

geführten anatomischen Untersuchung der Blattspreite zu halten. Diese ergab keine bemerkenswerten neuen Beobachtungen, doch bedürfen noch manche der Beobachtungen KRAFFTS, wie z. B. die Kieselzellgruppen bei *Coscinium Blumeanum*, die blasig angeschwollenen Haare bei verschiedenen Arten, die öfter zu beobachtende Verschleimung der Innenwände der Epidermiszellen usw., der physiologischen Deutung.

---

## 50. F. Tobler: Das physiologische Gleichgewicht von Pilz und Alge in den Flechten.

(Mit 1 Holzschnitt.)

(Eingegangen am 17. Juli 1909.)

---

Längst ist die SCHWENDENERSche Anschauung über die Natur der Flechten Allgemeingut geworden. Die Kulturversuche STAHLs und BONNIERS haben sie bestätigt und zugleich gezeigt, wie Kulturen von Flechten möglich sind. A. MÖLLER hat sodann auch den Pilz einiger Flechten mit Erfolg kultivieren können und dabei den Nachweis erbracht, daß künstliche Nährsubstrate anwendbar sind, bezüglich vieler Einzelheiten aber und des erreichbaren Grades von Thallusdifferenzierung Lücken gelassen.

Dagegen sind wir über die physiologischen Beziehungen noch nicht völlig im Klaren, die sich an die in der Flechte vorliegende Gemeinschaft knüpfen. Die auch in Lehrbücher, wie neuerlich das deutsche von WARMING-JOHANNSEN, übergegangene Anschauung des Verhältnisses als eines für die Alge relativ unvorteilhaften symbiotischen (Helotismus), dürfte die exakteste Vorstellung sein, die zurzeit möglich ist.

Ebenso ist bezüglich des Verhältnisses der Flechtenkomponenten in den Wachstumsbeziehungen, die von den physiologischen in direkter Abhängigkeit stehen, die Ansicht gültig, daß der Pilz die äußere Form des Thallus sowohl, als auch den Bau bedinge.

Beide Punkte bedürfen der Erhärtung und Vertiefung.

In physiologischer Hinsicht schienen mir die Untersuchungen ZOPFs über die Stoffwechselprodukte, die den Flechten allein eigentümlich sind, einen Fingerzeig zu bieten. Wir wissen, daß diese sog. Flechtenstoffe sich oft gerade an den Hyphen des Pilzes abscheiden (so manche der auffallenden Farbstoffe). Wollte man fest-

stellen, ob sich der Stoffwechsel des, wie wir seit MÖLLER annehmen dürfen, allein auch vegetationsfähigen Flechtenpilzes durch das Zusammenleben mit der Alge ändert, so mußte sich das am Auftreten dieser sonst nirgend bekannten Farbstoffe bemerkbar machen<sup>1)</sup>. Die Eigenschaft einer Reihe der Flechtensubstanzen, die altbekannten Farbreaktionen mit gewissen Reagentien zu geben, wie sie selbst an mikroskopischen Schnitten benutzt werden kann, schien obenein diesen Fragen noch bequemere Lösung zu bieten.

In morphologischer Hinsicht mußte erstens genauer als bisher durch Kulturen des Flechtenpilzes allein festgestellt werden, inwieweit das Zusammenleben mit der Alge das Wachstum des Pilzes in Art und Stärke beeinflußt und zweitens wie das in dem uns bekannten Flechtenthallus zum Ausdruck gekommene Gleichgewicht beider Teile erhalten bleibt.

In über mehr als drei Jahre fortgesetzten Kulturen des isolierten Pilzes einiger Flechten, solcher mit nachträglich zugefügten Algen aus Reinkulturen und solcher von regenerierenden Algenteilen, habe ich zunächst den zwei Fragen der zweiten Gruppe meine Studien gewidmet.

Das schon von MÖLLER gefundene sehr langsame Wachstum der Pilze, sowie nicht immer klare Resultate nach 6—10 monatlicher Kultur haben die Veröffentlichung einiger Befunde verzögert. Im übrigen gedenke ich die einschlägigen Probleme weiterer Behandlung vorzubehalten.

---

Meine Kulturen unterschieden sich zumeist von den MÖLLERSchen dadurch, daß sie auf festen Substraten angelegt wurden. Diese sind ja jetzt allgemein den BREFELDSchen in Kolben vorgezogen, auch die Flechtenpilze lassen sich sehr gut, ohne Zweifel dabei weit natürlicher, auf Gelatine und Agar züchten. Weit aus in den zahlreichsten Fällen diente mir eine 10proz. Gelatine mit 3proz. Bierwürze, die in Platten oder schrägen Röhren zur Verwendung kam. Wurde der Plattenguß auf Objektträgern in sterilen Kammern ausgeführt, so ließen sich, was bei der langen Dauer erwünscht war, die einzelnen Objektträger nach und nach verbrauchen, resp.

---

1) Man könnte einwenden, daß hierfür bessere Grundlagen in der Kenntnis der Stoffwechselprodukte resp. Farbstoffe bei den Pilzen selbst vorliegen müßten, als es den wenigen Untersuchern (BACHMANN, ZELLNER) bisher gelang. Tatsächlich haben diese aber nicht nur die Schwierigkeit der Untersuchung, sondern auch die von den Flechten abweichende Natur der dort vorkommenden Stoffe gezeigt.

verunreinigte entfernen. Wo Pilz und Alge dann vereinigt werden sollten, ging ich zu sterilisierten (ausgeglühten) Schiefer- und Tonstückchen in Petrischalen mit Wasser oder Nährlösung über, auf die ich Material von der Gelatine übertug. Eben solche Stücke konnten auch in kleinen Kölbchen — vermutlich denselben, die MÖLLER im hiesigen Institut benutzte — gehalten werden.

Endlich kamen (für Kultur von regenerierenden Stücken) kleine Tontellerchen in Betracht, die sterilisiert, mit Erde eingerieben, wieder sterilisiert und feucht gehalten werden konnten. Auf lange Zeit war das bei allen den letztgenannten Arten der Kultur nicht möglich, auch für die mit Algen versehenen Pilze überflüssig.

Objekte waren *Xanthoria parietina*, die sich durch die Reaktion des in der Rinde auftretenden Parietins (mit Kalilauge oder Schwefelsäure rot) empfahl, ferner *Parmelia acetabulum*, *Pertusaria vulgaris*, *Diploschistes scruposus*. Ich werde hier nur auf die Kulturen der *Xanthoria parietina* eingehen, bei der ich auf sterilisierte Objektträger ejaculierte Schlauchsporen von gereinigten Thalli als Ausgang wählte.

I. Die Keimung ließ ich meist im Hängetropfen (Bierwürzelösung) vor sich gehen. Sie erfolgte dort nach spätestens etwa 10 Tagen. Da sich die Kulturen so selten länger als 2—3 Wochen halten ließen, übertrug ich sie dann auf Gelatine. Der größeren Reinheit wegen habe ich aber später oft die ejaculierten Sporen direkt auf Gelatine übertragen. Die gekeimt übertragenen wuchsen dort in 3—5 Wochen zu einem sichtbaren, d. h. bis 3 mm Durchmesser zeigenden Mycel von 2 mm Höhe heran, die auf Gelatine direkt ausgesäten wurden oft erst nach 5 Wochen mit bloßem Auge bemerkbar. Das war besonders immer dann der Fall, wenn die Luftmycelbildung begann. Diese hob sich weißlich ab, sonst war das Mycel öfter bräunlich, auch in gesunden Vegetationen.

Auf morphologische Einzelheiten der Keimung und ersten Entwicklung, die z. T. nichts neues bietet, daneben aber charakteristische Momente hat (Gemmenbildungen, Anastomosen, Schnallen usw.), will ich hier nicht eingehen. Der größte, in 7 monatlicher Kultur so erzielte Thallus maß etwa  $\frac{1}{2}$  cm Durchmesser und 3 mm Höhe<sup>1)</sup>.

1) Von *Diploschistes scruposus* erhielt ich in 11 Monaten einen Thallus von  $1,2 \times 0,75$  cm Fläche und 0,5 mm Dicke. Bemerkenswert ist es, daß die Flechtenpilze allein so hohe Thalli, nie die flachen Krusten oder Laubformen zu geben scheinen. Mit der Alge wurde sichtlich Oberflächenvergrößerung erreicht.

Dabei folgte nun dem Stadium der Luftmycelbildung nach etwa 4 weiteren Wochen eine mäßige Bräunung der Oberfläche. Gegen Ende der Kulturen, die alle nach längstens 8 Monaten doch verunreinigt waren (was bei dem Zwang, feucht zu halten, wohl zu verstehen ist), traten Einsenkungen und stärkere Bräunung auf.

Sowie aber das Luftmycel verschwand, fand sich anatomisch eine deutliche Differenzierung in 3 Schichten: Der halbkuglige, aus einer Spore hervorgegangene Thallus zeigte deutlich strahligen Bau. Im Kern besaß er kompakteres, dann eine Zone lockereres Gewebe und außen wieder kompakter werdendes. Über das letztere hinaus ragen vorläufig noch die Lufthyphen, sie gehen zugrunde mit dem Dichterwerden der äußeren Schicht.

Wir haben hier eine sichere Andeutung von Mark und Rinde, vielleicht (in der lockersten Partie) auch von der Gonidienschicht ohne Gonidien. Dieses Resultat war in allen gut gedeihenden Kulturen ein übereinstimmendes.



Vergr. 80 X. Vertikalschnitt durch einen etwa 4 Monate alten Thallus des *Xanthoria*-Pilzes, Luftmycel (außen), darunter beginnende Rindenbildung und Mark zeigend.

In allen diesen Kulturen wurde an den Pilzhypen kein kristallinisches Produkt ausgeschieden, das sich mit dem bekannten Parietin der *Xanthoria parietina*, dem gelben der Rinde eingelagerten Farbstoff, hätte identifizieren lassen. Nie trat mit Kalilauge oder Schwefelsäure die eigentümliche Rotfärbung ein. Immerhin bliebe der Einwand möglich, daß in den bezeichneten Fällen das Rindengewebe ja erst das letztgebildete sei. Da aber bei *Xanthoria* Parietin gerade nur in der Rinde vorkommt, so könnte es erst in älteren Rindenteilen nachweisbar werden. Wir werden aus Vergleich mit der folgenden Gruppe von Kulturen sehen, daß die Rinde nicht zu jung für Parietinbildung ist.

II. Zu etwas angewachsenen Kulturen von Pilzen wurden Algen<sup>1)</sup> gebracht. Zu Keimungsstadien solche hinzuzusetzen, hielt

1) Reinkulturen der Alge sind aus feuchten Thallusstücken leicht zu erziehen und auf Bierwürzegelatine haltbar. Dort aber mit dem Pilz nicht zusammenzubringen.

schwer. Es bedarf für die Algen einer gewissen Feuchtigkeit, so kleine Stadien des Pilzes werden aber dabei stets von Verunreinigungen der Kultur unterdrückt. (Einer neuen Methode frühzeitiger Vereinigung der Komponenten bin ich auf der Spur.)

Ich hatte den besten Erfolg bisher auf den Tonstückchen, die in Wasser tauchten und so in den Kölbchen feucht blieben. Der Pilz — so durfte angenommen werden — fand auf dem Ton einiges an organischer Substanz für den Anfang, falls er dessen bedurfte.

Im allgemeinen zeigte es sich sehr schwer, die Kultur richtig für beide Teile abzustimmen. In feuchten Kulturen vermehrte sich die Alge zu rasch, in trockenen zu wenig. Oft überzog sie gerade den Pilz oberflächlich zunächst sehr schnell mit einer Vegetation. Dann traten nach einiger Zeit meist deutlich auf den mikroskopischen Präparaten Umspinnungen hervor. Algen wurden zu Gonidien. Dies trat da am besten ein, wo noch Luftmycel reichlich vorhanden, d. h. keine Rinde gebildet war. Die Rindenelemente mit ihrer relativ beträchtlichen Differenzierung waren zum Auswachsen und zur Umspinnung nicht befähigt. Durch die Rinde fiel es den Algen offenbar schwer, mit dem Pilz in Verbindung zu treten.

An den so entstandenen und nach etwa 2 Wochen — wenn überhaupt — erreichten Stadien, habe ich eine weitere morphologische Veränderung, so die typische Ausbildung der Rinden- und Gonidienschicht nicht erzielen können<sup>1)</sup>. Aber ich beobachtete nicht nur die Umspinnung, sondern in einigen Fällen bald darnach in den äußersten Partien der Schnitte eine Parietinreaktion (s. o.), also den Beweis dafür, daß Rindenbildung mit gelbem Farbstoff bevorstand. Einmal habe ich auch eine gelbliche Farbe des Thallus erzielt, aber meist sieht man das nicht, weil oberflächlich Algen anhaften.

Die Beobachtung zeigt aber, daß vom Pilz mit der Alge schon auf einer Stufe geringerer morphologischer Ausbildung ein Stoffwechselprodukt gebildet werden kann, das dem Pilz allein selbst bei weitergegangener Entwicklung nicht zukommt.

III. Schon in den letzten Kulturen ist von der Schwierigkeit, die gleichmäßig beiden jugendlichen Komponenten genehmen Be-

---

1) BONNIER, der gerade *Xanthoria* aus den Komponenten in Rücksicht auf die mögliche Entwicklung überhaupt kultivierte, berichtet keine mir dienenden Einzelheiten, auch die im folgenden berührten Momente fallen dort aus.

dingungen zu schaffen, die Rede gewesen. Dabei trat bald der eine Teil, bald der andere mehr hervor. Das veranlaßte mich zu Kulturversuchen mit Teilen des Thallus, bei denen ich den einen Teilhaber als überwiegend begünstigt für den Anfang annehmen zu können glaubte.

Ich kultivierte auf feuchten Tontellerchen Stückchen sterilen *Xanthoria*-Thallus. Sie gediehen, aber wuchsen ungleich. Zunächst sproßte stets seitlich ein weißer Flaum von Hyphen heraus, erst später schien sich die Rinde zu erweitern; vorübergehend traten auf den hervorgetretenen Hyphen auch die Algen üppig hervor. Im einzelnen war die Folge der Entwicklung die, daß zunächst die Hyphen der Gonidienschicht auswuchsen, darnach die Algen sich vermehrten und reichlich dabei ins Mark übertraten. Sodann begann ein Wachstum im Mark. Von der Gonidienschicht aus wurde neue Rinde gebildet, diese selbst war nicht oder wenig wachstumsfähig.

Ich verglich hiermit etwas gesuchter angestellte Kulturen, in denen ich von mikroskopischen Thallusquerschnitten also kleinsten Partikelchen mit allen Hyphenpartien und Algen ausging. Solche Schnitte habe ich mit Erfolg steril auf Bierwürzelgelatine übertragen und dort zu umfangreichem Wachstum bringen können. Beispielsweise erhielt ich aus einem Schnitt, der erst 4 Tage in sterilem Wasser gehalten, dann übertragen war, nach 4 Wochen einen Thallus von ca.  $\frac{1}{2}$  cm Durchmesser und fast ebensolcher Höhe. Er besaß dunkelgrüne Farbe von oberflächlich anhaftenden Algen und wurde später auf Tontellern weiter kultiviert. Stücke davon gedeihen noch jetzt nach fast 8 Monaten, haben aber nur unwesentlich an Umfang zugenommen. Hieran dürften die vielfachen Störungen (Anschnneiden usw.) schuld tragen.

Sein Wachstum verlief auch in der guten Anfangszeit nicht gleichmäßig: bis zur zweiten Woche langsam, dann gesteigert, Algen dabei in sichtlicher Zunahme, dann langsamer.

Anatomisch war hier und in ähnlichen, weniger weit gediehenen Fällen das Verhalten folgendes: Auswachsen der Schnitte geschieht im Wasser zuerst an den Rhizoiden, dann von der Gonidienschicht aus. Darnach nehmen die Algen zu, treten heraus und ins Mark über. Es beginnt auch dies zu sprossen. Neue Rinde endlich geht aus der Gonidienschicht hervor, die alte Rinde ist kompakt und nur an Bruchstellen, sowie beim Eindringen von lockeren Partien gelegentlich imstande, auszusprossen.

Wir haben also in diesen und den vorhergehenden Kulturen Anzeichen der feinen Abstufung der Vegetationsbedingungen

der beiden Komponenten zu einem — in der Kultur offenbar schwer erreichbaren — optimalen Zustand. Diesem entspräche das im normalen Thallus vorhandene Gleichgewicht der beiden Flechtenbildner. Die Kulturen in ihrer Mangelhaftigkeit stellen uns ein Schwanken um diesen Gleichgewichtszustand, eine morphologische Unsicherheit der Thallusform, vor.

Da nun eine schwache Parietinreaktion an den Regenerationskulturen nie schwand, so sind diese dem normalen Zustand in der Tat näher als alle die Kulturen von künstlicher Komposition, in denen gar keine Reaktion zu verzeichnen war.

Somit ist auch hierdurch die Spezifität des Stoffwechsels des Pilzes beim Zusammensein mit der Alge nachgewiesen.

Indem aber morphologisch der Pilz eine hohe Ausbildung auch allein erreicht, nimmt er sich von einem gewissen Stadium an die Möglichkeit des Zusammentretens mit der Alge (Rindenbeginn). Denn die Rinde als das am meisten differenzierte Stück des Pilzmycels und Thallus entbehrt der Fähigkeit, bei Störungen des Gleichgewichts oder der Kulturbedingungen sich durch Auswachsen anzupassen.

Im übrigen hoffe ich die Arbeiten auf dem betretenen Gebiete fortzusetzen.

Botanisches Institut der Kgl. Universität Münster (Westf.),  
14. 7. 1909:

---

#### Literatur.

- BONNIER, G., Recherches sur la synthèse des lichens. (Ann. scienc. nat. Bot. VII. Ser. 9. Bd. 1889.)  
BORNET, E., Recherches sur les gonidies des lichens. (Ann. scienc. nat. Bot. V. Ser., 17. Bd., 1873.)  
FRANK, A. B., Über die biologischen Verhältnisse des Thallus einiger Krustenflechten. (Beitr. z. Biologie, hsgb. von COHN. II. 1876.)  
MÖLLER, A., Über die Kultur flechtenbildender Ascomyceten ohne Algen. (Dissertation, Münster i. W. 1887.)  
REESS, M., Entstehung der Flechte *Collema glaucescens*. (Monatsber. d. Berliner Akad. Oktober 1871.)  
SCHWENDENER, S., Untersuchungen über den Flechtenthallus. (Beiträge z. wiss. Bot., hsgb. von NÄGELI, IV, 1868.)  
STAHL, E., Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Flechten II. (Leipzig 1877.)  
TREUB, M., Lichenenkultur. (Bot. Ztg., 31, 1873.)  
WARMING, E., u. JOHANNSEN, W., Lehrbuch der allg. Botanik. Erster Teil, S. 348. (Berlin 1907.)  
ZOPF, W., Die Flechtenstoffe. (Jena 1907.)