphae also degenerate, so that the ripe ascocarp is filled with a large number of spores, lying free in its interior amid a mass of mucilaginous substance, produced by the degeneration of the other structures.

Op pag. 196—199 l.c. volgt nu eene uiteenzetting over de zeer nauwe verwantschap van *M. purpureus* Went en BARKER's eigen materiaal. De totaal verschillende resultaten worden toegeschreven aan foutieve waarnemingen van WENT, ofschoon BARKER *M. purpureus* Went niet had gezien.

Het is wel de moeite waard, om eenige volzinnen uit deze merkwaardige redeneering te citeeren (l. c. pag. 198), waarin WENT's en BARKER's waarnemingen worden vergeleken:

„But we have seen that the apparent vacuolization is really due to the formation of hyphae branches from the „sporangium”, which organ has more or less surrounded them, owing to the exigences of the structure of the peritheccium. The early large vacuoles are the first-formed hyphae and the later small vacuoles are the numerous branches of various sizes arising from these hyphae. The confusing optical features of the mass of entwined hyphae are responsible for the opaque appearance noticeable later, while WENT's failure to discern the moment and method of sporeformation is naturally due to the nature of the development of the spores in asci, they being under the surrounding conditions only clearly visible, when fully formed. The apparent angularity of the spores, mentioned earlier, which gave rise to the idea that they were formed by cleavage of the protoplasm in the typical sporangial method of spore-formation is, as already pointed out, merely an optical effect.”

l. c. pag 149: „Thus we find that WENT's account is based on a mis interpretation of the observed facts, and that *M. purpureus* in all probability is a true Ascomycete with a perithecial formation similar to that of the Samsu-fungus.

Ook UYEDA's „Beni-Koji” fungus voldoet volgens den schrijver aan zijne beschrijving van de Samsu-fungus.

De toepassing der nieuwere techniek heeft geene cytolo-

gische bijzonderheden aan het licht gebracht, behalve dat in fig. 15 een aantal kernen te zien zijn. Het ascogonium is hier in twee cellen verdeeld en de voorste van deze staat in open verbinding met „the antheridial branch”. Fig. 15 *b* laat zelfs eene kern in deze doorgang zien. In fig. 15 *c* is de voorste cel van het ascogonium leeg, terwijl de open gemeenschap met het pollinodium is blijven bestaan.

In de Comptes Rendus 1903 n^o. 21 (25 Mai) vinden we van DANGEARD eene korte mededeeling over *Monascus purpureus* en BARKER's vorm, waarin hij tegen de sexualiteit van deze vormen opkomt, zooals ze door BARKER is verondersteld, op grond hiervan, dat de verdeeling van het ascogonium in twee cellen plaats heeft voor het optreden van de verbinding met het „antheridium”. De kernen hiervan degenereren evenals van de voorste ascogoniumcel „le trichogyne”. DANGEARD stelt voor BARKER's vorm *M. Barkeri* te noemen. Buitendien zijn in deze mededeeling de volgende woorden van belang:

„BARKER n'a pas vu deux assises nutritives, qui forment la paroi interne du périthèce comme dans *Spaerotheca*; ces assises se déagrègent de bonne heure et entourent l'ascogone d'une couche de protoplasme, qui est utilisé pour la nutrition des asques; ceux-ci proviennent de simples cloisonnements successifs; les asques possèdent chacun deux noyaux d'origine différente, qui se fusionnent en un seul.”

Naar aanleiding van BARKER's artikel publiceerde IKENO in de Ber. d.d. bot. Ges. 24 Juni 1903 een deel van zijne waarnemingen omtrent *M. purpureus*. Hij heeft bij zijne onderzoekingen gebruik gemaakt van alle middelen der

nieuwere techniek en dienovereenkomstig ook belangrijke resultaten verkregen.

IKENO's materiaal was hetzelfde als dat van UYEDA, namelijk de Beni-koji-fungus.

De fixatie van het onderzoekingsmateriaal (de schimmel op brood gegroeid) had plaats met KEIZER's sublimaat-azijnzuur en de kleuring der microtoom-doorsneden met HEIDENHAIN's ijzerhaematoxyline.

Elke kern bestaat uit een centraal lichaam, dat zich sterk kleurt, omgeven door eenen kleurloozen hof.

IKENO zegt later mededeelingen te zullen doen omtrent de bevruchtingsquæstie tusschen ascogonium en pollinodium en laat zich hier voorloopig aldus uit: l. c. pag. 261. »Nachdem sowohl das Ascogon als der primäre Hilfsfaden oder das Pollinod sich differenziert hat, schmiegt sich der letztere an das erstere seitlich dicht an; im Ascogon nimmt man dann gewöhnlich vier bis neun, selten mehr, im Pollinod weniger Zellkerne wahr. Im älteren Zustände sieht man Ascogone mit einer Anzahl von grösseren und kleineren Zellkernen. Diese grösseren Zellkerne dürften durch die Befruchtung entstanden sein, wenn ein solcher Vorgang überhaupt eintreten wird und dann besteht dieser Sexualakt aus der paarigen Verschmelzung vieler Zellkerne im Ascogon mit vielen aus dem Pollinod eingewanderten, da jeder dieser grösseren Zellkerne einen Keimkern darstellen dürfte.»

Wat WENT's »cellule terminale» betreft, heeft IKENO deze dikwijls leeg of met weinig, degenererend protoplasma, teruggevonden. Zijn slotzin hierover l. c. pag. 262: »Aus diesen Beobachtungen scheint mir hervorzugehen,

dass hier keine Fusion des Sporangiums und der Terminalzelle erfolgt und dass die letztere allmählig zu Grunde gehen wird" is niet geheel duidelijk. WENT's en UYEDA's »cellule pédicelle" heeft IKENO, evenmin als BARKER, geregeld waargenomen.

IKENO veronderstelt, dat er in het ascogonium, dat grooter wordt, kerndeelingen plaats hebben, ofschoon hij ze niet heeft waargenomen.

Soms scheidt de ascogonium-inhoud zich in eene centrale massa en eene, deze omgevende, zone.

In het ascogonium heeft nu om sommige der kernen vrije-celvorming plaats, zoodat er cytoplasmaballen, elk met eene kern, ontstaan. »Jeder dieser Cytoplasmaballen ist zuerst einkernig, aber zugleich wachsen die Zellkerne beträchtlich aus und teilen sich, worauf jeder Ballen auch durch Durchschnürung sich je in zwei teilt. In dieser Weise nimmt die Zahl der »Sporenmutterzellen" zu.

Wat nu verder de sporenvorming betreft kunnen we IKENO's opvatting niet beter recht laten wedervaren dan door het gedeelte van z'n artikel, dat daarop betrekking heeft, in z'n geheel te citeeren: l. c. pag. 265.

I. »Nun wächst jede der (Sporenmutterzellen) und ihr Zellkern beträchtlich aus, und zugleich wird das Cytoplasma deutlich wabig (Fig. 8). Ihr Zellkern teilt sich bald successiv, sodass der letztere bei jeder Sporenmutterzelle allmählig in seiner Zahl zu, dagegen in seiner Grösse entsprechend abnimmt (Fig. 9—10).

II. Dann findet eine Umordnung der cytoplasmatischen Waben statt. Bisher war nämlich das Cytoplasma

feinwabig; nun beginnt eine bestimmte Menge des besonders dichten Cytoplasma's darin sich linienartig und zwar in verschiedenen Richtungen anzuordnen, so dass jede Sporenmutterzelle in eine Anzahl von grossen Waben geteilt wird: Dieses linienartig angeordnete Cytoplasma dient deshalb als die Wände dieses Wabenwerkes und bietet im Durchschnitt das Aussehen eines ziemlich grobmaschigen Netzwerkes (Fig. 11a en b). In jeder Wabe befindet sich nur ein Zellkern. Wie oben erläutert, nimmt man in jeder Sporenmutterzelle bei dem Stadium in Fig. 10 mehrere Zellkerne wahr, während bei dem in Fig. 11 nur wenige vorhanden sind. Es fragt sich dann, was das Schicksal der anderen Kerne ist. Ich bin ziemlich sicher, dass diese dort einfach degenerieren; in der That sieht man in Fig. 12 an den Vereinigungspunkten der Wabenwände die stark farbigen Körnchen, welche ich als diese in Desorganisation begriffene Kerne deuten möchte. Bei dem in Fig. 11 dargestellten Stadium dürfte man denn auch solche degenerierende Zellkerne erwarten; tatsächlich findet man sie aber nicht, was höchst wahrscheinlich darauf beruht, dass sie hier schon früh desorganisiert und verschwunden sind.

III. Nachdem die soeben dargelegten Waben ausgebildet sind, rundet sich das Cytoplasma mit dem zugehörigen Zellkern innerhalb jeder derselben zu einer kugeligen Masse ab und zieht sich von den Wabenwänden zurück (Fig. 12), sodass zwischen den letzteren und dieser Masse eine schmale Vakuole

entsteht. In diesem Stadium ist der Zellkern schon nicht mehr nachweisbar. Man könnte vielleicht glauben, dass dann der Zellkern verschwunden sei, aber dem ist sicherlich nicht so; bei den Sporen ist er ebenso wenig fast stets nachzuweisen und doch ist, wie unten erläutert, einer in jeder vorhanden.

- IV. Die soeben beschriebene rundliche Masse innerhalb jeder Wabe wandelt sich bald zu einer Spore um (Fig. 13). Ihr Zellmembran ist ziemlich dick, durchsichtig, stark lichtbrechend, speichert Farbstoffe nicht auf und lässt bisweilen eine konzentrische Schichtung erkennen. Ebenso wenig wie bei dem oben dargelegten Stadium kann man auch hier gewöhnlich den Zellkern nachweisen, und es gelang mir selten, solchen zu sehen (Fig. 13), da durch verschiedene Farbstoffe der ganze Zellinhalt sich sehr intensiv tingiert. — — — — —

Wenn man die Fig. 12 und 13 mit einander vergleicht, so wird man nicht verfehlen zu erkennen, dass die cytoplasmatischen Wabenwände bei beiden fast gleich dick, dagegen die cytoplasmatischen Massen innerhalb der Wände in Bezug auf ihre Menge von einander sehr verschieden sind, — —. Aus diesen Beobachtungen schliesse ich, dass die dicke Zellmembran der Sporen aus einem Teil der cytoplasmatischen Masse in Fig. 12 durch Umwandlung hervorgegangen ist."

In elke sporenmoedercel ontstaan 6 of 8 sporen. Elke sporengroep is „im Epiplasma eingebettet“.

IKENO heeft nooit sporangiën gezien, zooals er een in WENT's fig. 22 is afgebeeld, n.l. geheel gevuld met sporen, wat hij aan het feit toeschrijft, dat hij met dunne microtoom doorsneden werkte, terwijl WENT het geheele sporangium op optische doorsnede zag en teekende.

Even verder spreekt IKENO over WENT's uitdrukkingen: „Il n'y a aucune substance entre ces spores" en „les spores se present de manière à devenir angulaires, comme des cellules d'abeille". Hij meent, dat deze uitlatingen het gevolg zijn van een optisch bedrog; maar de verklaring, welke hij geeft, komt zeer slecht overeen met zijne zienswijze uit de vorige alinea, dat een sporangium nooit geheel met sporen zou zijn gevuld.

IKENO's conclusie luidt, dat WENT's opvatting omtrent *Monascus purpureus*, wat betreft hare plaats in 't systeem, juist is en BARKER's *Samsu*-schimmel niet in 't geslacht *Monascus* thuis behoort.

Helderheid ten opzichte van *Monascus* heerscht er niet, al heeft elk der onderzoekingen ongetwijfeld hare groote waarde, en een nieuw onderzoek zal, gebruik makende van de verkregen resultaten, misschien klaarheid ten opzichte van dezen vorm kunnen brengen.

Indien we ten slotte nagaan, wat het onderzoek der verschillende vormen ons geleerd heeft, dan kan het antwoord niet bijzonder bemoedigend zijn, omdat het aantal vormen, dat goed en uitvoerig is onderzocht, zeer klein is.

Geene der vormen heeft, door de wijze, waarop de sporen in zijn sporangium worden gevormd, ons een beeld ge-

leverd van een type tusschen de Zygomyceten en Ascomyceten. De vormen, die meer of minder nauwkeurig bekend zijn: Protomyces, Taphridium, Ascoidea, Oscarbrefeldia, Conidiascus, Dipodascus en Monascus laten alle, na de sporenvorming, epiplasma in het sporangium over en herinneren dus, wat dit belangrijke verschilpunt betreft, aan de Ascomyceten.

In het laatste hoofdstuk zal op elken vorm afzonderlijk nog worden teruggekomen.

Uit de voorgaande beschouwingen komen we tot de slotconclusie, dat de opstelling van de groep der Hemiasci, tusschen de Zygomyceten en Ascomyceten, door de feiten niet wordt gerechtvaardigd.

HOOFDSTUK III.

Onderzoek van *Monascus*.

MONASCUS PURPUREUS WENT.

Bij 't verschijnen van Ikeno's artikel was ik reeds eenigen tijd bezig met een onderzoek over de sporenvorming bij *Monascus purpureus*. Het materiaal was verkregen door "àng-quac" korrels met verdund zoutzuur, gesteriliseerd water, verdunde ammonia en nog eens met gesteriliseerd water af te wasschen ¹⁾ om zodoende de uitwendig aanhangende sporen te doden. De gebruikte "àng-quac" korrels waren reeds een jaar of vier in het laboratorium bewaard geweest en toch bleken de sporen van de daarop voorkomende schimmel nog kiemkrachtig, want op eenen voedingsbodem, waarop de korrels werden gelegd, ontwikkelde zich bij 28^o à 30^o C. binnen enkele dagen een rood gepigmenteerd mycelium van de gewenschte schimmel.

In den eersten tijd had ik zeer veel moeite met de fixatie en kleuring. Osmiumzuur, chroomzuur, platinachloride en alcohol gaven alle onvoldoende resultaten en noch met Flemming's-driekleuren-methode, noch met fuchsine en methyl- of jood

1) Went. Ann. d. Sc. nat. 8^e Sér. T 1 pag. 2.

groen was eene voldoende differentiatie te verkrijgen. De methode, welke door IKENO gevolgd is, gaf betere resultaten, dan al de vorige en ik heb haar dan ook verder voortdurend toegepast. Gefixeerd werd met sublimaat-azijnzuur (6% sublimaat en 1% azijnzuur in gedistilleerd water) van 60° à 70° C., terwijl met de luchtpomp de lucht tusschen de hyphen verwijderd werd, en zoodoende het binnendringen der fixatie-vloeistof bevorderd. De kleuring met Heidenhain's ijzerhaemotoxyline ¹⁾, 48 à 60 uur, gaf scherpe beelden, welke dikwijls nog verduidelijkt werden door eene protoplasmakleuring met eene verzadigde, waterige oplossing van Oranje-G, gedurende 1 à 2 minuten; de hiermee behandelde praeparaten werden direct in absoluten alcohol afgespoeld en evenals de overige praeparaten door xylol in canadabalsam gebracht.

Voor 't verkrijgen van microtoom-doorsneden van 2—5 micr. dik, werden stukjes brood, waarop de schimmel was gegroeid of stukjes mycelium alleen in paraffine ingesmolten. De laatste werden verkregen door plaatcultures te maken op gelatine; de gelatine werd bij $\pm 30^{\circ}$ C. in veel vloeistof (5% suikeroplossing) opgelost en het overblijvende mycelium op de gewone wijze gefixeerd.

De uitwendig-morphologische verschijnselen bij de peritheciumontwikkeling zijn nauwkeurig door WENT beschreven en door IKENO bevestigd, zoodat daarop niet behoeft te worden ingegaan. Alleen wil ik opmerken, dat ik, evenmin als IKENO, WENT's „cellule pédicelle” als derde cel van het ascogonium heb waargenomen.

1) Straszburger Das botanische Practicum 3e Auflage. S. 612.

Het belangrijke vraagpunt aangaande het begin der peritheciumontwikkeling, is of er bevruchting plaats heeft van het ascogonium en „le premier filament couvrant” of pollinodium, welke beide hyphen het begin van een perithecium vormen. IKENO heeft zich hierover voorloopig ontkennend uitgelaten en het is ook mij niet gelukt beelden te zien, welke mij de overtuiging gaven, dat zulk eene bevruchting plaats heeft. Microtoom-doorsneden van dit stadium heb ik niet afgebeeld, omdat in mijne praeparaten deze hyphen niet voldoende van de overige, waartusschen ze lagen, waren te onderscheiden. Mijne waarnemingen aangaande deze quaestie zijn dus gedaan aan de organen in toto en steeds heb ik van ascogonium en pollinodium de wanden onafgebroken kunnen vervolgen, (Fig. 1 a—k).

Zooals blijkt uit fig. 1 a, b, g, i en k buigt de top van het ascogonium, welke soms is toegespitst (fig. 1 a en b) dikwijls naar beneden, zoodat ze dwars over 't pollinodium ligt. We zouden ons kunnen voorstellen, dat de wanden van beide organen op de plaats, waar ze langs elkaar vallen, eene opening krijgen, zoodat de omtrek van de optische doorsnede der hyphen onverbroken bleef, maar ook van eene dergelijke opening is niets te bespeuren.

Zooals bekend is uit de onderzoekingen van WENT en IKENO wordt het ascogonium door eenen wand in tweeën verdeeld en de achterste cel van het ascogonium ontwikkelt zich verder (fig. 1 b en k). Ontwikkelde deze cel zich nu verder tengevolge van eene bevruchting door het pollinodium, dan moesten één of meer kernen uit dit orgaan in de achterste ascogoniumcel kunnen dringen. In fig. 1 e en h zijn twee gevallen afgebeeld, waar het ascogonium

al in tweeën gedeeld is, zonder dat het ergens met het pollinodium in aanraking is. Ook dit feit pleit, zooals DANGEARD reeds heeft opgemerkt, sterk tegen het normaal voorkomen van eene bevruchting.

Terwijl de achterste cel van het ascogonium, het definitieve orgaan van dien naam, zich vergroot, wordt ze door hyphen, die onder haar ontstaan, omgeven, en hare verdere ontwikkeling is daardoor aan het oog onttrokken, zoodat we nu onzen toevlucht tot doorsneden moeten nemen. In doorsneden van pas omhulde ascogoniën zijn de voorste cel van dit orgaan en het pollinodium niet te herkennen, omdat ze niet van de omhullende hyphen zijn te onderscheiden, en in doorsneden van oudere stadiën zijn beide cellen reeds spoedig in het pseudo-parenchymatische omhulsel van het definitieve ascogonium opgenomen.

Wel blijkt, evenals uit de fig. 4 van IKENO, dat het aantal kernen van het ascogonium toeneemt. Het protoplasma is dan gelijkmatig, als eene schuimachtige massa, door het geheele ascogonium verdeeld.

In de daaropvolgende stadia vindt men vrije cellen gevormd, welke meestal 2, soms één en in enkele gevallen drie of vier kernen bezitten, zooals dit is weergegeven in fig. 2, 3 en 4. De kernen dezer vrije cellen zijn grooter dan die van 't vorige stadium. De kernen doen zich voor als korrels, welke zich met ijzer-haematoxyline blauw-zwart hebben gekleurd. De korrels hebben eene zeer verschillende grootte, wat vooral in fig. 3 te zien is, waar de kern der éénkernige cel (c) aanmerkelijk grooter is dan de beide der tweekernige cellen (d, e). Het protoplasma der vrije cellen is zeer dicht en is door de toegepaste kleurings-

methode niet geheel kleurloos gebleven. Het protoplasma overigens in het ascogonium is veel verminderd en is meer of minder tot dunne strengen en draden samengetrokken en bevat nog een aantal kleine kernen.

In het volgende stadium vindt men de vrije cel vergroot terug (fig. 5). Het protoplasma der vrije cel is minder dicht en de structuur schuimachtig. In de cel vindt men een groot aantal uiterst kleine kernen, zoodat men geneigd is van chromatine-korrels te spreken en dit stadium komt geheel overeen met wat door IKENO in zijne fig. 9 en 10 is afgebeeld. Er heeft zich bij mij dezelfde mogelijkheid voorgedaan als bij genoemden onderzoeker om stadia tusschen dit en het vorige te vinden, welke natuurlijk vooral door het aantal kernen zullen moeten zijn te herkennen.

Ik wil de aandacht vestigen op fig. 2, waar we in het ascogonium eene cel met vijf kleine kernen vinden, ofschoon de juistheid van de opvatting ervan als tusschenstadium niet bij me vaststaat. We mogen uit het zeldzaam voorkomen van die tusschenstadia besluiten, dat de ontwikkeling van het 1- of 2-kernige stadium tot het veelkernige zeer snel gaat.

Praeparaten, die naar mijne meening in tijd op de vorige volgen, laten cellen zien, zooals er ééne in fig. 6 is afgebeeld. Er zijn enkele plekken van eene homogene zelfstandigheid ontstaan, welke eene nog lichtere tint aanneemt dan het vorige protoplasma der cel. De homogene plekken bevatten voor zoover ik heb kunnen waarnemen geene kernzelfstandigheid. De kleine gekleurde korrels van het vorige stadium zijn teruggedrongen in de protoplasma

laagjes, welke tusschen de kernlooze gedeelten overblijven. De laatste nemen het grootste gedeelte van de cel in.

In fig. 7 vindt men een gedeelte van een ascogonium afgebeeld, waarin drie vrije cellen liggen, a, b en c. In alle drie herkent men nog één of meer der homogene plekken van het vorige stadium (fig. 6), maar b. v. in a zijn drie er van verdeeld in een centraal gedeelte met eene zich zwart kleurende korrel, en eenen lichter getinten rand.

Hier hebben zich de sporen gevormd. Men vindt nog eene vierde spore, welke reeds verder ontwikkeld is. Fig. 7 b bevat ééne reeds ver ontwikkelde spore en nog ééne homogene plek. Uit fig. 7 a blijkt vrij duidelijk, dat de spore bij haar optreden ééne kleine kern bezit.

Blijkbaar gaat deze zich deelen en in fig. 9 zien we eene groep van zes sporen, welke uit elkaar gevallen is — de vrije cel, als eenheid, is verloren gegaan — en ze bevatten resp. 2, 6, 7 en »vele» kernen. In fig. 10 zijn nog eens vier sporen geteekend, uit verschillende ascogoniën, resp. met 1, 2, 4 en 8 kernen. Sporen met »vele» kernen noem ik die, waarin ik de kernen niet meer tellen kan, maar het lumen der spore opgevuld zie met een duidelijk korrelige, zich sterk kleurende massa, zooals ze ook een of meer te vinden zijn in fig. 7 a, b en c.

Vergelijkt men fig. 7 met fig. 6, dan blijken in de eerste de sporen relatief een grooter gedeelte van hare moedercel in te nemen, dan de homogene plekken in de tweede figuur. Daaruit volgt, dat de kernen-chromatinekorrels nog dichter op elkaar gedreven worden (fig. 7 a), zoodat er beelden ontstaan, welke sterk doen denken aan fig. 12 van IKENO,

maar in mijne praeparaten was het duidelijk, dat de »Wabenwände'' niet bestaan uit de homogene massa, die zich sterk kleurt, maar dat deze eigenschap slechts toekomt aan duidelijk van elkaar te onderscheiden lichaampjes in deze »Wabenwände''.

Terwijl de sporen zich duidelijker differentiëren en ook haar wand scherper is afgezet tegen haar lumen (fig. 7 a, fig. 9), schijnen de chromatinekorrels tusschen de sporen spoedig te degenereren, zoodat men beelden krijgt, zooals fig. 8 er een weergeeft. Het aantal sporen, dat zich in elke vrije cel vormt, is niet constant, maar bedraagt meestal 6—8. Eens vond ik eene cel met \pm 16 sporen, welke veel kleiner waren dan de normale. Zoo nu en dan ziet men cellen, waarbinnen zich slechts ééne of twee sporen gevormd hebben, welke dan meestal een gedeelte van de cel ongebruikt laten (fig. 7 b).

De vrije cellen vallen na de sporenvorming, zooals we gezien hebben, uiteen en de sporen komen vrij in het ascogonium. Een ascogonium of liever een perithecium d. w. z. het ascogonium met zijne omhulling, in toto bekeken, maakt den indruk van geheel met sporen gevuld te zijn (zie WENT's fig. 22), zoo zelfs, dat WENT meende, dat de sporen door wederzijdschen druk worden afgeplat. In microtoomdoorsneden merkt men van dat opgepropt zitten der sporen nooit iets. Nu is me gebleken door eene eenvoudige berekening, dat de sporen het rijpe ascogonium volstrekt niet geheel opvullen. B. v. een ascogonium van 32 micr. middellijn bevatte \pm 120 sporen, welker gedaante ongeveer bolvormig was met eene middellijn van 4 micr. Deze vullen het bolvormige ascogonium slechts voor

een vierde gedeelte. In andere gevallen was het een nog kleiner gedeelte, zelfs tot een tiende gedeelte toe.

Drukt men een ascogonium onder het dekglas, zoodat het openspringt en heft men daarna den druk op, dan kan men soms in het opengesprongen ascogonium zien, door met de micrometerschroef te draaien en merkt dan, dat de sporen in eene wandstandige laag liggen. Kleurt men de sporen, welke door den druk op het dekglas buiten het ascogonium zijn gekomen, met oranje-G, dan blijken de sporen zich te kleuren, maar om de sporen blijft een kleurlooze rand over. In fig. 11 is i de inhoud der sporen, die zich sterk kleurt, w de wand, die eene lichtere tint aanneemt, tz de laag om de sporen, welke zich niet kleurt en die in de teekening aan den buitenkant door een lijn (b) begrensd wordt, om haar tegen de omgeving te begrenzen.

In 't midden der teekening is eene spleet (s) in de kleurlooze massa te zien, welke waarschijnlijk door den druk is ontstaan.

Blijkbaar liggen de sporen dus in eene tusschenzelfstandigheid, welke zich niet met oranje-G kleurt ¹⁾ en welke, als zoodanig, eerst optreedt, nadat de sporen uit de vrije cellen zijn vrij geworden.

Uit fig. 11 blijkt, dat de dikte der laag van tusschen-

¹⁾ Tot mijn spijt is er in de voorloopige mededeelingen over dit zelfde onderwerp (Versl. v. d. gew. verg. der wis- en natuurk. afd. der Kon. Akad. van Wetensch. te Amsterdam van 28 Mei 1904) eene fout geslopen. Op pag. 40 staat, dat de laag in quaestie zich sterk kleurt met oranje-G.

zelfstandigheid $\frac{1}{5}$ van de straallengte der spore bedraagt en de spore met hare omhullende laag heeft dus $\pm 1\frac{3}{4}$ maal de inhoud van de spore zelf, zoodat de sporen met de tusschenzelfstandigheid ook $1\frac{3}{4}$ maal meer van de ascogoninruimte opvullen dan boven is aangegeven.

IKENO's meening, dat de veelhoekigheid der sporen een optisch bedrog is, is juist en wordt veroorzaakt door de geringe afmeting der kleurlooze randjes tusschen de sporen. Bekijkt men sporen als in fig. 11 met zwakkere vergrooting, dan schijnen ze polygonaal.

Tot zoover hebben we ons aan de feiten gehouden en alleen verondersteld, waar we de verschillende praeparaten in eene bepaalde volgorde plaatsten. Er blijft nu nog eene belangrijke quaestie over, n. l. of de vrije cellen, welke in het ascogonium ontstaan, van het éénkernige in het tweekernige stadium overgaan of omgekeerd. Zooals we boven gezien hebben, stelt IKENO zich het eerste voor, in dezen zin, dat in eene vrije cel, met ééne kern, eene kerndeeling plaats heeft, waarop eene celdeeling volgt, zoodat de vrije cellen zich vermeerderen, en de éénkernige cellen ontwikkelen zich nu verder. Volgens deze voorstelling ligt het voor de hand, dat we voor het meerendeel éénkernige cellen zouden vinden: alle cellen ontstaan in dezen toestand; alleen in een deelingsstadium zijn ze tweekernig en daarna ontstaan uit haar twee éénkernige cellen. Buitendien heb ik stadia, die door hunne structuur eene deeling doen vermoeden, zooals ze door IKENO in fig. 6 zijn afgebeeld, nooit gevonden. Mijne tweekernige cellen kwamen altijd overeen met die uit IKENO's figuur 7. Beter met de feiten strookend lijkt me dan ook de opvatting, dat de cellen

tweekernig optreden, waarna eene kernversmelting plaats heeft, en de éénkernige cel, welke nu ontstaan is, ontwikkelt zich verder. Men vindt nu nog minder éénkernige cellen, dan men volgens deze voorstelling zou verwachten en dit schrijf ik toe aan het snelle tempo, waarin de ontwikkeling van de éénkernige cel verder gaat. Fig. 4 met hare drie éénkernige cellen a, b en c geeft in dit opzicht eene uitzondering weer, en als zoodanig is ze dan ook juist in de plaat opgenomen. De indruk, dien men krijgt bij het doorkijken van praeparaten van dit stadium, is die van tweekernige cellen, terwijl men naar éénkernige moet zoeken.

Fig. 3 laat volgens deze voorstelling van kernversmelting twee cellen zien, waarin de vereeniging der beide kernen plaats heeft, (a en b) en ééne cel, waarin de beide kernen zich reeds vereenigd hebben (c). In a, d en e zijn behalve de beide grootere kernen nog 1 of 2 kleinere te zien en ik stel me voor, dat dit kernen zijn, die bij 't ontstaan der cel binnen haar protoplasma zijn opgenomen, maar aan de verdere ontwikkeling geen deel nemen. Misschien splitsen ze zich bij degeneratie in een aantal uiterst fijne korreltjes, zooals we die in fig. 3 c terugvinden.

Mijne voorstelling is dus, dat er in 't begin der ontwikkeling van de vrije cellen binnen deze eene kern versmelting plaats heeft. ¹⁾

1) Er dient bij het vergelijken van IKENO's en mijne resultaten altijd in het oog te worden gehouden, dat we met materiaal van verschillende herkomst hebben gewerkt.

MONASCUS BARKERI. DANG.

Door de voorgaande resultaten bij *M. purpureus*, bleef het groote verschil tusschen dezen vorm en dien, door BARKER onderzocht, bestaan, een verschil, zoo groot, dat, bleek het juist, daardoor beide vormen zelfs niet in eenzelfde geslacht thuisbehoorden. Het leek daarom wenschelijk ook den laatsten vorm nog eens aan een onderzoek te onderwerpen.

De Heer BARKER had de groote welwillendheid mij, op mijn verzoek, eene cultuur van de door hem onderzochte schimmel toe te zenden, waarvoor ik hem op deze plaats ook mijnen dank betuig.

In cultures op eenzelfden voedingsbodem valt oogenblikkelijk een groot verschil tusschen dezen vorm en den voorgaanden op.

Op rijst geeft *M. purpureus* een sterk, meestal bruin rood, gepigmenteerd mycelium, terwijl het pigment van *M. Barkeri* veel minder is en de rijst slechts zoo hier en daar aan de oppervlakte der korrels purper kleurt. Het mycelium zelf echter is zwartachtig en ook de rijstmassa in haar geheel wordt ten slotte meer zwart dan rood. Trekt men deze rijst met chloroform uit, dan krijgt men eene helder gele oplossing en wordt ze daarna met alcohol behandeld, dan ontstaat er eene roode vloeistof. Ang-quac geeft met chloroform een rood extract.

Ent men *M. purpureus* op eene dunne laag mout-agar, dan ontwikkelt zich een sierlijk gevormd mycelium, zooals het door eene reproductie van eene photographie in fig. 12 is weergegeven. *M. Barkeri* doet dit niet en geeft

eene veel meer viltachtige mycelium-laag zonder kenbare structuur of in enkele gevallen uit flauw te onderscheiden concentrische ringen bestaande, welke verschillend getint zijn, de eene iets donkerder grijs dan de andere, maar zoo zwak, dat eene photographische reproductie geene bijzonderheden zou geven.

De toegepaste techniek is dezelfde als bij *M. purpureus* en deze gaf ook hier verreweg de beste resultaten.

Fig. 13 geeft twee jonge stadia van eenen perithecium-aanleg weer, bestaande uit dezelfde organen als bij *M. purpureus*, ascogonium en pollinodium. Beide organen, vooral het pollinodium, zijn wat slanker gebouwd dan bij *M. purpureus*. Ze strekken zich ook meer langs elkaar, doordat het ascogonium minder gebogen is. Vooral fig. 13a toont aan, dat de dwarswand in het ascogonium soms al zeer vroeg aanwezig is. Eene verbinding tusschen beide organen heb ik in geen enkel geval kunnen waarnemen. Ook heb ik uit de microtoomdoorsneden geene stadia met zekerheid kunnen isoleeren, zooals ze in BARKER'S figuur 15 zijn afgebeeld. In praeparaten, welke me toetschenen, dat stadium te vertegenwoordigen, heb ik ook nooit eene open verbinding tusschen hyphen gevonden. In tegenstelling met *M. purpureus* schijnt hier het pollinodium in de meeste gevallen door te groeien, zoodat men het later nog uit het rijpe perithecium te voorschijn ziet komen. Dit doorgroeien wijst er niet op, dat diezelfde hyphe eerst als functioneerend pollinodium zijne rol zou vervuld hebben, want in den regel zien we dergelijke organen te gronde gaan.

De hyphen, welke het ascogonium omhullen, ontwikke

len zich in het begin sterk en vrij los van elkaar, terwijl het ascogonium in dit stadium zich nog niet of weinig vergroot. Zodoende ontstaan er in doorsnede beelden, zooals er één in fig. 14 is afgebeeld en welke veel overeenkomst vertoonen met de fig. 16, 17 en 18 van BARKER.

Daarna gaat blijkbaar het ascogonium zich sterk vergrooten en de omhullende hyphen desorganiseeren, worden plat gedrukt en vormen samen eenen min of meer dikken, gelaagden wand om het ascogonium. Men neemt dan waar, wat in fig. 15 is afgebeeld. Het protoplasma is sterk gevacuoliseerd en bevat een aantal kleine, alle even groote kernen.

In een volgend stadium, is het protoplasma in het geheele ascogonium toegenomen (fig. 16) of het heeft zich aan ééne zijde van het ascogonium opgehoopt, terwijl de wand belegd blijft met een dun laagje protoplasma (fig. 17). Er bestaat op dit oogenblik eene neiging bij het protoplasma, om zich in ballen samen te trekken, rondom bepaalde middelpunten. Men neemt, zooals in fig. 16, spleten in het protoplasma waar, waartegen het omgevende protoplasma nu scherp is afgezet.

De praeparaten maken op mij den indruk, dat deze spleten ontstaan, doordat sommige vacuolen zich in de lengte strekken en zich vergrooten, doordat het omgevende protoplasma samentrekt. In het stadium, dat afgebeeld is in fig. 17, waarschijnlijk iets ouder dan dat van fig. 16, zijn de vacuolen minder gerekt en meer afgerond.

De kernen zijn niet alle evengroot. Enkele zijn grooter en liggen dan soms in een min of meer afgescheiden deel van het protoplasma (fig. 17 a) en de overige, kleinere

kernen liggen dikwijls op dezelfde wijze twee aan twee (fig. 16 a en b, fig. 17 b en c). De stadia zijn hieraan te herkennen, dat het ascogonium nu, vergeleken met later, vele kernen bevat, die door het geheele protoplasma verspreid liggen.

De interpretatie dezer praeparaten is, dat we in dit stadium te doen hebben met kernen, welke twee aan twee versmelten, en volgens deze voorstelling zijn dus de kernen in fig. 16 c en fig. 17 a en d door versmelting van twee kernen ontstaan.

Een volgend stadium is nu afgebeeld in fig. 18, waar het afrondingsproces van bepaalde protoplasmagedeelten verder is gegaan en waar we dus te doen hebben met vrije celvorming, evenals bij *M. purpureus*. Twee dier vrije cellen bevatten ééne kern, (a en b), twee andere elk twee kernen (c).

Dit stadium onderscheidt zich echter van het overeenkomstige bij *M. purpureus*, doordat er verder in het ascogonium zeer weinig kernen zijn overgebleven. Blijkbaar degenereren hier de kernen, welke zich, volgens mijne voorstelling, niet met eene andere verbonden hebben, spoediger dan bij den eersten vorm.

De ééne kern, welke zich in eene vrije cel bevindt, gaat zich nu deelen en we krijgen achtereenvolgens stadia te zien, waarin de vrije cellen twee, vier, zes en acht kernen bezitten, zooals we daarvan voorbeelden vinden in fig. 18, 19, 20, 22, 23 en 24.

Fig. 19 is eene doorsnede van een ascogonium, waarin het protoplasma zich aan ééne zijde heeft opgehoopt, evenals in fig. 17, maar volgens een vlak loodrecht op het vlak van teekening van fig. 17.

Van de verschijnselen, welke door BARKER zijn afgebeeld, aangaande het ingrocien van hyphen in het ascogonium, heb ik niets kunnen waarnemen, maar het zou misschien mogelijk zijn verband te zoeken, tusschen de fig. 29 en 30 van BARKER en mijne fig. 17 en 19.

Fig. 22 I en II zijn teekeningen van 't zelfde ascogonium bij verschillende instellingen van de micrometer-schroef. De overeenkomstige letters geven in beide teekeningen dezelfde kernen aan. We vinden hier dus in eene protoplasma-massa — eene vrije cel, die geheel tegen den wand van 't ascogonium ligt — 7 kernen, waarvan één grooter is dan de overige en zich blijkbaar nog moet deelen.

In fig. 23 zien we weer twee vrije cellen, waarvan de eene 6 kernen bezit (I) — van deze zes is er ééne in deeling (a) en ééne is grooter dan de overige (b), terwijl het praeparaat den indruk gaf, dat de kernen e_1 en e_2 evenals d_1 en d_2 deelingskernen zijn, die volgens de letters, waarmee ze aangeduid zijn, bij elkaar behooren — en de andere cel (II) bevat 5 kernen, waarvan ééne in deeling (a), misschien nog ééne in deeling (c) en ééne grooter dan de andere (b).

Fig. 24 laat naast het ascogonium waarschijnlijk nog het pollinodium (p) zien.

Fig. 21 laat eenen toestand zien, waarin de kernen zich reeds aan het deelen zijn, maar waarin de vrije cellen nog niet scherp afgegrensd zijn en het protoplasma meer het voorkomen heeft van het stadium van fig. 16.

Bij de kerndeelingen is er van structuur van chromatine of dergelijke verschijnselen niets waar te nemen. Alleen

vindt men soms de beide deelingskernen, indien ze zich een eindje van elkaar verwijderd hebben, verbonden door eenen min of meer volledigen band, welke zich duidelijk afzet door zijne donkerdere tint tegen het omgevende protoplasma. Fig. 21 a en fig. 25 a geven hiervan voorbeelden.

In elke vrije cel vormen zich nu waarschijnlijk acht sporen, ofschoon het aantal dikwijls niet nauwkeurig te bepalen is, doordat alle sporen niet in ééne doorsnede liggen, zoodat men dikwijls een kleiner aantal telt, terwijl er dan soms nog eene flauwe aanuiding van de ontbrekende te zien is. Zoo stelt fig. 27 eene cel voor, waarin bij verschillende instellingen 7 sporen duidelijk waren te zien. De sporen zijn in hare onderlinge ligging door den omtrek aangegeven. Van eene achtste spore was waarschijnlijk nog een segment te zien. Fig. 26 geeft diezelfde cel weer bij eene bepaalde instelling van de micrometerschroef.

Het blijkt uit die afbeelding, dat de inhoud der rijpe spore hoogstwaarschijnlijk niet slechts ééne kern bevat, maar meerdere, vooral in verband met hetgeen we daaromtrent bij *M. purpureus* hebben waargenomen. 't Is mij echter niet gelukt hiervan bij *M. Barkeri* scherp gedifferentieerde beelden te krijgen, en het onderzoek van kiemingsstadia zal hierover waarschijnlijk eerst uitsluitsel kunnen geven.

Voor een gemakkelijk overzicht wil ik ten slotte in 't kort de resultaten aangaande de beide *Monascus*-vormen nog eens naast elkaar zetten:

M. PURPUREUS.	M. BARKERI.
I. De perithecium-ontwikkeling begint met den aanleg van een ascogonium en pollinodium, welke niet met elkaar in open gemeenschap treden.	I.
II. 't Ascogonium verdeelt zich in twee cellen, waarvan de achterste het definitieve ascogonium wordt.	II.
III. Terwijl het definitieve ascogonium zich vergroot, neemt het aantal kernen er in toe en wordt het door hyphen omhuld.	III.
IV. Er vormen zich twee-kernige vrije cellen binnen het ascogonium.	IV. Het protoplasma trekt zich om bepaalde middelpunten samen, zoodat er spleten in het protoplasma ontstaan.
V. De twee kernen der vrije cellen copuleeren.	V. Op verschillende oogenblikken tijdens dit samentrekkingsproces, dat tot vrije-celvorming leidt, vereenigen zich verschillende kernen paarsgewijs.
VI. Uit de ééne kern ontstaan een zeer groot aantal uiterst kleine kernen — chromatinekorrels —, welke door de geheele cel verspreid liggen.	VI. De ééne kern, welke elke vrije cel, die op deze wijze is ontstaan, bevat, ondergaat achtereenvolgens drie deelingen, waardoor in elke cel 8 kernen ontstaan.
VII. In de vrije cel differentieeren zich een aantal homogene plekken, welke geene kernzelfstandigheid bevatten. De chromatinekorrels worden in de protoplasmalaagjes tusschen de homogene plekken teruggedrongen.	VII. Om elke kern vormt zich eene spore. Waarschijnlijk bedraagt het aantal sporen in elke cel, op weinige uitzonderingen na, acht.
VIII. Elke homogene plek differentieert zich in een centraal gedeelte, waarin ééne kleine kern zichtbaar is en eene periphere zone. De sporen, elk met eenen wand, hebben zich gevormd.	VIII. De sporen komen vrij in het ascogonium, doordat de cellen uiteenvallen.
IX. In elke vrije cel ontstaan meestal	

M. PURPUREUS.	M. BARKERI.
<p>6—8 sporen, soms ook slechts 1 of 2, ééns vond ik 16.</p> <p>X. De chromatinekorrels tusschen de sporen degenereren.</p>	
<p>XI. Ondertusschen deelt zich de kleine kern van elke spore eenige malen, zoodat ten slotte de spore geheel met kernzelfstandigheid is opgevuld.</p>	
<p>XII. De vrije cellen vallen als zoodanig uiteen; de sporen komen in het ascogonium vrij, en ze rangschikken zich in eene periphere laag. Tusschen de sporen bevindt zich eene tusschenzelfstandigheid. De sporen vullen het geheele ascogonium niet op.</p>	

HOOFDSTUK IV.

Phylogenie der Ascomyceten.

Uit de voorgaande feiten en overwegingen zijn de volgende conclusies te trekken :

- 1e. De theoretische beschouwing, waardoor BREFELD tot de afleiding van den ascus uit het Zygomyceten-sporangium komt, is niet overtuigend.
- 2e. De feiten, welke aangaande de ontwikkeling van ascus en sporangium en van de asco- en sporangiosporen aan het licht zijn gekomen, hebben tusschen die beide vormingen eene diepe klove doen ontstaan.
- 3e. De vormen, welke door verschillende auteurs tot de Hemiasci zijn gebracht, hebben, voor zoover ze nauwkeuriger zijn onderzocht, die klove niet kunnen dempen ; geen dier vormen is te begrijpen als een tusschenvorm van Zygomyceten en Ascomyceten.

Neemt men deze conclusies aan, dan worden daardoor twee eischen geboren :

- 1e. eene phylogenie van de Ascomyceten op te stellen.
 - 2e. de tot nu toe tot de Hemiasci gerekende vormen eene plaats in 't systeem te geven.
-

In de laatste jaren zijn er enkele artikelen verschenen, welke de bevruchting tusschen ascogonium en pollinodium in den zin van DE BARY in eere trachten te herstellen; van HARPER voor *Sphaerotheca Castagnei* (Ber. d. deutschen bot. Ges. Bnd. XIII 1895) en voor *Pyronema confluens* (Ann. of Botany vol. XIV 1900), van Miss E. DALE voor *Gymnoascus REESII* en *G. Candidus* (Ann. of Botany vol. XVIII 1903) en van BARKER voor *Monascus Barkeri* (l.c.).

HARPER meent voor *Sphaerotheca Castagnei* en *Pyronema confluens* met eene reeks microtoom-doorsneden de versmelting van kernen uit ascogonium en pollinodium zoo niet te hebben bewezen, dan toch hoogst waarschijnlijk te hebben gemaakt.

In beide gevallen is hem bovendien gebleken, dat ook bij deze vormen de primaire ascuskern ontstaat door versmelting van twee kernen, zooals dat voor vele andere gevallen door DANGEARD is aangetoond.

Voor al voor *Sphaerotheca* zijn HARPER's afbeeldingen op het eerste gezicht overtuigend en ernstige twijfel aan de juistheid zijner resultaten is eerst ontstaan na het verschijnen van DANGEARD's kritiek op het onderzoek in quaestie.

DANGEARD heeft denzelfden vorm opnieuw onderzocht. ¹⁾ (Le Botaniste 5e Série, pag. 27—31, 1896 en pag. 245—284, 1897) en meent, op grond van dit onderzoek, dat HARPER's resultaten het gevolg zijn van verkeerde interpretatie zijner praeparaten.

1) Van de jongere stadia heeft DANGEARD geene microtoom-doorsneden gemaakt, daar deze hem minder betrouwbaar voorkomen.

Daar deze quaestie voor verdere beschouwingen van bijzonder groot belang is, zij het geoorloofd te citeeren (l. c. pag. 264). La branche anthéridienne se developpe comme l'ascogone; mais son diamètre est beaucoup plus faible et sa forme reste cylindrique; elle s'applique étroitement sur l'ascogone, à la surface duquel elle semble ramper (fig. 7); son protoplasma est moins dense et son noyau, nucléolé, plus petit; elle est séparée du filament par une cloison: — — — — —; son noyau se divise à ce moment; l'une des moitiés se porte dans la partie supérieure qui s'isole sous forme d'une petite cellule désignée sous le nom d'anthéridie; la branche anthéridienne est donc finalement composée de deux cellules; l'une, inférieure, conserve la plus grande partie du protoplasma et son noyau continue, malgré ses dimensions réduites, à offrir la structure normale; l'autre cellule, beaucoup plus petite, ne renferme, en général, même au début, qu'un protoplasma raréfié et un noyau très petit, quelquefois à peine reconnaissable; il contraste par sa petitesse avec le gros noyau de l'ascogone (fig. 8 et 9).

Even verder lezen we over den toestand, die voorafgaat aan het oogenblik van 't ontstaan der hyphen, welke het ascogonium gaan omgroeien (l. c. pag. 268 en 269):

„ — — —, l'ascogone est rempli d'un protoplasme dense, — — — —; au milieu de la cellule, — — — — se voit — — — un gros noyau unique de forme globuleuse; — — — —; l'ensemble du noyau a un contour bien défini.

Dans les mêmes perithèces, la branche anthéridienne donne lieu à des remarques d'une nature opposée; la

cellule inférieure est pauvre en protoplasma; son noyau, bien qu'ayant la structure normale, est plus petit que les noyaux végétatifs; la différence est encore plus accentuée en ce qui concerne l'anthéridie; quelques granulations représentent tout le protoplasma; quelquefois le noyau garde encore son contour défini; mais le plus souvent, il n'est représenté que par une granulation, que sa sensibilité aux réactifs indique comme étant le nucléole; autour, quelques traces péniblement discernables de la masse nucléaire (fig. 9).

La dégénérescence et même la disparition complète du noyau anthéridien se produit souvent à cette période; cependant, il peut persister dans les stades suivants — — —."

Tijdens het ontstaan der hyphen, welke het ascogonium omgroeien, kan dit laatste 1 of 2 kernen bevatten. Bij de bespreking van het eerste geval merkt DANGEARD op (l. c. pag. 270):

„Finalement, l'ascogone se trouve entouré d'abord d'une assise, puis d'une seconde; il n'est pas rare de rencontrer des périthèces à cet état dans lesquels le noyau de l'ascogone est encore indivis; son volume a simplement subi un accroissement en rapport avec celui de la cellule qui le contient.

Non seulement il n'y a point eu pénétration du noyau de l'anthéridie dans l'ascogone, mais on arrive, dans quelques cas favorables, à retrouver ce noyau dans la petite cellule, qui le contient, jusqu'au moment où la seconde assise de cellules recouvrantes va bientôt se former (fig. 11); — — — —."

Aangaande het tweede geval, waar dus het ascogonium reeds twee kernen heeft, merkt de schrijver op, dat wij,

indien een dezer beide kernen eene antheridiale kern is, in dit stadium een antheridium zonder kern moeten vinden; maar, gaat hij verder (l. c. pag. 272) „— — — à côté d'antheridies dans lesquelles la dégénérescence est complète à ce stade, il en est d'autres qui montrent encore nettement leur noyaux (fig. 12 D et fig. 11 I) ¹⁾; cela suffit pour démontrer l'inconsequence et l'inexactitude du rôle que l'on veut faire jouer à cette cellule terminale.”

Aan het pas genoemde artikel van DANGEARD was reeds eene voorloopige mededeeling van hem naar aanleiding van HARPER's onderzoek voorafgegaan (Le Botaniste l. c. pag. 27) en hier wijst hij nog op eenen zin uit HARPER's artikel (Ber. d. d. bot. Ges. 1895 pag. 478): „Der Eikern ist jetzt meistens grösser wie die gewöhnlichen vegetativen Kerne, während der Antheridiumkern gelegentlich kleiner ist,” en zegt daarover (l. c. pag. 28): „Ce dernier noyau, d'après les figures 3, 4, 5, 6 Pl. XXXIX, est au moins trois fois plus petit que le noyau de l'oeuf ²⁾, or les deux seules figures peu démonstratives qui représentent la prétendue fusion de ces noyaux les montrent avec un diamètre égal (fig. 7—8).

In HARPER's volgend artikel over Sphaerotheca (Jahrb. f. wiss. Bot. XXIX) vinden we dezelfde tegenstrijdigheid, indien we van Taf. XI de fig. 1, 2 en 3 met fig. 4 en 5 vergelijken.

Ten slotte mag nog van DANGEARD geciteerd worden:

1) Zie ook fig. 8 G.

2) Voor fig. 6 is dit onjuist en voor de overige is de verhouding hoogstens als 3:1.

„Ces deux fig. 7 et 8 s'appliqueraient bien plustôt à une division du noyau de l'article terminale qu'à une fusion, surtout si l'on ajoute qu'à ce moment les nucléoles ont disparu" (l. c. pag. 29).

DANGEARD's resultaten en bedenkingen doen HARPER's zekerheid omtrent eene versmelting van antheridium- en ascogonium-kern te niet, en doen deze versmelting zelfs onwaarschijnlijk lijken.

HARPER's onderzoek over *Pyronema* is bij eerste lezing al minder overtuigend dan dat over *Sphaerotheca*, maar ook hiertegen is DANGEARD opgekomen, 't eerst in eene mededeeling in *Comptes Rendus, Acad. Sc. t. CXXXVI 1903* en later in een eenigszins uitvoeriger artikel in *Le Botaniste 9^e Série Déc. 1903 pag. 46*), waarin afbeeldingen zeer worden gemist.

Het hoofdbezwaar tegen HARPER's conclusie aangaande kernversmelting is dit, dat het stadium, waarin deze zou plaats hebben, praeparaten geeft, welke uiterst moeilijk zijn te onderzoeken, doordat de 300 à 400 kernen zich tot een dichte massa in het midden van het oögonium hebben samengetrokken. Buitendien meent DANGEARD in *Le Botaniste l. c. pag. 56*, dat het samenballen der kernen een abnormaal verschijnsel is, dat ontstaat door de inwerking van water.

Sterker is DANGEARD's bewering, dat de kernen van het antheridium in dat orgaan desorganiseeren, terwijl de celwand tusschen trichogyne en oögonium niet verbroken wordt ten einde de kernen uit het antheridium door te laten. „La preuve de la persistance de la cloison resulte: 1^o. du fait, qu'elle occupe toujours la même situation rela-

tive par rapport à l'oogone et au trichogyne; 2^o. de ce qu'elle conserve la même structure." (l. c. pag. 51)

Ter verduidelijking mogen nog de volgende woorden dienen: „Or, la première cloison est située au fond d'une sorte d'entonnoir constitué par la jonction du trichogyne à l'oogone; la seconde devrait apparaître à l'ouverture même de l'entonnoir, c'est à dire en continuation directe avec la membrane de l'oogone.

La destruction de la première cloison impliquerait un changement de position pour la seconde et aussi une modification de structure, la perforation n'ayant plus de raison d'être." (l. c. 51.)

In verband met de plaats van den wand tusschen trichogyne en oögonium, zouden dus de fig. 6, 10 en 17 van HARPER onjuist zijn.

Over de degeneratie der antheridiale kernen zegt DANGEARD nog: „Ce savant (HARPER) admet que les noyaux de l'antheridie ont la même grosseur et la même structure que ceux de l'oogone jusqu'au moment où s'opère la fusion.

Il est très facile de se rendre compte du contraire; la ressemblance d'aspect n'existe que pendant la période de croissance de la rosette; à ce moment le cytoplasme renferme de nombreuses vacuoles de diamètre variable; les noyaux sont disséminés un peu partout. Sitôt que les deux organes sont en relation au moyen du trichogyne, on voit des changements se produire en sens contraire. Le protoplasma de l'oogone perd ses vacuoles et prend une structure réticulaire; les noyaux se groupent en une assise très régulière sous la membrane; d'un autre côté, les noyaux

du trichogyne entrent en dégénérescence et le phénomène s'étend à ceux de l'anthéridie.

Pendant que les noyaux pariétaux de l'oogone augmentent de volume, épaississent leur membrane, chargent leur nucléole de chromatine, on voit, dans la même couple, les noyaux anthéridiens, réduits à l'état de simple vésicule, avec un nucléole imperceptible, qui disparaît finalement; le cytoplasme qui les renferme se creuse d'une ou deux grandes vacuoles centrales; il s'accumule en croissant du côté du trichogyne dans lequel il pénètre plus ou moins avant; sa structure, qui était homogène, devient granuleuse, et les granules se dissocient avant de passer à l'état gélatineux, amorphe et chromatique.

Ce stade, très caractéristique et très démonstratif, se rencontre très fréquemment pour l'excellente raison qu'il dure longtemps: aussi n'arrivons nous pas à comprendre comment il a pu échapper à un observateur aussi sagace que le professeur HARPER. Nous en sommes d'autant plus surpris que celui-ci a parfaitement vu dans le trichogyne la transformation des noyaux en vésicules à membrane mince après disparition du nucléole; les noyaux de l'anthéridie se comportent exactement de la même manière; l'aspect est le même et il ne peut être confondu avec celui des gros noyaux pariétaux de l'oogone".

Twijfel aangaande de juistheid van HARPER's resultaten is zeer zeker door DANGEARD gewekt, maar toch zal een uitvoeriger artikel, dat in het hier behandelde wordt toegezegd, zeer welkom zijn.

Miss DALE heeft bij *Gymnoascus* wel waargenomen, dat twee hyphen met elkaar in open gemeenschap treden,

maar van kernversmelting is niets waargenomen. Op pag. 580 van haar artikel lezen we: „At the time of fusion a considerable portion of the wall between the two cells breaks down and the nuclei and protoplasm become mingled. Doubtless a nuclear fusion now takes place, but this has not been determined with certainty.” Voor de quaestie, welke hier besproken wordt, is ten slotte alleen de kernversmelting van belang en er behoeft dus niet verder op dit onderzoek te worden ingegaan, ofschoon een hernieuwd onderzoek wel noodig is om ten opzichte van deze vormen eene definitieve conclusie te trekken.

BARKER's waarnemingen bij *Monascus Barkeri* waren al niet overtuigend en noch DANGEARD, noch ik zelf hebben zijne meening kunnen bevestigen.

We kunnen dus ten slotte concludeeren, dat voor geenen enkelen Ascomyceten-vorm kernversmelting tusschen ascogonium en pollinodium aannemelijk is gemaakt en hiermee vervalt de poging, om sommige Ascomyceten direct aan de Perenosporieën te doen aansluiten, zooals DE BARY dit idee vroeger reeds ontwikkeld heeft.

En toch kan men het idee van eene meer of minder nauwe verwantschap tusschen deze beide groepen moeilijk geheel verwerpen, omdat men getroffen wordt bij de vruchtontwikkeling van verscheidene Ascomyceten door de hyphen, waartusschen, in het begin dier ontwikkeling, een samen-treffen plaats heeft, en welke eene zekere overeenkomst vertoonen met overeenkomstige organen bij de Oömyceten.

Functioneeren doen deze ascogonia en pollinodia, voor zoover bekend is, bij de Ascomyceten niet meer en houdt men aan de vergelijkbaarheid der beide groepen vast, dan

moet men dus constateeren, dat er bij de Ascomyceten, vergeleken bij de Oömyceten, een kernversmeltingsproces verloren is gegaan. Daarentegen vindt men bij de eerste groep eene kernversmelting, welke het ontstaan van elken ascus voorafgaat. De kernversmelting is door DANCEARD als een bevruchttingsproces opgevat, tegen welke opvatting verschillende bezwaren zijn ingebracht, welke hij heeft trachten te weerleggen in eene kritische studie: „La reproduction sexuelle des Champignons”. (Le Botaniste 7e Série, pag. 89.)

WAGER heeft zich over deze kernversmelting, ofschoon voorzichtiger, toch in denzelfden zin uitgelaten: „These nuclear fusions are probably not morphologically sexual, but they replace the sexual act, and are physiologically equivalent to it, in that the cell is thereby reinvigorated to further development, and this accounts for the continued asexual reproduction of these forms”.

Maar al komt men langs dezen weg tot de opvatting, dat de Ascomyceten vormen zouden zijn, welke in phylogenetisch verband staan met de Oömyceten, waarbij de kernversmelting tusschen oögonium en pollinodium verloren is gegaan, terwijl hiervoor in de plaats is getreden eene kernversmelting, welke aan 't ontstaan van elken ascus voorafgaat, dan is daarmee nog allerminst een begrijpelijk verband gelegd tusschen het oösporangium der Oömyceten en het perithecium met zijne asci bij de Ascomyceten, ofschoon in den gegeven gedachtengang deze beide vormingen homoloog gesteld moeten worden.

Dit verband kan nu, naar ik meen, aanmerkelijk verduidelijkt worden, door hetgeen omtrent de ontwikkeling van *Monascus* aan het licht is gekomen.

Indien we, ter vergelijking, naast elkaar stellen *Monascus purpureus*, *Pyrenoma confluens* en *Ascobolus Stevensoniana*, drie vormen, waarbij de vruchtontwikkeling morphologisch begint met het optreden van een pollinodium en ascogonium, dan blijkt, dat in al deze vormen eene kernversmelting plaats heeft in cellen, welke daarna éénkernig zijn. Ten gevolge der kernversmelting gaat de cel zich ontwikkelen, de kern deelt zich en er ontstaan in de meeste gevallen 8 sporen. De cellen bij *Pyronema* en *Ascobolus*, waarin deze ontwikkeling zich afspeelt, zijn bij die vormen asci genoemd, en het ligt voor de hand om de overeenkomstige cellen bij *Monascus purpureus* ook asci te noemen, d. w. z. de vrije cellen, met twee kernen, welke versmelten, in het ascogonium van *M. purpureus* zijn homoloog met eenen ascus en *M. purpureus* moet tot de Ascomyceten gerekend worden. Wel wijkt de ontwikkeling der asci na de kernversmelting bij de Ascomyceten in het algemeen, en ook bij *Pyronema* en *Ascobolus*, af van hetgeen wij bij *M. purpureus* hebben waargenomen, maar toch vinden we in de literatuur een dergelijk geval reeds medegedeeld door IKENO in zijn artikel „Sporenbildung von Taphrina-Arten” in Flora Bnd XCII 1903. Citeeren we b.v. l. c. pag. 23:

„a) Beim Johansonii-Typus (*Taphrina Kusanoi* Ikeno en *T. Johansonii*) vollzieht sich die Theilung des Chromatinkörpers sehr unregelmässig. Zuerst theilt sich das einzige Körperchen in zwei, dann wiederholt die Theilung sich mehrmals, sodass im Ascuscytoplasma eine Anzahl von Chromatinkörpern von verschiedener Grösse entsteht. Die Theilung geschieht durch Sprossung. Von den in solcher Weise erzeugten Chromatinkörpern wird nur eine Anzahl von winzigen

bei der Sporenbildung verbraucht, während die anderen, gewöhnlich gröberen im Ascuscytoplasma zu Grund gehen."

Omtrent het aantal sporen bij *T. Kusanoi* wordt niets opgemerkt, maar men zou uit de detailbeschrijving opmaken, dat het aantal niet constant is, wat voor eene vergelijking met *M. purpureus* ook van belang is. *T. Johansonii* daarentegen heeft in elken ascus volgens IKENO meestal 4 sporen.

Tegenover de beide genoemde soorten staan nu twee andere uit hetzelfde geslacht *T. Cerasi* en *T. Pruni*, waarvan IKENO aangaande de sporenvorming zegt, dat „der einzige Chromatinkörper drei successive Theilungen (erfährt), sodass acht Chromatinkörper und dementsprechend acht Sporen gebildet werden." Al mag nu misschien de vraag rijzen, of we in het geslacht *Taphrina* wel met eene eenheid te doen hebben, hoogst waarschijnlijk zijn toch de vertegenwoordigers van de twee typen nauw verwante vormen, waarvan het ééne type aan *M. purpureus* herinnert.

Nog eigenaardiger wordt deze overeenkomst tusschen de geslachten *Monascus* en *Taphrina*, als we nu met de beide laatstgenoemde soorten van *Taphrina Monascus Barkeri* gaan vergelijken, waar we hebben gezien, dat de ééne kern van den ascus evenals bij *T. Cerasi* en *T. Pruni* en bij de meeste overige onderzochte Ascomyceten, door drie op elkaar volgende deelingen, acht kernen levert.

Stellen we ons voor, dat het ascogonium van *Monascus* een aantal hyphe-vormige uitgroeiingen voortbrengt, waarin de inhoud van het ascogonium overgaat en denken we ons, dat eerst in deze uitgegroeide hyphen de versmelting van

telkens twee kernen plaats heeft, dan hebben we verhoudingen uitgebeeld, zooals ze werkelijk ongeveer bij *Pyronema confluens* voorkomen.

Ascobolus Stevensoniana vertoont eenen toestand, die slechts nog eenen stap verder in dezelfde richting vereischt, om met *Monascus* en *Pyronema* vergelijkbaar te blijken: Het ascogonium is meercellig, maar de cellen staan onderling met elkaar in verband door doorboringen der tusschenschotten. Eén der cellen brengt uitgroeiingen voort, waarin een groot deel van den ascogoniuminhoud overgaat, maar welke niet zelf de asci voortbrengen, zooals bij *Pyronema*; eerst in hare vertakkingen van den tweeden, derden rang heeft de versmelting der kernenparen plaats en op die plaatsen ontstaan dan ook eerst de asci.

Het moment van kernversmelting wordt, zooals we zien, steeds verder verschoven van het tijdstip, waarop ascogonium en pollinodium zich naast elkaar aanleggen.

Bij het meerendeel der Ascomyceten gaat aan de peritheciumontwikkeling niet de aanleg van een vroegtijdig gedifferentieerd ascogonium en pollinodium vooraf en vinden we slechts een kluwen van dooreengewonden hyphen, welke het eerste optreden van peritheciën aanduiden. We hebben ons hier voor te stellen, dat in de phylogenetische ontwikkeling de organen, welke niet meer functioneerden in hunne differentiëring tegenover de overige hyphen, welke het perithecium vormen, achteruit zijn gegaan en zelfs zijn verdwenen, al vinden we toch nog te midden dier hyphenkluwen ééne hyphe, die eigenaardig is opgerold, maar waarvan het gedrag verder nog niet is nagegaan kunnen worden.

Gaan we uit van het idee, dat de kernversmelting bij 't begin van de ascus-ontwikkeling in de plaats gekomen is van eene versmelting van kernen uit pollinodium en ascogonium, en stellen we deze laatste homoloog met kernversmelting, zooals ze in den laatsten tijd bij tal van Peronosporeeën tusschen dezelfde organen is aangetoond, dan doet zich theoretisch de mogelijkheid voor, dat we bij vormen, welke algemeen worden opgevat als parthenogenetische vormen naast de Perenosporeeën, dus bij de Saprolegniaceeën, in het oögonium eene kernversmelting zullen vinden, welke dan de vorming van elke oöspore zou voorafgaan en homoloog zou zijn met de kernversmelting, welke de vorming van elken ascus voorafgaat.

De cytologie van het oögonium der Saprolegniaceeën is tegenover dat der Peronosporeeën wel wat verwaarloosd en de literatuur over dit onderwerp bestaat in hoofdzaak uit artikelen van HUMPHREY (1892). TROW (1895 en 1899), HARTOG (1895, '96 en '99) en DAVIS (1903).

De onderzoekingen van den laatste zijn voor ons van het meeste belang, omdat „the material employed was apogamous, indeed apandrous, for specimens were chosen entirely free from antheridia to the end that the investigation might be relieved from the dispute on the sexuality of the funge.” Zijne resultaten zijn in 't kort, dat de kernen van 't oögonium zich mitotisch deelen, de dochterkernen daarna „degenereren” en aanleiding geven tot 't ontstaan van een groot aantal zich sterk kleurende korrels. Voor elke oöspore, welke zich zal vormen, treedt een coenocentrum op, waartegen zich eene dergelijk gedegene-

reerde kern aanlegt, welke dan sterk in grootte toeneemt en oöspore-kern wordt.

Het is nu opmerkelijk, hoe vaag DAVIS' beschrijving der gedegeneerde kernen en de uiteenzetting hunner verhouding is.

Op pag. 239 en volg. van zijn artikel in Bot. Gaz. vol. XXXV 1903 zegt hij 't volgende:

„Following mitosis, the oogonium passes into a condition that is exceedingly difficult to study — — — — the daughter nuclei are much smaller than the parents. — — — — It is not the small size, however, that makes the examination so difficult, but the fact, that these nuclei very short show signs of degeneration. Almost all of the nuclei are affected. The nuclear membrane becomes indistinct, and its contents finally lie as granular matter in a clear area, that resembles, and probably is, a vacuole. — —

— — — — — The — — — — figs. (14 and 15) — — — — — illustrate late stages in the process, when the nuclear membrane have mostly disappeared and the nucleoli and possibly chromatic material lie in vacuoles; such vacuoles are frequently elongated, and when they contain two masses of deeply staining material there is suggested a stage in nuclear fusion, and such appearances probably deceived HUMPHREY and HARTOG. However the vagueness of structure and manifest waning of the previous clear definition should have put these observers on thir guard.”

Verklaard heeft DAVIS het paarsgewijs voorkomen der „chromatinekorrels” geenszins. Bij eene nauwkeurige be-

schouwing van zijne fig. 15, blijkt b.v. één der coenocentra in contact met één dier paren. DAVIS hecht daaraan geene waarde en hoogstwaarschijnlijk zouden er beelden te vinden zijn, welke nog meer de opvatting wettigden, dat we hier met een verschijnsel te doen hebben, hetwelk herinnert aan de kernversmelting, welke, vooral bij *Monascus Barkeri*, de vorming der asci voorafgaat. Vergeleken met *M. purpureus* heeft *M. Barkeri* juist het eigenaardige, dat de versmelting der kernen, welke dan ééne ascuskern zullen leveren, plaats heeft voor het tijdstip, waarop de asci aangelegd zijn als vrije cellen, dus in het nog meer of minder ongedifferentieerde protoplasma van het ascogonium, evenals bij DAVIS' *Saprolegnia*.

Ongetwijfeld zal een nieuw onderzoek, 'twelk speciaal met 't oog op deze quaestie wordt ondernomen, de zaak eerst kunnen uitmaken.

Bouwende op deze overeenkomstige verschijnselen bij *Monascus* en *Saprolegnia* en meenende, dat de samenhang van *Monascus* met overige Ascomyceten vrij aannemelijk is gemaakt, komen we er toe, de groote massa der Ascomyceten op te vatten als eene groep van schimmels, welke zouden zijn af te leiden van sexueele vormen, welke, wat hunne geslachtsorganen betreft, meer of mindere overeenkomst moeten hebben met de ons bekende Peronosporeeën.

We komen zodoende tot eene homologie tusschen oöspore en ascus en voor meerdere klaarheid zal een onderzoek der verdere ontwikkeling van de oöspore in uiteenliggende vormen een eerste vereischte zijn.

Geenszins volgt uit het een en ander, dat de Ascomy-

ceten eene monophyletische groep zou zijn. Integendeel, zelfs de drie vormen, welke als typen reeds eerder genomen zijn, Monascus, Pyronema en Ascobolus, rechtvaardigen eene tegenovergestelde opvatting, buiten beschouwing nog gelaten de Laboulbeniaceën en Lichenen-Ascomyceten, welke beide groepen nog opheldering behoeven, evenals o. a. het geslacht Saccharomyces. ¹⁾

Om aan den tweeden eisch van pag. 117 te kunnen voldoen, zal meerdere kennis van de meeste vormen der Hemiasci allereerst noodig zijn, maar omtrent enkele valt toch nog wel iets in 't midden te brengen.

1) Nadat ik den voorgaanden gedachtengang had opgesteld, heb ik eerst kennis kunnen nemen van DANGEARD's laatst verschenen theoretische beschouwingen over de Ascomyceten in Le Botaniste 9e Série 1^{er}. Fasc., waarin ik eene dergelijke voorstelling als de mijne heb teruggevonden, met uitschakeling van Monascus natuurlijk.

Het ascogonium met de daaruit voortspruitende hyphen, wordt door DANGEARD „gametophoor” genoemd, waarin, indien ik schrijver's bedoeling wel vat, de gameten de kernen zijn, welke zich paarsgewijs zullen vereenigen vóór het ontstaan der asci. Zoo ja, dan lijkt me de zin: „L'ensemble des spores d'une chaînette d'*Erysiphe* — — — — — correspond évidemment à la totalité des spores d'un sporange; de même l'ensemble des spores d'un ascogone, c'est à dire d'un gamétophore, correspond aux gamètes d'un gamétange (l. c. pag. 39) onjuist, daar de ascosporen niet tot den gametophoor behooren.

DANGEARD's voorstelling omtrent de afleiding van den conidiëndrager in 't algemeen van het sporangium is, naar ik meen, al even kunstmatig als BREFELD's opvatting. Het gelijkwaardig stellen van eenen conidiëndrager met conidiën der *Erysiphaceae*, waar de nieuwe conidiën aan den top der conidiënreeks worden gevormd, met een conidiënkopje van *Aspergillus*, waar de nieuwe conidiën door de sterigmata aan de basis der conidiënrj worden afgesnoerd, lijkt gewaagd.

Aangaande *Protomyces* en *Taphridium* is de groote moeilijkheid gelegen in de verklaring der *intercalaire* sporangiën. In verband met hetgeen bij *Monascus* is gevonden, is de vorming van sporen uit „sporenmoederzellen”, welke bij *T. algeriense* door JUEL vrij aannemelijk is gemaakt, van groot belang. Deze sporenmoederzellen herinneren aan de asci bij *Monascus purpureus*, maar kernversmelting is in die cellen niet waargenomen.

't Ontstaan van sporen, uit sporenmoederzellen in een sporangium, is door HARPER voor *Synchytrium* aangegeven (*Ann. of Bot.* 1899), maar deze sporenvorming voldoet in zooverre aan het *Zygomyceten*-type, dat er geen epiplasma overblijft.

En zoekt men voor *Protomyces* verwantschap in eene andere richting, dan dient het oog te worden gehouden op *Cladochytrium* en een onderzoek van de sporenvorming in dit geslacht zal daarom wenschelijk zijn.

Over *Endogone* is op 't oogenblik niets definitiefs te zeggen.

Indien men de waarnemingen van BREFELD en Mej. POPTA aangaande *Ascoidea rubescens* combineert, dan mag men concludeeren, dat binnen het sporangium vrije cellen gevormd worden, waarin 2 sporen ontstaan. Om hier aan eene vergelijkbaarheid met tweesporige asci binnen een ascogonium te denken, is misschien voorloopig nog te gewaagd, maar aan den anderen kant is het vrij duidelijk, dat men 't sporangium van *Ascoidea* en den ascus der *Exoascaceae* niet homoloog kan stellen.

Eigenaardig is bij beide vormen het geheel ontbreken van eene aanduiding van *vroegere* geslachtelijkheid door

pollinodium en ascogonium in den zin, zooals we die voor Ascomyceten hebben ontwikkeld.

Het vermoeden ligt voor de hand, dat de diepgaande veranderingen, ook ten opzichte van haar vruchtlichaam, bij de Exoascaceae toe te schrijven zijn aan het parasitisme dier vormen, en het is zeer de vraag of de Exoascaceae wel tot de meer primitieve vormen onder de Ascomyceten gerekend moeten worden.

Naast Ascoidea vertoonen ook *Oscarbrefeldia* en *Conidiascus* de afwezigheid van elk spoor van geslachtsorganen en naast deze groep hebben we ook nog *Endomyces* met hetzelfde verschijnsel en het is hoogst eigenaardig, dat al deze vormen in slijmvloed van boomen voorkomen. Of we ook hier aan eenen invloed van dezen eigenaardigen voedingsbodem mogen denken, is te overwegen.

Toegerust met de waarschijnlijk onvolledige kennis aangaande *Dipodascus*, levert het nog groote moeilijkheid dezen vorm eene plaats te geven. We hebben hier een der weinige vormen, waarschijnlijk verwant met Ascomyceten, welke de primaire sexualiteit dier groep heeft bewaard. Ze wijkt vooral van de overige vormen af, doordat het product van de vereeniging der geslachtskernen zich een onbepaald aantal malen gaat deelen, indien tenminste JUEL's waarnemingen juist zijn.

Hierdoor wijkt *Dipodascus* ook af van *Eremascus*, eenen anderen vorm, waar we mogen verwachten, dat het cytologisch onderzoek aan het licht zal brengen, dat de „primaire sexualiteit der Ascomyceten” er nog aanwezig is, maar hier ontstaan uit de fusiekern — indien ze aanwezig is — slechts acht sporen.

Thelebolus dient verder onderzocht te worden, vooral cytologisch, maar voorloopig doet men het best het geslacht tot de Ascobolaceae te blijven rekenen.

Helicosporangium en *Papulaspora* moeten eveneens geheel uit de vormengroep verwijderd worden, waarin ze door SCHROETER gesteld zijn.

Monascus ten slotte is op het oogenblik het geslacht met de best onderzochte soorten en op grond van de feiten en beschouwingen, welke in de voorgaande bladzijden zijn te vinden, stel ik voor het geslacht te brengen tot eene nieuwe orde der Endascineae, daar de asci volgens mijne voorstelling binnen het ascogonium gevormd worden.

CONCLUSIES.

I.

Bij het bestudeeren der betreffende literatuur leert men geene der Hemiasci kennen als eenen tusschenvorm tusschen Zygomyceten en Ascomyceten.

II.

- a.* De perithecium-ontwikkeling van *Monascus purpureus* Went en *M. Barkeri* Dang. begint met den aanleg van een pollinodium en ascogonium, welke organen niet met elkaar in open gemeenschap treden.
- b.* In het ascogonium der beide vormen hebben een aantal kernversmeltingen plaats: bij *M. purpureus* in vrije cellen, welke zich in het ascogonium gevormd hebben; bij *M. Barkeri* vóórdat zich vrije cellen gevormd hebben of terwijl deze zich vormen.
- c.* De ééne kern der vrije cellen, welke door copulatie van twee kernen is ontstaan, fragmenteert zich bij *M. purpureus* in een groot aantal uiterst kleine

kernen, terwijl ze zich bij *M. Barkeri* door drie op elkaar volgende deelingen in achten deelt.

- d.* In de vrije cellen vormen zich de sporen, bij *M. purpureus* geen vast aantal, meestal 6—8, soms 1 of 2, in één waargenomen geval ± 16 ; bij *M. Barkeri* waarschijnlijk als regel 8. Bij haar ontstaan heeft elke spore ééne kern, welke zich in de spore deelt, zoodat deze bij rijpheid meerdere kernen bevat.
- e.* In de vrije cel blijft bij de sporenvorming epiplasma over.
- f.* De vrije cellen vallen na de sporenvorming uiteen. De sporen vormen in het ascogonium eene peripheree-laag, terwijl tusschen de sporen eene tusschenzelfstandigheid voorkomt, welke zich, in tegenstelling met de sporen, met oranje-G niet kleurt.

III.

Het geslacht *Monascus* behoort tot de Ascomyceten, tot eene nieuwe orde der Endascineae, waar de asci binnen het ascogonium gevormd worden.

IV.

De Ascomyceten moeten afgeleid worden van vormen met een functioneerend pollinodium en ascogonium. Nadat de versmelting van eene ascogoniumkern met eene polli-

nodiumkern verloren is gegaan, is daarvoor in de plaats getreden eene versmelting van twee ascogoniumkernen.

Deze versmelting heeft bij *Monascus* in het ascogonium plaats, bij *Pyronema confluens* en sommige soorten van 't geslacht *Ascobolus* in hyphen, welke uit het ascogonium ontspruiten, terwijl bij de meeste andere Ascomyceten de uitwendig-morphologische differentiatie van pollinodium en ascogonium geheel of gedeeltelijk verloren is gegaan en de kernversmeltingen plaats hebben bij de uiteinden van ascogene hyphen.

LITERATUR.

- BACCARINI. Sopra i caratteri di qualche Endogone. Nuovo Giorn. Bot. Ital. Vol. X. 1903.
- BARKER. The Morphology and Development of the ascocarp in *Monascus*. Ann. of Bot. Vol. XVII. 1903.
- DE BARY. Ueber die Fruchtentw. der Ascomyceten. Leipzig, 1863.
- „ Beiträge zur Morph. und Phys. der Pilze. Erste Reihe. Protomyces und Physoderma. 1864.
- „ Protomyces microsporus und seine Verwandten. Bot. Zeitung. 1874.
- „ Beiträge zur Morph. und Phys. der Pilze. Vierte Reihe. Grundlagen eines natürlichen Systems der Pilze. 1881.
- „ Morph. und Phys. der Pilze etc. 2e Auflage. 1884.
- BREFELD. Bot. Unters. über Schimmelpilze. Heft II. 1874.
- „ Ueber copulirende Pilze. Naturf. Freunde zu Berlin. 1875.
- „ Bot. Unters. über Schimmelpilze. Heft IV. 1881.
- „ „ „ „ „ VII.
- „ „ „ „ „ VIII. 1889.
- „ „ „ „ „ IX. 1891.
- „ Ueber die geschlechtlichen und ungeschlechtlichen Fruchtformen bei den copulirenden Pilzen. Jahresber. der Schles. Ges. f. vaterl. Cultur. 1900.
- „ Ueber Pleomorphie und Chlamydosporenbildung bei den Fadenpilzen. Jahresber. der Schles. Ges. f. vaterl. Cultur. 1902.
- COSTANTIN. Note sur un *Papulaspora*. Journ. de Bot. T. II. 1888.
- DALE. Observations on Gymnoascaceae. Ann. of Bot. Vol. XVII. 1903.
- DANGEARD. La reproduction sexuelle des Ascomycètes. Le Botaniste. 4e Serie. 1894.

- DANGEARD. La reproduction sexuelle dans le *Sphaerotheca Castagnei*. Le Botaniste. 5e Série. 1896.
- „ Second mémoire sur la reproduction sexuelle des Ascomycètes. Le Botaniste. 5e Série. 1897
- „ La reproduction sexuelle des Champignons. — Etude critique. Le Botaniste. 7e Série. 1900.
- „ La sexualité dans le genre *Monascus*. Comptes rendus, Acad. sc. t. CXXXVI 1903 en Le Botaniste. 9e Série. 1903.
- „ Sur le *Pyronema confluens*. Comptes rendus, Acad. sc. t. CXXXVI 1903 en Le Botaniste. 9e Série. 1903.
- „ A propos d'une lettre du professeur HARPER relative aux fusions nucléaires du „*Pyronema confluens*“. Le Botaniste. 9e Série. 1903.
- DAVIS. Oogenesis in *Saprolegnia*. Bot. Gaz. Vol. XXXV. 1903.
- EIDAM. Ueber die Entwicklung des *Helicosporangium parasiticum* Karst.. Ber. über die Thätigk. der bot. Sect. der Schl. Ges. im Jahre 1877.
- „ Zur Kenntnis der Entw. bei den Ascomyceten. Cohn's Beitr. zur Biol. der Pfl. 1883.
- ENGLER en PRANTL. Die natürlichen Pflanzenfamilien. I 1 en I 1**.
- A. FISCHER. Phycomyceten. Rabenh. Krypt. Flora I. 4. 1892.
- ED. FISCHER. Tuberaeen und Hemiasceen. Rabenh. Krypt. Flora I. 5. 1892.
- GIESENHAGEN. Die Entwicklungsreihen der parasitischen Exoasceen. Flora Bd. 81. 1895.
- HARPER. Die Entwicklung des *Peritheciums* bei *Sphaerotheca Castagnei*. Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XIII. 1895.
- „ Ueber das Verhalten der Kerne bei der Fruchtentwicklung einiger Ascomyceten. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXIX. 1896.
- „ Kerntheilung und freie Zellbildung im Ascus. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXX. 1897.
- „ Cell-division in Sporangia and Asci. Ann. of Bot. Vol. XIII. 1899.
- „ Sexual reproduction in *Pyronema confluens* and the morphology of the ascocarp. Ann. of Bot. Vol. XIV. 1900.
- HARZ. Einige neue Hyphomyceten. 1870.
- „ Ueber *Physomyces heterosporus* n. sp. Bot. Centralbl. Bd. LXI. 1890.

- HOLTERMAN. Mykologische Unters. aus den Tropen. Berlin. 1898.
- IKENO. Sporenbildung von Taphrina-Arten. Flora. Bd. 92. 1903.
- „ Ueber die Sporenbildung und systematische Stellung von Monascus purpureus Went. Ber. der d. bot. Ges. Bd. XXI. 1903.
- JUEL. Taphridium LAGERHEIM et JUEL. Bihang K. Sv. Vet. Akad. Handl. Bd. XXVII. 1902.
- „ Ueber Zellinhalt, Befruchtung und Sporenbildung bei Dipodascus. Flora. Bd. 91. 1902.
- KARSTEN. Ursache einer Mohrrübenkrankheit. Bot. Unters. a. d. phys. Lab. der landw. Lehranst. zu Berlin. Bd. 1. 1865.
- „ DE BARY's „Zweifelhafte Ascomyceten“. Hedwigia. 1888.
- LAGERHEIM. Dipodascus, eine neue geschlechtliche Homiascee. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXIV. 1889.
- LINK. Annalen der Naturgeschichte. 1791.
- MEYER. Unters. über die Entw. einiger paras. Pilze bei saproph. Ernährung. Landwirthsch. Jahrb. Bd. XVII. 1888.
- MÖLLER. Phycomyceten und Ascomyceten. Bot. Mitth. aus den Tropen. Heft IX. 1901.
- POPTA. Beiträge zur Kenntnis der Hemiasci. Flora. Bd. 86. 1899.
- PREUSZ. Uebers. unters. Pilze etc. Linnaea 24. 1851.
- „ STURM's Flora von Deutschland. III Abth. VI. 1862.
- SACCARDO. Sylloge Fungorum VII, IX, XI, XIV en XVI.
- SADEBECK. Die parasitischen Exoasceen. Jahrb. der Hamb. Wissensch. Anst. X. 1893.
- SAPPIN—TROUFFY. Note sur la place du Protomyces macrosporus dans la classification. Le Botaniste. 5e Série. 1897.
- SCHRÖTER. Die Pilze Schlesiens. 1889.
- STRASZBURGER. Zellbildung und Zelltheilung. 3e Aufl.
- SWINGLE. Formation of the spores in the sporangia of Rhizopus nigricans and Phycomyces nitens. Bull. 37. U. S. Dept. of Agr. 1903.
- VAN TIEGHEM. Monascus, genre nouveau de l'ordre des Ascomycètes. Bull. de la Soc. Bot. de France. T XXXI. 1884.
- TODE. Fungi Mecklenb. selecti.
- TULASNE. Fungi hypogaei 1851.
- UYEDA. Ueber den „Bcnikoji“-Pilz aus Formosa. Bot. Mag. Tokyo. 1902.

- ÜNGER, Exantheme der Pflanzen. 1833.
 WALLROTH, Flora cryptogamica germanica. Pars 2. 1833.
 WENT, Monascus purpureus. Le Champignon de l'ang-quac.
 Ann. des Sc. nat. Bot. Sér. 8. T 1. 1895.
 WINTER, Ascomyceten. Rabenh. Krypt. Flora I. 3. 1896.
 ZUKAL, Mykologische Untersuchungen. Denksch. der Kais.
 Akad. d. Wiss. Wien. Math.-Naturw. Classe. Bd. LI
 1886.
 „ Unters. über den biol. und morph. Werth der Pilz-
 bulbillen. Verh. der K. K. Zool.-Bot. Ges. Wien.
 Bd. XXXVI. 1886.

VERKLARING DER FIGUREN.

Alle figuren, behalve fig. 12, zijn geteekend met behulp van eene camera lucida van ZEISS en de volgende lenzen:

Fig. 1 *a, b, c, d, i* en *k* obj. F van ZEISS \times comp. oc. 4 van ZEISS; fig. 1 *e, f* en *g* en fig. 13 obj. 7 van LEITZ \times comp. oc. 4 van ZEISS; fig. 1 *h* obj. 8 van LEITZ \times comp. oc. 4 van ZEISS; fig. 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 apochr. 2 mM. Apert. 1,30 van ZEISS \times comp. 4 van ZEISS; fig. 3 obj. F van ZEISS \times oc. III van LEITZ; fig. 11 obj. 7 van LEITZ \times comp. oc. 12 van ZEISS; fig. 14, 17 en 19 $\frac{1}{18}$ olie-imm. van ZEISS \times comp. oc. 4 van ZEISS; fig. 15, 16, 18, 20, 21, 22, 24, 25, 26 $\frac{1}{12}$ olie-imm. van LEITZ \times comp. oc. 4 van ZEISS; fig. 23 $\frac{1}{12}$ olie-imm. van LEITZ \times comp. oc. 8 van ZEISS; fig. 27 is iets grooter geteekend dan fig. 26.

Fig. 1—12. MONASCUS PURPUREUS.

Fig. 1 *a—k*. Eerste aanleg van peritheciën, uit ascogonium en pollinodium bestaande. In *a, b, g, i* en *k* buigt de top van het ascogonium, welke soms is toegespitst (*a, b* en *i*), naar beneden, zoodat ze dwars over 't pollinodium ligt. In *a, c, g* en *i* is het ascogonium nog niet door eenen wand in twee cellen gedeeld. In *e* en *h* is het ascogonium in tweeën gedeeld zonder dat het ergens met het pollinodium in aanraking is.

Fig. 2. Een jong perithecium met o.a. 4 vrije cellen. Drie ervan bevatten 2 kernen; de vierde bevat 5 kleinere kernen.

Fig. 3. Een perithecium met eenige vrije cellen:

a met vier kernen, waarvan twee kleiner dan de twee andere, welke versmelten;

b met twee kernen, welke versmelten, en eenen zeer kleinen chromatine-korrel;

c met ééne groote kern en een aantal uiterst kleine chromatine-korrels;

d en *e* elk met drie kernen, waarvan ééne kleiner is dan de beide andere.

- Fig. 4. Een perithecium met o.a. drie vrije cellen, elk met ééne groote kern.
 In het protoplasma dat in de peritheciën van fig. 2, 3 en 4 niet aan de vrije celvorming heeft deelgenomen, liggen een aantal kleine kernen.
- Fig. 5. Een vrije cel, waarvan de ééne kern zich in een groot aantal kleine kernen heeft verdeeld.
- Fig. 6. Een gedeelte van een perithecium met eene vrije cel, waarin eenige homogene, kernlooze plekken zijn gevormd, terwijl de kleine kernen in het protoplasma tusschen die plekken zijn teruggedrongen.
- Fig. 7. Een perithecium met drie vrije cellen, *a*, *b* en *c*, waarin zich sporen hebben gevormd. In *a* liggen 4 sporen, waarvan drie met ééne kleine kern en ééne met vele kernen. Tusschen de sporen liggen in smalle protoplasmalaagjes de kernen, welke niet in eene spore zijn opgenomen. In *b* ligt ééne veelkernige spore, ééne homogene kernlooze plek uit het stadium van fig. 6 en de rest der vrije cel bevat de vele kleine kernen. In *c* liggen 6 sporen, waarvan 2 éénkernig en 4 veelkernig zijn.
- Fig. 8. Eene vrije cel met 5 veelkernige sporen.
- Fig. 9. Een perithecium met 6 sporen, welke in ééne vrije cel gevormd zijn, die als zoodanig is uiteengevallen. Eéne dier sporen is éénkernig, 2 zijn tweekernig, 1 zes- en 1 zevenkernig en de zevende is veelkernig.
- Fig. 10. Vier sporen, respectievelijk met 1, 2, 4 en 8 kernen.
- Fig. 11. Vier sporen, welke onder het dekglas uit een perithecium zijn gedrukt en met oranje-G zijn gekleurd. De inhoud der sporen, *i*, kleurt zich sterk; de sporewand, *w*, kleurt zich iets minder; *tz* is de laag van tusschenzelfstandigheid, welke zich niet kleurt en welke door de lijn *b* tegen de omgeving is afgezet. Tusschen de sporen ligt in de tusschenzelfstandigheid eene spleet, *s*.
- Fig. 12. Photographie van het mycelium van *Monascus purpureus*, gekweekt op eene dunne laag mout-agar.

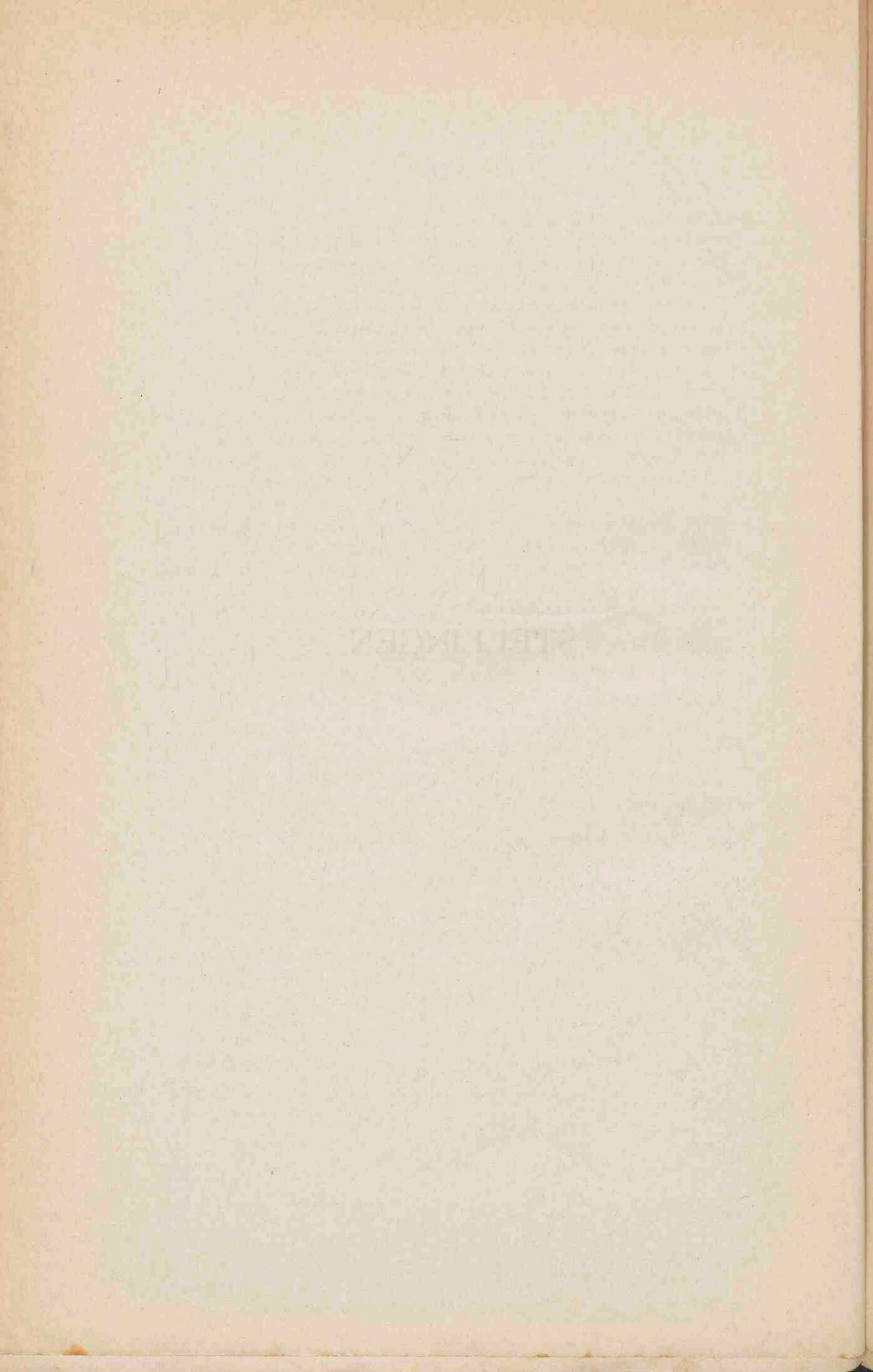
Fig. 13—27. *MONASCUS BARKERI*.

- Fig. 13 *a* en *b*. Eerste aanleg van peritheciën, bestaande uit asconogonium en pollinodium, welke zich meer dan bij *M. purpureus* langs elkaar leggen. Vooral in *a* is het asconogonium al zeer vroeg in twee cellen verdeeld.

- Fig. 14. Doorsnede van een kluwen van hyphen, welke ontstaan is doordat ascogonium en pollinodium door hyphen omhuld zijn, terwijl het definitieve ascogonium zich nog weinig of niet vergroot heeft.
- Fig. 15. Een jong perithecium, waarvan het ascogonium een aantal gelijke kernen bevat.
- Fig. 16. Een perithecium, waarvan het protoplasma, dat een groot aantal kernen bevat, neiging vertoont, zich om bepaalde middelpunten samen te trekken en zoo protoplasmaballen — vrije cellen — te vormen. Deze half gevormde ballen zijn door spleten in het protoplasma omgeven.
Sommige kernen, b.v. *c*, zijn grooter dan de overige. In sommige gedeelten van het protoplasma, welke zich eenigszins hebben afgerond, b.v. *a* en *b*, vindt men twee kernen.
- Fig. 17. Een perithecium, waarin het protoplasma zich aan één kant van het ascogonium heeft samengetrokken, terwijl de wand van het ascogonium met een dun laagje protoplasma bedekt is. De hoofdmassa van het protoplasma bevat ook weer vele kernen, waarvan sommige, o.a. *a* en *d*, grooter zijn dan de overige, welke zich gedeeltelijk weer paarsgewijs rangschikken, b.v. *c*, terwijl *b* eene vrijwel volledig gevormde vrije cel met 2 kernen is.
- Fig. 18. Een perithecium met 4 vrije cellen, waarvan 2 éénkernig (*a* en *b*) en 2 tweekernig zijn (*c*).
- Fig. 19. Een doorsnede van een perithecium als in fig. 17 is afgebeeld, maar volgens een vlak, loodrecht op het vlak van teekening van fig. 17, zoodat de hoofdmassa van het protoplasma centraal ligt, terwijl de ascogoniumwand met een dun laagje protoplasma is bedekt.
Het protoplasma bevat 3 vrije cellen, waarvan 2 tweekernig en 1 vierkernig.
- Fig. 20. Een perithecium met o.a. 4 vrije cellen, waarvan 2 tweekernig en 2 vierkernig.
- Fig. 21. Een perithecium met twee protoplasmamassa's, welke zich nog niet als vrije cellen hebben gedifferentieerd, terwijl toch in haar al kerndeelingen hebben plaats gehad, zoodat de eene tweekernig en de andere vierkernig is. In de tweekernige protoplasmamassa's bij *a* is tusschen de beide deelingskernen een onvolledige band zichtbaar, welke zich sterker klurt dan het omgevende protoplasma.

- Fig. 22. I en II. I is een perithecium, waarvan het ascogonium in hoofdzaak ééne vrije cel bevat, welke tegen den wand van het ascogonium ligt. De vrije cel bevat in het vlak van instelling 6 kernen, waarvan de kernen *a*, *b* en *c* ook in de afbeelding II derzelfde vrije cel, bij eene andere instelling, te zien zijn, terwijl dan buitendien nog een grootere kern *d* te voorschijn komt, zoodat de geheele cel 7 kernen bevat, waarvan ééne grooter is dan de andere.
- Fig. 23. Een perithecium met 2 vrije cellen, I en II. De cel I bevat kern *a* in deeling, de groote kern *b*, de kernen *e*₁ en *e*₂, welke evenals *d*₁ en *d*₂ door deeling uit ééne kern zijn ontstaan. De cel II bevat kern *a* in deeling, waarschijnlijk kern *c* eveneens, kern *b* grooter dan de andere en nog twee kleinere kernen.
- Fig. 24. Een perithecium met 4 vrije cellen, elk met 2 kernen, terwijl naast het ascogonium nog het pollinodium *p* ligt.
- Fig. 25. Eene vrije cel, waarvan twee kernen *a* door eenen zich sterker kleurenden band verbonden zijn (zie fig. 21*a*).
- Fig. 26. Eene vrije cel met 4 sporen, elk met waarschijnlijk meer dan ééne kern.
- Fig. 27. Schematische teekening van de ligging der zeven bij verschillende instellingen zichtbare sporen in dezelfde cel van fig. 26.

STELLINGEN.



STELLINGEN.

I.

Het geslacht *Monascus* behoort tot de Ascomyceten.

II.

De ascus is niet homoloog met het Zygomyceten-sporangium.

III.

Voor zoover bekend komt bij geene schimmel op twee verschillende momenten van hare ontwikkelingscyclus eene kernversmelting voor.

IV.

Het dicotyle type der Angiospermen is phylogenetisch ouder dan het monocotyle. (Sargent. Bot. Gaz. 1904.)

V.

De chromosomen-reductie naar het aantal heeft plaats, doordat de chromosomen zich paarsgewijs naast elkaar leggen.

VI.

ERIKSON's meening, dat Uredineae in de Gramineëen-vrucht kunnen overwinteren, is niet bewezen.

—
VII.

De gangbare meening omtrent de waterbeweging in de plant houdt te weinig rekening met eene mogelijke medewerking van de levende elementen in het hout.

VIII.

Het is niet gemotiveerd de Saccharomyceten tot de Protascineae Schroeter te rekenen.

IX.

LANG's theorie over de asymmetrie der Gasteropoden is onhoudbaar.

X

De Ctenophoren zijn nauwer verwant met de Plathelminthen dan met de Coelenteraten.

XI.

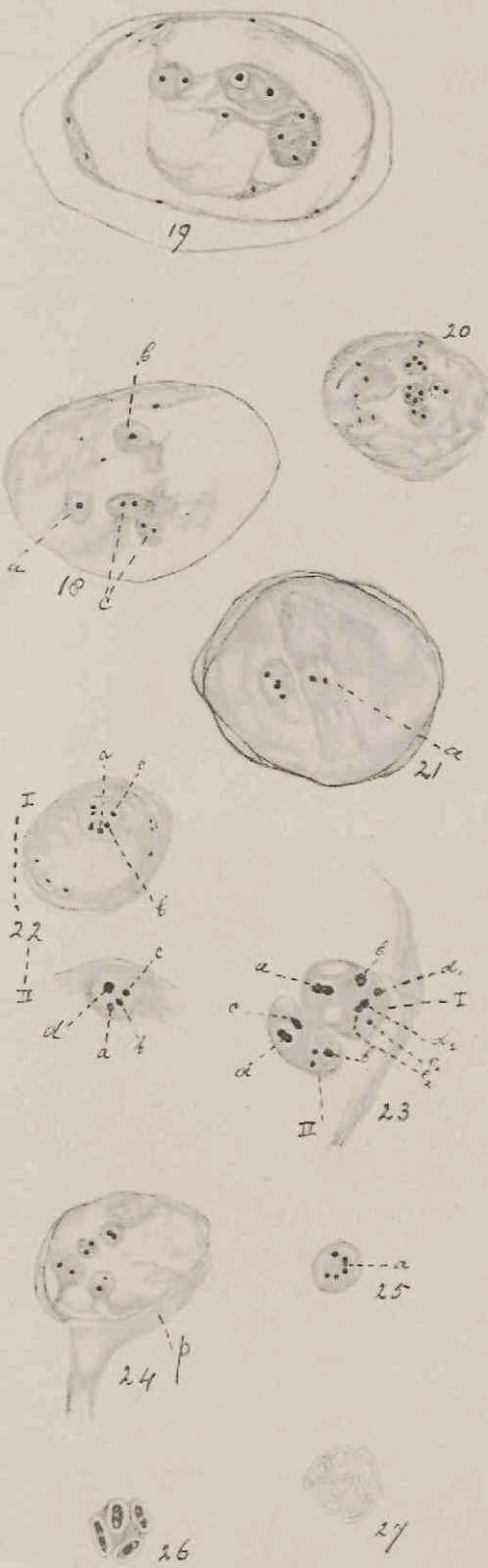
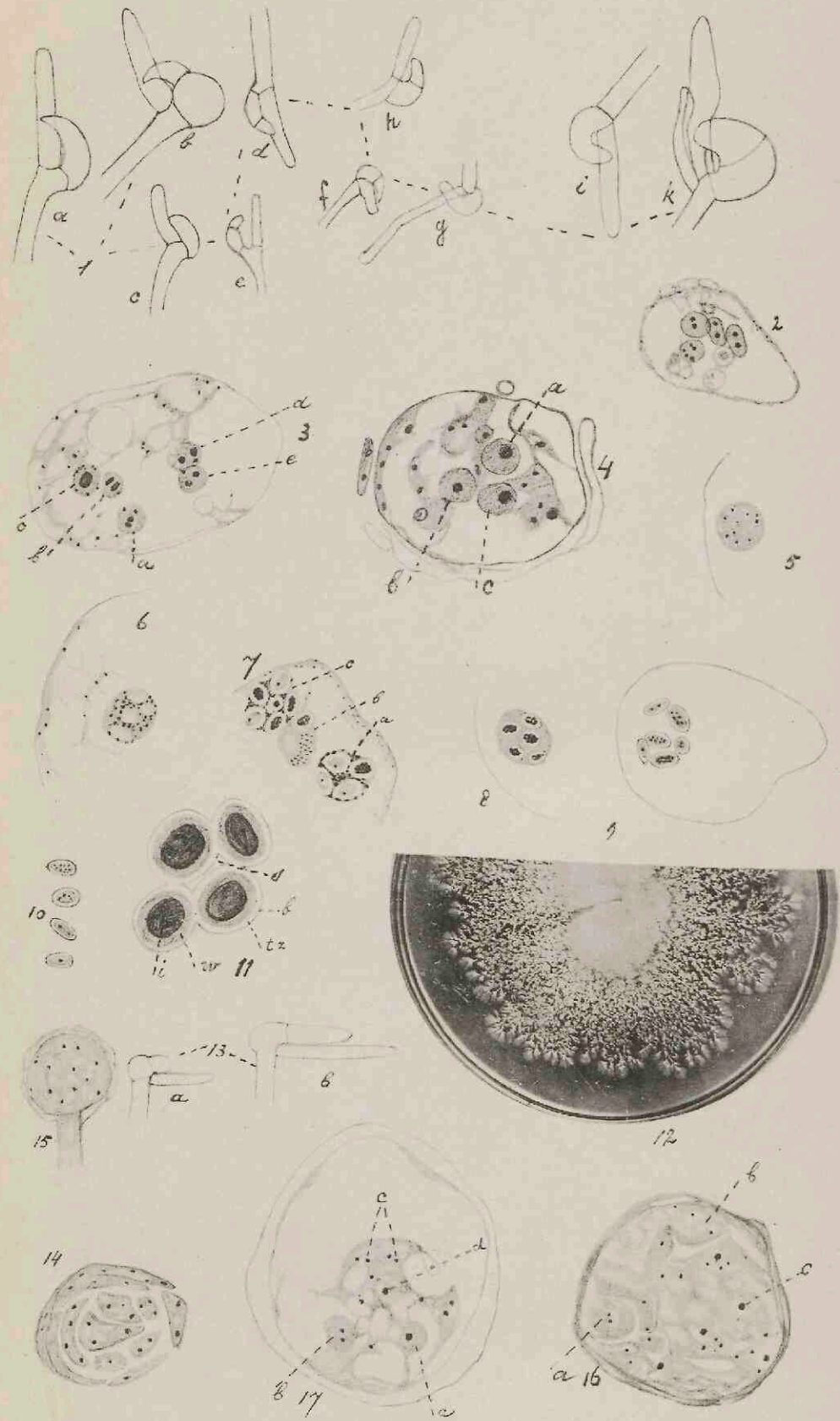
Ostracodermi zijn Trilobieten.

XII.

Het is onjuist bij de verklaring der hevelwerking gebruik te maken van de drukking der buitenlucht. (Steinbrinck Flora 1904.)

XIII.

Het is wenschelijk, dat het doctoraalexamen plant- en dierkunde gesplitst worde in twee gedeelten, respectievelijk af te leggen naar keuze van den candidaat, al naar mate deze zich meer op de plantkunde of op de dierkunde zal hebben toegelegd.



H. P. Kuiper del.

