Klärung einiger flechtenbiologischer Einzelfragen auf Grund von Versuchen

Objekttyp: **Chapter**

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

Band (Jahr): **9 (1939)**

Heft 1

PDF erstellt am: **28.05.2024**

Nutzungsbedingungen

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

Haftungsausschluss

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

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

http://www.e-periodica.ch

Kapitel IV

Klärung einiger flechtenbiologischer Einzelfragen auf Grund von Versuchen

A. Untersuchungen über die Spezifizität der Thallus- und Podetien-Algen bei *Cladonien.*

Über die Entstehung der Podetien, die bei *Cladonia* am bekanntesten und häufigsten sind, herrschen verschiedene Ansichten. Nach Krabbe (1882) wachsen diese strauchartigen Auswüchse aus den Thallusschichten « durch Auszweigungen der obersten Rindenfasern » und sind homolog den gestielten Apothezien (1893). Baur (1904) untersuchte ihre Entstehung an *Cladonia pyxidata* (L.) Fr. und sah ungefähr in der Mitte einer Thallusschuppe eine Gruppe von Hyphen von der Algenschicht aus gegen die Rinde vorwachsen. Dieses Hyphenbündel enthielt gewöhnlich keine Algen. Durch Auseinanderweichen der Hyphen im Zentrum des Podetiums entstand die Bildung eines Hohlraumes, durch rascheres Wachstum der peripheren Teile gegenüber der oberhalb des zentralen Hohlraumes gelegenen Partie eine Becherbildung. Während dieser Entwicklung verschaffte sich das ursprünglich algenlose Podetium nach Baur eine « Gonidienschicht » durch anfliegende Algen und Soredien.

Auch Bachmann (1924) ist der Ansicht, dass die Algen der Podetien von aussen angeflogen kommen und nennt als Beweis dafür eine « Adventivsprossung im Innern eines *Cladonia*fruchtstiels », die nur darum keine Algen enthalte, weil sie von der Aussenwelt abgeschlossen war. Ob nicht die Algen infolge Lichtmangels vom Pilz unterdrückt waren ?

Jaag (1929) hat sich bei der experimentellen Untersuchung einiger *Cladonia*algen nur mit den Wirtspflanzen des Horizontalthallus befasst. Die Frage, ob bei *Cladonia* die Algen des laubartigen Thallus identisch seien mit den in den Podetien lebenden und den in Podetien-Soredien vorhandenen Algen, ist also noch nicht geklärt. Rein anatomisch ist sie nicht mit Sicherheit zu entscheiden, weil bekanntlich die in den Flechten gleich aussehenden Algen sich in Kultur oft als verschiedene Arten

erweisen. Hier muss die Einzellkultur zu Hilfe kommen. Nicht nur um bei der Flechtenanalyse mit grösserer Sicherheit Reinkulturen zu erhalten, sondern besonders um diese Verhältnisse zu prüfen, legte ich bei den meisten untersuchten *Cladonien* Einzellkulturen an von Thallusalgen und gleichzeitig von Soredienalgen derjenigen Podetien, die die Sporen für Pilzkulturen geliefert hatten.

Vor den Untersuchungen in Kapitel II prüfte ich in einem Reihenversuch die Thallus- und Podetienalgen von drei *Cladonien* auf ihre Ähnlichkeit. Nr. 12 sind Algenklone aus Podetien von *Cladonia fimbriata v. apolepta f. ochrochlora;* Nr. 13 sind Algenklone aus den Thallusläppchen der gleichen Flechte. Für den Vergleich der beiden Nummern wurden von den ersten 5 Klonen, also von 12 a bis 12 e und von 13 a bis 13 e, je 2 Kulturen angelegt, so dass 10 Stämme in 20 Kulturen zur Prüfung gelangten. Gleich verfuhr ich mit den Klonen 15 a bis 15 e (Soredienalgen aus dem Innern der Apothezienbecher von *Cladonia pyxidata f. chlorophaea)* und 16 a bis 16 e (Thallusschuppen derselben Flechte), ferner mit 20 a bis 20 e (Podetienbecher von *C. pyxidata f. chlorophaea*) und 21 a bis 21 e (Thallus derselben Flechte). Als Nährboden diente Knopsche Nährlösung mit 2 % Glukose und 1,5 % Agar. Die Kulturen wuchsen während 6 Monaten in 400 ccm Erlenmeyerkolben bei einer konstanten Temperatur von 15° im Dunkeln (Thermostat). Das Ergebnis ist in Tab. 95 zusammengestellt. Der Durchmesser stammt von je 10 Kulturen einer Nummer.

Tab. 95 Vergleich von Podetien- und Thallusalgen bei drei *Cladonien*. Wachstum nach 6 Monaten auf Glukoseagar bei 15°. Dm. = Durchmesser; m. F. = mittlerer Fehler

C. fimbriata v. apolepta f. ochrochlora (Flechte 12/13)				*C. pyxidata f. chlorophaea* (Flechte 15/16)				*C. pyxidata f. chlorophaea* (Flechte 20/21)			
Podetienalgen 12 a—e		Thallusalgen 13 a—e		Podetienalgen 15 a—e		Thallusalgen 16 a—e		Podetienalgen 20 a—e		Thallusalgen 21 a—e	
Dm.	m. F.	Dm.	m. F.	Dm.	m. F.	Dm.	m. F.	Dm.	m. F.	Dm.	m. F.
mm	±	mm	±	mm	±	mm	±	mm	±	mm	±
9,4	0,56	8,8	0,74	12,6	0,85	12,9	0,91	13,2	0,98	13,5	1,13

In allen drei Fällen ist die Abweichung der Kulturgrösse der Podetienalgen von derjenigen der Thallusalgen klein und liegt im Bereich des mittleren Fehlers. Aus der Kulturgrösse lassen sich unter den gegebenen Umständen keine Unterschiede herauslesen. Auch Vergleiche

von Höhe, Farbe, Glanz, Oberfläche und Form der Kolonien zeigen bei Podetien und Thallusalgen derselben Flechte keinerlei Ungleichheiten. Bei den untersuchten drei *Cladonien* sind also die verglichenen Podetien- und Thallusalgen identisch. Dass aber Podetien- und Thallusalgen bei der gleichen Flechte auch verschieden sein können, beweisen folgende Beispiele.

Unter den Einzellkulturen von Flechte 15/16 (siehe oben) fiel von Anfang an bei den Podetienalgen ein Klon auf, der weder mit einem andern Klon von Nr. 15, noch mit einem von Nr. 16 übereinstimmt infolge seiner besonderen Form, Farbe und Oberfläche. Der Klon wurde mit 15 g bezeichnet und in allen Versuchen gesondert behandelt. Bei den Nährstoff- und Temperaturversuchen in Kapitel II B, 9. treten die auffälligen Unterschiede an den Tag.

Zu entscheiden war nun, welches die « eigentliche » Flechtenalge sei. Antwort darauf gibt die Zahl der isolierten und gewachsenen Algenzellen der Einzellkulturen. Von 60 aus Podetium und Thallus isolierten Zellen weisen 39 gewachsene Klone unter sich keine Unterschiede auf; der Klon 15 g dagegen fällt aus dem Rahmen. Mit andern Worten ist 15 g in dieser Flechte nur in einer geringen Prozentzahl vorhanden, denn es ist unwahrscheinlich, dass alle nicht gewachsenen Zellen mit 15 g identisch seien.

Es wäre denkbar, dass 15 g für den *Cladoniomyces* ein Nebenwirt ist, oder aber zufälliger Epiphyt auf der *Cladonia*, ohne für die Flechtenbildung eine Bedeutung zu haben. Gegen letztere Möglichkeit spricht der Syntheseversuch. Wie in Kapitel VI dargelegt, vermag nämlich der Pilz 15 mit der Alge 15 g zusammen *Cladonia*podetien zu bilden. Das Podetium der analysierten *Cladonia pyxidata f. chlorophaea* enthält folglich zweierlei Flechtenalgen, von denen allerdings die eine überwiegt.

Einen zweiten Fall stellt eine *Cladonia coccifera f. pleurota* (L.) Flk. dar, die ich ob Wangs auf zirka 1400 m zwischen Moosen sammelte. Da die Flechte erst vor kurzem analysiert wurde, sind die beiden Flechtenbildner noch nicht bearbeitet und nicht in Kapitel II aufgenommen. Von 20 aus einem Podetium isolierten Algen wuchsen auf den gleichen Nährböden in Reagensgläsern 14 zu Reinkulturen heran, die sich leicht in zwei Gruppen teilen liessen. 5 Klone waren dunkelgrün mit Farbe 371, die übrigen 9 Klone hellgrün mit Farbe 351; die zwei Algen sind unschwer zu unterscheiden. Weil beide Formen häufig auftraten, dürfte keine als Epiphyt zu bezeichnen sein. Syntheseversuche mit beiden Algen könnten den Beweis sichern.

Nach unseren Versuchen sind die Podetien- und Thallusalgen in *Cladonien* in der Regel einheitlich (vgl. auch Kap. II); es kommen aber Ausnahmen vor.

B. Zur Spezialisierung von Flechtenpilzen auf bestimmte Wirtsalgen

Für die Biologie der Flechten und für die Systematik der Flechtenpilze ist es wichtig zu wissen, ob ein Flechtenpilz in der Natur mit verschiedenen Algenarten Flechten bilden kann. Wenn derselbe Flechtenpilz mit verschiedenen Algenarten verschieden geformte Flechtenthalli bildet, dann darf man die Thallusmerkmale für die Beschreibung des Flechtenpilzes nur untergeordnet verwenden.

Lange war nicht bekannt, ob Flechtenpilze nur mit einer Alge zusammen Flechten bilden können. Schon bevor man aber von « Flechtenalgen » sprach, beachtete man die Cephalodien. Diese bis 1 mm grossen Gebilde, bestehend aus vom Pilz umschlungenen Blaualgen, kommen auf den Thalli verschiedener, meist Grünalgen enthaltender Flechten vor. Ihre Entstehung, regelmässige Verteilung über den Thallus und Bedeutung innerhalb der ganzen Flechte ist noch nicht klar. Während gewöhnlich alle Fundstücke von Cephalodien bildenden Flechten diese Erscheinung zeigen, fand Forssell (1884), dem wir eingehende Untersuchungen über Cephalodien verdanken, auch cephalodienfreie Formen. Er bemerkt, dass « strauchähnliche Cephalodien » bei *Lobaria amplissima* am Thallus von europäischen Fundstücken « fast ohne Ausnahme vorkommen, während sie ebenso regelmässig an nordamerikanischen Exemplaren derselben Art fehlen ». Man muss vermuten — darüber fehlt eine Angabe — dass am Standort der nordamerikanischen Form die cephalodienbildenden Blaualgen fehlten; das scheint für die normale Thallusbildung ohne Belang zu sein. Nach Forssell sollen die Cephalodienalgen einer Flechte bisweilen verschiedenen Typen angehören. So ist anzunehmen, besonders nach den Untersuchungen von Darbishire (1927 und 1932), dass der Flechtenpilz sich der Cephalodienalgen in gleicher Weise als Nahrungslieferanten bedient wie der Thallusalgen.

Es gibt auch Flechten, die im selben Pilzgeflecht Blaualgenarten und Grünalgenarten aufweisen. Das bekannteste Beispiel ist *Solorina crocea*. Deutlich beobachtete diese Tatsache erst Forssell (1884), der bei der genannten Flechte die unter der Grünalgenschicht liegenden Blaualgen als « cephalodia interna » bezeichnet. Hue (1910) nennt die ausgedehnte Blaualgenschicht eine « zweite Gonidienschicht », während Moreau (1921) der Ansicht Forssells beistimmt, wie auch Kaule (1931). Darbishire (1933) hat diese Erscheinung neu untersucht und gezeigt, dass die Blaualgen unter den Grünalgen eine ausgedehnte, mehr oder weniger zusammenhängende Schicht bilden, die er mit Hue für eine « zweite Gonidienschicht » hält.

Der Pilz dürfte sich auch hier beide Algenarten als Nahrungslieferanten zunutze ziehen.

In diesen Zusammenhang gehört auch die von Kaule (1931) dargelegte Tatsache, dass einige Flechten mit Grünalgen im Thallus und Blaualgen in den Cephalodien (Kolonne links) nahe verwandte Formen haben ohne Cephalodien, aber mit Blaualgen im Thallus (Kolonne rechts):

Peltidea (Ach.) Nyl.	*Peltigera* (Willd.) Nyl.
Solorina Ach.	*Solorinia* Nyl.
Nephroma (Ach.) Nyl. . . .	*Nephromium* Nyl.
Lobaria Hoffm.	*Sticta* Schreb. und *Stictina* Nyl.
Psoroma (Ach.) Nyl.	*Pannaria* DC.

Flechtenpilze aus der nächsten Verwandtschaft ernähren sich von Grünalgen oder von Blaualgen. Dies sind Beispiele, die gegen eine hohe Spezialisierung auf bestimmte Algen sprechen.

Im Laufe der Flechtenanalysen fand sich ein Fall, wo es nicht ausgeschlossen ist, dass eine Flechte innerhalb desselben Apotheziums zweierlei Arten von Grünalgen enthalten kann, nämlich *Caloplaca cerina*. Wie in Kapitel II, B, 28 erwähnt, wuchsen beim Kultivieren der Algen von Flechte 61 zweierlei Klone, nämlich *Cystococcus*algen und *Chlorellen*. Dass die eine Algenart nur Epiphyt auf der Flechte sei, ist zu bezweifeln, weil das Apothezium oberflächlich gründlich gereinigt war und weil von beiden Arten mehrere Einzellkulturen wuchsen. Seither schliesst die Untersuchung von Mikrotomschnitten das Vorhandensein zweier Algenarten in Apothezien der gleichen Flechte nicht aus.

Flechten lassen sich mit dem Mikrotom nur schwierig schneiden; sie sind nach dem Einbetten meist spröde und brüchig. Da Herr Prof. Dr. E. Melin mir in sehr zuvorkommender Weise ein Gefriermikrotom zur Verfügung stellte, gelang es, nach handlicher Methode Schnitte zu erhalten unter Verzicht auf Serien. Die Apothezien quollen während 3 Stunden in Ammoniak-Wasser und wurden vor dem Schneiden mit destilliertem Wasser gespült. Die Schnittdicke betrug 10—25 μ; für Übersichtsschnitte genügten 25 μ. Auf einem zirka 1 mm dicken Holundermarkstück lässt man das zu schneidende Objekt in der richtigen Lage eingefrieren unter Zugabe von etwas Wasser und beginnt mit Schneiden. Mit feinem Pinsel überträgt man die Schnitte in einen Tropfen destillierten Wassers auf sauberem Objektglas und lässt das Wasser abtrocknen, bis die noch feuchten Schnitte auf dem Objektträger liegen. Dann gelangt ein warmer Tropfen Glyzeringelatine mit Baumwollblau darauf und das Deckglas. Die Baumwollblau-Glyzeringelatine wird durch warmes Lösen von Baumwollblau in Milchsäure hergestellt; die Lösung soll etwa doppelt so konzentriert sein wie für Pilzfärbungen. Man giesst

mit warmer Glyzeringelatine zusammen, so dass sie beim Abkühlen wieder erstarrt; andernfalls gibt man konzentrierte Gelatinelösung zu, bis wieder Erstarrung eintritt. Verunreinigungen werden mit Filtrieren durch fettfreie Watte entfernt. Wenn die Deckgläser nach dem Trocknen mit einem Lackring versehen sind, bleiben die Präparate auch in der Färbung jahrelang gut.

Auf den so erhaltenen Schnitten waren die meisten Algen, besonders im Rand des Apotheziums und unter der askogenen Hyphenschicht tief dunkelblau gefärbt; dies sind nach Vergleich mit andern Schnitten die eigentlichen Flechtenalgen aus der Gattung *Cystococcus*. Im untern Teil des Apotheziums fielen aber reingrüne oder bläulichgrüne Algen auf (Abb. 30), die zur Gattung *Chlorella* gehören könnten, weil ja in

Abb. 30
Querschnitt durch einen Fruchtkörper von *Caloplacomyces cerinae* (Ehrh.), dessen Hyphen möglicherweise *Cystococcus*algen (weiss) und *Chlorella*algen (schwarz) einschliessen (Flechte 54). (Vgl. Kap. IV, B.) Vergr. ca. 130.

Einzellkulturen diese beiden Algen gewachsen waren. Die keimende Spore hätte dann bei der Entstehung dieser Flechte *Cystococcus*- und *Chlorella*algen umsponnen unter Bevorteilung der ersteren.

Da nicht alle geschnittenen Apothezien zweierlei Algen aufwiesen, handelt es sich nicht um eine regelmässige Erscheinung. Doch könnte der Pilz beide Algen als Wirtspflanzen benützen.

Warén (1920) war als erster bestrebt zu untersuchen, ob die gleiche Flechte von verschiedenen Standorten verschiedene Algenarten enthalten kann. Er fand in holländischer *Xanthoria parietina* Flechtenalgen, die von finnländischen verschieden waren. Es besteht nun die Möglichkeit, dass *Xanthoriomyces parietinae* mit verschiedenen *Cystococcus*algen Flechten bildet, oder aber, dass in Holland und in Finnland verschiedene Stämme von *Xanthoriomyces parietinae* vorkommen, von denen jeder seiner speziellen Wirtspflanze bedarf. Die Versuche in Kap. II, B, 22.—24. beweisen, dass mindestens der erste Fall in der Natur verwirklicht ist.

Nach den Nährstoff- und Temperaturversuchen (vgl. Tab. 60—68 und Abb. 21—23) zu schliessen, sind die aus Flechten verschiedener Standorte gezüchteten Stämme von *Xanthoriomyces parietinae* (Stamm 59, 60 und 43) untereinander gleich. Stamm 43 bildete in der Natur

eine Flechte mit einer *Cystococcus*alge, die mit der Wirtspflanze von Stamm 60 unverkennbar verschieden ist. Somit kann in diesem Falle ein Flechtenpilz mit verschiedenen Algen eine Flechte bilden. Wieweit dabei die Form zweier Flechten, die aus dem gleichen Pilz und verschiedenen Algen bestehen, sich verändern kann, ist noch nicht zu sagen, weil etwa auftretende Unterschiede durch den Standort bedingt sein können.

Nach Warén fand auch Jaag an verschiedenen Standorten gleiche Flechtenarten mit verschiedenen Flechtenalgen (1929, S. 116; 1933, S. 100).

Dass Podetien- und Thallusalgen bei *Cladonia* mitunter verschieden sind, zeigt der vorhergehende Abschnitt (A). Dann muss *Cladoniomyces* wie *Xanthoriomyces parietinae*, mit zwei verschiedenen Wirtspflanzen je eine Flechte bilden können. Der Beweis dafür gelang in einem Falle. *Cladoniomyces pyxidatae f. chlorophaeae* Stamm 15 schritt in Synthese mit dem *Cystococcus*klon 15 g zur Podetienbildung (Kap. VI, B, 2, c). In der Natur hatte aber derselbe Pilz mit dem von 15 g verschiedenen Klon 16 a einen Thallus gebildet und auch im Podetium aus der Natur herrschte die Alge 16 a vor.

Alle diese Beispiele zeigen, dass die Flechtenpilze nicht in so ausschliessender Weise auf ganz bestimmte Algen spezialisiert sind, wie viele Forscher annahmen. Damit tritt eine Fülle von Fragen hervor, an die man vor Schwendener nicht denken konnte und die vielfach nur durch Synthesen zu lösen sind.

C. Zur Übereinstimmung der Flechtenalgen in lokalen Flechtengesellschaften

Die Meinungen über die Bedeutung der Askosporen der Flechtenpilze für die Verbreitung der Flechten gehen noch auseinander. Wenn die Askosporen für die Verbreitung gewisser Flechten eine wichtige Rolle spielen, dann finden von diesen Flechten in der Natur oft Synthesen statt. Den Verlauf der Flechtenbildung kann man sich so denken, dass die ausgeschleuderten Askosporen bei längerer Befeuchtung die Keimschläuche aussenden und dass das junge Myzel sich zunächst nach allen Richtungen ausbreitet. Als erste Nahrung dürften die organischen Verbindungen des Substrates dienen, dann auch irgendwelche freilebenden Algen. Andere freilebende Algen sind vielleicht gegen die Angriffe des Pilzes widerstandsfähig; sie kommen als Flechtenalgen so wenig in Frage wie diejenigen Algen, die vom Pilz rasch getötet und ausgenützt werden. Auf der Suche nach Nahrung müsste der Flechtenpilz gelegentlich auf Algen stossen, die sich zwar Nahrung entziehen lassen, aber

doch genügend rasch vermehren, um nicht zu unterliegen. Solche Algen können zu Flechtenalgen geeignet sein; mit ihnen zusammen bildet der Pilz die ersten soredienartigen Klümpchen, dann Thallusschüppchen und nach genügender Erstarkung des Flechtengebildes Apothezien.

Dieser Entwicklungsgang ist eine Vermutung auf Grund von Beobachtungen an keimenden Sporen. Man bemerkt auf schlechten Nährböden immer ein weitausgreifendes radiales Wachstum der Hyphen und nur bei guter Ernährung das dichte Ineinanderwachsen zu geflechtartigen Knäueln. In der Natur wird es schwierig sein, solche im Entstehen begriffene Flechtensynthesen zu beobachten, weil die jüngsten Stadien mit blossem Auge nicht wahrnehmbar sind und die älteren Bildungen ebensogut von angeflogenen Soredien oder Isidien herrühren können.

Gelänge es, bei einigen in der Natur nebeneinander wachsenden Flechten die in jeder Beziehung gleichen Flechtenalgen festzustellen, dann wäre durch diesen indirekten Beweis wahrscheinlich gemacht, dass die nebeneinanderwachsenden Flechten durch Synthese entstanden sind, indem die verschiedenen Pilzmyzelien die gleiche freilebende Alge zur Flechtenalge gemacht hätten. Die gleiche Wirtspflanze wäre also von verschiedenen Pilzen befallen. Weil der Wind Soredien ständig, rasch und überallhin verbreitet, ist allerdings die Hoffnung klein, einen solchen Fall zu finden.

Im Laufe dieser Arbeit wurde eine lokale Flechtengesellschaft, deren einzelne Flechten *Cystococcus*algen enthielten, auf die Gleichheit ihrer Flechtenalgen untersucht. Sie wuchs südöstlich der Ibergeregg (bei Schwyz) auf zirka 1500 m ü. M. bei einem Heuschober. Teilweise auf Holz, teilweise auf Stein fand ich in einem Umkreis von wenigen Zentimetern *Xanthoria parietina* (Flechte 43, Kap. II, B, 24) *Caloplaca murorum* (Flechte 44, Kap. II, B, 25), *Candelariella vitellina* (Flechte 46, Kap. II, B, 31), *Cyphelium* spec. (Flechte 48/49, nicht beschrieben) und eine nicht fruktifizierende *Physcia spec.* (Flechte 50, nicht beschrieben). Von den Algen dieser Flechten wurden Einzellkulturen angelegt. Innerhalb der einzelnen Flechten waren die Algen einheitlich. Untereinander verglichen schienen auch die Algen von *Xanthoria* und *Caloplaca* gleich. Von den andern drei Flechten hatte jede Flechtenalge andere Eigenschaften; sie waren also leicht als verschieden zu erkennen.

Mehr Mühe bereitete der Nachweis, dass die beiden Algenklone 43 a und 44 a nicht ganz gleich sind, sondern dass es sich um zwei nur unter besonderen Nährstoff- und Temperaturverhältnissen zu unterscheidende Rassen der gleichen Art handelt (Kap. III, A, 2, und Tafel 4, Abb. 1—5). Damit ist für die vorliegende Frage wenig gewonnen, denn es wäre

möglich, dass *Xanthoriomyces parietinae* nur die eine Rasse als Flechtenalge benützt, *Caloplacomyces* nur die andere; oder es könnten die beiden Flechtenpilze einen ursprünglich gleichen *Cystococcus* als Flechtenalge aufgenommen haben, der sich in der einen Flechte durch irgendeinen Einfluss (Mutation ?) sehr wenig verändert hat. Jedenfalls besitzen hier zwei verschiedene Flechten nahezu die gleichen Flechtenalgen. Wie oben gesagt, kann *Xanthoriomyces parietinae* mit verschiedenen *Cystococcus*-algen eine *Xanthoria* bilden. Deshalb ist es möglich, dass *Xanthoriomyces* Stamm 43 mit Klon 43 a und mit Klon 44 a eine *Xanthoria parietina* bilden würde und dass die untersuchten Flechten 43 und 44 in der Natur synthetisch entstanden sind.

Warén bezeichnet z. B. als *Cystococcus Xanthoriae* Warén eine Gruppe von physiologischen Rassen aus verschiedenen Flechten; ob aber gelegentlich in verschiedenen Flechten die gleiche physiologische Rasse vorkommt, ist noch unklar. Solche Funde müssen selten sein : 1. wegen der erwähnten Verbreitung der Flechten durch Soredien, 2. wegen der sehr grossen Zahl von verschiedenen *Cystococcus*rassen in der Natur. Warén (1920, S. 42) und Jaag (1929, S. 101) beobachteten die Vereinigung von Schwärmsporen. Falls auch die Bastardierung von *Cystococcus*rassen möglich ist, kann die Zahl von Klonen ins Unermessliche steigen.

D. Über die Flechtenstoffbildung

1. Der Begriff « Flechtenstoff »

In einer grossen Zahl von Flechten fand man Stoffe angereichert, die sonst nirgends in der Natur auftraten. Man nannte deshalb solche Körper Flechtenstoffe oder Flechtensäuren. Sie sind in Wasser und auch in organischen Lösungsmitteln schwer löslich, kristallisieren gut, haben einen hohen Schmelzpunkt und sind oft gefärbt.

Tobler (1934, S. 26) glaubte « auch experimentell den Nachweis erbracht zu haben, dass eine Flechtensäure ein spezifisches Erzeugnis des gemeinsamen Haushalts von Pilz und Alge ist ». Seither ist für den Flechtenstoff Parietin bekannt, dass *Caloplacomyces murorum* und *C. elegantis* ihn ohne das Vorhandensein von Algen bilden können (Thomas, 1936).

Durch diese Entdeckung änderte sich die Bedeutung des Begriffes « Flechtenstoff ». Es sind Stoffe, die man zuerst in Flechten fand, die aber von gewissen Pilzen unter bestimmten Bedingungen gebildet werden. Ohne die genannte Arbeit zu kennen, kam Raistrick (1937) auf Grund chemischer Untersuchungen zum Schluss, dass Pilze die

Flechtenstoffe erzeugen. Der Verfasser bewies nämlich die Übereinstimmung eines von *Aspergillus ruber* (Spieckermann and Bremer) Thom and Church abgeschiedenen Stoffes mit Parietin (= Physcion) aus *Xanthoria parietina* L. : « This is, so far as the author is aware, the first recorded instance of any characteristic mould metabolic product having been shown to be identical with a lichen acid, and is of some interest since it seems to indicate quite conclusively that the so-called lichen acids owe their origin to the fungal half and not to the algal half of the lichen symbiont » (vgl. auch Siegfried, 1938).

2. *Flechtenstoffbildungen durch reinkultivierte Flechtenpilze*

a) Parietin : Die Bildung von Parietin war ausser an *Caloplacomyces murorum* und *C. elegantis* seither nachweisbar an *Caloplacomyces cerinae* (Stämme 54 und 61), *C. ferrugineae* (Stamm 104, vgl. Kap. II, B, 32), *C. pyraceae* (Stamm 107, ebenso), *C. aurantiacae* (Stamm 108, ebenso), *C. murorum* (Stamm 109; ebenso), ferner an *Xanthoriomyces parietinae* (Stämme 43, 59, 60), *X. polycarpae* (Stamm 101, Tafel 5, Abb. 1; vgl. auch Kap. II, B, 24 b), *X. candelariae* (Stamm 102, Tafel 5, Abb. 2; ebenda), *X. fallax* (Stamm 99; vgl. Kap. II, B, 32). Zum Nachweis wurden die 1936 angegebenen Methoden benützt. Diese Flechtenpilze bilden jedoch nicht unter allen Umständen Parietin; man findet häufig Kulturen, in denen sich der Flechtenstoff nicht nachweisen lässt. Wie unter 4. und 5. dargelegt, kann die Flechtenstoffbildung von Ernährung und Temperatur abhängig sein. In der Regel tritt sie erst an mehrere Monate alten Kulturen auf.

b) Stictaurin : Lässt man den aus Askosporen gezüchteten *Candelariellomyces vitellinae* bei Zimmertemperatur auf 2—4 %igem Malzagar wachsen, dann färben sich die Kulturen nach wenigen Monaten kräftig gelb. Sogar auf dem Agar beobachtet man in einem Umkreis von mehreren Millimetern um die Kulturen gelbe Abscheidungen in Form von Kristallen (Tafel 5, Abb. 3). Die Farbengleichheit und die Erfahrung mit *Caloplacomyces* liessen vermuten, dass hier wieder ein Flechtenpilz ohne Algenzusatz in Reinkultur einen Flechtenstoff bilde und dass der gelbe, von *Candelariellomyces vitellinae* abgeschiedene Farbstoff identisch sei mit dem in *Candelariella vitellina* vorhandenen. Es gelang, den Beweis dafür zu erbringen.

Die zur Verfügung stehenden Kulturen von *Candelariellomyces vitellinae* (Stamm 46; Kap. II, B, 31) wurden mit den gelb überzogenen Agarstückchen im Thermostat bei 60° getrocknet. Nach Zopf (1907, S. 87) kochte ich den Pilz mit Äther aus, wobei das Lösungsmittel sich gelb färbte. In einem Uhrglas destillierte der Äther ab, und es wuchsen

schöne gelbe, nadelförmige Kristalle, zum Teil auch rhombische Plättchen (Tafel 5, Abb. 4 u. 5). Bei einem Teil der Kristalle bestimmte ich den Schmelzpunkt durch Erhitzen der Substanz in einem Röhrchen im Schwefelsäurebad. Die Kristalle schmolzen bei der scharfen Grenze von 211—212°. Gleich wurde mit der Flechte *Candelariella vitellina* verfahren; das von ihr gebildete Stictaurin lieferte nach Ausziehen mit Äther und Eindampfen des Lösungsmittels die gleichen gelben Kristallformen mit einem Schmelzpunkt von 210—212°. Der gelbe Stoff von *Candelariellomyces* löste sich in konzentrierten Mineralsäuren ebensowenig wie Stictaurin aus *Candelariella,* auch nicht in kalten Alkalien, gut dagegen in Chloroform und Benzol.

Damit ist der Nachweis erbracht, dass *Candelariellomyces vitellinae* in Reinkultur ohne Beigabe von Algen den Flechtenstoff Stictaurin zu bilden vermag.

c) Kalziumoxalat : Im Hyphengewebe von *Baeomycomyces,* der auf einem Erdlösung-Agarnährboden gewachsen war, zeigten sich reichliche Kristallabscheidungen von Kalziumoxalat. Dies ist nicht die erste Beobachtung von Kalziumoxalat in Flechtenpilzkulturen (vgl. Tobler, 1925, S. 75). In Flechten kommt Kalziumoxalat bis zu 65 % der Trockensubstanz vor (vgl. Tobler, 1925, S. 55).

d) Andere Stoffe : In Kap. II, B, 3—5 wurde in den Temperaturversuchen mit *Cladoniomyces digitatae* bei den tiefen Temperaturen das Entstehen eines gelben Farbstoffes erwähnt. Die abgeschiedenen Mengen waren aber für eine genaue Untersuchung zu gering. An alten Kulturen des gleichen Pilzes, aber auch bei *C. cocciferae v. pleurotae* beobachtete ich ebenfalls die Bildung eines gelben Stoffes, der noch nicht mit einem Flechtenstoff identifizert werden konnte. In einem mit *Penicillium* infizierten Kolben waren diese winzigen Kriställchen reichlicher abgeschieden.

3. Abhängigkeit der Flechtenstoffbildung vom Licht

In der Natur beobachtet man, dass Flechten von stark besonnten Standorten in der Regel deutlich mehr Flechtenstoffe enthalten, als gleiche Formen von schattigen Standorten (Tobler, 1925 a). Es war somit die Möglichkeit gegeben, dass das Sonnenlicht die Bildung von Flechtenstoffen fördere.

Diese Frage wurde in zwei Versuchen geprüft. Von jedem Pilz impfte ich 1 mm grosse Impfstücke in Reagensgläser auf Malzagar (3 % Malz, 1,5 % Agar) und brachte sie in den gleichen Raum auf der Südseite unseres Versuchshauses.

a) Kulturen bei wechselnden Temperaturen : Von den im folgenden erwähnten Stämmen 26, 60, 44 und 65 gelangten nebeneinander je 10 Kulturen in die Dunkelheit, in das zerstreute Tageslicht und in das pralle Sonnenlicht. Dabei befanden sich jedoch die besonnten Kulturen tagsüber bei höheren Temperaturen als die unbesonnten und verdunkelten. Somit war das Pilzwachstum in diesem Versuch nicht nur vom Licht, sondern auch von der Temperatur abhängig; beiden Veränderlichen unterlag auch die Fähigkeit, Flechtenstoffe zu bilden. Das ist bei der Beurteilung der Zahlen von Tab. 96 in Betracht zu ziehen. Ergänzend zu dieser Tabelle geben wir die Beschreibung der Kulturen.

Tab. 96 Wachstum einiger Flechtenpilze in Abhängigkeit von der Belichtung auf Malzagar nach 120 Tagen (Stämme 26, 60, 44, 65; Kulturen nicht abgekühlt, also in der Sonne wärmer), bzw. nach 60 Tagen (Stämme 18, 66, 46; mit Wasserkühlung)

Flechtenpilzstamm	Sonnenlicht		Tageslicht		Dunkelheit	
	Durchmesser	Mittlerer Fehler	Durchmesser	Mittlerer Fehler	Durchmesser	Mittlerer Fehler
	mm	±	mm	±	mm	±
Stereocaulomyces paschalis 26	2,9	0,27	4,9	0,23	5,2	0,22
Xanthoriomyces parietinae 60	1,8	0,09	4,4	0,34	5,8	0,15
Caloplacomyces murorum 44	3,3	0,17	4,5	0,18	6,3	0,24
C. elegantis 65	2,6	0,21	5,9	0,31	6,8	0,36
Cladoniomyces digitatae 18	4,0	0,22	4,3	0,23	3,9	0,18
Caloplacomyces murorum 66	2,3	0,09	2,4	0,14	2,3	0,17
Candelariellomyces vitellinae 46	1,9	0,13	2,5	0,11	2,7	0,08

Stereocaulomyces paschalis (Stamm 26) wächst im Sonnenlicht farblos, ohne Luftmyzel. Im Tageslicht verdeckt weisses Luftmyzel die Kulturfarben 186 und 191 (Code universel des couleurs, E. Séguy, 1936), etwas weniger in der Dunkelheit.

Xanthoriomyces parietinae (Stamm 60) wächst ebenfalls im Sonnenlicht farblos, ohne Luftmyzel. Im Tageslicht überwiegt Farbe 199, in der Dunkelheit 191 und 202.

Caloplacomyces murorum (Stamm 44) bildet im Sonnenlicht Luftmyzel und in der Kulturmitte die Farbe 112; am Rand ist die Kultur weiss. Im Tageslicht gibt Luftmyzel den Kulturen am Rand Farbe 190,

in der Mitte 112. Im Dunkeln hat der Kulturrand Farbe 196, in der Mitte 203. Der Agar wird in Kulturnähe verfärbt mit 126; seine Oberfläche trägt reichlich Parietinkristalle.

Caloplacomyces elegantis (Stamm 65) wächst im Sonnenlicht mit Farbe 182 bis weiss, ohne Luftmyzel. Die Kulturen des Tageslichtes sind ebenfalls hell bis Farbe 186 mit Luftmyzel; an der Agaroberfläche haben sich Parietinkristalle abgeschieden. In der Dunkelheit sind die Kulturen gleich gefärbt, ebenfalls mit weissem Luftmyzel überzogen; die Parietinbildung scheint fast doppelt so reichlich, auf der Agaroberfläche bis zu 10 mm Entfernung von den Kulturen.

Wenn in diesem Versuch die Kulturen im Sonnenlicht schlechter wuchsen als im Tageslicht und viel schlechter als in der Dunkelheit, dann dürfte das nicht der Lichteinwirkung, sondern der tagsüber zu hohen Temperatur zuzuschreiben sein. Das Sonnenlicht hemmte die Bildung von Flechtenstoffen, wobei zu beachten ist, dass ein Teil der Strahlung durch die Glasschicht verlorengeht.

b) Kulturen bei gleichen Temperaturen : Um beim vorigen Versuch die wechselnde Temperatur auszuschalten, brachten wir die besonnten, die beschatteten und die verdunkelten Kulturen in den gleichen Trog mit fliessendem Wasser. So erwärmte die Sonne die Kulturen nur wenig. In diesem Versuch kamen die Stämme 18, 66 und 46 (Tab. 96) zur Prüfung.

Cladoniomyces digitatae (Stamm 18) färbte sich in der Sonne in der Kulturmitte matt dunkelbraun mit Farbe 702, am Rande weiss; ebenso im Tageslicht. In der Dunkelheit erscheint an allen Kulturen ein gelber Ton; besonders am Rand werden junge Teile nach 214 gefärbt. Im übrigen sind die Kulturen braun 146.

Caloplacomyces murorum (Stamm 66) erscheint im Sonnenlicht weiss durch Luftmyzelbildung. Im Tageslicht tritt am Rande noch Luftmyzel auf; in der Mitte sind die Kulturen hellbraun. Luftmyzel fehlt in der Dunkelheit, wo die Kulturen orangebraun gefärbt werden; hier lässt sich Parietin nachweisen.

Candelariellomyces vitellinae (Stamm 46) bildet schon auf den im Wachstum benachteiligten, besonnten Kulturen Stictaurin; aber auch die Kulturen im Dunkeln erhalten durch die Flechtenstoffbildung eine gelbe Färbung.

In diesem zweiten Versuch ist durch die Wasserkühlung der Wachstumsunterschied zwischen besonnten und verdunkelten Kulturen klein. Auch d i e s e besonnten Kulturen sind in der Flechtenstoffbildung nicht bevorteilt. In unsern Versuchen hatte somit das Sonnenlicht auf die Flechtenstoffbildung keinen Einfluss.

4. *Abhängigkeit der Flechtenstoffbildung von der Ernährung*

Die Parietin erzeugenden Pilze *Xanthoriomyces* und *Caloplacomyces* wuchsen auf allen Nährböden langsamer als *Candelariellomyces*. Langsam wachsende Pilze pflegen aber ihre Eigenschaften beim Verändern des Nährbodens nur langsam zu wechseln. Aus diesem Grunde war es in Kap. II nicht möglich zu entscheiden, ob die Parietinbildung bei *Xanthoriomyces* und bei *Caloplacomyces* auf allen geprüften Nährböden erfolge, oder ob die z. B. auf Knopagar gefundenen geringen Mengen des Stoffes nur dank des Malzgehaltes des Impfstückes vorhanden waren. Man muss also diese Pilze von Sporen ausgehend auf verschiedenen Nährböden wachsen lassen.

Für den Stictaurin bildenden *Candelariellomyces vitellinae* gelang es, Abhängigkeiten der Flechtenstoffbildung von der Ernährung aufzudecken. Bei dem in Kap. II, B, 31. durchgeführten Nährstoffversuch standen Impfstücke von ganz jungen Kulturen zur Verfügung, die noch kein Stictaurin gebildet hatten. Nun zeigte sich, dass der Pilz auf Peptonagar, Glukoseagar und Knopagar zwar wächst, aber kein Stictaurin zu bilden vermag. Bei einer Vereinigung von Zucker- und organischer Stickstoffnahrung bildet er reichlich Stictaurin (Malzagar). Nun prüfte ich, ob diese Fähigkeit dem Pilz z. B. wegen « Degeneration » verlorengegangen sei, indem ich einen Teil der Peptonagar-, Glukoseagar- und Knopagarkulturen auf Malzagar überimpfte, den andern Teil als Kontrollen weiterwachsen liess. Nach wenigen Wochen färbten sich sämtliche übergeimpften Kulturen gelb, und wenig später schied sich an der Agaroberfläche reichlich Stictaurin ab; die Kontrollkulturen blieben frei von Stictaurin.

Bei *Candelariellomyces vitellinae* ist somit die Flechtenstoffbildung unmittelbar von der Ernährung abhängig; er braucht dazu genügend Stickstoff- und Zuckernahrung. In der Natur beobachtet man an besonnten Stellen reichlichere Flechtenstoffbildung (vgl. Zopf, 1907, S. 362). Man könnte sich diese Eigenart für *Candelariellomyces*, der lichenisiert auf stickstoffreien Unterlagen wächst, so erklären, dass er in der Sonne durch die regere Assimilationstätigkeit der Flechtenalgen mehr Zucker erhält und deshalb bei der genügend vorhandenen Stickstoffnahrung mehr Flechtenstoff bildet.

5. *Abhängigkeit der Flechtenstoffbildung von der Temperatur*

Bei *Xanthoriomyces* und *Caloplacomyces* wurde in den Temperaturversuchen von Kap. II keine deutliche Abhängigkeit der Parietinbildung von der Temperatur beobachtet. Die Pilze bildeten bei allen

Temperaturen Parietin, am meisten allerdings bei Zimmertemperatur, wo die Pilze am besten wachsen.

In *Candelariellomyces* fanden wir in Kap. II, B, 31. einen Pilz, bei dem die Fähigkeit, Flechtenstoff zu bilden, durch die Temperatur bedingt ist. *Candelariellomyces vitellinae* vermag bei 9° und den darunter liegenden Temperaturen auf Malzagar kein Stictaurin zu bilden. Im allgemeinen beobachtet man, dass junge, kleine Kulturen noch keinen Flechtenstoff bilden und dass zur Flechtenstoffbildung eine gewisse Zeit notwendig ist. Das trifft für *Candelariellomyces* bei tiefen Temperaturen auch dann nicht zu; zehn Kulturen wuchsen während zwei Jahren bei 9° ohne die geringste Stictaurinbildung. Diese Kulturen messen jetzt über 15 mm im Durchmesser. Schon bei 12° bildet der Pilz zwar Stictaurin, aber erst nach einigen Monaten und nur wenig. Bei allen höheren Temperaturen verleiht das Stictaurin den Kulturen die auffällig schwefelgelbe Farbe.

Die Fähigkeit, Stictaurin zu bilden, geht dem *Candelariellomyces* nach einem Aufenthalt bei 9° und tieferen Temperaturen nicht verloren. Ich brachte nämlich solche Kulturen zu Zimmertemperaturen und beobachtete nun nach wenigen Wochen die schöne Gelbfärbung durch reichliche Stictaurinabscheidung.

6. Praktische Bedeutung der Flechtenstoffbildung kultivierter Pilze

Die für die Flechtenbiologie wichtige Tatsache, dass es Flechtenpilze gibt, die ohne sich von Algen zu ernähren, Flechtenstoffe bilden können, hat auch praktische Seiten. Es gibt Flechten, in denen man eigentümliche Flechtenstoffe feststellte, sie aber wegen ungenügenden Mengen natürlichen Materials noch nicht genau untersuchte. Gerade die von Krustenflechten gebildeten Stoffe sind oft zu wenig bekannt, weil diese Flechten sich nur schwierig von der Unterlage ablösen lassen und die Beschaffung genügender Flechtenstoffmengen deshalb beschwerlich ist. Die Kultur der Pilze dürfte hier in vielen Fällen Abhilfe schaffen; jedenfalls kann man aus Kulturen von *Candelariellomyces vitellinae* sehr leicht Stictaurin ausziehen und kristallisieren lassen. (Tafel 5, Abb. 4 und 5). Damit sind chemische Untersuchungen erleichtert, was um so wertvoller ist, als Flechtenstoffe pharmazeutisch eine erhöhte Bedeutung erlangen können (vgl. Z o p f , 1907, S. 374 f.).

Das Studium der Flechtenstoffbildung in Kultur ist auch interessant im Hinblick auf die Pilzstoffbildung bei nichtlichenisierten Pilzen, die pharmazeutisch wichtig ist. Vielleicht kommt man zu Anregungen, durch die sich zum Beispiel die *Claviceps purpurea* in Kultur zur Ergotaminbildung bringen lässt.

E. Zur Bedeutung der Flechtenstoffe für die Flechten

1. Bisherige Ansichten über die Bedeutung von Flechtenstoffen innerhalb der Flechte.

Bis vor kurzem hat man die in Flechten gefundenen, schwerlöslichen organischen Verbindungen « als spezifische Erzeugnisse des Flechtenstoffwechsels » (Tobler, 1934, S. 35) angesehen. Auch Zopf war zwar dieser Ansicht, wagt aber bereits einen Zweifel darüber auszusprechen (1907, S. 338) : « Im übrigen darf man nicht vergessen, dass die Frage, ob wirklich ein Zusammenwirken von Alge und Pilz zur Erzeugung der Flechtensäuren nötig ist, nur auf dem bis jetzt noch nicht betretenen Wege des Experiments zu lösen sein dürfte. » Zopf hat damit den erbrachten Beweis vorausgeahnt.

Die vermuteten Bedeutungen der Flechtenstoffe für die Flechten seien in kurzen Worten zusammengefasst, wobei sich die Seitenzahlen im folgenden auf Zopf (1907) beziehen. Als Schutz gegen Tierfrass wirken sie nicht (S. 366); Schnecken zum Beispiel fressen Flechtensäuren, ohne dadurch Schaden zu erleiden. Dass Flechtenstoffe Aufschlussmittel für die Unterlage sind, ist noch nicht bewiesen (S. 341). Ob Flechtenstoffe die Verdunstungsgrösse der Flechtenbildner herabsetzen können (S. 373), ist nicht bekannt.

2. Bedeutung von Flechtenstoffen für das Wachstum von Flechtenalgen.

a) Bedeutung für den Wassergehalt von Flechten : Wären die Flechtenstoffe hygroskopisch, so könnten sie den beiden Flechtenbildnern Feuchtigkeit zuführen und ihnen so das Wachstum erleichtern. Deshalb prüfte ich die Flechtenstoffe Parietin, Stictaurin und Vulpinsäure auf ihre Fähigkeit, Wasser anzuziehen, indem ich einige mg während 8 Stunden bei 60° trocknete, dann einen Tag der offenen Luft aussetzte. Das Gewicht der Kristalle nahm in keiner Weise zu. Diese Flechtensäuren sind also nicht hygroskopisch.

b) Einfluss auf das Wachstum von Flechtenalgen : Nach dem Nachweis, dass *Xanthoriomyces* und *Caloplacomyces* ohne das Vorhandensein von Algen Parietin bilden können, bestand die Möglichkeit, dass dieser Flechtenstoff den Flechtenalgen als Nahrung dienen könne, oder ihr Wachstum fördere oder hemme. Diese Verhältnisse wurden im Versuch geprüft.

Um genügend Parietin zu erhalten, sammelte ich reichlich Thalli von *Xanthoria parietina,* trocknete sie vier Stunden bei 100° und zerrieb sie im Mörser zu einem Pulver. Das Trockengewicht war 83,5 g. Mit der vierfachen Menge destillierten Wassers brachte ich das Flechtenpulver

für eine Stunde in den Dampftopf, um Verunreinigungen herauszuwaschen, liess absetzen und dekantierte am folgenden Tag. Das gleiche wiederholte ich mit der dreifachen Wassermenge dreimal, trocknete dann vier Stunden bei 100° und wog. Es blieben 67 g; rund 18 % Trockensubstanz waren also durch das Auswaschen verloren gegangen. Aus dem trockenen Rückstand wurde mit Benzol das Parietin ausgezogen und durch Umkristallisieren und Sublimieren gereinigt. Auf diese Weise blieben 0,5 g reines Parietin, das heisst 0,6 % der trockenen Flechte.

Vor der Verwendung im Wachstumsversuch gelangten die feinen Parietinkristalle in einem Schälchen für 24 Stunden in den Formoldampf des Impfkastens, worauf sie keimfrei waren. Als Nährböden für die Algen diente Glukoseagar, ein günstiger, und Knopagar, ein ungünstiger Nährboden. Mittels Platinspachtel brachte ich eine stecknadelkopfgrosse Parietinmenge auf dem Agarnährboden an die Stelle, wohin ich darauf ein 1 mm grosses Algenklümpchen brachte. Als Versuchsalgen wurden Grünalgen aus einer Parietin enthaltenden Flechte verwendet, nämlich aus *Caloplaca cerina* den *Cystococcusklon* 61 a und den *Chlorella*klon 61 d, also Vertreter zweier Algengattungen aus der gleichen Flechte. Von jeder Alge legte ich auf jedem Nährboden 10 Kulturen mit Parietin und zum Vergleich 10 Kulturen ohne Parietin an und liess sie im Tageslicht mit wenig Sonne bei Zimmertemperatur wachsen.

Das Ergebnis nach 60, bzw. nach 120 Tagen ist in Tab. 97 zusammengestellt. Auf Glukoseagar haben alle Kolonien von *Cystococcus* 61 a die gleiche Würmchenform und am Rand die Farbe 348. Ohne Glu-

Tab. 97 Einfluss des Parietins auf das Wachstum des *Cystococcus*klon 61 a und des *Chlorella*klon 61 d (beide aus *Caloplaca cerina)* bei Zimmertemperatur im Tageslicht. Kulturen mit Glukose nach 60, ohne Glukose nach 120 Tagen

Flechtenalge	*Cystococcusklon* 61 a				*Chlorellaklon* 61 d			
Nährboden	Durchmesser	Mittlerer Fehler	Höhe	Farbe	Durchmesser	Mittlerer Fehler	Höhe	Farbe
	mm	±	mm		mm	±	mm	
Glukoseagar . .	14,5	0,79	5	372	7,4	0,19	3	371
Glukoseagar + Parietin . . .	14,9	0,53	5	372	7,2	0,17	3	371
Knopagar . . .	3,8	0,23	1	357	4,2	0,21	1	371
Knopagar + Parietin	3,8	0,26	1	357	3,9	0,22	1	371

kose überzieht nur eine dünne Algenschicht den Agar, auch hier gleichgültig, ob Parietin vorhanden ist oder nicht. Auch der *Chlorella*klon 61 d wächst mit oder ohne Parietin auf beiden Nährböden gleich. Der von Pilzen abgeschiedene Flechtenstoff Parietin vermochte in unseren Versuchen das Wachstum von Flechtenalgen in keiner Weise zu beeinflussen. Daraus schliessend dürfte ein solcher Einfluss auch in den Flechten fehlen.

F. Widerstandsfähigkeit von Flechtenbildnern gegen Trockenheit

Bekanntlich sind Flechten gegen Trockenheit sehr widerstandsfähig. Nicht nur Krustenflechten, sondern auch Strauch- und Laubflechten trocknen im Sommer oft vollständig ein und sind dann brüchig und spröde. Nächtliche Luftfeuchtigkeit, die sich in Form von Tau niederschlägt, ist ohne Zweifel für die Flechten wichtig. Ob der Flechtenpilz oder die Flechtenalge mehr von diesem fein verteilten Wasser aufnimmt, ist nicht bekannt. Ausgehend von Pilz- und Algenreinkulturen dürfte diese Frage der Wasseraufnahme zu lösen sein. Unsere Versuche beschränken sich darauf zu prüfen, ob die Widerstandsfähigkeit der Flechten gegen Trockenheit durch den Flechtenpilz oder die Flechtenalge bedingt sei, oder durch beide.

1. Widerstandsfähigkeit von Flechtenpilzen

Aus Reinkulturen von Flechtenpilzen schnitt ich mittels Impfspachtel Stücke von 2 mm Durchmesser heraus und übertrug sie in sterile, leere Reagensgläser, darauf achtend, dass die Pilzstücke frei waren von Agarsubstrat. Das war leicht zu erreichen, weil die Pilze ausgiebig in die Höhe wachsen. In der Luft des Arbeitsraumes trockneten die Pilzstücke bei Zimmertemperatur rasch aus. Darauf nahm ich nach jeder Woche von jedem Pilzstamm aus zwei Reagensgläsern die trokkenen Kulturen heraus und übertrug sie auf frische Nährböden, um ihre Lebensfähigkeit zu prüfen. Tab. 98 zeigt die verwendeten Pilze und ihre Eigenschaften.

Das Ergebnis dieses Versuches wäre nicht so überraschend, wenn die Flechtenpilze irgendwelche widerstandsfähigen Sporen gebildet hätten oder wenn sie vor dem Austrocknen unter ungünstigen Umständen gewachsen wären. Beides trifft nicht zu; die Flechtenpilze waren auf Malzagar gewachsen. Dass Sporenbildung fehlte, erkannte man mikroskopisch am Ausgangsmaterial, dann auch nach dem Überimpfen der vertrockneten Stücke auf frische Nährböden. Die Pilzstücke quollen rasch auf und setzten ihr Wachstum in der gewohnt langsamen Weise

Tab. 98 Widerstandsfähigkeit von Flechtenbildnern gegen Trockenheit bei Zimmertemperatur. Es bedeutet: + = noch lebend; — = tot.

Flechtenbildner	Wochen Trockenheitsdauer					
	1	2	3	4	5	6
52. *Baeomycomyces rosei*	+	+	+	+	+	+
30. *Cladoniomyces digitatae* . . .	+	+	+	+	+	+
34. *Cladoniomyces squamosae* . . .	+	+	+	+	+	+
32. *Cl. fimbriatae v. ap. f. ochrochlorae*	+	+	+	+	+	—
26. *Stereocaulomyces paschalis* . . .	+	+	+	+	+	—
60. *Xanthoriomyces parietinae* . .	+	+	+	+	+	+
66. *Caloplacomyces murorum* . . .	+	+	+	+	+	+
54. *Caloplacomyces cerinae* . . .	+	+	+	+	+	+
65. *Caloplacomyces elegantis* . . .	+	+	+	+	+	—
17. *Icmadophilomyces ericetorum* .	+	+	+	+	+	+
27 d. *Coccomyxa* aus *Baeomyces byssoides*	+	+	+	—	—	—
14 d. *Coccomyxa* aus *Icmadophila ericetorum*	+	+	+	+	+	—
30 a. *Cystoccus* aus *Cladonia digitata*	+	+	+	+	+	+
31 a. *C.* aus *Cladonia digitata* . . .	+	+	+	+	+	+
34 a. *C.* aus *Cladonia squamosa* . .	+	+	+	+	+	+
32 b. *C.* aus *Cl. fimbriata v. ap. f. och.*	+	+	+	+	+	+
26 m. *C.* aus *Stereocaulon paschale* .	+	+	+	+	+	+
60 a. *C.* aus *Xanthoria parietina* . .	+	+	+	+	+	+
44 c. *C.* aus *Caloplaca murorum* . .	+	+	+	+	+	+
54 b. *C.* aus *Caloplaca cerina* . . .	+	+	+	+	+	+

fort. Wären Sporen vorhanden gewesen, dann hätten sie sich über die Agaroberfläche verbreitet und es wären viele junge Kulturen entstanden. Während die untersuchten Flechtenpilze in Nährstoff- und Temperaturansprüchen deutliche Verschiedenheit zeigten, sind alle vorliegenden Stämme gegen Trockenheit wenig empfindlich. Ihre Myzelien können mindestens 5 Wochen im Trockenen liegen, ohne Schaden zu nehmen. Ausser dem langsamen Wachstum der verschiedenen Flechtenpilzgattungen scheint eine gemeinsame Eigenschaft in der Widerstandsfähigkeit ihres Myzels gegen Trockenheit zu bestehen. Die in Tab. 98 untersuchten Flechtenpilze bilden nicht eine besondere, gegen Trockenheit widerstandsfähige Hyphenform, sondern wachsen auch unter optimalen Bedingungen so wie die Dauermyzelien anderer Pilze. Daraus erklärt sich teilweise ihr stets langsames Wachstum. Die Widerstandsfähigkeit gegen Trockenheit ist mit ein Grund, dank dessen die Flechtenpilze an be-

sonderen Standorten den Konkurrenzkampf gegen die übrigen Pilze bestanden.

2. *Widerstandsfähigkeit von Flechtenalgen*

In gleicher Weise wie bei den Flechtenpilzen wurden 2 mm grosse Klümpchen von agarfreien Flechtenalgen in trockene, sterile Reagensgläser übertragen und in trockener Luft bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach jeder Woche impfte ich aus zwei Reagensgläsern jedes Algenklons die vertrockneten Klümpchen auf frische Nährböden zum Prüfen der Lebensfähigkeit.

Aus Tab. 98 ersehen wir, dass die untersuchten Flechtenalgen *Coccomyxa* und *Cystococcus* gegen Trockenheit sehr unempfindlich sind. *Cystococcus*algen, die aus einer sich im besten Wachstum befindenden Kolonie stammen, kann man während 6 Wochen trocken aufbewahren, ohne dass sie sterben. *Coccomyxa*algen scheinen etwas empfindlicher. Die grosse Widerstandsfähigkeit erklärt das Vorkommen einzelliger Algen an trockenen Standorten.

3. *Widerstandsfähigkeit von Flechten*

Die eingangs erwähnte Widerstandsfähigkeit der Flechten gegen Trockenheit hat nach unsern Versuchen zwei Ursachen. Beide Flechtenbildner, der Pilz und die Alge, sind gegen Trockenheit wenig empfindlich. Aus diesem Grunde können auf Unterlagen, die nur gelegentlich befeuchtet sind, im Laufe langer Zeiten Flechten entstehen. Bei Trokkenheit stellen beide Flechtenbildner ihr Wachstum ein, bei Befeuchtung wachsen sie ohne Schädigung weiter.

G. Widerstandsfähigkeit von Flechtenbildnern gegen Wärme

Ein grosser Teil der Flechten ist in der Natur nicht nur während längerer Zeit der Trockenheit ausgesetzt, sondern auch stundenlang der Sonnenbestrahlung. Anderseits ist durch die Temperaturversuche bekannt, dass Flechtenpilze und Flechtenalgen auf Agarnährböden bei höheren Temperaturen ($\pm 27^{\circ}$) rasch absterben. Es fragte sich nun, ob die Flechtenbildner in befeuchtetem Zustand erheblich weniger widerstandsfähig seien als in trockenem oder ob nur die kultivierten Flechtenbildner benachteiligt seien gegenüber den in der Natur in Flechtenform wachsenden.

Von den in Tab. 98 aufgeführten Flechtenbildnern wurden 2—3 mm grosse Stücke einerseits in trockene, sterile Reagensgläser, anderseits

auf Malzagar geimpft. Beide Reihen standen zuerst eine Woche bei Zimmertemperatur, damit die Impfstücke in den trockenen Reagensgläsern austrocknen und die Impfstücke auf Malzagar anwachsen konnten. Dann gelangten alle Kulturen in einen Thermostaten zu 45°. Nach 60 Stunden impfte ich sie auf frische Nährböden über und liess sie bei Zimmertemperatur stehen, um ihre Lebensfähigkeit zu prüfen. Nach 8 Wochen waren fast alle bei trockener Wärme aufbewahrten Kulturen gewachsen, von den Kulturen mit feuchter Wärme keine.

Dieser Versuch gibt eine erste Übersicht über die Widerstandsfähigkeit gegen Wärme. Wie hohe Temperaturen trockene Flechtenbildner aushalten und während wie langer Zeit, und wie bald befeuchtete Flechtenbildner absterben, ist unbekannt. Unser Versuch zeigt, dass Flechtenbildner auch in Reinkultur gegen trockene Wärme widerstandsfähig sind, nicht aber gegen feuchte Wärme.

H. Bau des Flechtenpilzthallus in Kultur

Über den Bau des reinen Thallus eines Flechtenpilzes gab Möller (1887, S. 21—25) die ersten Aufschlüsse (vgl. auch Tobler, 1909 und 1934, S. 32). Möller hat durch seine erstmals rein kultivierten Flechtenpilzthalli Schnitte gelegt und mit dem Bau der betreffenden Flechtenthalli verglichen. Wie bei den Flechten sieht der Verfasser Rhizinen, Markschicht und Rindenschicht an den reinkultivierten Flechtenpilzen, besonders « wenn man den Thallus einige Zeit auf festem Substrat, z. B. einem Stückchen sterilisierten Korkes wachsen lässt » (S. 22). Werner (1927) führt denselben Vergleich bei seinen Kulturen eingehend durch, gibt an, nach wievielen Wochen oder Monaten eine solche Gliederung auftritt und führt Zeichnungen dazu auf. Auch Bartusch (1931) und Lange (1933) sehen bei ihren Kulturen eine Einteilung in Schichten wie im Flechtenthallus.

Durch mehrere Monate alte, auf Agar gewachsene Kulturen verschiedener Flechtenpilze habe ich zahlreiche Schnitte gemacht. Die Beobachtungen waren in allen Fällen ähnlich wie bei den genannten Verfassern : aussen eine Schicht von Luftmyzel, mehr oder weniger entwickelt, dann eine dichte Masse von reichlich ölhaltigen Hyphen und gegen innen eine Lockerung des Myzels mit in das Substrat eindringenden Hyphen. Eine paraplektenchymatische Struktur wie in der Rindenschicht der Flechten war jedoch nirgends zu finden; auch die Zeichnungen von Werner (1927) lassen keine solche feststellen.

Nun ist aber an kultivierten Myzelien eine Gliederung in äussere, dichte Schicht (« Rindenschicht ») und darunterliegende lockere Schicht

(« Markschicht ») nicht nur bei Flechtenpilzen, sondern auch bei nicht-lichenisierten Pilzen zu beobachten, so bei *Claviceps* und vielen anderen. Aus diesem Grunde lege ich dem Bau kultivierter Flechtenpilzmyzelien im Vergleich mit dem Bau von Flechtenthalli noch keine grosse Bedeutung bei. Wichtig ist dieser Vergleich dann, wenn es gelungen ist, reinkultivierte Flechtenpilze zur Bildung von Paraplektenchymen (Pseudoparenchymen) und zur Fruchtkörperbildung zu bringen. Die Lebensbedingungen in vitro zwingen den Flechtenpilz nicht leicht zum Hervorbringen gewebeartiger Bildungen, weshalb m. E. die Synthetisierung von Flechten so oft misslingt.