

Über den Einfluss von Wuchsstoffen auf Flechtenbildner

Autor(en): **Zehnder, Alfons**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse**

Band (Jahr): **59 (1949)**

PDF erstellt am: **19.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-571130>

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.

Über den Einfluß von Wuchsstoffen auf Flechtenbildner

Von *Alfons Zehnder*, dipl. rer. nat. ETH

(Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich)

Inhaltsübersicht

	Seite
A. Einleitung und Problemstellung	202
B. Methodik	204
1. Die Beschaffung des Versuchsmaterials	204
2. Die Kulturbedingungen	204
a) Die Nährmedien	204
b) Die verwendeten Vitamine	207
c) Die Beimpfung der Kulturkolben	210
d) Die Umweltbedingungen	210
3. Die Auswertung der Versuche	213
a) Die Charakterisierung der Kulturen	213
b) Die Aneurinbestimmung	213
c) Die statistische Bearbeitung	214
C. Das Versuchsmaterial	215
1. Übersicht	215
2. Beschreibung der einzelnen Objekte	217
D. Versuche mit Flechtenthalli	235
1. Qualitativer Nachweis von Aneurin in Flechtenlagern	235
2. Quantitative Bestimmung des Aneurins in zehn Flechtenarten	237
E. Versuche mit Flechtenalgen	241
1. Der Einfluß von Vitaminen auf die Entwicklung von Flechtenalgen	241
2. Die Wachstumsförderung von aneurin-heterotrophen Pilzen durch Flechtenalgen	242
3. Der Einfluß von Heteroauxin auf das Wachstum von Flechtenalgen	244
F. Versuche mit Flechtenpilzen	245
1. Der Einfluß verschiedener Substrate auf das Wachstum von Flechtenpilzen	245
2. Der Einfluß synthetischer Vitamine auf die Entwicklung von Flechtenpilzen	250
3. Die Wirkung der Konstituenten des Aneurins auf die Entwicklung von <i>Placodiomyces saxicolae</i>	252
4. Der Aneurinbedarf von <i>Placodiomyces saxicolae</i>	253
5. Das Wachstum von <i>Placodiomyces saxicolae</i> auf aneurinfreiem Substrat	255
6. Die Förderung des Wachstums aneurin-heterotropher Pilze durch Flechtenpilze	257
7. Quantitative Bestimmung des Aneurins in einigen Flechtenpilzen	259
8. Der Einfluß von Heteroauxin auf das Wachstum von drei Flechtenpilzen	259
	201

	Seite
G. Gegenüberstellung der Flechtenbildner; Fragen der künstlichen Flechtensynthese	261
1. Der Einfluß von Flechtenalgen auf das Wachstum der Flechtenpilze	261
2. Aneurin-autotrophe Alge und aneurin-heterotropher Pilz als Flechtenbildner bei <i>Placodium saxicola</i>	261
3. Wuchsform der Flechtenpilze in der natürlichen Flechte und in Reinkultur	262
4. Ascosporenbildung von reinkultivierten Flechtenpilzen	263
5. Versuch der künstlichen Synthese von <i>Placodium saxicola</i>	263
H. Zusammenfassung	264
I. Literaturverzeichnis	266

A. Einleitung und Problemstellung

Über die Bedeutung von Wuchsstoffen (Vitaminen, Wirkstoffen) im Pflanzenreich besteht eine umfangreiche Literatur. Sie zeigt, daß die Pflanzen ebenso notwendig Vitamine brauchen wie der tierische und menschliche Körper. Im allgemeinen vermögen die grünen Pflanzen die notwendigen Vitamine selber aufzubauen; sie sind vitamin-autotroph. Das schließt nicht aus, daß einzelne Organe höherer grüner Pflanzen vitamin-heterotroph sind, wie anscheinend die Wurzeln (S c h o p f e r, 1941). Ferner kann auch bei vitamin-autotrophen Pflanzen durch eine zusätzliche Vitaminzufuhr gelegentlich das Wachstum stimuliert werden, so bei Buscherbsen, Buschbohnen u. a. (H o f f m a n n - L a R o c h e, 1940, S c h m o t k i n und Mitarbeiter, 1944, S a n d o z, 1945; cf. dagegen G i s i g e r, 1944).

Unter den saprophytischen und parasitischen Pflanzen finden sich sowohl vitamin-autotrophe als vitamin-heterotrophe Arten. Letztere bilden keine einheitliche systematische Gruppe; sie ziehen sich quer durch das ganze System hindurch. Nicht miteinander verwandte Pilze können sich zum Beispiel dem Vitamin B₁ (Aneurin) gegenüber gleich, nahe verwandte aber verschieden verhalten. So sind *Ustilago avenae* (Pers.) Jensen, *U. bromivora* Fisch. de Waldh. und *U. hordei* (Pers.) Kellerm. et Swingle aneurin-autotroph, *U. scabiosae* (Sow) Wint. und *U. violacea* (Pers.) Fuck dagegen aneurin-heterotroph (S c h o p f e r und B l u m e r, 1940).

Die Vitaminheterotrophie scheint nach den bisherigen Untersuchungen am häufigsten gegenüber den Wuchsstoffen des Vitamin-B-Komplexes aufzutreten. Am besten untersucht ist in dieser Hinsicht das Vitamin B₁. Manche Pilze, wie oben angeführte, haben die Fähigkeit, es zu synthetisieren, verloren und müssen es von außen beziehen. Bei parasitischen Pilzen kommt dabei als Wuchsstofflieferant in erster Linie die Wirtspflanze in Betracht. So wird *Tilletia tritici* (Bjerk.) Winter das

Aneurin aus den befallenen Weizenpflanzen beziehen (D é f a g o , 1940). Experimentelle Untersuchungen bei eigentlichen natürlichen Symbiosen scheinen freilich noch nicht zu bestehen.

L e o n i a n (1936) untersuchte vier Grünalgen — *Chlorella viscosa*, *Coccomyxa simplex*, *Oocystis Naegeli* und *Scenedesmus flavescens* — und stellte bei allen die Synthese von Wuchsstoffen für *Phytophthora cactorum* (Cohn et Lebert) Schroet. fest. In den Schlußfolgerungen weist der Autor auf die Bedeutung der Flechtenalgen für die Vitaminversorgung der Flechtenpilze hin: "It is probable that the lichen fungi utilize not only carbohydrates furnished by the algae, but growth substances as well, and that their compatibility and the subsequent associations may not be controlled so much by the nature of carbohydrates as by the nature, the quantity and the availability of the growth- and reproduction-inducing substances" (S. 859). Q u i s p e l (1942) untersuchte die Pilze, die sich in den grünen Algenanflügen an den Baumstämmen finden und eine gewisse Ähnlichkeit mit Flechtenpilzen besitzen, da sie in lockerer Symbiose mit den aerophilen Algen leben. Ihre Reinkultur gelingt nach Q u i s p e l bedeutend leichter als die der eigentlichen Flechtenpilze. Sie entwickeln sich nicht ohne Aneurin, das sie in der Natur von ihrem Algenpartner erhalten.

Nach T o b l e r (1944) keimen die Ascosporen aus *Xanthoria parietina* nur bei Gegenwart von Aneurin oder Thiazol. Diese Versuchsergebnisse sind jedoch aus folgenden Gründen mit Vorsicht aufzunehmen: 1. Das Aneurin wurde in relativ sehr hoher Konzentration angewandt (optimale Verdünnung 1 : 500 000; eine Konzentration von 1 : 1 000 000 wirkte nur schwach). 2. Als Substrat für die Sporenkeimung diente jeweils ein Tropfen Wasseragar. Aus der Arbeit geht nicht hervor, ob der Agar, der selbst schon Wuchsstoffe enthält, vor der Verwendung gewaschen wurde. 3. Auch Thiazol wirkte in der Konzentration von 1 : 500 000 optimal. Werden Aneurin und Thiazol in äquimolaren Dosen verwendet, so entspricht einer Aneurinkonzentration von 1 : 500 000 aber eine Thiazolkonzentration von 1 : 1 190 000. Eine Thiazolkonzentration von 1 : 1 000 000 müßte also gleich wirken wie eine Aneurinkonzentration von 1 : 500 000.

Die vorliegende Arbeit will einen Beitrag zum Problem des Vitaminhaushaltes der Flechten und ihrer Komponenten leisten. Ich stellte mir folgende grundlegende Versuchsfragen:

1. Besitzen Vitamine einen Einfluß auf Wachstum und Entwicklung von Flechtenalgen und Flechtenpilzen ?
2. Bauen Flechtenbildner das Vitamin B₁ eventuell selber auf ?

B. Methodik

1. Die Beschaffung des Versuchsmaterials

a) Das Sammeln der Flechten

Die Flechten, deren Komponenten in Reinkultur gezogen wurden, stammten meist aus dem Gebiet des Siggentales nördlich von Baden (Kanton Aargau). Ich sammelte dort die Thalli zu verschiedenen Jahreszeiten. Die Feststellung von T h o m a s (1939), daß auch in den Herbstmonaten keimfähige Ascosporen aus den Fruchtkörpern geschleudert werden, konnte dabei bestätigt werden. Unmittelbar nach Regenfällen wurden keine Flechten gesammelt, da aus den durchnäßigsten Apothecien meist alle reifen Sporen weggeschleudert sind, bevor sie im Laboratorium untersucht werden können.

b) Die Isolierung der Flechtenbildner

Reinkulturen von Flechtenpilzen zog ich ausnahmslos aus Ascosporen heran. Dabei kam die bei T h o m a s (1939) näher beschriebene Petrischalenmethode oder die Mikromanipulatormethode zur Anwendung, bei der die geschleuderten Sporen in hängenden Tropfen aufgefangen und dann mit dem Mikromanipulator in Reagenzgläser mit Malzagar übertragen wurden. Sämtliche Flechtenalgen wurden mit Hilfe des Mikromanipulators aus den Flechtenthalli isoliert. Die Methode ist bei J a a g (1929) beschrieben. Alle Flechtenalgen, mit denen ich experimentierte, lagen in Klonen vor, waren also aus einer einzigen Zelle hervorgegangen.

2. Die Kulturbedingungen

a) Die Nährmedien

T h o m a s (1939) suchte, wie schon andere Autoren, vergeblich ein Substrat, auf dem Flechtenpilze eine wenigstens annähernd so schnelle Entwicklung zeigten wie andere parasitische oder saprophytische Pilze. Seine Versuche mit einem Dutzend verschiedener Nährsubstrate ergaben:

1. In flüssigem Milieu keimen die Ascosporen der Flechtenpilze, wachsen aber nicht zu Thalli aus.
2. Die Pilze verhalten sich nahezu indifferent gegenüber den untersuchten festen Nährböden; sie zeigen überall das gleich langsame Wachstum.
3. Die Azidität des Substrates übt nur geringen Einfluß auf die Entwicklung aus; am günstigsten erweisen sich immerhin schwach saure Böden (pH 5—6).

Es besteht wenig Aussicht, durch Vitaminbeigaben Flechtenpilze zu schnellem Wachstum zu bringen; denn die von T h o m a s verwendeten

Nährböden enthielten, wenigstens zum Teil, Vitamine in genügender Menge (zum Beispiel Hefeagar, Pflaumenagar u. a.). Ich verzichtete daher auf das wenig Erfolg versprechende Suchen nach weiteren Nährmedien und brauchte für die Weiterzucht der Flechtenbildner und für meine Versuche Substrate von folgender Zusammensetzung:

1. *Malzagar*: Malzextrakt (Wander, Bern) 2 %, Agar-Agar 1,7 %, destilliertes Wasser.
2. *Knop-Glukoseagar*: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0,1 %, KNO_3 0,025 %, KH_2PO_4 0,025 %, MgSO_4 0,025 %, FeCl_2 Spur, destilliertes Wasser. Ein Teil dieser Lösung wurde mit zwei Teilen destilliertem Wasser verdünnt und dieser « K n o p - $\frac{1}{3}$ - Lösung » 2 % Glukose und 1,7 % Agar-Agar beigelegt.
3. *Hefeagar*: K n o p - Glukoseagar mit 0,5 % Trockenhefe (Faex siccum Ph. H.).
4. *Algenagar*: K n o p - Glukoseagar mit 0,5 % Trockensubstanz von Grünalgen. Die Algen gewann ich von der Rinde beschatteter Baumstämme, an denen ich den Algenbelag sorgfältig wegkratzte und bei 60° C während sechs Stunden trocknete.
5. *Asparaginagar*: K n o p - Glukoseagar mit 0,1 % Asparagin.
6. « *Phycomyces-Nährlösung* » (nach S c h o p f e r): MgSO_4 0,05 %, K_2HPO_4 0,15 %, Asparagin 0,2 %, Glukose 2 %. (S c h o p f e r benützt 0,1 % Asparagin, während ich immer 0,2 % anwandte.)

Bei Vitaminversuchen muß der Herstellung der Böden besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden: Die Substrate müssen völlig vitaminfrei sein, eine Forderung, die zwar selbstverständlich, oft aber schwer zu verwirklichen ist. Für die Wuchsstoffversuche mit Flechtenalgen und Flechtenpilzen wurde K n o p - Glukoseagar oder Asparaginagar verwendet. Bei der Durchführung des Aneurintestes mit *Phycomyces Blakesleanus* wurde die « *Phycomyces-Nährlösung* » gebraucht. Die Salze sowie die Glukose waren immer von der Qualität « puriss. » oder « pro analysi ».

Gewöhnlicher Agar enthält Spuren von Wuchsstoffen (S c h o p f e r und B l u m e r, 1938, J a n k e, 1939). Um sie zu entfernen, wurden je zirka 120 g des in Fäden vorliegenden Agars in eine 5-l-Flasche gegeben. Die Flaschenöffnung wurde mit Stramin überbunden, durch welchen ein Glasrohr bis fast auf den Boden der Flasche führte. Mit einem Gummischlauch wurde das Glasrohr an die Wasserleitung angeschlossen. Während zehn Tagen strömte ununterbrochen Wasser durch den Agar. Damit die aufquellenden und in die Höhe steigenden Fäden den Stramin nicht verklebten, wurde die Flasche umgelegt. Nach zehn Tagen goß ich das Leitungswasser ab, und während drei Tagen wurde destilliertes Wasser zum Agar gegeben, das insgesamt etwa zehnmal

erneuert wurde. Wenn der Agar in diesem stark gequollenen Zustand verwendet wurde, erstarrten die Nährböden nicht vollständig. Einwandfrei feste Substrate erhielt ich aber, wenn der gewaschene Agar vor seiner Verwendung im Trockenschrank bei etwa 40° C völlig getrocknet wurde.

Alle Gefäße, die mit den Nährböden für Vitaminversuche in Berührung kamen, wurden vor ihrer Verwendung wenigstens 2 Stunden in ein Dichromat-Schwefelsäure-Bad gelegt. Darauf wurden sie dreimal mit Leitungswasser und zuletzt zweimal mit destilliertem Wasser gespült und staubfrei getrocknet. Für die Herstellung der Wattebäusche zum Verschließen der Kulturkolben brauchte ich gereinigte Watte, wobei ich für jeden Versuch neue Bäusche herstellte. Die Nährböden wurden an drei aufeinanderfolgenden Tagen im Dampftopf je 1 Stunde auf 94° C erhitzt und so sterilisiert.

Asparaginagarböden, die mit diesen Vorsichtsmaßnahmen hergestellt worden waren, wurden in einem Probeversuch mit folgenden vitamin-heterotrophen Pilzen geprüft:

	heterotroph in bezug auf :
<i>Cercospora herpotrichoides</i> Fron.	Pyrimidin
<i>Rhodotorula rubra</i> (Lodder) Demme	Pyrimidin
<i>Mucor Ramannianus</i> Möller	Thiazol
<i>Ustilago violacea</i> (Pers.) Fuck	Pyrimidin und Thiazol
<i>Polystictus versicolor</i> (L.) Fr.	Pyrimidin und Thiazol
<i>Phycomyces Blakesleeanus</i> Bgff.	Pyrimidin und Thiazol
<i>Ustilago scabiosae</i> (Sow) Winter	Vitamin B ₁
<i>Valsa pini</i> Alb. et Schwein	Vitamin B ₁ und Biotin

Jeder Pilz wurde in je drei Kolben mit gewaschenem Agar (Substrat 1), unbehandeltem Agar (Substrat 2) und unbehandeltem Agar mit Aneurinzusatz (Substrat 3) geimpft.

Nach vier Wochen zeigte *Phycomyces Blakesleeanus* auf dem Substrat 1 kein Wachstum, während auf Substrat 3 ein dichtes Myzel alle Versuchskolben erfüllte. Auf Substrat 2 hatte sich der Pilz schwach entwickelt. *Valsa pini* wies auf allen drei Substraten eine geringe Entwicklung auf. Nachdem zu Substrat 3 noch einige Tropfen einer sterilen wässrigen Biotinlösung gegeben worden waren, setzte ein intensiveres Wachstum des Pilzes ein, das sich in der Bildung von weißem Luftmyzel äußerte. Die übrigen sechs Pilze wiesen auf allen drei Nährböden ein meßbares Wachstum auf. Durchwegs war aber die Entwicklung auf dem Substrat 1 sehr schwach, auf Substrat 2 etwas stärker, während sich auf dem Substrat 3 ein üppiger Thallus entwickelt hatte. Ob das geringe, aber immerhin deutliche Wachstum auf dem Boden 1 auf ein rudimentäres Aneurin-Synthesevermögen dieser Pilze oder auf Aneurinspuren auch im gereinigten Agar oder im Impfmateriel zurückzuführen ist, wurde nicht näher untersucht. Die Literatur gibt über diese Frage bisher nicht

erschöpfend Auskunft (cf. Fries, 1938). Für meine Zwecke war es unmittelbar von Wichtigkeit, daß alle Pilze Entwicklungsunterschiede auf aneurinhaltigem und aneurinfreiem Boden zeigten.

b) Die verwendeten Vitamine

aa) Ihre Herkunft und Wirkung

Alle synthetischen Wuchsstoffe, die zur Anwendung kamen, wurden von der Firma F. Hoffmann-Laroche & Co. in Basel zur Verfügung gestellt. Für das großzügige Entgegenkommen sei an dieser Stelle der beste Dank ausgesprochen. Da keinerlei Anhaltspunkte da waren, welche Vitamine von Einfluß auf Flechtenbildner sein könnten, bezog ich in die ersten orientierenden Versuche eine große Zahl von Vitaminen ein, die in Tabelle 1 zusammengestellt sind.

Tabelle 1
Die Vitamine und ihre Lösungsmittel

Bezeichnungen	Lösungsmittel
Vitamin B ₁ , Aneurin, Thiamin	Wasser
Vitamin B ₂ , Lactoflavin	Wasser
Vitamin B ₆ , Adermin, Pyridoxin	Wasser
Nicotylamid, PP-Faktor, Nicotinsäureamid	Wasser
Pantothensaures Na, Filtratfaktor	Wasser
Mesoinosit, Bios I	Wasser
Vitamin C, l-Ascorbinsäure	Wasser
Vitamin D ₂ , Calciferol	Alkohol, Öl
Vitamin E, dl- α -Tocopherol	Alkohol, Öl
Vitamin-E-Acetat, dl- α -Tocopherolacetat	Alkohol, Öl
Vitamin H, Biotin	Wasser
2-Methyl-naphthochinon (mit Vitamin-K-Wirkung)	Alkohol, Öl
Provitamin A, β -Carotin	Alkohol, Öl
2-Methyl-4-amino-5-amino-methylpyrimidin	Wasser
4-Methyl-5-oxyäthyl-thiazol	Wasser
Heteroauxin	Alkohol

Der Tabelle seien einige Erläuterungen beigefügt, wobei freilich auf die Bedeutung und Wirkung der Wuchsstoffe nicht im einzelnen eingegangen werden soll.

Die Notwendigkeit der Wuchsstoffe des *B-Komplexes* (Vitamine B₁, B₂, B₆, Nicotylamid, Pantothensäure, Mesoinosit) und des Biotins (Vitamin H) für die Entwicklung vieler Mikroorganismen ist heute bekannt. Das Vitamin B₁ spielt in den bisherigen Arbeiten über die Vitaminfrage bei Mikroorganismen die Hauptrolle. Da es als Wirkungsgruppe eines

Fermentes, der Decarboxylase, an einer zentralen Stelle im Kohlehydratstoffwechsel steht, ist es wohl unentbehrlich für den größten Teil der Lebewesen überhaupt. Sein Molekül setzt sich aus zwei Komponenten zusammen, dem 2-Methyl-4-amino-5-amino-methyl-pyrimidin und dem 4-Methyl-5-oxyäthyl-thiazol (in dieser Arbeit als «Pyrimidin», resp. «Thiazol» bezeichnet). Schopfer und seine Mitarbeiter (Schopfer und Blumer, 1940 u. a. a. O.) stellten fest, daß manche aneurin-heterotrophen Organismen nur in bezug auf die eine der beiden Komponenten heterotroph sind, während sie die andere selber aufzubauen vermögen. Diese Frage sollte auch bei Flechtenbildnern untersucht werden, und darum dehnte ich die Versuche auch auf die Konstituenten des Vitamins B₁ aus.

Vom *Vitamin C* waren zwar bisher nur vereinzelt Einwirkungen auf Mikroorganismen bekannt: Es soll das Wachstum obligater Anaerobionten begünstigen (Janke, 1939). Speisepilze enthalten den Stoff, wenn auch nur in geringer Menge (2—7,5 mg pro 100 g Trockensubstanz). Da das Vitamin als Redoxkörper wesentlich an der Zellatmung beteiligt ist — es wirkt als Wasserstoffüberträger —, ist eine Wachstumsbeeinflussung von Flechtenbildnern nicht zum vorneherein ausgeschlossen.

Natürliches Vorkommen und physiologische Funktionen weisen das *Vitamin D₂* dem Tierreiche zu. Es begünstigt die Kalzifikation der Knochen und reguliert das Ca- und Phosphatase-Gleichgewicht im Blute. Immerhin ist denkbar, daß seine Förderung der Ca- und Phosphorsäureresorption auch im Pflanzenreich zur Auswirkung kommen kann. Zudem enthalten manche Pilze sowie die Renntierflechte (Janke, 1939) Provitamin D₂. Diese Tatsache bewog mich, auch das Calciferol in die Untersuchungen einzubeziehen.

Das *Vitamin E* scheint seine Hauptrolle auch im animalischen Leben zu spielen, doch stellten Schopfer und Blumer (1939) eine Wachstumshemmung von *Melandrium album* (Miller) Garcke durch den Stoff fest. Das Vitamin E stand als freies dl-Tocopherol und als Tocopherolazetat zur Verfügung. Das freie Vitamin ist oxydations- und lichtempfindlich, während das Azetat wesentlich widerstandsfähiger ist. Vorbedingung für die Auslösung der spezifischen Vitamin-E-Wirkung scheint allerdings die Abspaltung der Azetylgruppe zu sein (briefliche Mitteilung des wissenschaftlichen Dienstes der Firma Hoffmann-La Roche). Ob Flechtenpilze die zur Abspaltung nötigen Fermente liefern, ist unbekannt. In den Versuchen wurden daher sowohl das freie Vitamin E als das Azetat verwendet.

Das natürliche *Vitamin K* ist nur schwer zugänglich. Strukturchemisch steht ihm das 2-Methyl-naphthochinon nahe, das bei Warmblütern eine dem Vitamin K völlig analoge Wirkung aufweist. Der Wuchsstoff spielt beim Tier eine Rolle bei der Erhaltung der normalen Koagulationsfähigkeit des Blutes. Bei der Versorgung des menschlichen Körpers mit

diesem Wirkstoffe scheinen die *Colibakterien* des Darmes eine Rolle zu spielen. Ob Vitamin K von diesen und anderen Mikroorganismen selber benötigt wird, scheint unbekannt zu sein. In einige Versuche bezog ich das 2-Methyl-naphthochinon ein.

Eine Einwirkung des β -Carotins auf pflanzliche Organismen ist bisher nicht bekannt.

Während die eigentlichen Vitamine in den Stoffwechsel der Organismen eingreifen, beeinflussen Stoffe hormonartiger Natur letztlich die Formbildung der Pflanzen (S c h o p f e r, 1939). So übt *Heteroauxin* auf das Streckungswachstum höherer Pflanzen eine starke Wirkung aus. D é f a g o (1940) stellte einen hemmenden Einfluß auf die Entwicklung von Mikroorganismen fest.

bb) Ihre Dosierung und Zugabe zu den Nährböden

Die Vitamine wurden den Nährböden in so großer Menge beigegeben, daß eine allfällige Wirkung sicher festzustellen gewesen wäre. Das Vitamin D, das bei Warmblütern in sehr kleinen Dosen wirksam ist, sowie das Biotin, wurden in einer Konzentration von 10^{-8} , alle anderen Wuchsstoffe in einer solchen von 10^{-6} angewandt. Für die Wachstumsversuche stellte ich folgende Stammlösungen der Vitamine her:

1. *Aneurinlösung*: 10 mg Vitamin B₁, gelöst in 100 cm³ destillierten Wassers.
2. *Heteroauxinlösung*: 10 mg Heteroauxin, gelöst in 100 cm³ absoluten Alkohols.
3. *Vitaminlösung a*: Je 10 mg der Vitamine B₁, B₂, B₆, Nicotylamid, Pantothensäure, Mesoinosit, Vitamin C und 1 cm³ einer Biotinlösung der Konzentration 10^{-4} , gelöst in 100 cm³ destillierten Wassers.
4. *Vitaminlösung b*: Je 10 mg der Vitamine E, Tocopherolazetat, 2-Methyl-naphtho-chinon, β -Carotin und 1 cm³ einer Vitamin-D₂-Lösung der Konzentration 10^{-4} , gelöst in 100 cm³ absoluten Alkohols.

Von diesen Lösungen wurden vor der Sterilisation jeweils je 0,8 cm³ in die Versuchskolben pipettiert, die je 80 cm³ Nährsubstrat enthielten. Die Kontrollkolben erhielten eine entsprechende Dosis destilliertes Wasser, bzw. absoluten Alkohol als Zusatz zum Nährboden. Bei der Sterilisation verdampfte der Alkohol. Dabei fielen die alkohollöslichen Wuchsstoffe in fein verteilter Form aus. Vor dem Erstarren wurden die Kulturkolben öfters geschüttelt, um eine gleichmäßige Verteilung der ausgefallenen Vitamine in den Substraten zu erzielen.

c) Die Beimpfung der Kulturkolben

Nach der Sterilisation war die Oberfläche der erstarrten Nährböden regelmäßig von Kondenswasser bedeckt. Ich ließ die Kolben daher in einem trockenen Raume stehen, bis die Substratoberfläche trocken war. Nur dann ließen sich bei Flechtenpilzen gleichmäßig wachsende Thalli heranziehen. Noch wichtiger war die Trocknung der Nährböden vor der Beimpfung mit Flechtenalgen; denn nur auf trockenen Substraten entwickeln sich die charakteristischen Kolonieförmigkeiten.

Als Kulturgefäße brauchte ich 400-cm³-Erlenmeyerkolben aus Jena- oder Muranoglas. Jeder Kolben wurde an fünf Stellen mit der Flechtenalge, resp. dem Flechtenpilz beimpft, so daß in jedem Gefäß fünf Parallelkulturen heranwuchsen. Der Errechnung der Mittelwerte bei der Auswertung der Versuche lagen zehn Einzelmessungen zugrunde. Bei allen Vitaminversuchen impfte ich möglichst kleine Myzelteile, bzw. Algenklümpchen, um zu verhindern, daß bei der Impfung Vitaminspuren in die Versuchskolben übertragen wurden. Auf die Schwierigkeiten und Vorsichtsmaßnahmen bei der Impfung von Flechtenpilzen weist im übrigen *Thomas* (1939) hin, dessen Impfmethode auch von mir befolgt wurde.

d) Die Umweltbedingungen

aa) Die Luftfeuchtigkeit

Bei der langen Dauer der Versuche mit Flechtenbildnern besteht die Gefahr, daß die Nährböden ungleichmäßig austrocknen; denn es ist praktisch nicht möglich, alle Wattebüschel genau gleich dicht herzustellen. Auch Zellophanhütchen, die über die Wattebüschel gebunden werden, verhindern die allmähliche Austrocknung der Kolben nach meinen Erfahrungen bei der langen Versuchsdauer nicht. Ich suchte daher die Austrocknung der Substrate so zu verhindern, daß die Versuchskolben in möglichst luftfeuchten Räumen aufbewahrt wurden. Trotzdem trockneten Versuchskolben gelegentlich ungleich stark ein, was sich bei den betreffenden Versuchen durch den hohen Wert des mittleren Fehlers zeigte.

bb) Die Temperatur

Flechtenpilze besitzen im allgemeinen bei Temperaturen von 18 bis 24° C ihr Wachstumsoptimum (*Thomas*, 1939). Für Flechtenalgen liegt es durchschnittlich tiefer. Meine Versuche mit den Pilzen führte ich bei Temperaturen von 20 bis 24° durch. Die Algenversuche wurden im Winterhalbjahr in einem nach Norden exponierten Glashause aufbewahrt. Im Sommer erwies sich die Kultur im Freien an einer völlig beschatteten Hauswand als günstiger, da im Versuchshaus die Temperatur an heißen Sommertagen trotz intensiver Lüftung auf über 30°

anstieg und auch in der Nacht oft nicht unter 20° sank. Bei diesen Temperaturen stellen aber alle bisher untersuchten Flechtenalgen ihr Wachstum ein oder gehen gar zugrunde.

cc) Die Belichtung

Über den Einfluß der Belichtung auf Flechtenpilze bestehen bisher keine genaueren Untersuchungen, obwohl die Frage im Hinblick auf das natürliche Vorkommen vieler Flechten an extrem besonnten Standorten von Interesse ist. Dabei ist bekannt, daß Grünalgen, also die Wirtspflanzen vieler Flechtenpilze, in Reinkultur direktes Sonnenlicht nicht ertragen (J a a g, 1929, 1945). In der Flechte müssen die Gonidien offenbar durch die Pilzkomponente vor zu starker Belichtung geschützt werden. Ich untersuchte den Einfluß des Lichtes auf die Entwicklung meiner Flechtenpilze in drei Versuchen, denen folgende Fragen zugrunde lagen:

1. Welchen Einfluß hat kontinuierliches elektrisches Licht auf Flechtenpilze ?
2. Welchen Einfluß hat das diffuse Tageslicht auf Flechtenpilze ?
3. Welchen Einfluß hat das direkte Sonnenlicht auf Flechtenpilze ?

1. Versuch: Acht Flechtenpilze wurden auf Malzagar geimpft. Von jedem Pilz standen vier Kulturkolben zu je fünf Pilzlagern zur Verfügung. Je zwei Kolben pro Pilz wurden während drei Monaten kontinuierlichem elektrischem Licht ausgesetzt (100-Watt-Osramlampe in 1 m Entfernung), während die übrigen Kolben unter sonst gleichen Bedingungen völlig dunkel aufbewahrt wurden. Die Pilze wuchsen in den belichteten Kolben durchschnittlich wenig schneller als in den verdunkelten Gefäßen. Die Unterschiede waren aber prozentual nur gering, und es ist nicht ausgeschlossen, daß der kleine Wachstumsunterschied auf eine bloße Strahlungswärmewirkung der drei Monate dauernden Belichtung zurückzuführen ist.

2. Versuch: Die Versuchsanlage war analog wie bei Versuch 1. An die Stelle der künstlichen Belichtung trat jedoch das diffuse Tageslicht. Der Versuch ergab, daß dieses auf die Entwicklung von Flechtenpilzen praktisch keinen Einfluß ausübt.

3. Versuch: Hier zeigte sich, daß direktes Sonnenlicht das Wachstum von Flechtenpilzen stark hemmt und in manchen Fällen fast ganz unterdrückt (Abbildungen 1 a und 1 b). Wie schon bei Versuch 1 stellt sich analog hier die Frage, ob die Wachstumshemmung nicht zum Teil auf eine Wärmewirkung der direkt auftreffenden Sonnenstrahlen zurückzuführen sei. Denn obwohl der Versuch im Winter begonnen wurde, konnten doch die direkten Strahlen die Pilzthalli erwärmen. Durch künstliche Kühlung ließ sich diese Strahlungswärmewirkung nicht ganz ausschalten, und neben anderen Faktoren ist vielleicht sie für die Wachstumshemmung verantwortlich.

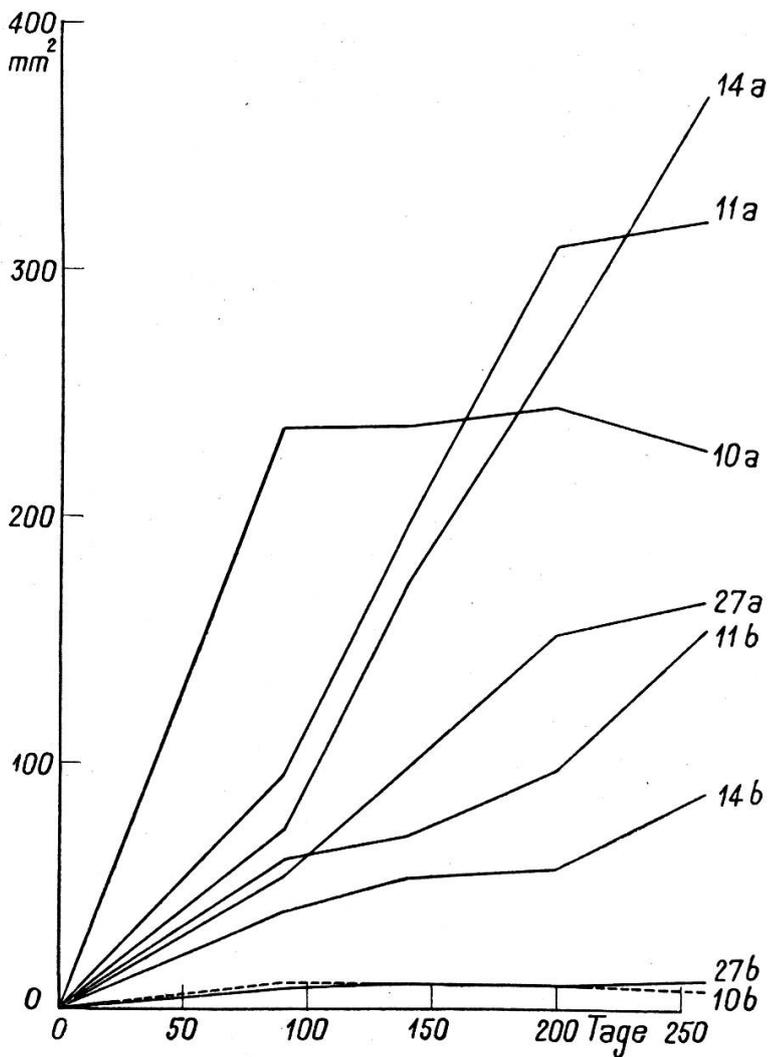


Abbildung 1 a
 Der Einfluß des direkten Sonnenlichtes auf das Flächenwachstum der Flechtenpilze *Physciomyces pulverulentae* (10), *Placodiomyces saxicolae* (11, 14) und *Lecanoromyces subfuscae* (27). a = verdunkelte, b = belichtete Kulturen. Abszisse: Versuchsdauer. Ordinaten: Thallusfläche

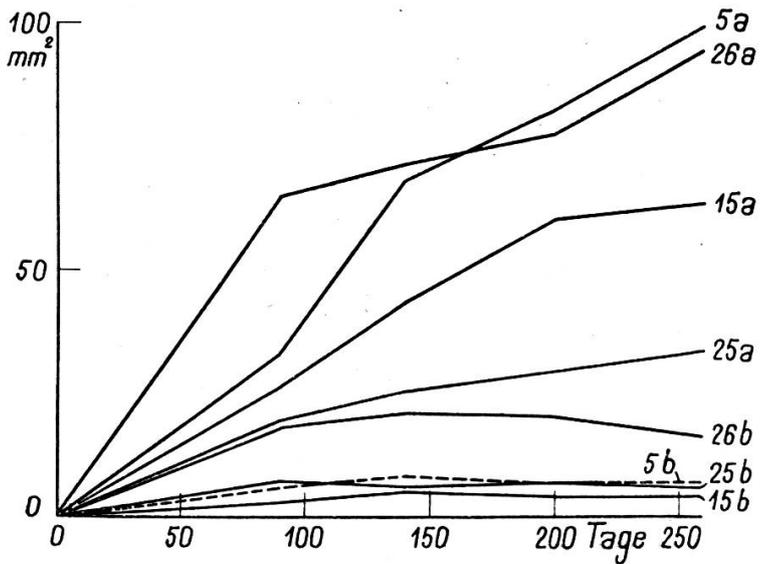


Abbildung 1 b
 Der Einfluß des direkten Sonnenlichtes auf das Flächenwachstum der Flechtenpilze *Xanthoromyces parietinae* (5), *Caloplacomycetes aurantiacae* (15), *Lecideomyces parasemae* (25) und *Graphidomyces scriptae* (26). a = verdunkelte, b = belichtete Kulturen. Abszisse: Versuchsdauer. Ordinaten: Thallusfläche

Der mikroskopische Vergleich der besonnten Pilzlager mit den in Dunkelheit gezogenen ergab geringe Unterschiede in der Ausbildung der Hyphen: die belichteten waren durchschnittlich etwas schlanker; sie wiesen weniger Anschwellungen auf als die dunkel gehaltenen.

3. Die Auswertung der Versuche

a) Die Charakterisierung der Kulturen

Die einwandfreieste Auswertungsmethode bei Wachstumsversuchen besteht in der Bestimmung des Trockengewichtes der gebildeten Pilzthalli. Diese Methode läßt sich ohne größere Schwierigkeiten anwenden, wenn die Versuchsobjekte in flüssigem Medium gezogen werden und in kürzerer Zeit zuverlässig meßbare Trockensubstanzmengen bilden. Beide Voraussetzungen treffen für Flechtenbildner nicht zu: *Flechtenpilze* wachsen, wie schon erwähnt, in Nährlösungen schlecht oder gar nicht. So müssen sie auf festen Substraten gezogen werden. Vom Agar oder anderen Unterlagen lassen sich aber die Thalli nur schwer sauber ablösen, und zudem ist ihr Wachstum so langsam, daß oft nach mehreren Monaten noch keine einwandfrei wägbaren Mengen gebildet sind. So wurde das Flächenwachstum der Pilze als entscheidendes Kriterium der Auswertung der Versuche zugrunde gelegt. Doch muß man sich klar sein, daß die Messung des Flächenwachstums allein gelegentlich zu Trugschlüssen führen kann, indem bei gleicher Flächenentwicklung zweier Pilze doch die Myzelmengen verschieden sein können, wenn Lager verschieden dicht und üppig entwickelt sind. Es ist daher nötig, auch dem gesamten Habitus der Thalli ein genaueres Augenmerk zu schenken, wenn sich Unterschiede zeigen. *Flechtenalgen* entwickeln sich zwar meist auch in Nährlösungen. Das Wachstum ist aber so langsam, daß sich in nützlicher Frist keine zuverlässigen Wägungen durchführen lassen. So griff ich auch hier zur Flächenmessung der auf festen Nährböden gebildeten Kolonien.

Waren die Pilzthalli, bzw. die Algenkolonien rund, so wurde der Durchmesser gemessen und daraus die Fläche nach der Formel $F = \frac{1}{4} d^2 \pi$ berechnet. Hatten die Kulturen ovale oder unregelmäßige Umgrenzungen, wurde der Kreisflächenberechnung das arithmetische Mittel aus dem größten und kleinsten Durchmesser zugrunde gelegt.

Die Zahlenangaben bei den Farben der Kulturen beziehen sich auf die Nummern im « Code des couleurs » von K l i n c k s i e c k et V a l e t t e (1908).

b) Die Aneurinbestimmung

Der *qualitative* Nachweis von Aneurin in beliebigen Substanzen ist leicht so zu führen, daß man die Substanz einem vitaminfreien Nährboden beifügt, darauf einen aneurin-heterotrophen Pilz impft und sein Wachstum mit der Entwicklung auf dem Kontrollsubstrat vergleicht.

Für die *quantitative* Aneurinbestimmung benützte ich den *Phycomyces*-Test in seiner Mikroform nach Schopfer und Jung (1938). Das Vorgehen sei an einem Beispiel erläutert:

Es sollte der Aneurin Gehalt der Flechte *Placodium saxicola* bestimmt werden. Einige Thalli wurden im Thermostaten bei 90° während 6 Stunden getrocknet und dann zu einem feinen Pulver zerrieben. In je fünf Reagenzgläser, von denen jedes 3 cm³ Nährlösung nach Schopfer enthielt, wurden nun 5, 10, 20, 40 und 80 mg Trockensubstanz gegeben und sterilisiert. Darauf wurden die Reagenzgläser mit einer Sporensuspension von *Phycomyces Blakeesianus* Bgff. beimpft. Die Vergleichsreihe enthielt an Stelle der Flechtensubstanz als Zusatz zur Nährlösung eine genau bekannte Menge Aneurin. Diese Standardreihe wurde für jeden Versuch neu hergestellt. Der Testpilz bildete nun ein Luftmyzel in den Gläschen, dessen Höhe vom Aneurin Gehalt der Nährlösung abhing. Die Myzelhöhe wurde nach zehn Tagen gemessen, und aus dem Vergleich der Myzelhöhen in den Flechtengläschen und den Gläschen der Standardreihe konnte auf den Aneurin Gehalt der Flechte geschlossen werden.

Schopfer und Jung (1938) benützten den Test in dieser Form für die Bestimmung des Aneurin Gehaltes der Leber, des Blutes, des Herzens und anderer Organe bei gesunden und avitaminotischen Ratten. Auch Hurni (1944) ging im Prinzip gleich vor, wandte aber den Test in seiner Normalform (Bestimmung des Trockengewichtes von *Phycomyces*) an.

Ohne auf die Einzelheiten einzugehen, sei darauf hingewiesen, daß die Methode nur dann reproduzierbare Resultate liefert, wenn Aneurin in so kleinen Mengen vorliegt, daß es den begrenzenden Wachstumsfaktor für den Testpilz darstellt. Wenn Aneurin in genügender Dosis oder im Überschuß vorhanden ist (d. h. mehr als 0,016 γ pro cm³), entwickelt sich *Phycomyces* optimal. Die Höhe des Überschusses beeinflußt die Entwicklung nicht; daher kann bei optimalem Wachstum des Testpilzes nicht auf die Aneurinmenge geschlossen werden. Ebenso werden die Resultate falsch, wenn Stickstoff in suboptimaler Menge oder nur in schwer assimilierbarer Form in der Nährlösung vorliegt; denn dann wird er neben dem Aneurin zum begrenzenden Wachstumsfaktor.

c) Die statistische Bearbeitung

Die Mittelwerte und der mittlere Fehler in den Versuchsreihen wurden nach den Tabellen von Zöller (1925) bestimmt:

$$\text{Mittlerer Fehler: } m = \sqrt{\frac{\sum a^2}{n(n-1)}}$$

a = Abweichung der Einzelmessungen vom Mittelwert

n = Zahl der Einzelmessungen

Die Variationskurven bei der Bestimmung des Algenmaterials beruhen auf der Messung von je 200 Zellen, für die das arithmetische Mittel und die Streuung nach den Formeln von J o h a n n s e n (1926) berechnet wurden:

$$\text{Mittelwert: } M = \sum \frac{pa}{m}$$

$$\text{Streuung: } \sigma = \pm \sqrt{\sum \frac{pD^2}{n}}$$

wobei a = Klassenwerte
 p = Frequenz der einzelnen Klassenwerte
 n = Gesamtzahl der Individuen
 D = Abweichung vom Mittelwert
 bedeuten.

C. Das Versuchsmaterial

1. Übersicht

Als Versuchsobjekte brauchte ich die Komponenten der in Tabelle 2 aufgeführten Flechten. In der Bezeichnung der rein kultivierten Flechtenpilze folgte ich T h o m a s (1939), der auf einen Vorschlag von Herrn Professor E. G ä u m a n n seine Pilze nach der Flechte benannte, aus der sie isoliert worden waren: Dem Gattungsnamen der Flechte wurde die Endung *-myces* angefügt, während der Artnamen in den Genitiv gesetzt wurde. Der Pilz der Flechte *Xanthoria parietina* wird so zu *Xanthoromyces parietinae* usw.

Über die Algengattung *Cystococcus* Naegeli existiert keine neuere Monographie, was die Bestimmung meiner Arten erschwerte. So gelang mir an Hand der verstreuten Literatur in keinem Fall eine eindeutige Identifizierung meiner Klone mit schon beschriebenen Arten. Ich bezeichnete daher meine Formen einfach mit dem Gattungsnamen *Cystococcus* und dem Namen der Flechte, aus der sie isoliert wurden und fügte dieser Bezeichnung eine Nummer an. Über *Coccomyxa* Schmidle verfaßte J a a g (1933) eine Monographie, die der Bestimmung meiner drei Klone zugrunde gelegt wurde. Deren zwei konnten denn auch mit schon bekannten Arten identifiziert werden, während der dritte Klon offenbar eine bisher nicht beschriebene Form darstellt. Ein *Chlorella*-Beijerinck-Klon konnte ebenfalls nicht eindeutig bestimmt werden. Da es überdies unsicher ist, ob es sich um die Gonidie der Flechte *Lecidea parasema* handelt, bezeichne ich die Alge einfach mit « *Chlorella* Nr. 2500 ».

Tabelle 2

Übersicht über die Versuchsobjekte

Physcia pulverulenta Schreb. Flechte Nr. 10
 Pilz: *Physciomyces pulverulentae* Nr. 10
 Alge: Nicht isoliert.

- Xanthoria parietina* (L.) Th. Fries Flechte Nr. 5
 Pilz: *Xanthoriomyces parietinae* Nr. 5
 Alge: *Cystococcus Xanthoriae parietinae* Nr. 500
- Xanthoria parietina* (L.) Th. Fries Flechte Nr. 17
 Pilz: Nicht isoliert
 Alge: *Cystococcus Xanthoriae parietinae* Nr. 1700
- Xanthoria parietina* (L.) Th. Fries Flechte Nr. 18
 Pilz: Nicht isoliert.
 Alge: *Cystococcus Xanthoriae parietinae* Nr. 1800
- Xanthoria parietina* (L.) Th. Fries Flechte Nr. 19
 Pilz: Nicht isoliert
 Alge: *Cystococcus Xanthoriae parietinae* Nr. 1900
- Placodium saxicola* Poll. Flechte Nr. 11
 Pilz: *Placodiomyces saxicolae* Nr. 11
 Alge: *Cystococcus Placodii saxicolae* Nr. 1100
- Placodium saxicola* Poll. Flechte Nr. 14
 Pilz: *Placodiomyces saxicolae* Nr. 14
 Alge: *Cystococcus Placodii saxicolae* Nr. 1400
- Placodium circinatum* Pers. Flechte Nr. 16
 Pilz: *Placodiomyces circinati* Nr. 16
 Alge: *Cystococcus Placodii circinati* Nr. 1600
- Caloplaca aurantiaca* Lightf. Flechte Nr. 15
 Pilz: *Caloplacomycetes aurantiacae* Nr. 15
 Alge: *Cystococcus Caloplacae aurantiacae* Nr. 1500
- Lecidea parasema* Ach. Flechte Nr. 25
 Pilz: *Lecideomyces parasemae* Nr. 25
 Alge: *Chlorella* Nr. 2500
- Graphis scripta* L. Flechte Nr. 26
 Pilz: *Graphidomyces scriptae* Nr. 26
 Alge: Nicht isoliert
- Lecanora subfusca* L. Flechte Nr. 27
 Pilz: *Lecanoromyces subfuscae* Nr. 27
 Alge: Nicht isoliert
- Solorina saccata* L. Flechte Nr. 4
 Pilz: Nicht isoliert
 Alge: *Coccomyxa ellipsoidea (Solorinae saccatae)* Zehnder Nr. 400
- Peltigera aphthosa* L. Flechte Nr. 6
 Pilz: Nicht isoliert
 Alge: *Coccomyxa peltigerae variolosae* Jaag Nr. 600
- Peltigera canina* L. Flechte Nr. 7
 Pilz: Nur Keimversuche
 Alge: Nicht isoliert
- Icmadophila ericetorum* L. Flechte Nr. 8
 Pilz: Nicht isoliert
 Alge: *Coccomyxa icmadophilae* Jaag Stamm 4 Nr. 800

2. Beschreibung der einzelnen Objekte

Physcia pulverulenta Flechte 10. Die Flechte wurde im Dezember an einem Zwetschgenbaumstamm in Obersiggenthal gesammelt.

Reinkultur des Flechtenpilzes: In 9 von 15 beimpften Reagenzgläschen wuchsen im Verlauf von drei Monaten weiße Kulturen von 3 mm Durchmesser heran. Auf Malzagar bildet der Pilz verhältnismäßig flache Thalli von mattweißer Farbe (Nr. 153 B) und regelmäßig runder Form. Im Zentrum der Kulturen treten würstchenförmige Erhebungen auf, die unregelmäßig verlaufen, gegen den Rand der Kulturen aber eine radiale Richtung aufweisen. Der Thallus flacht sich außen allmählich gegen das Substrat ab. Der Pilz zeichnet sich durch sein relativ rasches Wachstum aus: Myzelstücklein von 1 mm Durchmesser bilden auf Malzagar im Verlaufe von sechs Wochen Thalli von 8 bis 10 mm Durchmesser. Die Hyphen des Pilzes sind hyalin, septiert und öfters verzweigt. Sie zerfallen sehr leicht, wenn sie unter dem Deckglas gedrückt werden. Häufig treten Anschwellungen auf, die vielleicht auf Überernährung durch den Malzagarboden zurückzuführen sind.

Xanthoria parietina Flechte 5. Ende April sammelte ich zahlreiche fruchtende Lager der Art an einem Nußbaumstamm.

Reinkultur des Flechtenpilzes: Die sorgfältig gewaschenen Apothecien schleuderten in Petrischalen zahlreiche Sporen. Äußerer Umstände wegen konnten aber keine Sporen isoliert werden, und die Fruchtkörper blieben zehn Tage in der trockenen Laboratoriumsluft liegen. Nach dieser Zeit befeuchtete ich die Apothecien wieder, worauf innert 4 Stunden eine große Menge von Sporen geschleudert wurde. Nach zwei Tagen wiesen 40 % der auf Malzagar liegenden Sporen Keimschläuche von Sporenlänge auf (cf. dagegen W e r n e r , 1927, S. 25: « Avril et début mai fournissent une projection abondante de spores, ... mais, déjà, aucune ne germe plus »). Keimende Sporen wurden in Reagenzgläser übertragen. Nach einem Monat zeigten sich in sechs Röhren Pilzthalli von 0,5 mm Durchmesser und oranger Farbe. Gleichzeitig wurde die Sporenkeimung in den Petrischalen weiter verfolgt. Zehn Tage nach der Ejakulation keimten fast 100 % der Sporen. Die Hyphen wiesen drei- bis fünffache Sporenlänge auf; sie waren reich septiert und zeigten zum Teil bereits Verzweigungen. Das Bild stimmte mit den Zeichnungen, die W e r n e r (1927) gibt, überein. Auf Malzagar besitzen die Pilzkulturen die Farbe Orange 137. Sie gleichen kleinen, reich gegliederten Bergen. Die einzelnen Thalli sind im allgemeinen isodiametrisch, zeigen aber nicht die gleichmäßig runde Form von *Physciomyces pulverulentae*. Der Durchmesser von sechswöchigen Kulturen beträgt 3 bis 4 mm.

Reinkultur der Flechtenalge: Nur in zwei von 25 beimpften Röhren wuchsen im Verlaufe von acht Wochen Algenkolonien von gleichem

Aussehen heran. Der Habitus der Kolonien zeigte, daß es sich um einen Vertreter der Gattung *Cystococcus* handelte.

Auffallend ist bei diesem Klon die hohe Temperaturempfindlichkeit: Kolonien, die sich längere Zeit auf über 20° erwärmen, verfärben sich

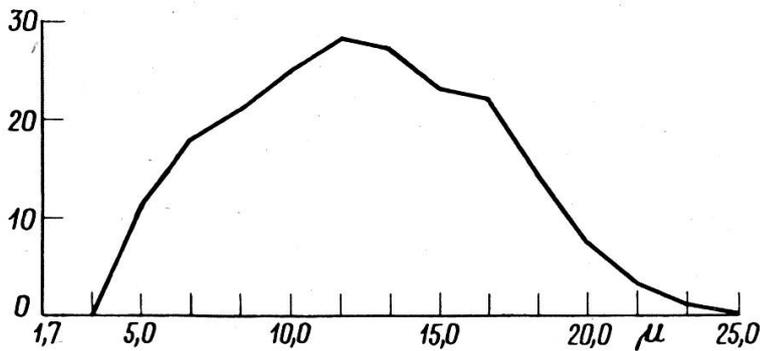


Abbildung 2
Cystococcus Xanthoriae parietinae Nr. 500.
Variationskurve des Zeldurchmessers auf K n o p - Glukoseagar

regelmäßig weiß und gehen zugrunde, während *Cystococcus*-Klone aus anderen Flechten bei gleichen Temperaturen noch normal grün bleiben. Auch Thomas (1939) gibt für *Cystococcus* aus *Xanthoria parietina*

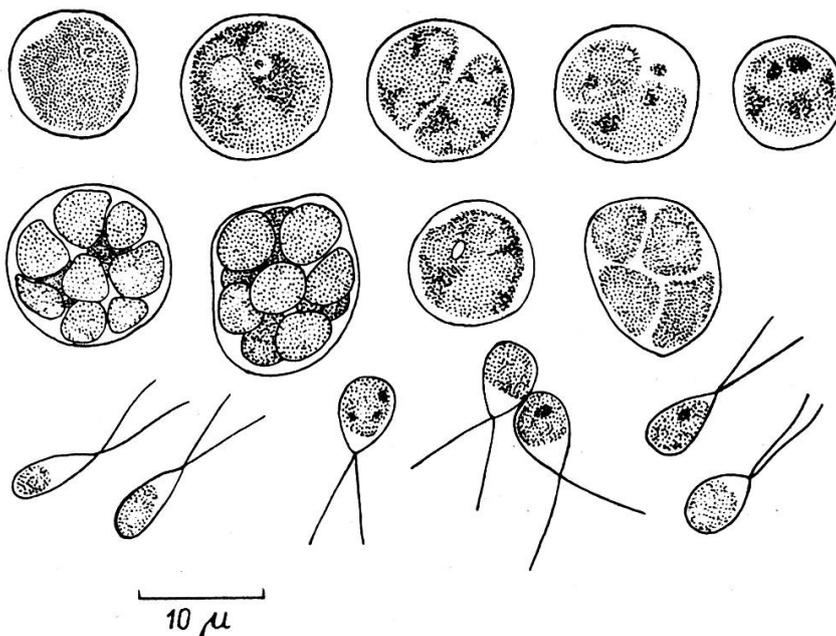


Abbildung 3
Cystococcus Xanthoriae parietinae Nr. 500. Zellformen, Auto-
sporenbildung, Zoosporen. K n o p - Glukoseagar

ein niedriges Temperaturoptimum (12 bis 15°) an. Die Farbe von 7 Monate alten Kolonien aus K n o p - Glukoseagar ist dunkelgrün (305), ihr Durchmesser erreicht 7 bis 8 mm, die Oberfläche ist matt und körnig,

der Rand der Kolonien unregelmäßig gelappt; ihre Höhe beträgt 5 bis 6 mm. Der mittlere Durchmesser der Einzelzellen beträgt $12,1 \pm 4,66 \mu$ bei einer Variationsbreite von 4,2 bis $22,5 \mu$. Die Vermehrung der Zellen erfolgt durch Autosporen und Zoosporen. Die Gestalt der letzteren ist ziemlich variabel: Neben schlanken treten auch mehr rundliche Formen auf (Abbildung 3). Ihre Bildung kann gefördert werden, wenn man die Algenaufschwemmung auf dem Objektträger eintrocknen läßt und nach zirka 1 bis 2 Stunden wieder benetzt.

Xanthoria parietina, Flechten 17, 18, 19. Herr Dr. P. F. Greter übersandte mir Mitte Oktober 1945 drei Thalli der Flechte von verschiedenen Substraten aus Engelberg.

Reinkultur der Flechtenalgen: Von allen drei Lagern isolierte ich nur die Alge, und zwar übertrug ich je zwölf Zellen in Reagenzgläser auf Malzagar. Schon nach drei Wochen zeigten sich in einem großen Teil der Röhrechen makroskopische Algenkolonien, die bald durch ihren flächenhaften Wuchs auffielen. Es handelte sich um *Cystococcus*-Algen. Die Klone, die aus der gleichen Flechte stammten, stimmten völlig miteinander überein. Dagegen zeigten sich zwischen den Klonen, die von verschiedenen Flechten stammten, geringe Unterschiede: Die Kolonien aus der Flechte 17 waren kreisrund und dunkelgrün gefärbt; der Durchmesser betrug nach acht Wochen 6 mm. Die Kolonien aus der Flechte 18 stimmten in Form und Farbe mit denen aus der Flechte 17 überein, dagegen war ihr Wachstum langsamer. Die Kolonien aus der Flechte 19 unterschieden sich schon durch Form und Farbe von den beiden andern Stämmen: Sie waren hellgrün, flacher ausgebreitet und wiesen am Rande kleine Lappen auf, die bei den andern Formen fehlten. Die Gläschen mit diesen Kulturen blieben im Frühjahr eine Zeitlang unbeachtet im Versuchshaus. Dabei stieg die Temperatur offenbar so hoch, daß sich sämtliche Kolonien weiß färbten und zugrunde gingen, während die *Cystococcus*-Klone aus andern Flechten keinen Schaden nahmen. Alle drei Stämme waren gegen hohe Temperaturen noch empfindlicher als Klon 500. Es scheint, die große Empfindlichkeit gegen hohe Temperaturen sei ein gemeinsames Merkmal aller *Cystococcus*-Klone aus der Flechte *Xanthoria parietina*.

Placodium saxicola, Flechte 11. Der Thallus stammte von einem Nagelfluhblock auf dem Homberg im Siggental; er wurde Mitte Juli gesammelt.

Reinkultur des Flechtenpilzes: 20 % der auf Malzagar geschleuderten Sporen zeigten nach zwei Tagen Keimschläuche von etwa doppelter Sporenlänge. In fünf Gläschen wuchsen gekeimte Sporen in fünf Monaten zu tiefschwarzen Thalli von 3 bis 10 mm Durchmesser heran. Da *Placodiomyces saxicolae* bisher nie isoliert und untersucht worden

war, sollten die Temperaturansprüche abgeklärt werden. Die Resultate des Versuches sind in Abbildung 4 dargestellt.

Die Farbe der Kulturen blieb bei allen Temperaturen gleich samt-schwarz; in der Wuchsform zeigten sich kaum Unterschiede. Die Wachstumskurve fügt sich in die Kurven ein, die T h o m a s (1939) von seinen Flechtenpilzen gibt. Die Hyphen des Pilzes haben einen Durchmesser von 2 bis 3 μ . Sie zeigen spärliche Septierung. Häufig sind sie verzweigt und weisen tröpfchenartige Einschlüsse auf. Eine Einzelhyphne ist fast hyalin; sobald aber viele übereinandergeschichtet vorliegen, tritt die schwarze Färbung zutage. Wird der Pilz auf günstigem Substrat, etwa auf Malzagar, gezogen und in feuchter Atmosphäre gehalten, so treten an den Kolonien auffällige stachelartige Auswüchse von 1 bis 2 mm Länge auf, die radial aus dem halbkugeligen Thallus herauswachsen. Auf nährstoff-

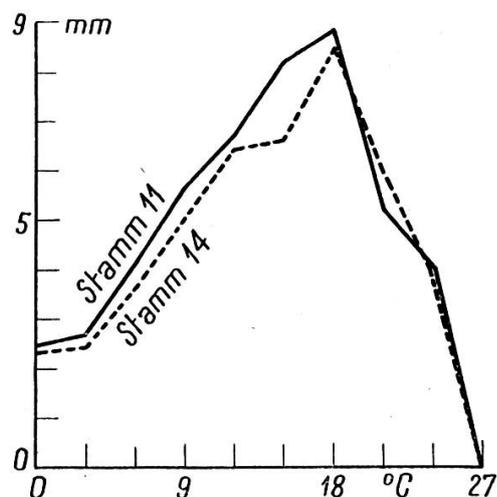


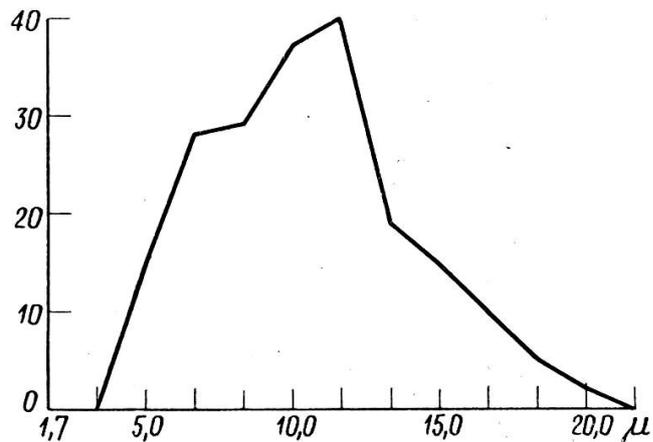
Abbildung 4
Einfluß der Temperatur auf das Wachstum von *Placodiomyces saxicola*, Nrn. 11 und 14. Abszisse: Temperatur. Ordinaten: Thallusdurchmesser. Versuchsdauer 150 Tage

armem Substrat zeigt der Pilz einen ausgesprochen flächenhaften Wuchs. Die Wachstumsgeschwindigkeit ist für einen Flechtenpilz ziemlich groß; sie wird unter meinen Objekten nur noch durch die von *Physciomyces pulverulentae* übertroffen. Sechs Wochen alte Kulturen auf Malzagar besitzen Durchmesser von 4 bis 5 mm.

Reinkultur der Flechtenalge: Im Verlaufe eines Monats wuchsen aus Einzelzellen sechs Klone von je 0,5 mm Durchmesser heran, die sich als identisch erwiesen. In K n o p - Glukoselösung wächst die Alge gut. Nach zehn Wochen sind die beimpften Lösungen grün verfärbt. Während aber bei den *Coccomyxa*-Klonen die Verfärbung für das unbewaffnete Auge homogen ist, lassen sich bei *Cystococcus* 1100 schon makroskopisch kleine, eben noch erkennbare Klümpchen unterscheiden, welche in der Nährlösung schweben oder auf dem Kolbenboden liegen. Der Durchmesser der einzelnen Klümpchen übersteigt 0,2 mm nicht. Auf K n o p - Glukoseagar haben die Kolonien eine pustelige Oberfläche. Ihr Umriß ist rundlich; am Rande treten kleine unregelmäßige Lappen

auf. Anfänglich ist die Form der Kolonien mehr oder weniger halbkugelig, später ist das Wachstum flacher. Bei älteren Kulturen (7 Monate) ist der Rand leicht aufgewölbt; die Farbe ist gelbgrün (207). Nach zwei Monaten besitzen die Kulturen Durchmesser von 4 bis 10 mm, dann

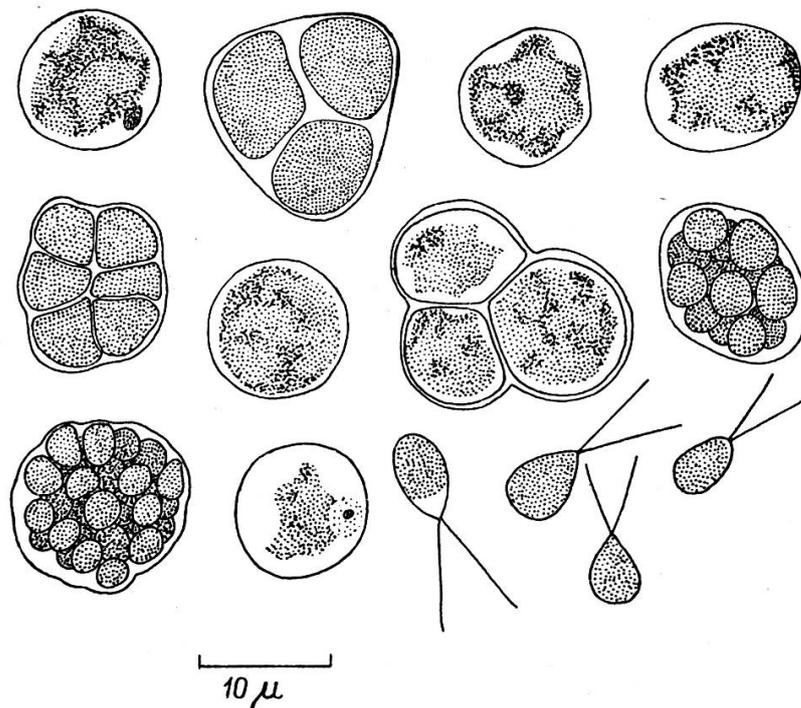
Abbildung 5
Cystococcus Placodii saxicolae
 Nr. 1100. Variationskurve der
 Zelldurchmesser auf K n o p -
 Glukoseagar



verlangsamt sich das Wachstum und kommt praktisch bei einem Koloniedurchmesser von 10 bis 12 mm zum Stillstand.

Die Einzelzellen sind kugelige, typische *Cystococcus*-Algen. Ihr mittlerer Durchmesser beträgt $10,2 \pm 3,48 \mu$ bei einer Variationsbreite von

Abbildung 6
Cystococcus Placodii
saxicolae Nr. 1100.
 Zellformen, Auto-
 sporenbildung, Zoo-
 sporen. K n o p -
 Glukoseagar



4 bis 20μ (Abbildung 5). Die Vermehrung erfolgt durch Autosporen und Zoosporen. Ich zählte in einer Mutterzellmembran bis zirka 60 Autosporen; ihre Zahl scheint aber in älteren Kolonien im allgemeinen kleiner zu sein. So fanden sich in 12 Monate alten Kulturen selten mehr als acht

in einer Mutterzelle. In jüngeren Kolonien treten Zoosporen in großer Zahl auf. Sie scheinen gegen Wärme recht empfindlich zu sein, verschwinden sie doch unter dem Mikroskop schon bald, wenn mit künstlicher Beleuchtung gearbeitet wird. Die Form der Zoosporen erweist sich als ziemlich einheitlich eiförmig.

Placodium saxicola, Flechte 14. Ich sammelte die Flechte im Oktober 1945 auf einem Nagelfluhblock unweit des Fundortes von Flechte 11.

Reinkultur des Flechtenpilzes: In vier Reagenzgläschen entwickelten sich aus Ascosporen Pilzlager von gleicher Beschaffenheit wie bei Flechte Nr. 11. Temperaturansprüche (Abbildung 4), Wachstumsgeschwindigkeit und die anderen Eigenschaften stimmen praktisch mit denen des Pilzes Nr. 11 überein.

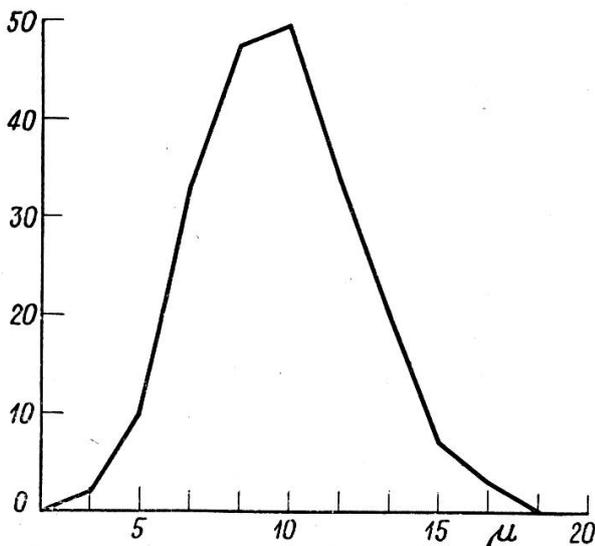


Abbildung 7
Cystococcus Placodii saxicolae
Nr. 1400. Variationskurve der Zelldurchmesser auf K n o p - Glukoseagar

Reinkultur der Flechtenalge: Die Klone, die aus Zellen dieser Flechte heranwuchsen, zeigten sofort deutliche Unterschiede gegenüber Klon 1100. In K n o p - Glukoselösung bildet die Alge zahlreiche frischgrüne Klümpchen, deren Durchmesser im Maximum 1 bis 1,5 mm erreicht. Sie schweben in der Lösung oder setzen sich auf den Boden des Kulturgefäßes, ohne aber zu haften; denn bei geringstem Schütteln werden sie aufgewirbelt. Auf K n o p - Glukoseagar haben die Kolonien eine körnige Oberfläche. Ihr Umriß ist ziemlich unregelmäßig, gelegentlich sternförmig. Die Kolonien sind relativ hoch; bei einem Durchmesser von durchschnittlich 8 mm nach 7 Monaten erreicht die Höhe 6 bis 7 mm. Die Farbe verschiebt sich ähnlich wie bei Klon 1100 im Laufe der Zeit von Hellgrün gegen Gelb und erreicht schließlich den Ton Nr. 207. Doch bleibt bei Klon 1400 meist ein schmaler Rand der Kulturen hellgrün (276), eine Erscheinung, die ich bei Klon 1100 nie beobachten konnte.

Die kugeligen Einzelzellen haben einen mittleren Durchmesser von $9,4 \pm 2,60 \mu$ bei einer Variationsbreite von 3,3 bis $16,7 \mu$. Die Vermehrung

rung erfolgt durch Autosporen und Zoosporen. Gewöhnlich werden in einer Mutterzelle nicht viele Autosporen gebildet; nur selten zählte ich deren mehr als acht. Die Zoosporen fallen durch ihre Größe auf: Die Länge (ohne Geißeln) kommt dem Durchmesser einer ausgewachsenen Zelle fast gleich. Die Zoosporen sind schlank. Im Querschnitt ist ihr Körper stark abgeplattet; die ständige Drehung um die Längsachse bei der Vorwärtsbewegung ist daher bei diesen Formen sehr schön zu sehen. Daneben treten aber auch mehr rundliche Formen auf. Die Bildung von Zoosporen läßt sich bei diesem Klon besonders stark durch ein- bis zweistündige Austrocknung des Algenmaterials auf dem Objektträger fördern. Nach der Wiederbefeuchtung treten die Zoosporen in verwirrender Fülle auf.

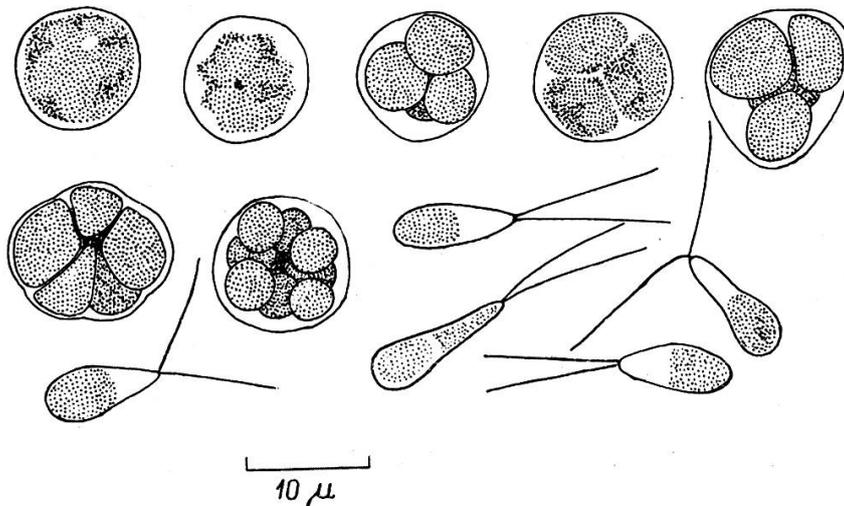


Abbildung 8

Cystococcus Placodii saxicolae Nr. 1400. Ausgewachsene Zellen, Autosporenbildung, Zoosporen. K n o p - Glukoseagar

Placodium circinatum, Flechte 16. Die Flechte wurde am gleichen Nagelfluhblock wie *Placodium saxicola* Nr. 14 gesammelt.

Reinkultur des Flechtenpilzes: Innert fünf Stunden schleuderten Apothecien reichlich Sporen. Doch entwickelte sich nur in einem Reagenzglaschen auf Malzagar in zwei Monaten ein weißer Pilzthallus von 1 mm Durchmesser. Der Pilz stellte das Wachstum bald darauf ein. Die Beigabe seiner natürlichen Algenkomponente zum Nährboden löste auch keine Weiterentwicklung aus.

Reinkultur der Flechtenalge: Es entwickelten sich insgesamt elf Klone, die unter sich identisch waren. In K n o p - Glukoselösung wächst die Alge nur langsam. Sie bildet kleine, von bloßem Auge eben noch sichtbare Klümpchen, die in der Flüssigkeit schweben. Am Boden und an der Wand des Gefäßes haften die Algenklümpchen nicht. Auf festem Nährboden erinnern junge Kolonien in ihrem Habitus entfernt an

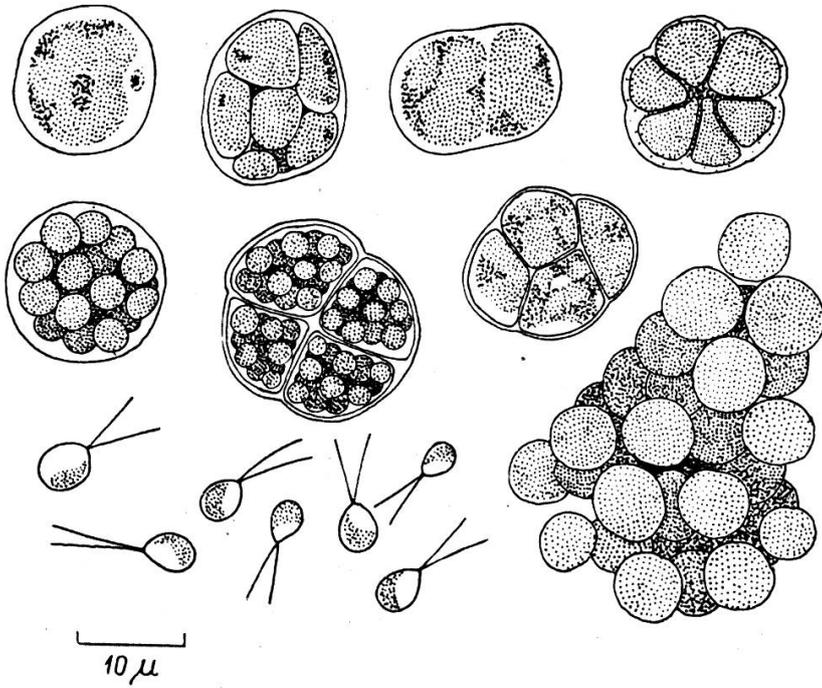


Abbildung 9

Cystococcus Placodii circinati Nr. 1600. Ausgewachsene Zellen, Autosporenbildung, Klumpen von jungen Zellen, Zoosporen. Knop - Glukoseagar

Coccomyxa-Kolonien: Die Oberfläche ist glatt. Während aber die glatte Oberfläche der *Coccomyxa*-Kolonien glänzt, ist die der Kolonien der Alge 1600 matt. Die Farbe der Kulturen ist zuerst sehr dunkelgrün, wird

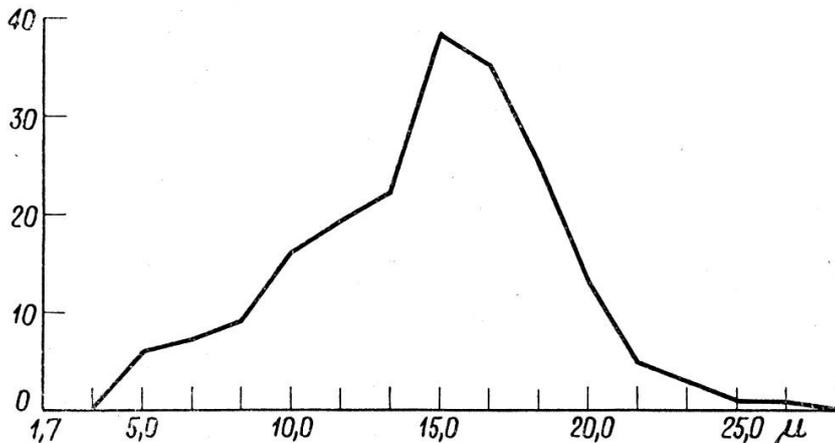


Abbildung 10

Cystococcus Placodii circinati Nr. 1600. Variationskurve der Zelldurchmesser auf Knop - Glukoseagar

aber allmählich hell und erreicht schließlich den Ton 181. In der Mitte sind manche Kolonien fast weiß gefärbt. Ihr Durchmesser beträgt nach 7 Monaten 9 bis 10 mm.

Unter dem Mikroskop ist die Zugehörigkeit zur Gattung *Cystococcus* ohne weiteres zu erkennen: kugelige Zellen mit sternförmigem Chroma-

tophor und deutlich sichtbarem Pyrenoid. Als mittleren Zelldurchmesser bestimmte ich $14,3 \pm 4,29 \mu$ bei einer Variationsbreite von 5 bis 27μ . Die Vermehrung erfolgt auch hier durch Autosporen und Zoosporen. Die Zahl der Autosporen innerhalb einer Mutterzellmembran kann sehr groß werden (über 60). Gelegentlich konnte ich auch Zellen feststellen, in deren Innerem sich wenige Autosporen befanden, die selber schon wieder Tochterzellen beherbergten. Auffallend ist an diesem Klon die Zusammenballung vieler Einzelzellen zu Zellklumpen. Die Zoosporen scheinen seltener aufzutreten als etwa bei Klon 1100. Vor allem gelang es mir nicht, durch vorübergehende Austrocknung eines Algenklümpchens Zoosporen in beliebig großer Zahl zu bekommen. Nicht selten traten sie jedoch in Kulturkolben auf, die einige Tage in der Kälte (0 bis 5°) gestanden waren. Sie zeigten fast runde Form und waren bedeutend kleiner als ausgewachsene Zellen.

Caloplaca aurantiaca, Flechte 15. Die Flechte stammte von einem Molassesandstein auf dem Homberg im Siggental.

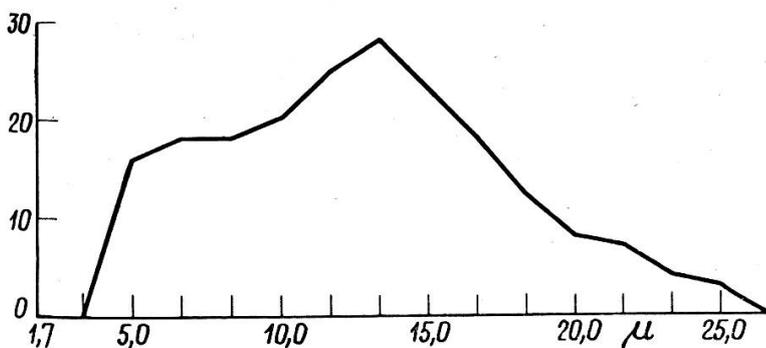


Abbildung 11
Cystococcus Caloplacae aurantiacae Nr. 1500.
Variationskurve der Zelldurchmesser auf Knop-Glukoseagar

Reinkultur des Flechtenpilzes: In einigen Reagenzgläsern wuchsen gelblich-weiße Thalli von ziemlich flacher Form heran. Auf allen Nährböden zeigt dieser Pilz gleichmäßig runde Form und samtartige Thallusoberfläche. Der Durchmesser der Kulturen auf Malzagar erreicht nach sechs Wochen jeweils etwa 3 mm. Die Farbe entspricht dem Ton 153 C. Die Hyphen des Pilzes sind reich septiert, verzweigt und hyalin. Anschwellungen treten häufig auf.

Reinkultur der Flechtenalge: Es gelang die Heranzucht von drei Klonen, die unter sich völlig identisch waren. In Knop-Glukoselösung bildet die Alge kleine Klümpchen, die einen Durchmesser von 3 mm erreichen können. Sie schweben zum Teil in der Lösung, zum Teil sitzen sie am Boden der Kolben und kleben auch etwa am Glasboden fest. Beim Schütteln lösen sie sich in feinen Fetzen los. Auf dem mit Agar verfestigten Milieu zeigen die Kolonien hohe Wuchsform; oft übertrifft die Koloniehöhe den Durchmesser. Die Oberfläche ist körnig und von mattgrüner Farbe. Sieben Monate alte Kulturen erreichen den Farbton 304; ihr Durchmesser beträgt 6 bis 7 mm.

Als Mittelwert für den Zelldurchmesser bestimmte ich $12,5 \pm 4,94 \mu$ (Variationsbreite 4,2 bis 25μ). Die Vermehrung erfolgt durch Autosporen und Zoosporen. Die Zahl der ersteren in einer Mutterzellmembran kann groß werden: ich zählte bis 60 Stück. Freigewordene Autosporen bleiben oft in Klumpen zusammengeballt.

Lecidea parasema, Flechte 25. Der Thallus stammt von einer Esche aus dem Nuechtal (Gemeinde Obersiggenthal).

Isolierung des Flechtenpilzes: Zirka 2 % der geschleuderten Sporen zeigten nach einem Tag Keimschläuche von ungefähr Sporenlänge. Gekeimte Sporen wurden in Reagenzgläser übertragen. In vier Röhrcchen wuchsen im Verlaufe eines Monats Kulturen von 1 mm Durchmesser heran. Die Thalli dieses Pilzes zeigen eine hohe Wuchsform: Die Höhe

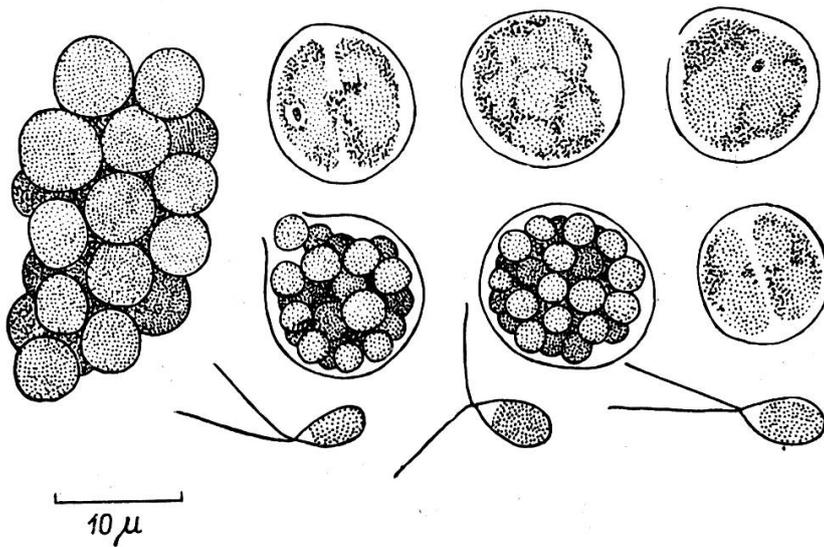


Abbildung 12

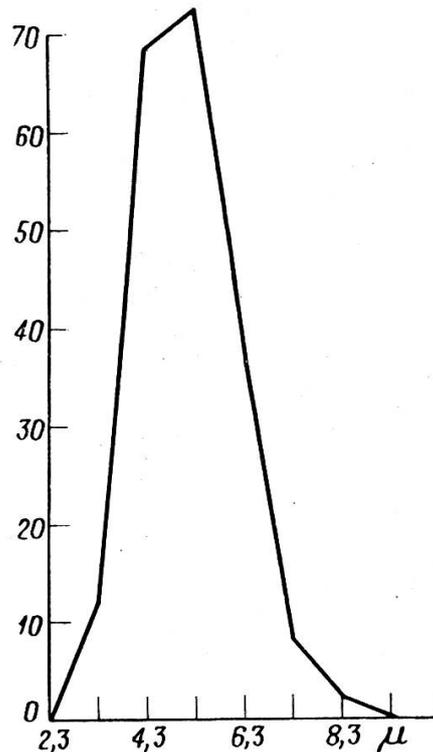
Cystococcus Caloplacae aurantiacae Nr. 1500. Ausgewachsene Zellen, Autosporenbildung, Klumpen von jungen Zellen, Zoosporen. K n o p - Glukoseagar

eines Lagers kommt oft seinem Durchmesser gleich. Der Grundriß ist unregelmäßig breitlappig. Die Farbe der Lager auf Malzagar ist von zartem Rosa (071). Auffallend ist die fast regelmäßig auftretende graue bis braune Verfärbung des Thalluszentrums. Die Wachstumsgeschwindigkeit ist gering: 6 Wochen alte Kulturen besitzen erst einen Durchmesser von 2 bis 3 mm. Die Hyphen sind verzweigt, hyalin und sehr spärlich septiert. Ihr Durchmesser beträgt etwa $2,5 \mu$. Anschwellungen scheinen bei diesem Pilz weniger aufzutreten als bei den anderen untersuchten Arten.

Isolierung der Flechtenalge: Nur in einem Reagenzgläschen entwickelte sich ein Klon. Ob es sich dabei wirklich um die Gonidie von *Lecidea parasema* handelte, konnte nicht sicher entschieden werden. In K n o p - Glukoselösung wächst die Alge gut. Sie verfärbt die Nähr-

lösung bald homogen grün. Auf dem Boden des Versuchskolbens bildet sich ein grüner Satz, der schleimig verfilzt scheint: Beim Schütteln löst er sich in langen Schlieren los, welche erst bei stärkerem Schütteln vollständig zerfallen. Alte Kulturen verfärben sich hellgrün und schließlich gelb. Die Kolonien auf festem Nährboden sehen habituell wie *Coccomyxa*-Kolonien aus: Die Oberfläche glänzt ölig, die Farbe ist gleichmäßig saftgrün und erreicht zuletzt den Ton 276. Der Koloniedurchmesser erreicht nach sieben Monaten 6 bis 10 mm. Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß die Alge 2500 zum Formenkreis von *Chlorella* Beijerinck gehört. Die Zellen sind rund, häufiger leicht oval. Ihre mittlere Länge beträgt $5,2 \pm 1,00 \mu$, die Variationsbreite erstreckt sich von 3,3 bis $8,0 \mu$.

Abbildung 13
Chlorella Nr. 2500
 Variationskurve der Zell-
 länge auf Knop - Glu-
 koseagar



Ein Pyrenoid konnte nicht festgestellt werden. Die Vermehrung erfolgt durch Autosporen, von denen ich bis etwa 16 Stück in einer Mutterzellmembran feststellte. Eine sichere Bestimmung der Art gelang mir nicht.

Graphis scripta, Flechte 26. Ich sammelte die Flechte im März 1946 an einem Hagebuchenstamm.

Reinkultur des Flechtenpilzes: Die ausgeschleuderten Sporen zeigten vereinzelt schon nach einem Tag Keimschläuche. In vier Reagenzgläsern wuchsen innert einem Monat Pilzthalli von 2 mm Durchmesser heran. Auch bei diesem Pilz wachsen die Lager hoch und gleichen steil ansteigenden, reich gegliederten Bergen. Der Grundriß ist isodiametrisch und weist wenig vorspringende Lappen auf. Die Oberfläche zeigt kleine,

pustelige Erhebungen. Die Thalli sind braunrot (113), häufig tritt aber ein weißliches Luftmyzel auf und überdeckt dann die eigentliche Thallusfarbe. Der Durchmesser sechswöchiger Lager auf Malzagar beträgt 4 bis 6 mm. Die Hyphen sind verzweigt, spärlich septiert und häufig bauchig aufgetrieben. Unter dem Mikroskop erscheinen sie leicht gelblich.

Lecanora subfusca, Flechte 27. Die Flechte wurde unweit des Standortes der Flechte 26 an einem Eschenstamm gesammelt.

Reinkultur des Flechtenpilzes: Einen Tag nach der Ausschleuderung wiesen manche Sporen bereits Keimschläuche von Sporenlänge auf. Nach

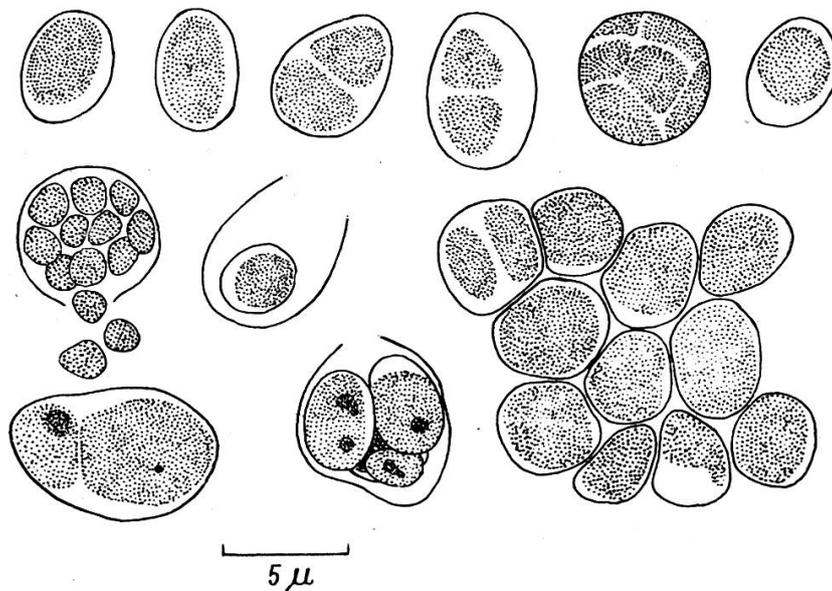


Abbildung 14

Chlorella Nr. 2500. Ausgewachsene Zellen, Autosporenbildung, Zellaggregat. K n o p - Glukoseagar

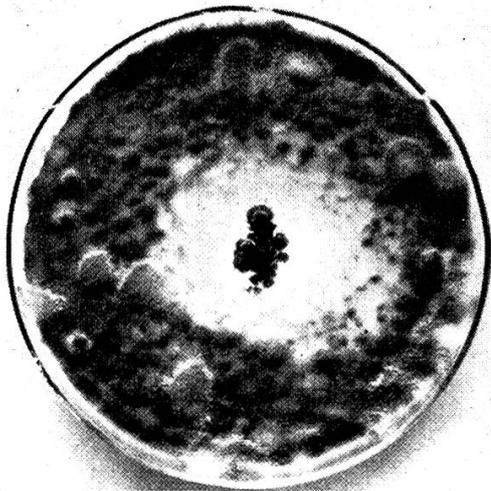
einem Monat waren in vier Reagenzgläschen rosarote Kulturen von 1 bis 2 mm Durchmesser herangewachsen. Die Lager weisen auf Malzagar eine kegelförmige Gestalt auf. Der Umriß zeigt breite Lappen, die Oberfläche ist samtartig. Im Zentrum scheint der Thallus aufzuspringen. Die Farbe ist blaßrosa (116). Das Wachstum ist vor allem am Anfang langsam. Sechs Wochen alte Kulturen besitzen einen Durchmesser von durchschnittlich 3 mm. Die Hyphen sind verzweigt und selten septiert.

Bei einem Wachstumsversuch wurde ein Kolben mit fünf *Lecanoromyces subfuscae*-Kulturen durch ein *Penicillium* infiziert. *Penicillium* entwickelte sich in unmittelbarer Nähe des Flechtenpilzes viel schlechter als in den übrigen Teilen des Kolbens. Bei wiederholten künstlichen Infektionen trat das Phänomen immer wieder auf (Abbildung 15). Es handelt sich möglicherweise um eine antibiotische Wirkung eines vom Flechtenpilz gebildeten Stoffes. Gegenüber Flechtenalgen konnte ich keine solche Wirkung feststellen.

Solorina saccata, Flechte 4. Die Flechte stammt von einem Block löcheriger Nagelfluh am Siggenberg, wo sie im April 1945 gesammelt wurde.

Reinkultur der Flechtenalge: Innert vier Wochen wuchsen auf Malzagar Kolonien von 0,5 mm Durchmesser heran, während auf Erdagar nach acht Wochen die ersten Kolonien makroskopisch feststellbar waren. Alle Klone waren untereinander identisch. In Knop - Glukoselösung entwickelt sich die Alge gut: Die ganze Lösung färbt sich zuerst hellgrün, später tritt eine gelb-grüne Verfärbung ein. Der Boden der Kulturkolben ist mit einer Algenschicht bedeckt, die am Glas kleben bleibt, wenn die Kolben geneigt werden. Beim Schütteln löst sie sich in Schlieren los. Auf verfestigtem Substrat erreichen die Kolonien bei einer Temperatur von 18 bis 24° nach drei Monaten einen Durchmesser von 6 bis

Abbildung 15
Antibiotische Wirkung
von *Lecanoromyces sub-*
fuscae auf *Penicillium*
spec. Zirka $\frac{2}{3}$ nat. Größe



9 mm. Die Oberfläche ist glatt und ölig glänzend. Die Farbe ist in der Mitte der Kolonien hellgrün und wird gegen den Rand dunkler. Der Umriß ist gleichmäßig rund, die Form flach gewölbt. Alle Kolonien zeigen ein einheitliches, homogenes Aussehen. Abweichend gefärbte Partien, von kleinen Tochterkolonien herrührend, konnte ich bei dieser Alge bisher nicht feststellen. Nach achtmonatigem Wachstum sind alle Kolonien mattgelb, besitzen aber teilweise einen lebhaft grünen Rand. Der Durchmesser beträgt 10 bis 15 mm. Schließlich verschwindet auch der grüne Rand, und die nun einheitlich gelbe Farbe (166—167) verändert sich nicht weiter. Unter dem Mikroskop sieht das Algenmaterial — im Gegensatz zu vielen anderen *Coccomyxa*-Arten — überraschend homogen aus. Die Zellen haben eine ovale, gelegentlich eiförmige oder auch fast kugelige Gestalt. Langgestreckte Zellen treten nur ganz vereinzelt auf. Auffallend ist die häufige Zweiteilung des Chromatophors, ein Zustand, der die beginnende Autosporenbildung andeutet (Abbildung 16).

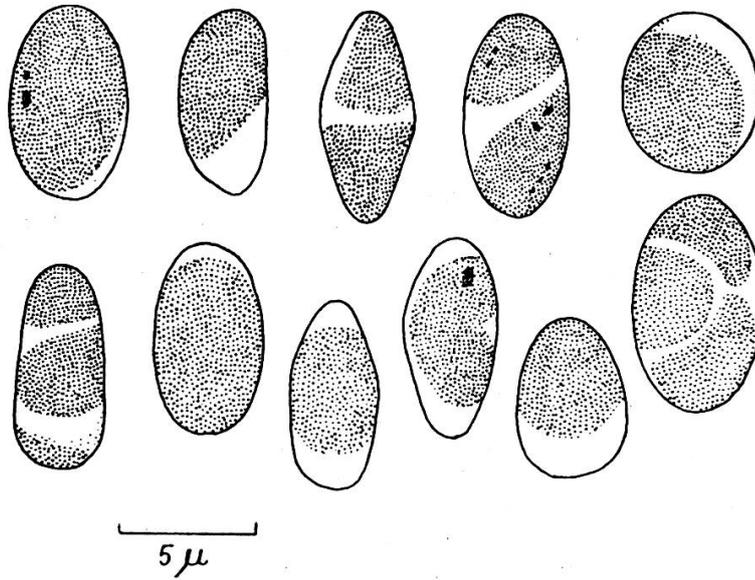


Abbildung 16
Coccomyxa ellipsoidea (*Solorinae saccatae*) Zehnder Nr. 400.
 Zellformen auf K n o p - Glukoseagar

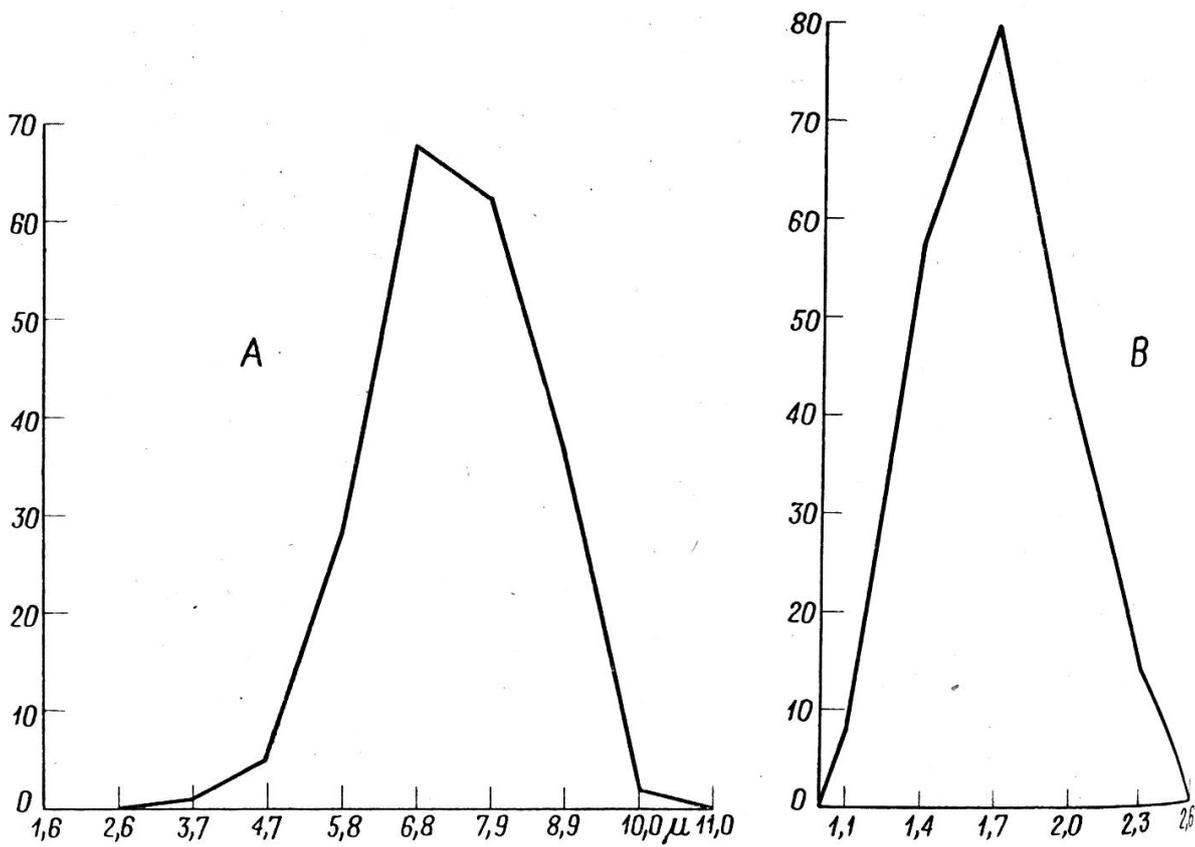


Abbildung 17
Coccomyxa ellipsoidea (*Solorinae saccatae*) Zehnder Nr. 400. Variationskurven von
 Länge (A) und Länge : Breite (B) der Zellen auf K n o p - Glukoseagar

Die biometrische Bearbeitung der Zellen ergab eine mittlere Länge von $6,9 \pm 1,08 \mu$ bei einer Variationsbreite von 3,7 bis $10,0 \mu$. Das Verhältnis von Länge zu Breite der Zellen beträgt $1,7 \pm 0,29$ bei einer Variationsbreite von 1,0 bis 2,4.

Beim Vergleich meiner Alge mit den vier bisher von Chodat (1913) und Jaag (1933) aus *Solorina saccata* beschriebenen Algen fällt die Ähnlichkeit mit *Coccomyxa ovalis* (*Solorinae saccatae*) Jaag auf: Die mittlere Länge der Zellen stimmt praktisch überein, und beide Klone weisen viele rundliche Zellen auf. Bei genauerer Analyse zeigen sich aber Unterschiede, die mich veranlassen, meine Form als distinkte Art aufzufassen: Bei *Coccomyxa ovalis* geht die Variationsbreite des Länge-Breite-Verhältnisses der Zellen von 1,0 bis 1,8; die letztere Zahl ist also Extremwert. Die entsprechende Kurve meiner Alge erreicht aber bei diesem Wert gerade ihr Maximum. Verschieden ist auch das Aussehen der Kolonien der beiden Algen: *C. ovalis*-Kolonien auf Knop-Glukoseagar bekommen nach einiger Zeit ein « geflecktes Aussehen, woran die Kolonien dieses Klons immer auf den ersten Blick kenntlich sind » (Jaag, 1933, S. 106). Bei meiner Alge tritt zwar regelmäßig eine Verfärbung ein, aber das Aussehen bleibt immer homogen; Fleckenbildung konnte ich gerade bei dieser Alge nicht feststellen. Da mein Klon auch mit keiner anderen Art identifiziert werden kann, fasse ich die Alge als neue Art auf und bezeichne sie als

Coccomyxa ellipsoidea (*Solorinae saccatae*) Zehnder.

Diagnose: Cellulae ellipsoideae, nonnumquam rotundae, chromatophoro parietali sine pyrenoide, in substrato artificiali Agar Knopii $\frac{1}{2}$ cum glycosi 2 % $6,9 \pm 1,08 \mu$ longae (3,7— $10,0 \mu$), longitudo pro latitudine $1,7 \pm 0,29$ (1,0—2,4). Coloniae in substratum supradictum insitae forma rotunda. primo colore viridi; postea paulatim e medio in partes extremas aequabiliter flavescentes.

Peltigera aphthosa, Flechte 6. Die Flechte stammt aus einem Lärchenwald zwischen Grächen und der Hannigalp im Kanton Wallis.

Reinkultur des Flechtenpilzes: Weder Werner (1927) noch Thomas (1939) war es gelungen, aus *Peltigera*-Ascosporen Pilzthalli heranzuziehen. Versuchsweise ließ ich Sporen in hängenden Wassertropfen mit Aneurinzusatz keimen, doch stellten sie das Wachstum trotzdem schon bald ein, wie das auch von Thomas angegeben wird.

Reinkultur der Flechtenalge: *Peltigera aphthosa* besitzt Grünalgen aus der Gattung *Coccomyxa* als Gonidien. In drei beimpften Reagenzgläschen entwickelten sich identische Kolonien. In Knop-Glukoselösung wächst die Alge gut. Drei Monate nach der Impfung findet sich auf dem Boden der Kulturkolben ein grüner Algenbelag, der sich beim

Schütteln der Gefäße in Schlieren löst und die ganze Nährlösung homogen grün färbt. Auf K n o p - Glukoseagar erreichen die Kolonien dieser Alge drei Monate nach der Impfung erst einen Durchmesser von 2 bis 4 mm; verglichen mit meinen übrigen *Coccomyxa*-Klonen ist das Wachstum also langsam. Die Kolonien sind dunkelgrün, glänzen ölarartig und haben fast halbkugelige Form. Acht Monate alte Kulturen besitzen Durchmesser von 6 bis 8 mm. Die Farbe ist jetzt etwas heller, aber immer noch dunkelgrün. Nur das Zentrum besonders großer Kolonien zeigt eine leicht hellgrüne Verfärbung. Die Farbe ändert sich später nicht wesentlich und entspricht dem Ton 305. In einzelnen Kulturen finden sich heller gefärbte Sektoren der Farbe 161.

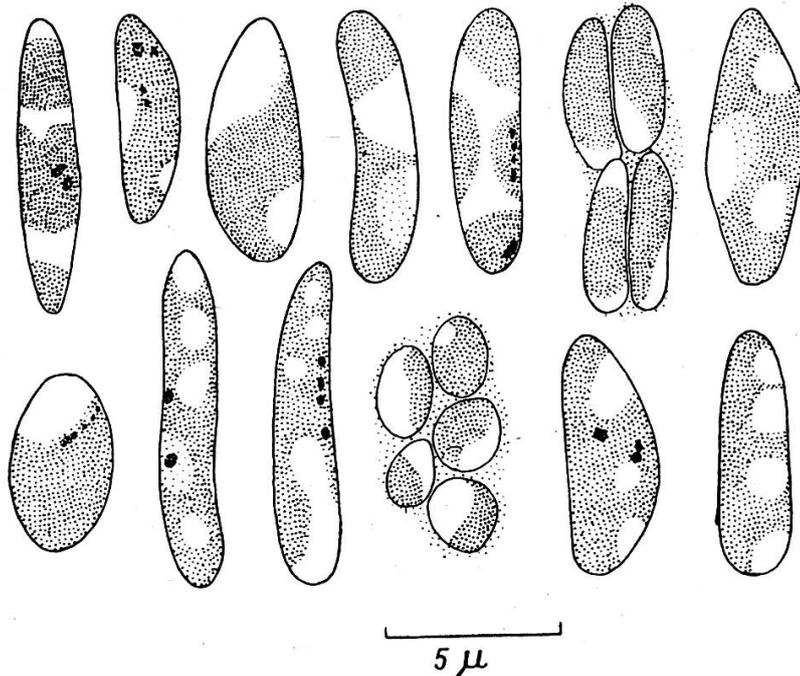


Abbildung 18

Coccomyxa Peltigerae variolosae Jaag (ex *Peltigera aphthosa*) Nr. 600. Zellformen auf K n o p - Glukoseagar

Unter dem Mikroskop fallen die Zellen dieses Klones sofort durch ihre große Variabilität auf. Neben ovalen und eiförmigen finden sich schlanke, langgestreckte Formen. Nicht selten ist Autosporenbildung zu beobachten, wobei vier oder mehr Zellen in einer schleimigen Masse beisammen liegen. Die biometrische Bearbeitung ergab eine mittlere Zelllänge von $7,1 \pm 1,42 \mu$ und ein mittleres Länge-Breite-Verhältnis von $3,1 \pm 0,71$. Die Variationsbreite erstreckte sich von $3,5$ bis $11,5 \mu$, resp. von $1,8$ bis $5,3$. Meine Alge stimmt in allen Merkmalen so weitgehend mit *Coccomyxa Peltigerae variolosae* Jaag überein, daß ich sie zu dieser Art stelle, obwohl sie aus einer anderen Flechtenart isoliert wurde als die Spezies von J a a g.

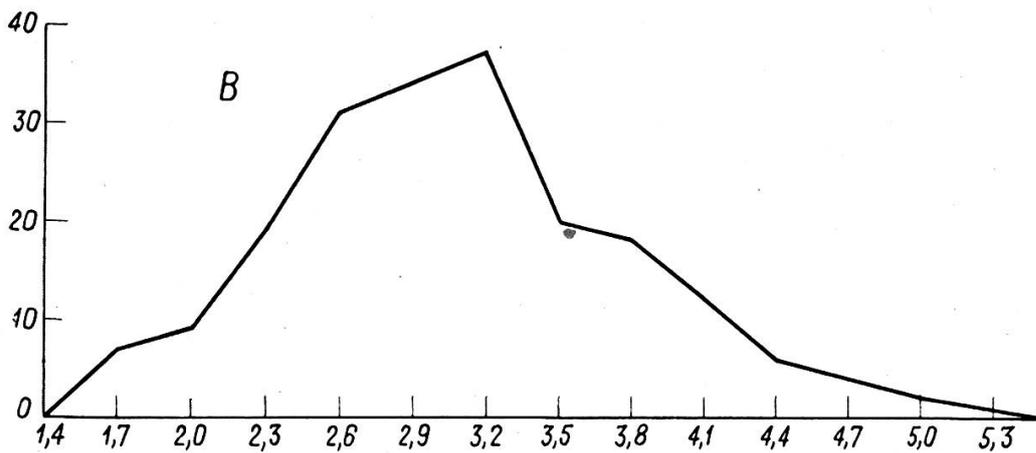
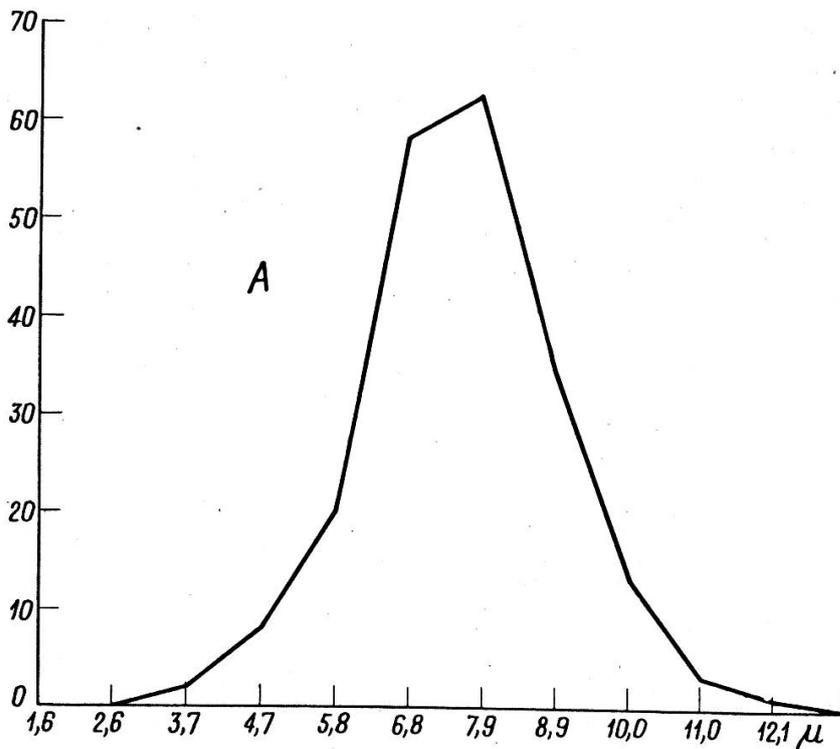


Abbildung 19

Coccomyxa Peltigerae variolosae Jaag (ex *Peltigera aphthosa*) Nr. 600. Variationskurven von Länge (A) und Länge: Breite (B) der Zellen auf K n o p - Glukoseagar

Peltigera canina, Flechte 7. Sowenig wie W e r n e r (1927) und T h o m a s (1939) gelang es mir, aus Ascosporen Pilzlager heranzuziehen. Die Sporen keimten zwar, stellten ihr Wachstum aber schon nach kurzer Zeit ein. Aneurinzusatz zu den Medien beeinflusste die Keimung in keiner Weise.

Icmadophila ericetorum, Flechte 8. Der Thallus stammte aus einem Lärchenwald in der Nähe von Grächen (Kanton Wallis).

Reinkultur der Flechtenalge: In drei beimpften Reagenzgläschen wuchsen identische Klone heran. In K n o p - Glukoselösung wächst die Form gut. Sie verfärbt die Lösung dunkler grün als der Klon 400. Auf K n o p - Glukoseagar erreichen die Kolonien nach drei Monaten Durchmesser von 4 bis 5 mm. Die Farbe ist fast schwarzgrün. Auffallend ist die Häufigkeit von kleinen Tochterkolonien, die in Form von hellgrünen Punkten besonders aus den Randpartien der Mutterkolonie ausbrechen. Diese bekommt dadurch unregelmäßige Umrisse. Nach sieben Monaten sind die Kolonien lebhaft hellgrün. Heller gefärbte Sektoren ziehen sich von den zentralen Teilen bis an den Rand der Kulturen. Der Durchmesser der Kolonien beträgt 10 bis 12 mm; ihre endgültige Farbe entspricht dem Ton 301.

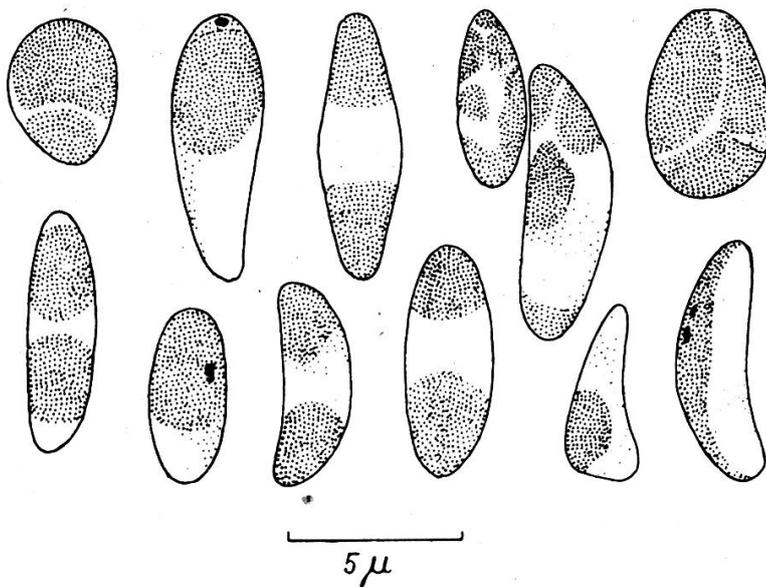


Abbildung 20
Coccomyxa icmadophilae Jaag Stamm 4. Nr. 800. Zellformen
auf K n o p - Glukoseagar

Viele Zellen dieser Form weisen einen zweigeteilten Chromatophor auf. Seltener ist er mehrteilig. Die mittlere Länge der Zellen bestimmte ich zu $6,7 \pm 1,92 \mu$ bei einer Variationsbreite von 2,6 bis 11μ . Das Verhältnis Länge : Breite der Zellen beträgt $2,2 \pm 0,50$ bei einer Variationsbreite von 1,2 bis 3,6. J a a g (1933) beschreibt unter dem Namen *Coccomyxa icmadophilae* Jaag drei Algenstämme aus verschiedenen Thalli der Flechte *Icmadophila ericetorum*. Seine Beschreibung stimmt auf meine Form so gut, daß ich den Klon in diese Art einreihen möchte, wobei ich wegen der abweichenden mittleren Zelllänge meine Alge als *Coccomyxa icmadophilae* Jaag Stamm 4 den drei Stämmen J a a g s anschließe.

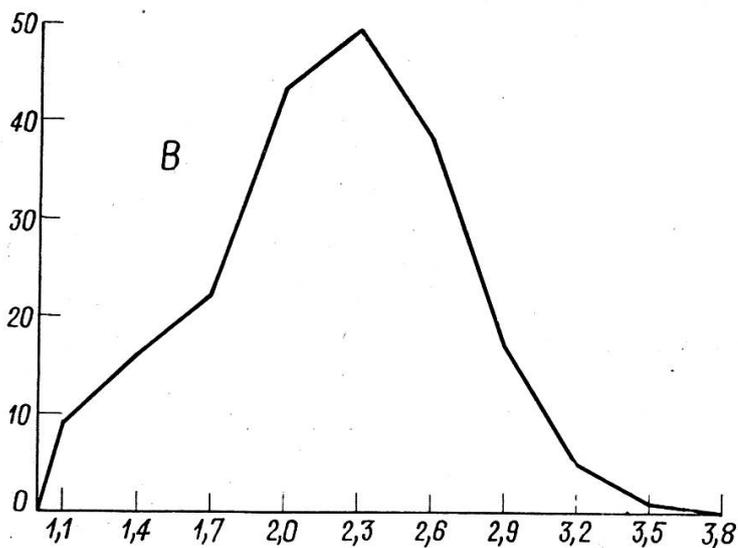
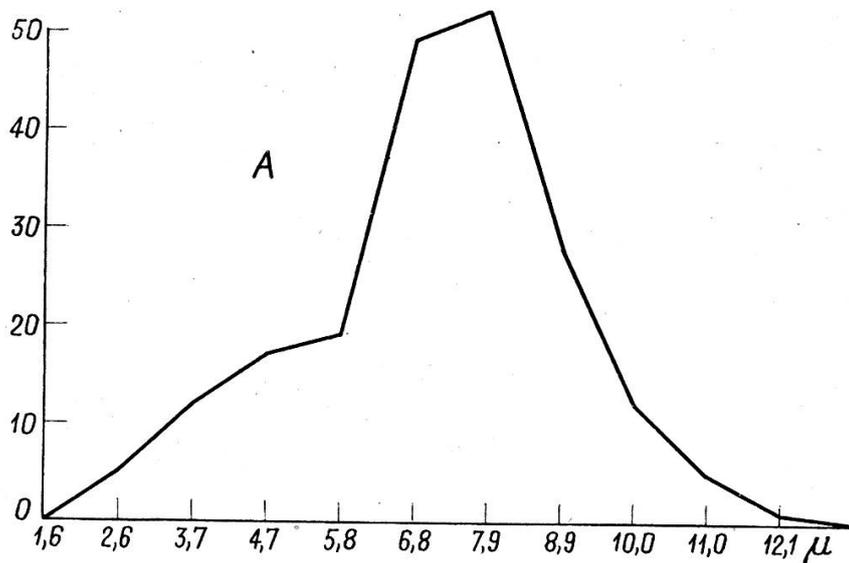


Abbildung 21

Coccomyxa icmadophilae Jaag Stamm 4. Nr. 800. Variationskurven von Länge (A) und Länge : Breite (B) der Zellen auf K n o p - Glukoseagar

D. Versuche mit Flechtenthalli

1. Qualitativer Nachweis von Aneurin in Flechtenlagern

Ein erster Versuch sollte zeigen, ob Flechten in der Natur Aneurin enthalten. Als Objekte dienten folgende Arten: *Xanthoria parietina* (Substrat: Eternitwand einer Scheune), *Peltigera canina* (Substrat: Dogger-Kalkstein) und *Solorina saccata* (Substrat: Nagelfluhblock).

Die Thalli der drei Flechten wurden vorerst in Zimmerluft einige Tage vorgetrocknet und dann während 6 Stunden bei einer Temperatur

von 60° im Trockenschrank belassen. Die trockenen Lager wurden in einem Mörser zu feinem Pulver zerrieben und dann in Wasser aufgeschwemmt (5 cm³ destilliertes Wasser pro Gramm Trockensubstanz), wobei das Wasser 24 Stunden über dem Pulver stehen blieb. Darauf wurde abfiltriert. Die Kulturgefäße — 150-cm³-Erlenmeyerkolben — wurden mit je 10 cm³ dreifach konzentrierter K n o p - Glukoselösung versehen und erhielten folgende Zusätze:

5	Kolben je	20,00 cm ³	Flechtenfiltrat				
5	»	»	4,00 cm ³	»	+	16,00 cm ³	destilliertes Wasser
5	»	»	0,80 cm ³	»	+	19,20 cm ³	»
5	»	»	0,16 cm ³	»	+	19,84 cm ³	»
5	»	»	0,00 cm ³	»	+	20,00 cm ³	»

Je drei Kolben erhielten als Zusatz 20 cm³ einer wäßrigen Aneurinlösung, deren Gehalt so war, daß die Vitaminkonzentration in den Kolben 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸ und 10⁻⁹ betrug. Die Kolben wurden mit den Zusätzen sterilisiert und dann mit je einem Myzelstücklein des aneurin-heterotrophen Pilzes *Cercospora herpotrichoides* Fron. beimpft.

Tabelle 3

Wachstum von *Cercospora herpotrichoides* Fron, bei Zusatz von Flechtenfiltraten, resp. von Aneurin, zur Nährlösung. Die Zahlen geben das Trockengewicht des gebildeten Myzels an. Versuchsdauer 25 Tage

Zusätze	Filtratmenge									
	0,00 cm ³		0,16 cm ³		0,80 cm ³		4,00 cm ³		20,00 cm ³	
	mg	±	mg	±	mg	±	mg	±	mg	±
<i>Xanthoria parietina</i>	3	0,1	20	1,2	51	6,0	164	7,4	248	3,8
<i>Peltigera canina</i>	3	0,1	28	3,0	60	2,1	155	6,6	219	4,0
<i>Solorina saccata</i>	3	0,1	27	2,2	56	2,3	104	11,0	200	4,2
	Aneurinkonzentration									
	0		10 ⁻⁹		10 ⁻⁸		10 ⁻⁷		10 ⁻⁶	
Aneurin	3	0,1	20	2,1	52	2,4	48	3,0	53	6,1

Während die Entwicklung des Pilzes in den Kontrollkolben äußerst schwach war, bildete sich in den Kolben mit Flechtenfiltrat reichlich Myzel (Tabelle 3). Da *Cercospora* sich ohne Aneurin nicht oder nur sehr schwach entwickelt, muß in den Flechtenfiltraten das Vitamin B₁ enthalten sein. Über die Höhe des Aneurin Gehaltes gibt der Versuch aber keinen Aufschluß. Wohl gibt D é f a g o (1940) den Aneurinbedarf für

die optimale Entwicklung von *Cercospora* an. Aus meinem Versuch kann aber nur der Schluß gezogen werden, daß 0,16 cm³ Filtrat von allen drei Flechten in 30 cm³ Nährlösung den Aneurinbedarf von *Cercospora herpotrichoides* noch nicht zu decken vermag. Denn verglichen mit der Entwicklung des Parasiten in den Kolben mit synthetischem Vitamin B₁ bleibt die Entwicklung zurück. 4 cm³ Filtrat enthalten bereits so viel Aneurin, daß es nicht als begrenzender Wachstumsfaktor in Erscheinung tritt. Außer dem Wuchsstoff wird noch eine größere Menge von Nährstoffen mit dem Filtrat in die Kolben gebracht; daraus erklärt sich das starke Wachstum des Pilzes.

2. Quantitative Bestimmung des Aneurins in 10 Flechtenarten

Als Versuchsobjekte konnten nur Flechten in Frage kommen, deren Thallus sich einwandfrei von der Unterlage loslösen läßt. Damit fielen endolithische und endocorticale Krustenflechten weg, und die Untersuchung beschränkte sich auf zehn Blatt- und Strauchflechten (Tabelle 4).

Tabelle 4
Flechten, deren Aneurin Gehalt bestimmt wurde

Flechtenart	Substrat
<i>Xanthoria parietina</i> (L.) Th. Fr.	Eternit
<i>Peltigera canina</i> L.	Walderde
<i>Cetraria islandica</i> L.	Heideerde
<i>Cladonia rangiferina</i> L.	Heideerde
<i>Cladonia silvatica</i> L.	Heideerde
<i>Parmelia cetrarioides</i> Del.	Fichtenstamm
<i>Parmelia furfuracea</i> (L.) Ach.	Fichtenstamm
<i>Lobaria pulmonaria</i> (L.) Hoffm.	Buchenstamm
<i>Usnea longissima</i> Ach.	Fichtenstamm
<i>Placodium saxicola</i> Poll.	Sandstein

Von jeder Flechte wurden viele benachbarte Thalli gesammelt und zusammen verarbeitet, um von jeder Flechtenart einen Durchschnittswert für den Aneurin Gehalt zu bekommen. Ferner wurden, soweit das möglich war, die verschiedenen Arten möglichst nahe beieinander, auf gleichem oder doch ähnlichem Substrat, geerntet. So fand ich *Cetraria islandica*, *Cladonia rangiferina* und *C. silvatica* in unmittelbarer Nachbarschaft, zum Teil waren die Thalli sogar ineinander verflochten. Analog war es bei *Parmelia cetrarioides*, *P. furfuracea* und *Usnea longissima*. Auf diese Weise sollte eine Verfälschung des Resultates durch verschiedenen Wuchsstoffgehalt des Substrates der einzelnen Arten möglichst ausgeschaltet werden. Denn es ist denkbar, daß aus der natürlichen Un-

terlage der Flechten Aneurin in die Thalli hinein diffundiert. Stammen verschiedene Flechten aber vom gleichen Standort, so wird ein derartiger Einfluß sich auf alle Arten gleich auswirken, sofern sie sich nicht verschieden gegenüber der Diffusion von Lösungen überhaupt verhalten. Nach der Trocknung und Pulverisierung der Thalli wurden von jeder Flechte in je drei Reagenzglaschen 5, 10, 20, 40 und 80 mg Trockensubstanz gegeben. So standen pro Flechte insgesamt 15 Röhrchen zur Verfügung. Die Vergleichsreihe erhielt an Stelle des Flechtenpulvers Aneurin, dessen Konzentration in neun Stufen von 0,00075 γ pro cm^3 bis auf 0,1 γ pro cm^3 anstieg. Zwanzig Tage nach der Impfung wurde die Myzelhöhe

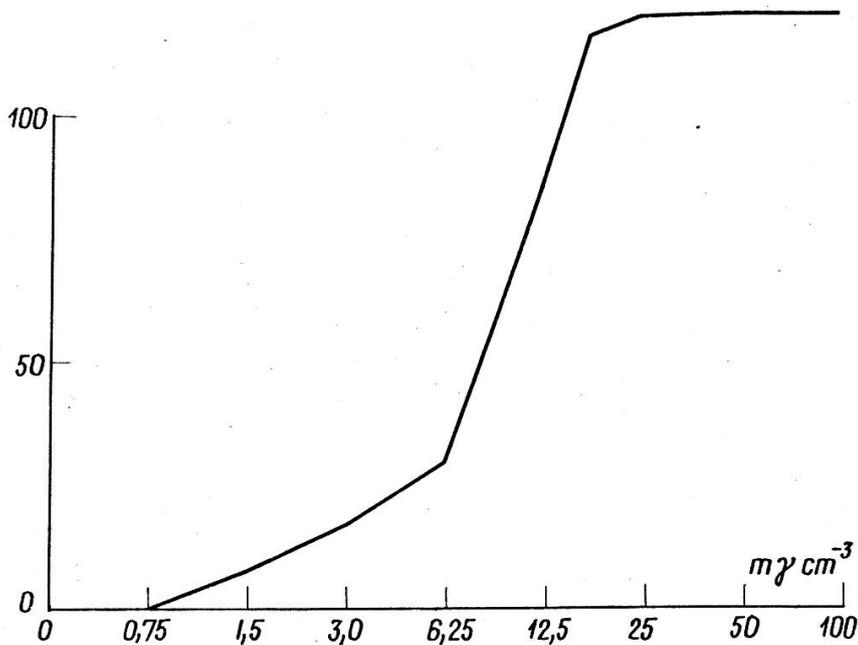


Abbildung 22

Phycomyces Blakesleeanus Bgff., Standardkurve. Abszisse: Aneurin Gehalt der Nährlösung in mg cm^{-3} . Ordinaten: Höhe des Luftmyzels von *Phycomyces* in mm

des Testpilzes gemessen. Die Resultate sind in Tabelle 5 und in den Abbildungen 22 bis 25 dargestellt.

Aus Abbildung 22 geht hervor, daß der Testpilz bei einem Aneurin Gehalt der Nährlösung von 0,018 γ pro cm^3 optimales Wachstum zeigt. Eine Überdosierung des Vitamins hat keinen weiteren Einfluß auf die Entwicklung.

Aus dem Vergleich der Werte der Tabelle 5 mit denen, die der Abbildung 22 zugrunde lagen, konnte auf den Aneurin Gehalt der einzelnen Flechten geschlossen werden. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 6 zusammengestellt.

Tabelle 5

Höhe des Luftmyzels von *Phycomyces Blakesleanus* Bgff. bei Zusatz von Flechten-Trockensubstanz zur Nährlösung. — UM = Untergetauchtes Myzel

Flechtenart	Trockensubstanz in mg									
	5		10		20		40		80	
	mm	±	mm	±	mm	±	mm	±	mm	±
<i>Xanthoria parietina</i>	31	1	82	4	120	—	120	—	100	3
<i>Peltigera canina</i>	10	2	32	2	47	4	120	—	120	—
<i>Cetraria islandica</i>	65	6	97	6	117	3	120	—	120	—
<i>Cladonia rangiferina</i>	23	4	48	5	77	5	112	4	107	2
<i>Cladonia silvatica</i>	25	2	82	6	83	9	92	7	—	—
<i>Parmelia cetrarioides</i>	30	2	57	4	109	5	38	3	0	—
<i>Parmelia furfuracea</i>	86	8	110	8	94	4	UM	—	0	—
<i>Lobaria pulmonaria</i>	45	3	106	7	112	2	120	—	101	3
<i>Usnea longissima</i>	105	7	120	—	120	—	120	—	120	—
<i>Placodium saxicola</i>	33	2	57	4	102	8	120	—	120	—

Abbildung 23

Wachstum von *Phycomyces Blakesleanus* Bgff. bei Zusatz von Flechten zur Nährlösung. Abszisse: Flechten-Trockensubstanz, Ordinaten: Myzelhöhe des Testpilzes

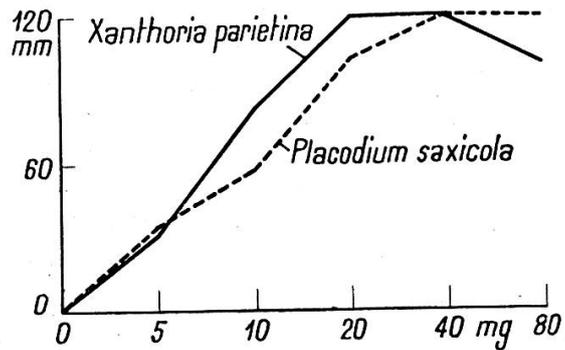
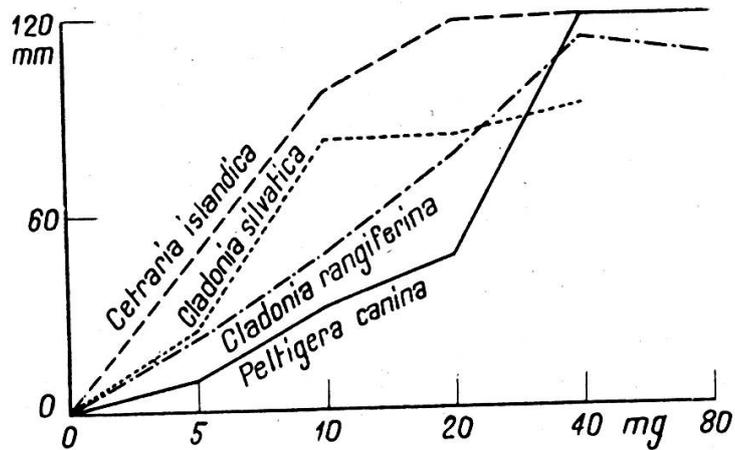


Abbildung 24

Wachstum von *Phycomyces Blakesleanus* Bgff. bei Zusatz von Flechten zur Nährlösung. Abszisse: Flechten-Trockensubstanz, Ordinaten: Myzelhöhe des Testpilzes



Der Aneuringehalt von zwei Flechtenarten, die am gleichen Ort gesammelt werden, kann sehr verschieden sein. So ist *Cetraria islandica* doppelt so reich an Vitamin B₁ als *Cladonia rangiferina*; *Parmelia furfuracea* enthält dreimal mehr Aneurin als die daneben wachsende *P. cetrarioides*.

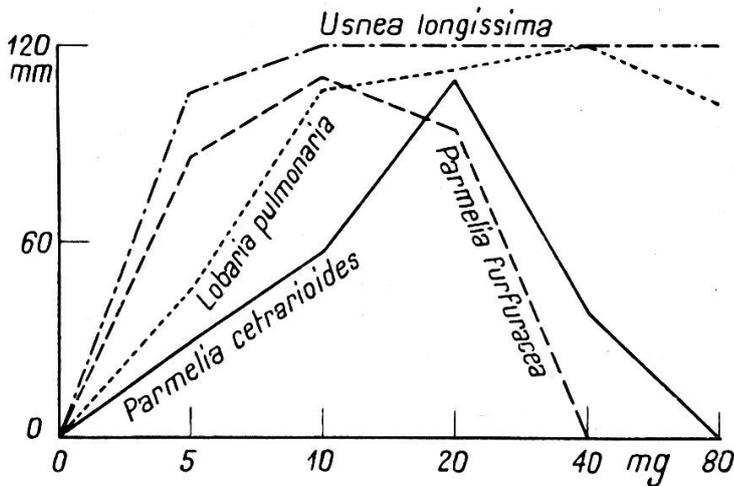


Abbildung 25
Wachstum von *Phycomyces Blakesleeanus* Bgff. bei Zusatz von Flechten zur Nährlösung. Abszisse: Flechten-Trockensubstanz. Ordinaten: Myzelhöhe des Testpilzes

rioides. Noch aneurinreicher ist *Usnea longissima*, die an gleichen Standorten vorkommt. Der Kurvenverlauf bei *Parmelia cetrarioides* und *P. furfuracea* (Abbildung 25) verdient besondere Beachtung: Bei hohem Flechtensatz wird der Testpilz im Wachstum gehemmt und stellt bei 80,

Tabellé 6

Der Aneuringehalt einiger Flechten. Die Zahlen geben den Aneuringehalt in γ pro g Trockensubstanz an. Die Bestimmung erfolgte in der 1. Kolonne auf Grund der Reagenzgläschen mit 5 mg Trockensubstanz, in der 2. und 3. Kolonne analog auf Grund von 10, bzw. 20 mg Trockensubstanz

Flechtenart	Trockensubstanz			Durchschnitt aus allen Kulturen
	5 mg	10 mg	20 mg	
<i>Xanthoria parietina</i> . . .	3,77	3,42	—	3,60 \pm 0,11
<i>Peltigera canina</i>	1,06	1,46	1,16	1,23 \pm 0,12
<i>Cetraria islandica</i>	—	4,75	4,21	4,48 \pm 0,18
<i>Cladonia rangiferina</i> . .	2,55	2,13	1,61	2,10 \pm 0,27
<i>Cladonia silvatica</i> . . .	2,60	3,45	—	3,03 \pm 0,29
<i>Parmelia cetrarioides</i> . .	2,78	2,32	2,35	2,48 \pm 0,15
<i>Parmelia furfuracea</i> . . .	7,17	7,87	—	7,52 \pm 0,20
<i>Lobaria pulmonaria</i> . . .	4,12	4,31	—	4,22 \pm 0,06
<i>Usnea longissima</i>	9,22	—	—	9,22 \pm 0,38
<i>Placodium saxicola</i> . . .	3,27	2,52	2,18	2,66 \pm 0,32

resp. 40 mg Zusatz die Entwicklung ein. Diese Erscheinung kann durch die Annahme eines Hemmstoffes in den betreffenden Flechten erklärt werden. Dieser unbekanntes Stoff ist in 5 und 10 mg Flechtensubstanz noch nicht so reichlich enthalten, daß er in unserem Versuch spürbar zur

Auswirkung kommt. Der Bestimmung des Aneurin gehaltes wurden bei diesen Flechten nur die Werte zugrunde gelegt, die sich bei der Auswertung der Röhrrchen mit niedrigem Flechtengehalt ergaben. Die Resultate der Tabelle 6 machen eine Störung des Versuchsergebnisses durch den Hemmstoff nicht wahrscheinlich: Bei beiden Flechten stimmen die Werte für den Aneurin gehalt, die auf Grund verschiedener Flechtenmengen errechnet wurden, gut überein.

E. Versuche mit Flechtenalgen

1. Der Einfluß von Vitaminen auf die Entwicklung von Flechtenalgen

Ich stellte mir folgende Versuchsfrage: Besitzen Vitamine, die dem Nährboden beigegeben werden, einen Einfluß auf die Entwicklung von Flechtenalgen? Dabei sollte sowohl der Einfluß auf die Einzelzellen als auf die Kolonien untersucht werden.

Die Kulturkolben — mit K n o p - Glukoseagar — wurden in vier Serien geteilt, die folgende Zusätze erhielten:

- Serie 1: 1 cm³ destilliertes Wasser und 1 cm³ absoluten Alkohol
- Serie 2: 1 cm³ Aneurinlösung und 1 cm³ absoluten Alkohol
- Serie 3: 1 cm³ Vitaminlösung a und 1 cm³ Vitaminlösung b
- Serie 4: 1 cm³ destilliertes Wasser und 1 cm³ Heteroauxinlösung

Pro Serie und Algenklon wurden je zwei Kolben an je fünf Stellen beimpft, so daß für die Auswertung zehn Parallelkulturen vorlagen. Die Kolben wurden bei einer Temperatur von 18° in diffusem Tageslicht aufbewahrt und nach fünf Monaten ausgewertet.

Tabelle 7

Flächenwachstum von Flechtenalgen — Kolonien auf wuchsstoffhaltigen Substraten. Die Zahlen geben die Koloniefäche in mm² an. Versuchsdauer 150 Tage

Klon		Serie 1	Serie 2	Serie 3	Serie 4
<i>Cystococcus</i>	1400	82 ± 3,1	88 ± 4,7	72 ± 4,2	15 ± 1,2
»	500	53 ± 3,8	48 ± 3,8	45 ± 3,6	4 ± 0,1
»	1600	48 ± 1,3	50 ± 2,1	49 ± 1,6	4 ± 0,1
»	1100	64 ± 2,0	67 ± 2,1	69 ± 1,8	30 ± 0,7
»	1500	67 ± 2,1	67 ± 2,8	67 ± 2,7	25 ± 1,1
<i>Coccomyxa</i>	400	10 ± 0,2	13 ± 0,6	8 ± 0,1	5 ± 0,2
»	600	30 ± 1,3	30 ± 1,4	21 ± 0,5	20 ± 1,2
»	800	61 ± 3,0	53 ± 3,2	60 ± 2,4	31 ± 0,4
<i>Chlorella</i>	2500	85 ± 2,2	92 ± 1,8	79 ± 2,1	60 ± 1,2

In der Ausbildung der *Einzelzellen* konnten keinerlei Unterschiede zwischen den Kulturen auf den verschiedenen Substraten festgestellt

werden: Form, Farbe, Größe und Vermehrungsweise erschienen unter dem Mikroskop auf allen Nährböden gleich.

Die Flächenentwicklung der *Kolonien* gibt Tabelle 7 wieder. Sie zeigt, daß keines der Vitamine der Serien 2 und 3 einen Einfluß auf die Flächenentwicklung der einzelnen Klone ausübt. Dagegen werden die meisten Algen durch Heteroauxin in ihrem Wachstum gehemmt. Da die Einzelzellen auf den Heteroauxinböden gleiche Ausbildung zeigen wie in den Kontrollkolben, verlangsamt dieser Wuchsstoff vielleicht einfach den Fortpflanzungsrhythmus der Zellen. Im Grad der Hemmung zeigen sich zwischen den einzelnen Klonen Unterschiede: *Cystococcus* wird am stärksten beeinflusst. Besonders empfindlich sind die Klone 500 (*C. Xanthoriae parietinae*) und 1600 (*C. Placodii circinati*). Die drei *Coccomyxa*-Klone zeigen verschiedenes Verhalten: Bei Nr. 400 ist die Flächenentwicklung überall gering, und ich möchte hier über den Grad der Hemmung durch Heteroauxin keine Schlüsse ziehen. Nr. 600 wird durch den Wuchsstoff wenig beeinflusst, während Klon 800 deutlich gehemmt wird. *Chlorella* Nr. 2500 wird in ihrer Entwicklung durch Heteroauxin offenbar gar nicht beeinflusst. In Form und Farbe bestehen zwischen den verschiedenen Kolonien der gleichen Klone nur ganz geringfügige Unterschiede.

Das Versuchsergebnis sei kurz zusammengefaßt: Die verwendeten synthetischen Vitamine üben keinen Einfluß auf die Entwicklung von Flechtenalgen aus. Heteroauxin in relativ hoher Konzentration hemmt das Wachstum mancher Flechtenalgen.

2. Die Wachstumsförderung von aneurin-heterotrophen Pilzen durch Flechtenalgen

Ein Versuch sollte zeigen, ob Flechtenalgen das Vitamin B₁ selber aufbauen können. Die neun Algenklone wurden auf vitaminfreien K n o p - Glukoseagar geimpft. Nach fünf Monaten hatten sich in den Kolben je 5 Kolonien von durchschnittlich 10 mm Durchmesser gebildet. Nun wurde der Agar in den Kolben aufgeweicht und leicht geschüttelt, um eine gleichmäßige Verteilung des eventuell gebildeten Aneurins zu erreichen. Dabei zerfielen die Algenkolonien. Nach dem Wiedererstarren wurden die Kolben mit zwei aneurin-heterotrophen Pilzen beimpft, und zwar je drei Kolben pro Alge mit *Cercospora herpotrichoides* Fron. (je ein Myzelstücklein in die Kolbenmitte geimpft) und drei Kolben mit *Phycomyces Blakesleeanus* Bgff. (je 1 cm³ einer Sporensuspension in einer fünfprozentigen Asparaginlösung. Asparagin als Stickstoffquelle ist nötig, da der Testpilz den Nitratstickstoff des K n o p - Glukosesubstrates nur schwer assimiliert). Nach drei Wochen ergab sich folgendes Resultat:

a) *Cercospora herpotrichoides*

Tabelle 8

Flächenwachstum von *Cercospora herpotrichoides* Fron. auf Substraten mit Flechtenalgen. Die Zahlen geben die Thallusfläche des Pilzes in cm² an. Versuchsdauer 21 Tage.

Algenklon Nr.	Kontrolle	Kontrolle mit B ₁ -Zusatz	1400	500	1600	
Thallusfläche	3,14	20,0	22,9	21,2	18,9	
Mittl. Fehler	0,1	0,7	0,3	1,0	0,5	
Algenklon Nr.	1100	1500	400	600	800	2500
Thallusfläche	21,2	21,2	22,0	21,2	23,7	21,2
Mittl. Fehler	0,2	1,0	0,4	0,8	0,0	0,5

In den Kontrollkolben zeigte der Pilz ein zwar schwaches, aber deutlich meßbares Wachstum. Trotzdem war die Wachstumsförderung des Pilzes in den Kolben mit den Algenkolonien eindeutig festzustellen. Dabei war die Entwicklung des Parasiten auf allen Algen im wesentlichen gleich. Die Wachstumsförderung wurde auch in Kontrollkolben erzielt, die einen Zusatz von Vitamin B₁ erhielten.

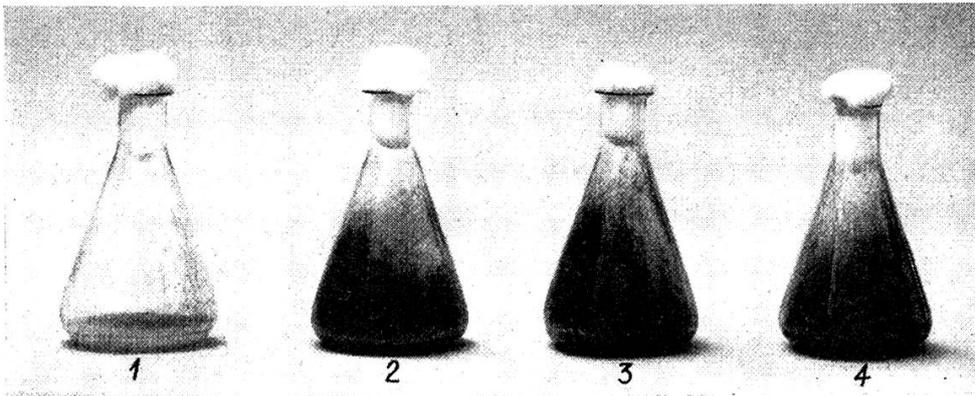


Abbildung 26

Wachstum von *Phycomyces Blakesleeanus* Bgff. auf Nährböden, auf denen vorher Flechtenalgen gewachsen waren. 1 = Kontrolle, 2 = Kontrolle mit Aneurinzusatz, 3 = *Cystococcus* Nr. 1400, 4 = *Cocco-myxa* Nr. 800. Zirka $\frac{1}{5}$ nat. Größe.

b) *Phycomyces Blakesleeanus*

Das Wachstum dieses Pilzes auf Agarböden läßt sich nicht ohne weiteres zahlenmäßig festhalten, da sich kein scharf begrenzter flächenförmiger Thallus bildet und die Trockengewichtsbestimmung langwierige Prozeduren erfordert (Entfernung aller Agarreste bei vollständiger Erhaltung des Myzels). Qualitativ ließ sich aber das Resultat des Versuches sehr klar festhalten (Abbildung 26).

In den Kontrollkolben erhoben sich nur ganz vereinzelte Hyphen über das Substrat, während in den Kolben mit synthetischem Vitamin B₁ der Pilz ein üppiges Luftmyzel bildete. Gleich reich war die Entwicklung in allen Algenkolben. Auch hier zeigten sich keine Unterschiede, die auf verschiedenen Aneurin Gehalt der Algen schließen ließen. In allen Kolben war das Bild so, wie die Beispiele der Abbildung 26 zeigen.

Bei einem weiteren Versuch wurde die Anlage so geändert, daß *Cercospora herpotrichoides* direkt auf lebende Algenkolonien geimpft wurde. Jeder Kulturkolben enthielt hier nur eine Algenkolonie.

Der Pilz wuchs in Kontroll- und Algenkolben gleichzeitig an; nach zehn Tagen zeigten sich kaum Unterschiede, nach zwanzig Tagen war

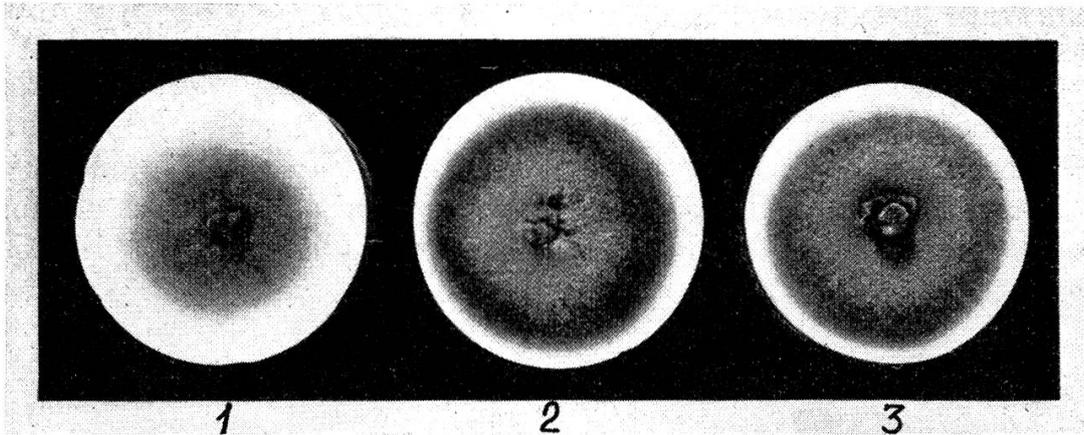


Abbildung 27

Flächenwachstum von *Cercospora herpotrichoides* Fron. auf Nährböden mit Algenkolonien. 1 = Kontrolle, 2 = *Cystococcus* Nr. 1400, 3 = *Coccomyza* Nr. 800. Zirka $\frac{1}{2}$ nat. Größe.

ein deutliches Überwiegen des Pilzwachstums in den Algenkolben wahrzunehmen. In den Kontrollkolben schien der Parasit das Wachstum einzustellen, während er sich in den Algenkolben üppig weiter entwickelte und nach dreißig Tagen fast den ganzen Nährboden mit seinem grauschwarzen Myzel bedeckte (Abbildung 27). Auch hier zeigte der Pilz auf allen Algenklonen das gleiche Verhalten.

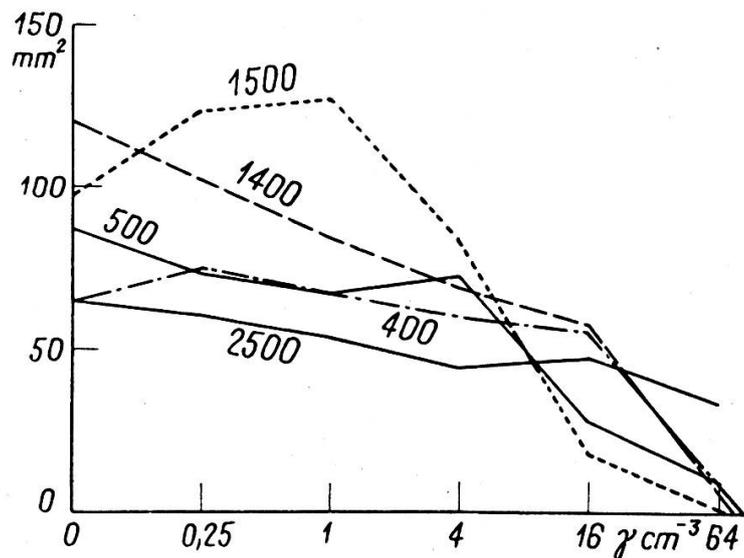
Die Wachstumsförderung der aneurin-heterotrophen Pilze durch die Flechtenalgen zeigt, daß diese das Vitamin B₁ selber aufbauen.

3. Der Einfluß von Heteroauxin auf das Wachstum von Flechtenalgen

Es hatte sich gezeigt, daß Heteroauxin in hoher Konzentration das Wachstum der meisten Flechtenalgen hemmt. Ein Versuch mit verschiedenen Konzentrationen des Stoffes sollte näheren Aufschluß über das Verhalten der Algen geben. Als Versuchsobjekte wählte ich fünf Klone.

Abbildung 28 zeigt, daß niedrige Wuchsstoffkonzentrationen das Algenwachstum wenig beeinflussen, daß aber höhere Konzentrationen eine zunehmend hemmende Wirkung ausüben. Klon 1500 scheint durch niedrige Dosen im Wachstum leicht gefördert zu werden, erweist sich aber höheren Konzentrationen gegenüber als die empfindlichste der untersuchten Algen. Die Betrachtung unter dem Mikroskop zeigt keine Unterschiede in der Ausbildung der Einzelzellen: Mittlerer Durchmesser, Farbe der Zellen, Zahl und Größe der Autosporen usw. sind auf den heteroauxinreichsten Substraten gleich wie auf den Kontrollböden.

Abbildung 28
Der Einfluß von Heteroauxin auf das Flächenwachstum von Flechtenalgen. Abszisse: Heteroauxinkonzentration der Nährlösung. Ordinaten: Fläche der Algenkolonien. Die Kurvenzahlen bezeichnen die Nummern der Klone



F. Versuche mit Flechtenpilzen

1. Der Einfluß verschiedener Substrate auf das Wachstum von Flechtenpilzen

Thomas (1939) stellte fest, daß Flechtenpilze sich gegenüber den von ihm verwendeten Substraten sozusagen indifferent erwiesen. Da es für seine Untersuchungen nicht von Belang war, gibt er für das Wachstum seiner Pilze auf den verschiedenen Böden keine Zahlen. Seine Versuche geben naturgemäß auch keinen Aufschluß über einen eventuellen Einfluß von Vitaminen auf die Entwicklung, da alle seine Nährböden mehr oder weniger große Vitaminmengen aus natürlichen Quellen — Agar, Pflaumenextrakt, Hefe usw. — enthielten.

Ich ließ daher sieben meiner Pilze während 150 Tagen auf verschiedenen Nährböden wachsen und verglich die Entwicklung der Pilze miteinander. Es kamen folgende Substrate zur Verwendung:

Substrat a: Hefeagar mit einem Zusatz von 0,1 % Asparagin

Substrat b: Algenagar mit einem Zusatz von 0,1 % Asparagin

Substrat *c*: Asparaginagar, mit gewaschenem Agar hergestellt
 Substrat *d*: Asparaginagar, mit ungewaschenem Agar hergestellt
 Substrat *e*: K n o p - Glukoseagar, mit gewaschenem Agar hergestellt
 Substrat *f*: Asparaginagar, Kolben mit roher statt mit gereinigter
 Watte geschlossen.

Die beimpften Kolben wurden in dunklem Raume bei einer Temperatur von 18 bis 24° aufbewahrt. Viermal während der ganzen Versuchsdauer wurde der Durchmesser aller Pilzthalli gemessen.

Physciomyces pulverulentae (Abbildung 29) wächst unter allen Pilzen am schnellsten. Gegenüber den Substraten *a*, *c*, *d* und *f* verhält er sich indifferent. Deutlich beschleunigt ist dagegen seine Entwicklung

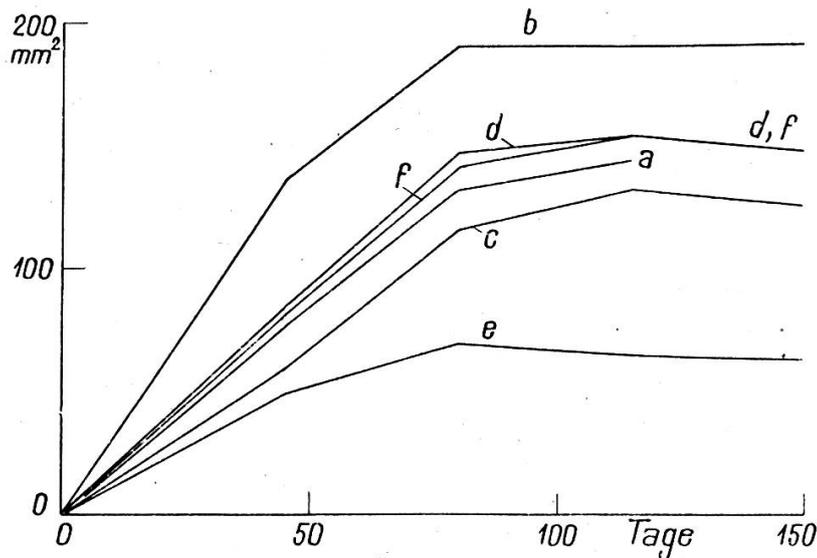


Abbildung 29

Flächenwachstum von *Physciomyces pulverulentae* auf den Substraten *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, *f*. Abszisse: Versuchsdauer. Ordinaten: Thallusfläche

auf Algenagar (*b*), während ihm der Boden *e* weniger zusagt. Die Knickung der Kurve *e* deutet auf einen Stoffmangel des Pilzes hin. Ob das fehlende Asparagin oder ein fehlendes Vitamin die Knickung verursacht, kann aus dem Versuch nicht entnommen werden. Der Habitus der Kulturen ist auf allen Nährböden gleich.

Placodiomyces saxicolae (Abbildung 30) wächst zuerst auf allen Nährböden gleich schnell. Erst nach 80 Tagen zeigen sich die ersten Unterschiede, die sich im weiteren Verlauf des Versuches deutlicher ausprägen: Auf K n o p - Glukoseagar (*e*) verlangsamt der Pilz sein Wachstum und stellt es nach 115 Tagen praktisch ein. Ebenso verlangsamt sich die Entwicklung nach 115 Tagen auf den Substraten *c*, *d*, *f* etwas, während auf dem Algenagar (*b*) das Wachstum unvermindert anhält. Auffallend ist die geringe Flächenentwicklung auf dem Hefeagar (*a*). Die

Knickung der Kurve *e* deutet auf den Mangel an einem notwendigen Stoff im Substrat hin.

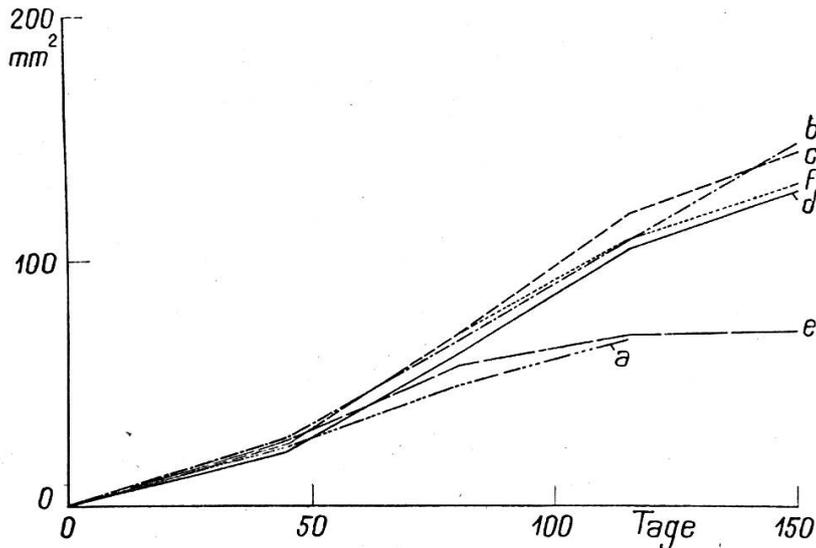


Abbildung 30
 Flächenwachstum von *Placodiomyces saxicolae* Stamm 14 auf
 den Substraten *a, b, c, d, e, f*. Abszisse: Versuchsdauer.
 Ordinaten: Thallusfläche

Caloplacomycetes aurantiacae (Abbildung 31) zeigt auf allen Substraten das gleiche Kurvenbild, wobei allerdings die Schnelligkeit der Entwicklung verschieden ist. Doch zeigt keine der Wachstumskurven eine Knickung, die auf das Fehlen eines notwendigen Stoffes hinweisen würde. Der Habitus des Pilzes ist überall gleich.

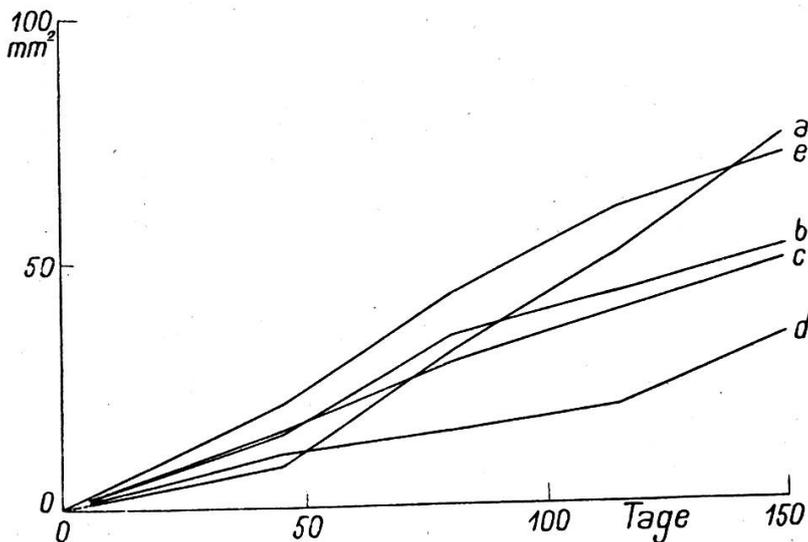


Abbildung 31
 Flächenwachstum von *Caloplacomycetes aurantiacae* auf den
 Substraten *a, b, c, d, e*. Abszisse: Versuchsdauer. Ordinaten:
 Thallusfläche

Xanthoriomyces parietinae (Abbildung 32) zeigt auf Hefeagar (a) ein deutlich beschleunigtes Wachstum. Auch auf Algenagar ist die Entwicklung gut, verlangsamt sich aber nach 115 Tagen merklich. Auf den Nährböden c, d, e kommt die Entwicklung fast zum Stillstand. Es ist

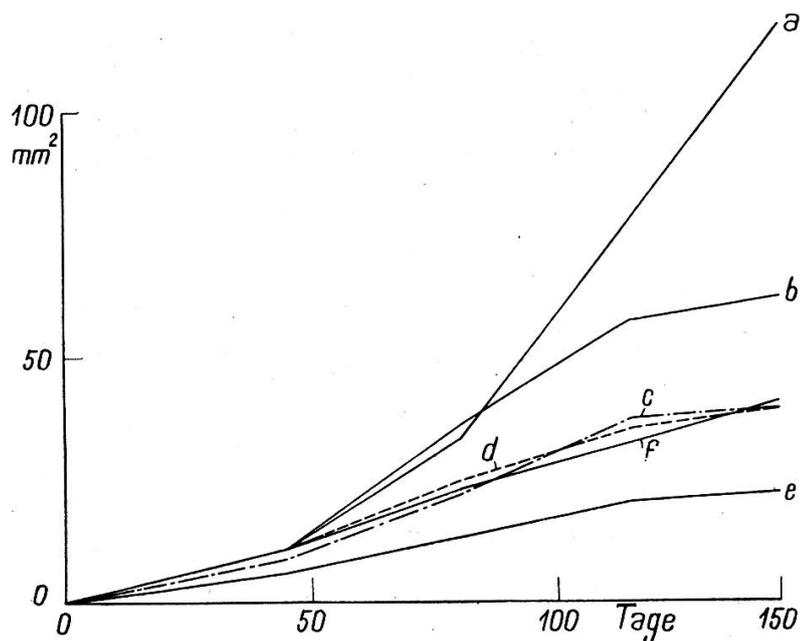


Abbildung 32
Flächenwachstum von *Xanthoriomyces parietinae* auf den Substraten a, b, c, d, e, f. Abszisse: Versuchsdauer. Ordinaten: Thallusfläche

nicht ausgeschlossen, daß diese Tatsache auf den Mangel an einem notwendigen Wuchsstoff zurückzuführen ist. Im Habitus bestehen keine Unterschiede auf den verschiedenen Substraten.

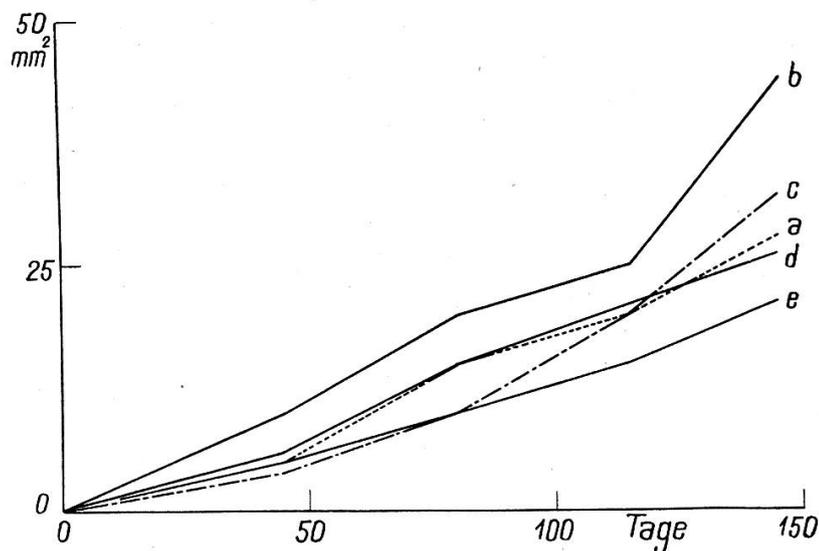
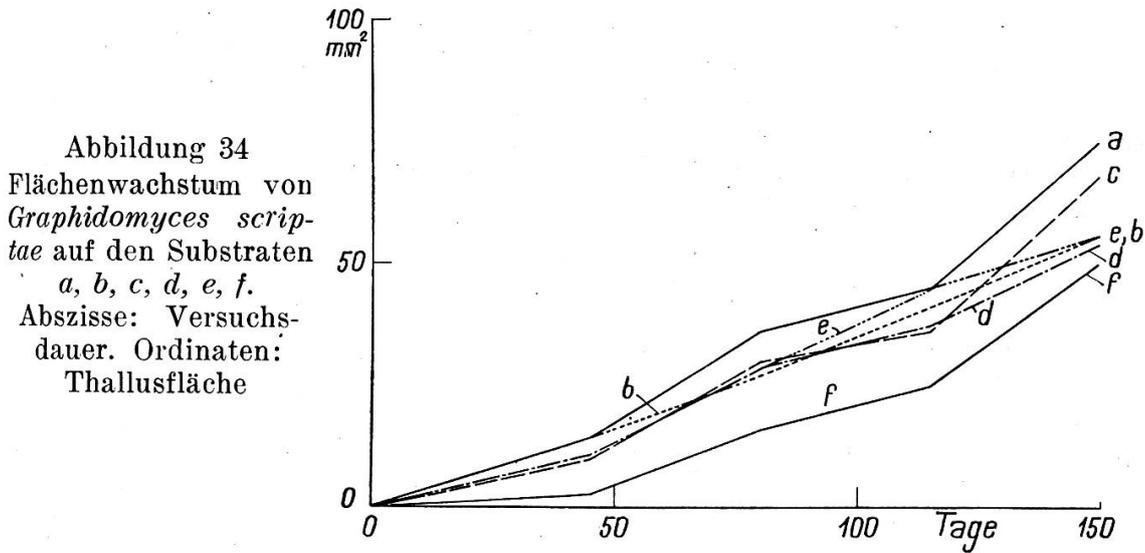


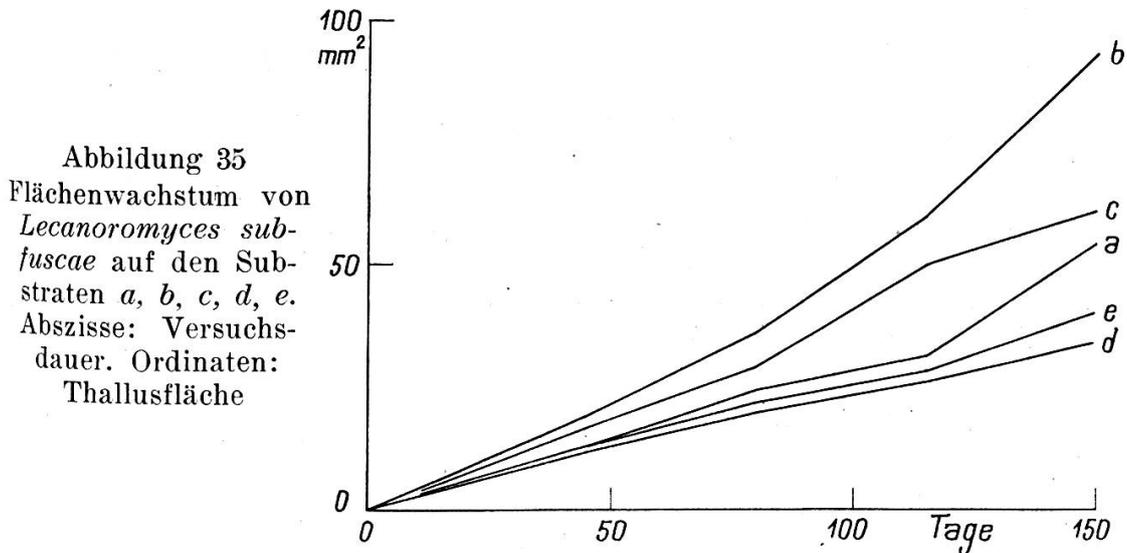
Abbildung 33
Flächenwachstum von *Lecideomyces parasemae* auf den Substraten a, b, c, d, e. Abszisse: Versuchsdauer. Ordinaten: Thallusfläche

Lecideomyces parasemae (Abbildung 33) wächst in diesem Versuch von allen Pilzen am langsamsten, und die Entwicklungsunterschiede sind gering. Deutlich zeigt der Pilz nur eine Bevorzugung des Algensubstrates (b). Das Aussehen der Kulturen ist überall gleich.

Graphidomyces scriptae (Abbildung 34) zeigt fast Übereinstimmung aller Wachstumskurven. Auch der Habitus der Kulturen ist auf allen Nährböden gleich.



Lecanoromyces subfuscae (Abbildung 35) besitzt auf Algenagar das schnellste Wachstum. Die übrigen Kurven weichen bei Versuchsende nur wenig voneinander ab. Im Habitus zeigen die Kulturen keine Unterschiede.



Vergleicht man die Wachstumskurven aller Pilze miteinander, so ergibt sich im ganzen eine Bevorzugung des Algen- und Hefeagars: Vier Pilze entwickeln sich auf Algenagar, die drei übrigen auf Hefeagar am besten, wenn die Thallusfläche bei Versuchsende als Kriterium benützt wird. Ob diese Bevorzugung auf der Lieferung von Wuchsstoffen

an die Pilze begründet ist, kann allerdings aus dem Versuch nicht entnommen werden. Einzig die Knickung einzelner Kurven bei *Physciomyces pulverulentae*, *Placodiomyces saxicolae* und *Xanthoriomyces parietinae* läßt einen Einfluß von Wuchsstoffen vermuten.

2. Der Einfluß synthetischer Vitamine auf die Entwicklung von Flechtenpilzen

Es sollte der Einfluß aller zur Verfügung stehenden Vitamine auf meine Flechtenpilze untersucht werden. Als Nährboden wurden je 80 cm³ K n o p - Glukoseagar in die Versuchskolben gegeben. Dazu wurden Wuchsstoffe nach folgendem Schema gefügt:

- Serie 1: 0,8 cm³ destilliertes Wasser und 0,8 cm³ absoluter Alkohol
- Serie 2: 0,8 cm³ Aneurinlösung und 0,8 cm³ absoluter Alkohol
- Serie 3: 0,8 cm³ Vitaminlösung *a* und 0,8 cm³ Vitaminlösung *b*
- Serie 4: 0,8 cm³ destilliertes Wasser und 0,8 cm⁵ Heteroauxinlösung

Die mit den Pilzen beimpften Kolben wurden während sechs Monaten bei einer Temperatur von 22 bis 24° im Dunkeln gehalten.

Physciomyces pulverulentae fiel auch hier durch sein relativ rasches Wachstum auf den Substraten 1, 2 und 3 auf. Nach zwei Monaten hatten sich weiße Kulturen von 5 bis 6 mm Durchmesser und 3 bis 4 mm Höhe entwickelt, die auf allen drei Nährböden gleich aussahen. Nach weiteren zwei Monaten betrugen die Durchmesser der Lager 10 bis 12 mm. In allen Kolben stellte ich eine gelbliche Verfärbung des Agars fest, die bis zum Versuchsende nach sechs Monaten noch zunahm. Die Thalli hatten nach dieser Zeit 12 bis 16 mm Durchmesser. Das Heteroauxin wirkte auf *Physciomyces pulverulentae* giftig: Er stellte in den Kolben der Serie 4 jedes Wachstum ein. Die geimpften Myzelstücklein verfärbten sich grau-braun und veränderten sich dann nicht weiter.

Lecideomyces parasemae wuchs auffallend ungleichmäßig. Auf Substrat 1 wiesen die Kulturen nach zwei Monaten schwarzbraune Farbe auf. Ihr Durchmesser betrug 3 bis 4 mm und nahm im Verlauf von zwei weiteren Monaten um zirka 2 mm zu. Genau gleich verhielt sich der Pilz auf dem Aneurinsubstrat (2). Die Entwicklung auf dem Nährboden 3 blieb während der ganzen Versuchsdauer sehr ungleich: Neben Lagern, die in ihrer Wachstumsgeschwindigkeit und ihrem Habitus mit den Thalli auf den Substraten 1 und 2 übereinstimmten, stellten andere ihre Entwicklung völlig ein. Das Wachstum auf den Heteroauxinböden war sehr schwach, wurde aber nicht völlig unterdrückt. Die Farbe des Pilzes war hier rostbraun.

Graphidomyces scriptae entwickelte Thalli von unregelmäßiger Gestalt. In Form und Wachstumsintensität wichen die Thalli auf den verschiedenen Substraten kaum voneinander ab; nur auf Nährboden 4

(Heteroauxin) wuchs der Pilz etwas langsamer. Nach vier Monaten besaß er auf den Böden 2 und 3 einen leichten Wachstumsvorsprung gegenüber den Lagern in den Kontrollkolben.

Die tiefschwarzen Kulturen von *Placodiomyces saxicolae* erreichten nach zwei Monaten einen Durchmesser von 5 bis 8 mm. Auf dem Aneurin-(2) und dem Vitaminsubstrat (3) zeigte sich um die aufgewölbte zentrale Partie der Thalli eine flache Randzone, die bei den übrigen Kulturen fehlte. Nach zwei weiteren Monaten war das Bild noch deutlicher: Auf den Nährböden 1 und 4 hatte der Pilz sein Wachstum offenbar völlig eingestellt, während auf den beiden aneurinhaltigen Böden die flache Randpartie in genau gleicher Weise radial weiter wuchs.

Daraus ging klar eine Wachstumsförderung von *Placodiomyces saxicolae* durch das Vitamin B₁ hervor. Die übrigen Vitamine, die neben dem

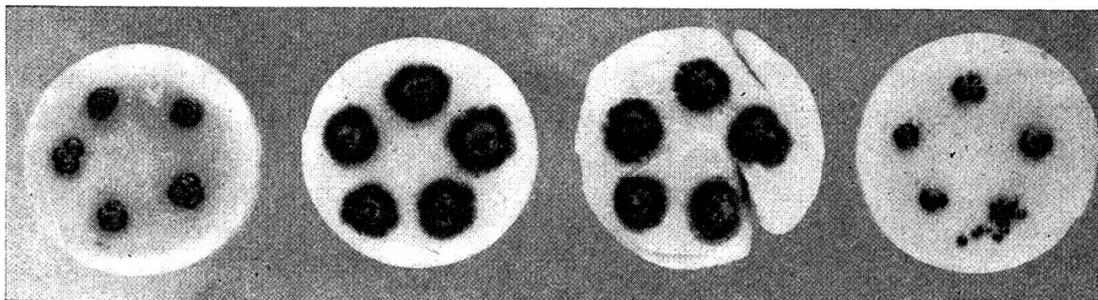


Abbildung 36

Der Einfluß von Vitaminen auf die Entwicklung von *Placodiomyces saxicolae* Stamm 14. V.l.n.r.: Nährböden 1, 2, 3, 4. Zusammensetzung der Nährböden: vgl. Text. Zirka $\frac{1}{3}$ nat. Größe

Aneurin in Nährboden 3 enthalten waren, vermochten die Entwicklung nicht weiter zu fördern als das Aneurin allein.

Die Thalli von *Lecanoromyces subfuscae* besaßen nach zwei Monaten überall den gleichen Durchmesser von etwa 2 mm. Die Farbe war auf den Substraten 1 bis 3 graubraun, auf Substrat 4 rotbraun. Nach vier Monaten waren die Kulturen auf den vitaminhaltigen Nährböden 2 und 3 wenig größer als auf den übrigen Substraten, und bei Versuchsabschluß waren die Unterschiede noch etwas ausgeprägter. Aber auch in den Vitaminkolben war das Wachstum so langsam, daß auf eine weitere Untersuchung der Erscheinung verzichtet wurde. Der Pilz verfärbte das Substrat überall schwach grüngelb.

Bei *Xanthoriomyces parietinae* ließen sich nach zwei Monaten keine Entwicklungsunterschiede feststellen. Das Wachstum war sehr langsam, der Durchmesser der Lager durchschnittlich 2 mm. Nach vier Monaten schienen die Kulturen auf dem Aneurinsubstrat etwas weiter fortgeschritten als auf den andern Nährböden, und nach sechs Monaten waren die Unterschiede recht deutlich. Die Lager waren aber im gesamten so

klein, daß auch hier auf eine weitere Untersuchung verzichtet wurde. Erst nach Abschluß meiner Versuche stieß ich auf die Arbeit von T o b l e r (1944), der eine Förderung der Sporenkeimung von *Xanthoriomyces parietinae* durch Aneurin feststellte.

Caloplacomycetes aurantiaca wuchs im Vergleich zu andern Flechtenpilzen stark flächenhaft. Die Farbe der Thalli war mattweiß. Der Pilz zeigte keinerlei Entwicklungsunterschiede auf den verschiedenen Nährböden.

Placodiomyces circinati war auch in diesem Versuch auf keinem Nährboden zu einem meßbaren Wachstum zu bringen.

3. Die Wirkung der Konstituenten des Aneurins auf die Entwicklung von *Placodiomyces saxicolae*

Placodiomyces saxicolae gehört zu der Gruppe der aneurin-heterotrophen Pilze, die auch bei einer Darbietung der beiden Bausteine des Aneurinmoleküls (Pyrimidin und Thiazol) optimale Entwicklung zeigen: Der Pilz wurde auf dem gewohnten K n o p - Glukoseagar während 200 Tagen gezogen. Die erste Kolbenserie erhielt als Zusatz je 1 cm³ destilliertes Wasser (Kontrolle), die zweite Serie Pyrimidin, die dritte Thiazol,

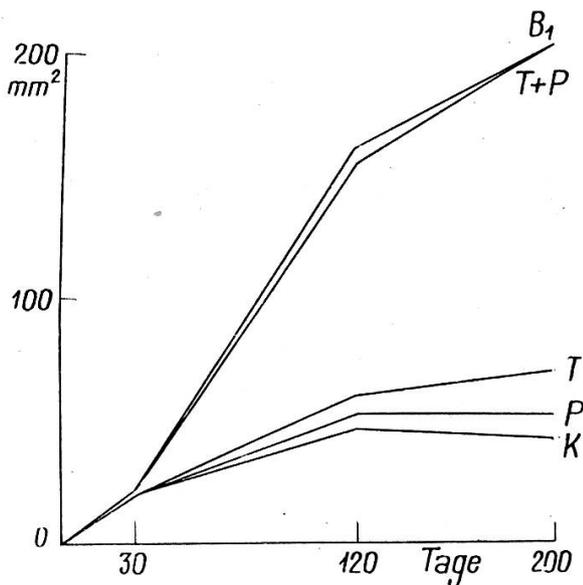


Abbildung 37

Der Einfluß des Aneurins (B₁) und seiner Konstituenten Thiazol (T) und Pyrimidin (P) auf die Entwicklung von *Placodiomyces saxicolae* Stamm 14. K = Kontrolle. Abszisse: Versuchsdauer. Ordinaten: Thallusfläche

die vierte Pyrimidin und Thiazol und die letzte Reihe Aneurin, alle Stoffe in je 1 cm³ Wasser pro Kolben gelöst. Die Aneurinkonzentration in den Nährböden betrug 1 : 10⁶; die übrigen Stoffe kamen in äquimolaren Mengen zur Anwendung (Molekulargewichte: Aneurin = 337, Pyrimidin = 138, Thiazol = 143).

Nach der Impfung setzte in allen Kolben gleichzeitig das Wachstum ein, und nach 30 Tagen waren praktisch keine Unterschiede in der Flächenentwicklung festzustellen. Der Durchmesser der Kulturen variierte von 5 bis 8 mm. Dagegen fielen die Thalli in den Kontrollkolben

durch ihr tiefer schwarzes Aussehen auf. Sie waren flach über den Nährboden ausgebreitet. Ähnlich flach wuchsen die Kulturen auf den Pyrimidin- und Thiazolsubstraten. In den P+T- und den Aneurinkolben zeigte der Pilz eine hochgewölbte Form und graue Farbe. Nach 120 Tagen waren auch in der Flächenentwicklung deutliche Unterschiede festzustellen: In den P+T- und Aneurinkolben wiesen die Thalli um eine hochgewölbte Zentralpartie eine flach ausgebreitete Zone auf, die in den folgenden Monaten weiter radial wuchs. Auf den andern Substraten zeigten sich flache Lager ohne Randzone. In den Kontroll- und Pyrimidinkolben stellte der Pilz nach 120 Tagen sein Wachstum vollständig ein; in den Thiazolkolben wies er bis am 200. Versuchstag noch einen ganz geringen Flächenzuwachs auf, der aber mit der kräftigen Entwicklung auf den P+T- und Aneurinsubstraten nicht Schritt hielt.

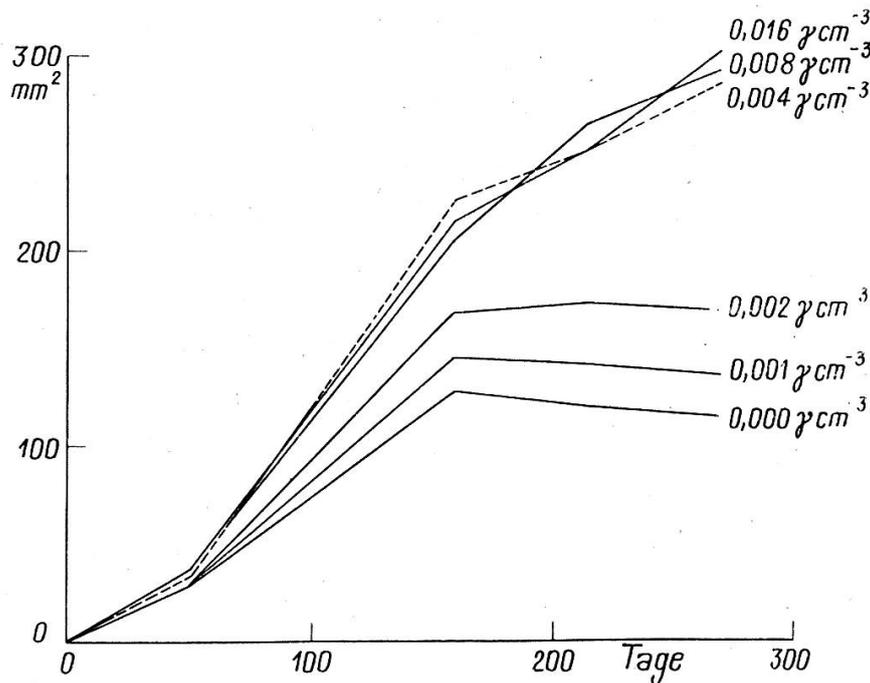


Abbildung 38

Die Flächenentwicklung von *Placodiomyces saxicolae* Stamm 14 bei steigendem Aneurin Gehalt des Substrates.

Abszisse: Versuchsdauer. Ordinaten: Thallusfläche

4. Der Aneurinbedarf von *Placodiomyces saxicolae*

Der vorige Abschnitt gibt zwar Aufschluß über die Art der Aneurin-Heterotrophie des Pilzes, sagt aber nichts aus über die für eine optimale Entwicklung nötige Aneurinmenge. Der Pilz wurde daher in einem weiteren Versuch auf Nährböden (K n o p - Glukoseagar) mit steigendem Aneurin Gehalt geimpft. Die geringste Vitaminkonzentration betrug 0,001 γ pro cm^3 , die höchste 1 γ pro cm^3 .

Den zeitlichen Verlauf des Flächenwachstums bei Stamm 14 stellt Abbildung 38 dar.

In den Kontrollkolben wuchs der Pilz anfänglich nicht schlechter als auf den aneurinhaltigen Nährböden; nach 50 Tagen war kaum ein Unterschied festzustellen. Erst nach 160 Tagen stellten die Kontrollkulturen ihr Wachstum völlig ein. Auch auf den Substraten mit einer Aneurinkonzentration von $0,001 \gamma$ pro cm^3 hörte die Entwicklung auf. Spätere Messungen ergaben eine Verkleinerung der Thallusflächen, die auf die allmähliche Austrocknung der Nährböden zurückzuführen war. $0,002 \gamma$ Aneurin pro cm^3 bewirkten ein geringes Weiterwachsen des Pilzes, der hier erst nach 215 Tagen seine Entwicklung einstellte. Wesentlich anders verhielten sich die Kulturen auf den Substraten mit $0,004 \gamma$ Aneurin pro cm^3 . Der Pilz wuchs in fast unverminderter Intensität bis zum Abschluß des Versuches nach 270 Tagen weiter. Eine weitere Erhö-

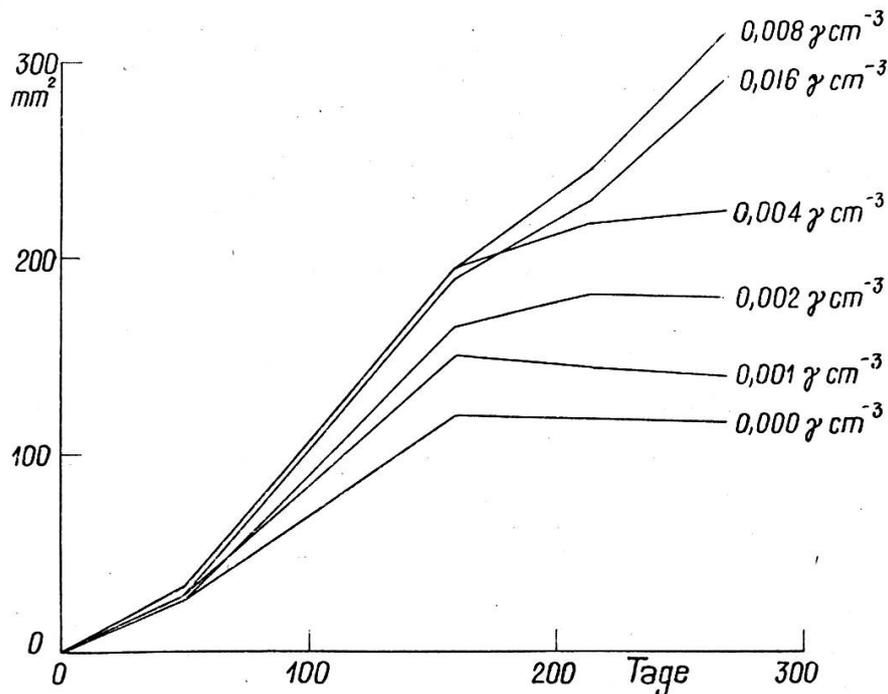


Abbildung 39

Die Flächenentwicklung von *Placodiomyces saxicolae* Stamm 11 bei steigendem Aneurin Gehalt des Substrates. Abszisse: Versuchsdauer, Ordinaten: Thallusfläche

hung der Vitamindosis bewirkte dagegen keine weitere Entwicklungssteigerung, hemmte aber das Wachstum auch nicht.

Placodiomyces saxicolae Stamm 11 scheint etwas mehr Vitamin B₁ für seine optimale Entwicklung zu verlangen: Bei $0,004 \gamma$ Aneurin pro cm^3 verlangsamte sich das Wachstum nach 160 Tagen gegenüber den Kulturen auf vitaminreicheren Substraten deutlich (Abbildung 39).

Im Habitus zeigten die beiden Stämme des Pilzes hier so wenig wie bei anderen Versuchen Unterschiede. Die Thalli bildeten sich besonders auf den vitaminärmsten Substraten sehr flach aus; auf den aneurin-

reicheren Böden wiesen sie üppigere Entwicklung auf. Gesamthaft ergibt sich, daß *Placodiomyces saxicolae* bei einer Versuchsdauer von 270 Tagen 0,004 bis 0,008 γ Vitamin B₁ pro cm³ Nährboden benötigt. Ein Vergleich mit dem Aneurinbedarf anderer vitamin-heterotropher Pilze ist schwer wegen der grundlegend verschiedenen Versuchsdauer. Müller (1941) stellte fest, daß die optimale Aneurindosis für *Mucor Ramannianus* bei einer Versuchsdauer von 13 Tagen 0,03 γ , bei 19 Tagen 0,05 γ und bei 26 Tagen 0,08 γ pro cm³ Nährlösung beträgt. Die optimale Aneurinmenge erhöht sich also mit der Versuchsdauer. Verglichen mit den Werten von *Mucor Ramannianus*, ist der Vitamin-B₁-Bedarf von *Placodiomyces saxicolae* äußerst gering, ja er liegt in einer anderen Größenordnung. Das hängt sicher vor allem mit dem von Natur aus langsamen Wachstum des Flechtenpilzes zusammen.

5. Das Wachstum von *Placodiomyces saxicolae* auf aneurinfreiem Substrat

Placodiomyces saxicolae hatte in allen bisherigen Versuchen auch auf aneurinfreiem Nährboden während einer gewissen Zeit ein deutliches

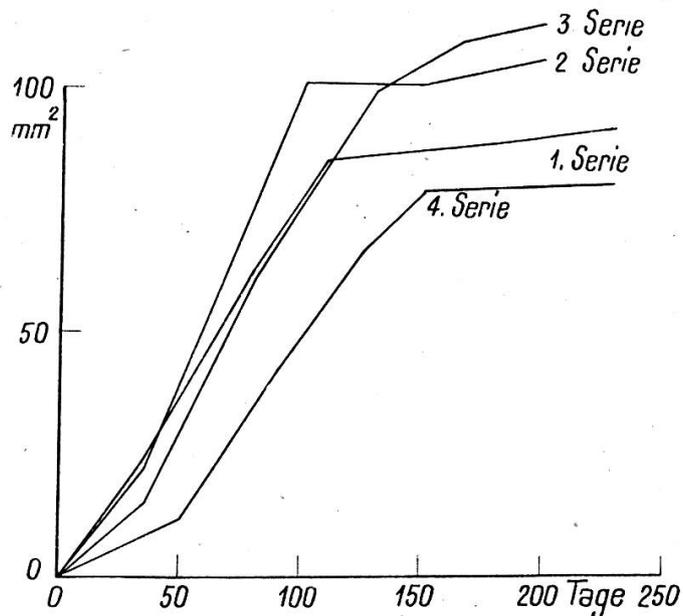


Abbildung 40
Die Flächenentwicklung von *Placodiomyces saxicolae* Stamm 14 auf aneurinfreiem Substrat. Abszisse: Versuchsdauer. Ordinaten: Thallusfläche

Wachstum gezeigt: Erst nach 100 bis 150 Tagen kam die Entwicklung auf dem vitaminfreien Substrat jeweils zum Stehen. Drei Gründe können ein solches Verhalten bewirken:

1. Das Substrat enthält trotz der Vorsichtsmaßnahmen Aneurinspuren, welche ein beschränktes Wachstum erlauben.
2. Bei der Impfung werden mit dem Impfmateriale Aneurinspuren in die Versuchskolben gebracht.
3. Der Pilz kann selber in geringem Maße Vitamin B₁ aufbauen, welches eine beschränkte Entwicklung gestattet.

Um diese Fragen der Lösung näherzubringen, wurde folgender Versuch angelegt: Der Pilz wurde von gewöhnlichem Malzagar auf aneurinfreien Knop - Glukoseagar geimpft (1. Serie). Nach zwei Monaten wurden von den inzwischen gewachsenen Kulturen der Serie 1 möglichst kleine Myzelstücklein in frische Kolben mit dem gleichen aneurinfreien Nährboden übertragen (2. Serie). Analog wurden nach weiteren zwei Monaten, ausgehend von Serie 2, eine dritte und schließlich eine vierte Reihe angelegt. Von Zeit zu Zeit wurden alle Thalli gemessen. Die Resultate sind in den Abbildungen 40 und 41 dargestellt.

Die Wachstumskurven der Serien 1 und 2 weisen bei beiden Stämmen nach einer Versuchsdauer von 100 bis 150 Tagen eine deutliche

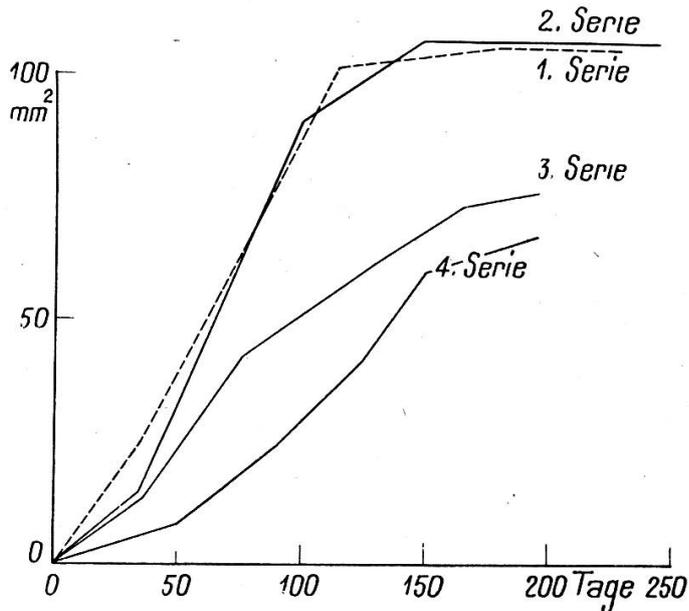


Abbildung 41
Die Flächenentwicklung von *Placodiomyces saxicolae* Stamm 11 auf aneurinfreiem Substrat. Abszisse: Versuchsdauer. Ordinaten: Thallusfläche

Knickung auf: Das Wachstum wird stark verlangsamt oder eingestellt. In den Kolben der Serie 3 wächst der Stamm 14 etwas intensiver als in den Kolben der zwei ersten Serien. Bei Stamm 11 ist das Wachstum dagegen deutlich verlangsamt. In Serie 4 verläuft die Kurve von Stamm 14 zwischen dem 50. und 150. Versuchstag kaum flacher als in den Reihen 1 bis 3; jene von Stamm 11 steigt im gleichen Zeitraum etwas flacher an. Aus dem Verlauf des ganzen Versuches ziehen wir folgende Schlüsse:

1. Das Wachstum des Pilzes auf aneurinfreien Nährböden ist nicht auf Vitaminspuren zurückzuführen, welche bei der Impfung mit dem Impfmateriale in die Versuchskolben übertragen werden. Wäre das der Fall, so müßte der Verlauf der Wachstumskurven von Serie zu Serie wesentlich flacher werden, da die Überimpfung in die Kolben der Serien 2, 3 und 4 ja von vitaminfreien Substraten aus erfolgt.

2. Das Wachstum ist entweder (a) auf eine beschränkte Aneurinsynthese durch den Pilz oder (b) auf Aneurinspuren zurückzuführen, die im Nährboden trotz der peinlichen Vorsichtsmaßregeln zurückgeblieben sind.

a) *Aneurinsynthese durch den Pilz?* Gegen diese Hypothese spricht scheinbar der Umstand, daß der Pilz nach einer gewissen Zeit auf aneurinfreien Substraten seine Entwicklung völlig einstellt (vgl. Abbildungen 38 und 39). Der Einwand ist aber nicht stichhaltig, denn es ist möglich, daß der Pilz die Aneurinsynthese nur durchführen kann, wenn ein anderer Stoff, zum Beispiel Glukose oder Asparagin, in relativ hoher Konzentration zur Verfügung steht. Sobald der Pilz einen gewissen Teil dieses Stoffes aufgebraucht hat, ist die weitere Aneurinsynthese nicht mehr möglich. Um die Frage abzuklären, müßte der Pilz auf aneurinfreien Substraten mit wachsenden Nährstoffkonzentrationen gezogen werden. Solche Versuche wurden bisher nicht angelegt.

b) *Aneurinspuren im Nährboden?* Der Verlauf der Wachstumskurven auf aneurinfreiem Nährboden legt diesen Schluß nahe: Sobald die Aneurinspuren aufgebraucht sind, hört die Entwicklung auf. Die hypothetischen Aneurinspuren müssen aber sehr klein sein, denn sonst würde eine künstliche Zufuhr von 0,001 γ Vitamin B₁ pro cm³ Substrat keine so deutliche Wachstumssteigerung hervorrufen, wie aus den Abbildungen 38 und 39 hervorgeht. Ob in Wirklichkeit der Fall a oder b oder gar eine weitere, unbekanntere Möglichkeit verwirklicht ist, kann vorläufig nicht entschieden werden. Die mikrobiologischen Tests für das Vitamin B₁ sind nicht so empfindlich, daß die hier in Frage stehenden Aneurinspuren im Substrat nachgewiesen werden könnten.

6. Die Förderung des Wachstums aneurin-heterotropher Pilze durch Flechtenpilze

Die Wachstumsversuche zeigten, daß meine Flechtenpilze — *Placodiomyces saxicolae* ausgenommen — durch kein Vitamin in ihrer Entwicklung beeinflußt werden. Diese Tatsache läßt sich so erklären, daß die Pilze die betreffenden Vitamine entweder nicht brauchen oder sie selber aufbauen können. Einige Wuchsstoffe, zum Beispiel das Vitamin B₁, nehmen bei elementaren Lebensvorgängen eine so zentrale Stellung ein, daß ihre Entbehrlichkeit für Flechtenpilze unwahrscheinlich ist. Ein Versuch sollte zeigen, ob die Flechtenpilze das Vitamin B₁ tatsächlich selber aufbauen.

Auf aneurinfreiem Knop - Glukoseagar wuchsen während zirka sechs Monaten meine Flechtenpilze heran. Nach dieser Zeit wurden die Nährböden — wie beim entsprechenden Versuch mit Flechtenalgen — aufgeweicht und leicht geschüttelt, um eine gleichmäßige Verteilung des

eventuell gebildeten Vitamines B₁ zu erzielen. Auf die wieder erstarrten Substrate wurde nun *Cercospora herpotrichoides* Fron. geimpft. Der Parasit begann in allen Kolben zu wachsen, entwickelte sich aber sehr ungleich. Die im Verlaufe von drei Wochen gebildeten Thallusflächen sind aus Abbildung 42 ersichtlich.

In den Kontrollkolben (K) bildete der Testpilz einen sehr dünnen Thallus, dessen äußere Ränder sich allmählich im Substrat verloren. In den Kolben von *Physciomyces pulverulentae* (Nr. 10) bildete der Parasit dagegen einen üppigen grauschwarzen Thallus, der fast den ganzen

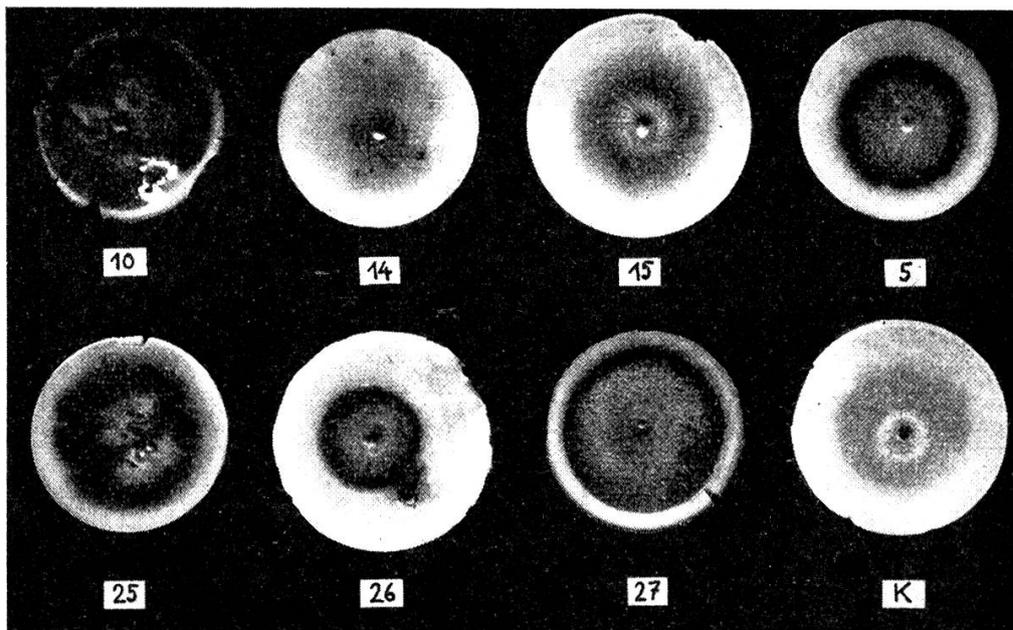


Abbildung 42

Die Flächenentwicklung von *Cercospora herpotrichoides* Fron. auf Nährböden, auf denen vorher verschiedene Flechtenpilze (Nrn. 10, 14 usw., vgl. Text) gewachsen waren. Zirka $\frac{1}{4}$ nat. Größe

Nährböden überdeckte. *Placodiomyces saxicolae* (Nr. 14) hatte sich auf den aneurinfreien Substraten schwach entwickelt. *Cercospora* wuchs auf dem Nährboden zwar an, breitete sich aber nicht weiter aus und zeigte schließlich ein geringeres Wachstum als in den Kontrollkolben. Es schien, als hätte vorher der Flechtenpilz noch geringste Aneurin Spuren des Substrates aufgebraucht, so daß sich *Cercospora* nicht einmal so weit entwickeln konnte wie in den Kontrollkolben. Sicher ergab der Versuch, daß *Placodiomyces saxicolae* kein Aneurin in meßbarer Dosis bildet. *Caloplacomycetes aurantiacae* (Nr. 15) förderte den Testpilz zwar klar, aber nur schwach in seinem Wachstum; offenbar hatte dieser Flechtenpilz nur wenig Vitamin B₁ gebildet. *Xanthoriomyces parietinae* (Nr. 5) bewirkte eine üppige Entwicklung von *Cercospora*. *Lecideomyces parasemae* (Nr. 25) und *Lecanoromyces subfuscae* (Nr. 27) brach-

ten den Parasiten zu noch reicherer Entwicklung, während sein Thallus in den Kolben mit *Graphidomyces scriptae* (Nr. 26) kleinere Fläche, aber dafür eine sehr dichte Ausbildung zeigte.

Das Versuchsergebnis sei folgendermaßen zusammengefaßt: Alle untersuchten Flechtenpilze — mit Ausnahme von *Placodiomyces saxicolae* — fördern die Entwicklung des aneurin-heterotrophen Parasiten *Cercospora herpotrichoides* Fron. auf aneurinfreiem Nährboden. Das beweist, daß diese Flechtenpilze selber das Vitamin B₁ aufbauen.

7. Quantitative Bestimmung des Aneurins in einigen Flechtenpilzen

Die Frage bei diesem Versuch lautete: Wieviel Vitamin B₁ enthalten Thalli von Flechtenpilzen, die auf vitaminfreiem Nährboden gewachsen sind?

Ich ließ die Flechtenpilze während sechs Monaten auf aneurinfreiem Knop - Glukoseagar wachsen, löste dann die Thalli vom Substrat los, trocknete sie zuerst während fünf Tagen bei Zimmertemperatur und dann während sechs Stunden bei 65° im Thermostaten. Die trockenen Lager wurden zu feinem Pulver zerrieben. Bei der Bestimmung des Aneurin gehaltes ging ich genau gleich vor wie beim entsprechenden Versuch mit Flechtenthalli. Da von einigen Pilzen nur sehr wenig Trockensubstanz vorlag, konnte nicht von allen Objekten gleich viel Substanz in die Reagenzgläschen gegeben werden; auch war es oft nicht möglich, mehr als insgesamt fünf Parallelröhrchen von einem Pilz anzulegen.

Der Versuch ergab, daß die untersuchten Flechtenpilze recht aneurinarm sind. Die größte Wuchsstoffmenge, bezogen auf das Trockengewicht des Pilzes, enthielt *Lecanoromyces subfuscae* (Nr. 27): 2,5 γ Vitamin B₁ pro Gramm Trockensubstanz. In allen anderen Flechtenpilzen wurden geringere Vitaminmengen nachgewiesen: *Caloplacomycetes aurantiacae* enthielt 0,4 γ , *Physciomyces pulverulentae* 0,2 γ und *Lecideomyces parasemae* 0,1 γ Aneurin pro Gramm Trockensubstanz. Der Vitamingehalt der andern Flechtenpilze war noch geringer; qualitativ konnte der Stoff zwar einwandfrei festgestellt werden, doch ließen sich die geringen Konzentrationen quantitativ nicht mehr einwandfrei erfassen. Es ist zu beachten, daß durch den Versuch nicht alles von den Pilzen gebildete Vitamin erfaßt wurde: Ein Teil des Wuchsstoffes diffundierte aus den Pilzthalli in die Nährböden. Qualitativ konnte dieses Aneurin nachgewiesen werden: Nach der Entfernung der Flechtenpilze entwickelte sich auf ihren Nährböden ein aneurin-heterotropher Pilz sehr gut.

8. Der Einfluß von Heteroauxin auf das Wachstum von drei Flechtenpilzen

In einem ersten Versuch verhielten sich die Flechtenpilze gegenüber dem Wuchsstoff Heteroauxin uneinheitlich: Die Flächenentwicklung von

Graphidomyces scriptae, *Lecanoromyces subfuscae*, *Xanthoriomyces parietinae* und *Caloplacomyces aurantiacae* wurde nur unwesentlich beeinflusst. Dagegen stellten *Physciomyces pulverulentae* und *Lecideomyces parasemae* ihr Wachstum ein. Der Wachstumsstillstand von *Placodiomyces saxicolae* im gleichen Versuch ließ keine Schlüsse zu, da dieser Pilz aneurin-heterotroph ist und das Substrat aneurinfrei war; so mußte schon wegen des Mangels an Vitamin B₁ die Entwicklung aufhören.

Ein weiterer Versuch sollte nun die Wirkung verschiedener Heteroauxin-Konzentrationen auf drei Flechtenpilze aufzeigen. Als Objekte wählte ich: 1. *Physciomyces pulverulentae*, der durch den Wuchsstoff vergiftet worden war, 2. *Placodiomyces saxicolae*, dessen Verhalten noch ungeklärt war, und 3. *Caloplacomyces aurantiacae*, der gegenüber dem Wuchsstoff indifferent war.

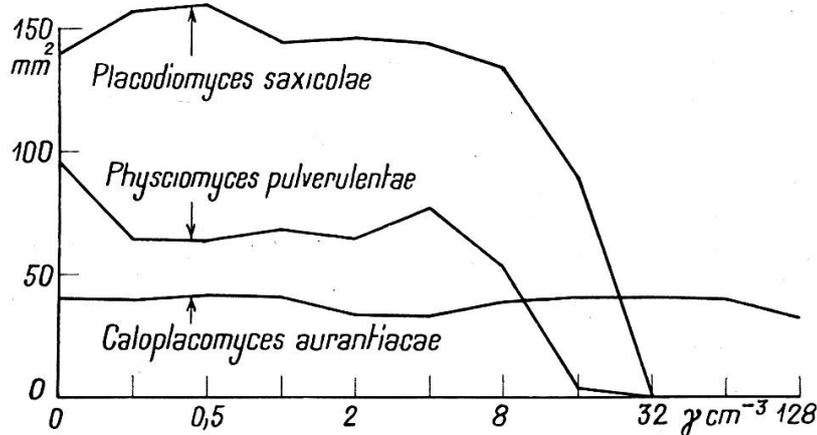


Abbildung 43

Die Flächenentwicklung von 3 Flechtenpilzen bei steigendem Heteroauxingehalt des Substrates. Abszisse: Heteroauxingehalt des Substrates. Ordinaten: Thallusfläche. Versuchsdauer: 150 Tage

Abbildung 43 gibt die Flächenentwicklung der Pilzthalli wieder. Der Nährboden enthielt außer dem Heteroauxin einen Zusatz des Vitamins B₁.

Placodiomyces saxicolae verhielt sich dem Wuchsstoff gegenüber bis zu einer Konzentration von 4 γ pro cm³ indifferent. Bei weiterer Erhöhung der Konzentration trat eine Wachstumshemmung ein, und 32 γ Heteroauxin pro cm³ Nährboden unterdrückten das Wachstum des Pilzes völlig. *Physciomyces pulverulentae* ließ sich durch niedrige Konzentrationen ebenfalls nicht beeinflussen. Er stellte das Wachstum aber bei einer Dosis von 16 γ pro cm³ Substrat ganz ein. *Caloplacomyces aurantiacae* ließ sich überhaupt nicht beeinflussen: Größe, Form und Farbe der Kulturen wiesen auch bei den höchsten Wuchsstoffkonzentrationen keinerlei Unterschiede gegenüber den Kontrollkulturen auf.

G. Gegenüberstellung der Flechtenbildner; Fragen der künstlichen Flechtensynthese

1. Der Einfluß von Flechtenalgen auf das Wachstum der Flechtenpilze

Bei der Untersuchung des Einflusses verschiedener Nährböden auf das Wachstum von Flechtenpilzen hatte sich ergeben, daß einige Pilze den Algenagar den andern Substraten vorzogen. Andererseits ist bekannt, daß die Spezifität der Flechtenalgen sehr groß ist, indem zwei Thalli der gleichen Flechtenart verschiedene Gonidien enthalten können. Daher lag die Frage nahe, ob gewisse Flechtenalgen vielleicht ganz spezifische Stoffe produzieren, welche die Entwicklung des mit ihnen symbiotischen Pilzes fördern. Ich ließ meine neun Algenklone während drei Monaten auf vitaminfreiem K n o p- Glukoseagar wachsen, weichte dann die Nährböden auf, schüttelte leicht und ließ wieder erstarren. Die Algenkolonien waren nun zerfallen und erfüllten den ganzen Nährboden gleichmäßig. Nun wurden die Kolben mit den Flechtenpilzen beimpft, und zwar wurde jeder Pilz zu jeder Alge gebracht. Die Flächenentwicklung wurde nach 200 Tagen gemessen.

Das Wachstum des gleichen Pilzes variierte auf den verschiedenen Algenböden stark. Die Entwicklungsunterschiede führe ich zum Teil nicht auf den Einfluß der Algen zurück, sondern auf verschieden starke Austrocknung der Nährböden: Es gelang mir bei diesem Versuche nicht, die Austrocknung in befriedigender Weise zu verhindern. Immerhin lassen sich folgende Schlüsse aus dem Versuch ziehen:

1. Die Flechtenpilze werden durch die Algen, mit denen sie in natürlicher Flechtensymbiose leben, *nicht* spezifisch in der Entwicklung gefördert.
2. Eine geringe Wachstumsförderung durch Flechtenalgen im allgemeinen ist bei manchen Flechtenpilzen festzustellen, so entwickelt sich insbesondere *Placodiomyces saxicola* in den Kontrollkolben weniger gut als in den Algenkolben. Dieses Ergebnis war zu erwarten, nachdem die Aneurin-Heterotrophie dieses Pilzes bekannt war.

2. Aneurin-autotrophe Alge und aneurin-heterotropher Pilz als Flechtenbildner bei *Placodium saxicola*

In der Flechte *Placodium saxicola* ist der Pilz auf die Zufuhr des Vitamins B₁ angewiesen, wenn er sich optimal entwickeln soll. Andererseits baut die Alge dieser Flechte das Aneurin selber auf. Es stellt sich nun die Frage: Bezieht der Pilz in der Natur das notwendige Vitamin B₁ aus seiner Alge oder aus seiner Umgebung? *Placodium saxicola* ist in der Wahl der Substrate nicht wählerisch: Die Flechte kommt in erster Linie auf Steinen aller Art, auch auf Kunststeinen, Zementmauern usw.

vor. Sie wurde aber auch schon auf Blei, Eisen, Kupfer, Knochen gefunden (Richard, 1883). Wäre die Flechte auf Aneurinzufuhr aus dem Substrat angewiesen, so wäre dieses gleichgültige Verhalten gegenüber der Unterlage schwer zu erklären. Es ist daher anzunehmen, in der natürlichen Flechtensymbiose beziehe der Pilz *Placodiomyces saxicolae* das notwendige Vitamin B₁ aus seiner Wirtspflanze, der *Cystococcus*-Alge. Diese Annahme wurde bei einem künstlichen Syntheseversuch der Flechte *Placodium saxicola* aus ihren Komponenten berücksichtigt: Der Versuch sollte auf aneurinfreiem Substrat vorgenommen werden, um dem Pilz die Möglichkeit zu nehmen, das Vitamin aus der Unterlage zu beziehen; er sollte also gezwungen werden, seine Alge als Wuchsstofflieferanten zu benützen.

Vor dem Ansatz des Versuches wurden noch zwei Einzelfragen geklärt, die in den nächsten Abschnitten besprochen werden.

3. Wuchsform der Flechtenpilze in der natürlichen Flechte und in Reinkultur

Die Krusten- und Blattflechten zeigen an ihren natürlichen Standorten eine flach ausgebreitete Wuchsform. Da für die Formgestaltung in erster Linie die Pilzkomponente verantwortlich ist, weist also der Flechtenpilz in der Natur einen flachen Thallus auf. Werden Flechtenpilze in Reinkultur auf nährstoffreichen Substraten, etwa Malzagar, gezogen, so bildet sich eine andere Thallusform: An die Stelle der flachen Ausbreitung über das Substrat tritt ein hoher Wuchs. Die Höhe des Lagers kann dabei seinen Durchmesser sogar übertreffen. Ich stellte mir daher die Frage: Unter welchen Bedingungen nimmt der Flechtenpilz in Reinkultur ähnlich flache Wuchsform an wie in der natürlichen Flechte?

- a) *Der Einfluß der Substratfeuchtigkeit.* Der Pilz *Physciomyces pulverulentae* wurde in Kolben geimpft, welche nur 30 cm³ Malzagar enthielten. Nach dem Anwachsen des Pilzes wurden die Gefäße in einen trockenen Raum gestellt, so daß die Nährböden im Verlaufe von drei bis vier Monaten vollständig austrockneten. Der Pilz zeigte anfänglich — solange das Substrat feucht war — seine gewohnte hohe Wuchsform. Je mehr der Nährboden austrocknete, um so flacher wurde der Wuchs. Nach 270 Tagen hatten die Thalli Durchmesser von 30 bis 40 mm und bedeckten in ganz dünner Schicht das Substrat.
- b) *Der Einfluß der Ernährung.* In allen Versuchen fiel auf, daß auf nährstoffarmen Böden die Flechtenpilze viel flacher wuchsen als auf nährstoffreichen Substraten.

Aus a) und b) geht hervor, daß Flechtenpilze in Reinkultur ähnliche Wuchsform annehmen wie in der natürlichen Flechtensymbiose, wenn

das Substrat trocken und nährstoffarm ist. Flechtensyntheseversuche müssen daher auf nährstoffarmen und nicht zu feuchten Unterlagen durchgeführt werden, wenn sie Aussicht auf Erfolg haben sollen. Thomas (1939) stellte die gleiche Forderung auf, zu der er aber nicht wie ich durch morphologische Betrachtungen, sondern aus biologischen Gründen gelangt war: Werden Syntheseversuche auf « günstigen » Substraten ausgeführt, so vereinigen sich die Symbionten nicht zur Flechte, weil sie dann alle nötigen Nährstoffe in ausreichender Menge im Nährboden vorfinden und so nicht zur Eingehung der Symbiose gezwungen sind.

4. Ascosporenbildung von reinkultivierten Flechtenpilzen

Bisher gelang es in keinem Falle, Flechtenpilze in Reinkultur zur Bildung von Apothecien und Ascosporen zu bringen. In der Natur beobachtet man, daß manche Flechten an stark belichteten Standorten besser fruchten als an schattigen Stellen. Das läßt vermuten, starke Belichtung könnte auch Flechtenpilze in Reinkultur zur Bildung von Ascosporen zwingen. Ich impfte zur Prüfung dieser Frage alle zur Verfügung stehenden Flechtenpilze auf Malzagar. Die Hälfte der Kolben exponierte ich direktem Sonnenlicht, die übrigen Kolben wurden dunkel gestellt. Die direkte Belichtung hemmte die Entwicklung der Pilze, Fruchtkörperbildung konnte ich nirgends feststellen. Es sei darauf hingewiesen, daß manche parasitischen Pilze auf künstlichen Nährböden auch keine Hauptfruchtformen bilden. Die Flechtenpilze — parasitische Pilze auf Algen — gehören offenbar auch zu dieser Gruppe.

5. Versuch der künstlichen Synthese von *Placodium saxicola*

Das Ziel des Versuches war die künstliche Synthese der Flechte *Placodium saxicola* aus ihren Komponenten. Als Substrat brachte ich in die Versuchskolben je 30 cm³ aneurinfreien Knop - Glukoseagar. Die Knop - Lösung wurde dabei auf $\frac{1}{20}$ verdünnt und anstatt 2 % wurde nur 0,1 % Glukose gebraucht. Auf die sterilen Substrate wurden nun die Komponenten der Flechte zum Teil übereinander, zum Teil unmittelbar nebeneinander geimpft. Zuerst wurden die Kolben leicht beschattet; nachdem die beiden Flechtenbildner angewachsen waren, wurden die Abschirmungen entfernt, und die Kolben waren nun der direkten Belichtung durch die Morgensonne ausgesetzt.

Zuerst zeigte der Pilz in allen Kolben ein intensiveres Wachstum als die Alge. Nach drei Monaten wuchsen beide Komponenten etwa gleich schnell. Die anfänglich relativ schnelle Entwicklung verlangsamte sich immer mehr. Nach sechs Monaten — die Kolben waren seit längerer Zeit ausgetrocknet — goß ich in jedes Gefäß 10 cm³ steriles, destilliertes Wasser, das die Substrate wieder für einige Zeit feucht hielt. Nach neun und zwölf Monaten wurde die Befeuchtung wiederholt.

Makroskopisch zeigte der Versuch schließlich folgendes Resultat: Pilz und Alge bildeten überall eine graue, flache Kruste von zirka 10 mm Durchmesser. Sie sah in keinem Falle so aus, daß man in ihr einen Thallus der natürlichen Flechte *Placodium saxicola* erkannt hätte. Apothecien hatten sich nirgends gebildet. Die Unterseite der meisten Lager war schwarz, wies also die Farbe des Flechtenpilzes auf. In einigen Kolben fanden sich aber Thalli, die eine teilweise weiße Unterseite besaßen, wie die Flechte *Placodium saxicola*.

Unter dem Mikroskop fanden sich neben frischgrünen Algenzellen viele abgestorbene Zellen von hyalinem Aussehen; einzig die Zellwand schien intakt geblieben zu sein. Die Pilzhyphen durchzogen die Algen-

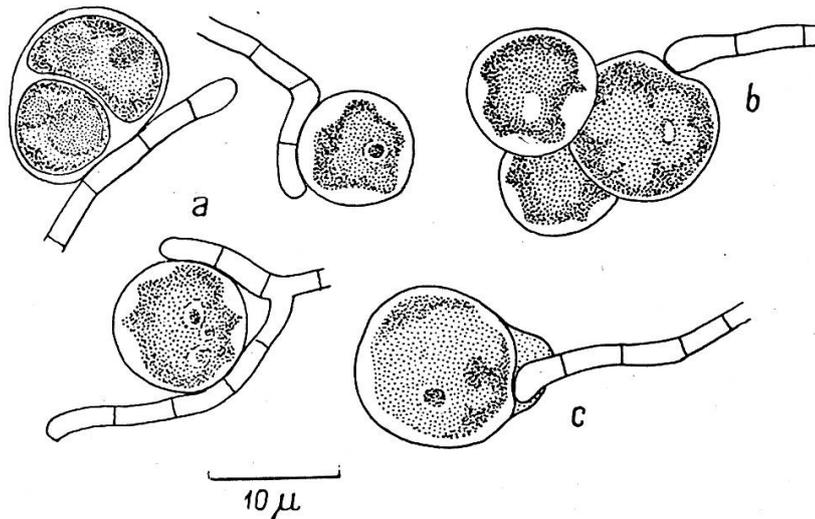


Abbildung 44

Künstlicher Syntheseversuch von *Placodium saxicola*. Umschlingung von Algenzellen durch Pilzhyphen (a), Appressorienbildung (b), Bildung eines Haustoriums (c) (?)

lager nach allen Seiten. Vereinzelt fanden sich solche, welche Algenzellen umschlangen, und selten konnten auch deutliche Appressorien nachgewiesen werden (Abbildung 44). Gesamthaft brachte auch dieser Syntheseversuch aber keine besseren Ergebnisse als die entsprechenden Versuche von Thomas (1939) und anderen Autoren.

H. Zusammenfassung

1. Aus einem Thallus der Flechte *Solorina saccata* wurde eine bisher nicht bekannte *Coccomyxa*-Art isoliert und unter dem Namen *Coccomyxa ellipsoidea* (*Solorinae saccatae*) Zehnder beschrieben.
2. Einige *Cystococcus*-Algen aus verschiedenen Flechten wurden näher beschrieben.

3. In den Thalli von zehn Flechtenarten wurde das Vitamin B₁ nachgewiesen.
4. Synthetische Vitamine beeinflussen die Entwicklung von Flechtenalgen nicht.
5. Flechtenalgen bauen das Vitamin B₁ selber auf.
6. Heteroauxin hemmt in relativ hoher Konzentration die Entwicklung von Flechtenalgen.
7. Das Vitamin B₁ fördert das Wachstum des Flechtenpilzes *Placodomyces saxicolae*. Das Vitamin B₁ kann ersetzt werden durch seine Konstituenten Pyrimidin und Thiazol. Pyrimidin oder Thiazol allein fördern das Wachstum des Pilzes nicht. Die optimale Aneurindosis für den Pilz bei einer Versuchsdauer von 270 Tagen beträgt 0,004 bis 0,008 γ pro cm³ Nährboden.
8. Alle übrigen untersuchten Flechtenpilze sind aneurin-autotroph.
9. Heteroauxin in relativ hoher Konzentration hemmt die Entwicklung mancher Flechtenpilze.
10. Keines der anderen geprüften Vitamine fördert die Entwicklung der Flechtenpilze.
11. Flechtenalgen üben keinen spezifischen wachstumsfördernden Einfluß auf ihre symbiotischen Pilze aus.
12. Flechtenpilze nehmen in Reinkultur eine ähnlich flache Wuchsform wie in der natürlichen Flechte an, wenn sie auf trockenem Substrat gezogen werden oder wenn das Substrat nährstoffarm ist.
13. Aus 7. und 8. ergibt sich: Es gibt aneurin-autotrophe und aneurin-heterotrophe Flechtenpilze. Die letzteren beziehen in der natürlichen Flechtensymbiose das Vitamin B₁ von ihrem aneurin-autotrophen Algenpartner.
14. Ein künstlicher Syntheseversuch der Flechte *Placodium saxicola* brachte keine besseren Resultate als die Versuche anderer Autoren.

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für spezielle Botanik der ETH in Zürich ausgeführt. Herr Professor Dr. E r n s t G ä u m a n n überließ mir in großzügiger Weise einen Arbeitsplatz und alle notwendigen Arbeits-Hilfsmittel. Besonderen Dank schulde ich Herrn Professor Dr. O t t o J a a g , der die Arbeit anregte und mir jederzeit seine reiche Erfahrung zur Verfügung stellte.

Zürich, den 8. März 1949.

I. Literaturverzeichnis

- Chodat, R., 1913. Monographie d'algues en culture pure. Matériaux pour la flore cryptogamique suisse, **4**, 2. Berne.
- Défago, G., 1940. Effets de l'aneurine, de ses composants et de l'hétéroauxine sur la croissance de trois parasites du blé. Zeitschr. f. Phytopath., **13**, 293—316.
- Fries, N., 1938. Wuchsstoffe und Wachstum der Pilze. Symbolae botanicae Upsalenses III.
- Gisiger, L., 1944. Der Einfluß von Vitamin B₁ auf Wachstum und Ertrag verschiedener Kulturpflanzen. Landw. Jahrbuch d. Schweiz 1944, 54—66.
- Hoffmann-La Roche, 1940. Plantes et vitamines. Basel.
- 1945. Vitamin-Vademecum « Roche », 3. Aufl. Basel.
- Hurni, H., 1944. Die Biosynthese von Aneurin in der höheren Pflanze. Der Br-Gehalt von *Melandrium album* unter verschiedenen Bedingungen. Zeitschr. f. Vitaminforschung, **15**, 3—32.
- Jaag, O., 1929. Recherches expérimentales sur les gonidies des lichens appartenant aux genres *Parmelia* et *Cladonia*. Thèse, Genève.
- 1933. *Coccomyxa* Schmidle, Monographie einer Algengattung. Beitr. z. Kryptogamenflora d. Schweiz, **8**, Heft 1. Bern.
- 1945. Untersuchungen über die Vegetation und Biologie des nackten Gesteins in den Alpen, im Jura und im schweizerischen Mittelland. Beitr. z. Kryptogamenflora d. Schweiz, **9**, Heft 3. Bern.
- Janke, A., 1939. Die Wuchsstoff-Frage in der Mikrobiologie. Zentralbl. f. Bakt., 2. Abt. Bd. **100**.
- Johannsen, W., 1926. Elemente der exakten Erblchkeitslehre. Jena.
- Klincksieck et Valette, 1908. Code des couleurs. Paris.
- Leonian, L. H., 1936. Effect of auxins from some green algae upon *Phytophthora cactorum*. Bot. Gaz., **97**, 854—859.
- Lindau, G., 1913. Die Flechten, in « Kryptogamenflora f. Anfänger », **3**. Berlin.
- Müller, F. W., 1941. Zur Wirkstoffphysiologie des Bodenzpilzes *Mucor Ramanianus*. Ber. Schweiz. Bot. Ges., **51**, 165—256.
- Quispel, A., 1942. The lichenisation of aerophilic algae. Proceedings **XLV**, 3, 276—282.
- Richard, O.-J., 1883. Etudes sur les substratums des lichens. Actes de la Soc. Linnéenne de Bordeaux, **37**, 1—88.
- Sandoz, R., 1945. Influence de l'aneurine (vitamine B₁) sur la croissance de certaines plantes. Thèse, Neuchâtel.
- Schmotkin, A., Schüpbach, J.-L., Moudon, E., Mirimanoff, A., 1944. Influence de l'aneurine (vitamine B₁) sur la culture du pavot somnifère. Pharm. Acta Helv., **19**, 83—94.
- Schopfer, W. H., 1939. Vitamine und Wachstumsfaktoren bei den Mikroorganismen, mit besonderer Berücksichtigung des Vitamins B₁. Ergebn. d. Biologie, **16**, 1—172.
- 1940. Recherches sur les facteurs de croissance fongiques dits spécifiques. Archiv f. Mikrobiol., **11**, 264—270.
- 1941. La question des vitamines considérée comme problème de physiologie générale. Mitt. naturf. Ges. Bern, **1941**, 73—103.

- Schopfer, W.H., und Blumer, S., 1938. Untersuchungen über die Biologie von *Ustilago violacea* (Pers.) Fuck, II. Mitteilung: Wirkung des Aneurins und anderer Wuchsstoffe vitaminischer Natur. Archiv f. Mikrobiol., **9**, 305 bis 368.
- — 1939. Recherches sur l'action de la vitamine E sur les plantes. Zeitschr. f. Vitaminforschung, **9**, 344—349.
- — 1940. Recherches sur la répartition de l'hétérotrophie par rapport à l'aneurine chez les champignons. Archiv f. Mikrobiol., **11**, 205—214.
- — 1943. Zur Wirkstoffphysiologie von *Trichophyton album* Sab. Ber. Schweiz. Bot. Ges., **53**, 409—456.
- Schopfer, W.-H., et Jung, A., 1938. Etude des organes d'animaux normaux et avitaminoses B₁ au moyen du test *Phycomyces*. Etablissement d'une micro-méthode. Zeitschr. f. Vitaminforschung, **7**, 143—152.
- Thomas, E. A., 1939. Über die Biologie von Flechtenbildnern. Beitr. z. Kryptogamenflora d. Schweiz, **9**, Heft 1. Bern.
- Tobler, F., 1944. Die Flechtensymbiose als Wirkstofffrage. I. Die Keimung von Flechtensporen und ihre Anregung durch Wirkstoffe. Planta, **34**, 34—40.
- Werner, R.-G., 1927. Recherches biologiques et expérimentales sur les ascomycètes de Lichens. Thèse, Mulhouse.
- Winkelmann, W., 1944. Die Vitamine. Was sie sind — Was sie leisten. Basel.
- Zahlbruckner, A., 1907. Lichenes. In « Engler-Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien », 1. Teil, Abt. 1. *
- Zöllner, W., 1925. Formeln und Tabellen zur Errechnung des mittleren Fehlers. Berlin.
-