

# Physiologische Versuche

Objekttyp: **Chapter**

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

Band (Jahr): **8 (1933)**

Heft 4

PDF erstellt am: **16.07.2024**

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

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

### 3. Kapitel

## Physiologische Versuche

In diesem Kapitel wird über Versuche berichtet, welche dazu beitragen sollen, das physiologische Verhalten der *Fusarium*-Arten, mit denen Infektionsversuche ausgeführt wurden, aufzuklären.

Für das Zustandekommen einer Infektion einer höhern Pflanze durch irgendeinen pflanzlichen Parasiten sind verschiedene Faktoren massgebend. Neben «inneren» Bedingungen, wie Anfälligkeit, Resistenz und Immunität auf seiten des Wirtes und Virulenz oder mangelnde Vitalität auf der Seite des Parasiten, wird der Infektionsverlauf auch durch eine Reihe «äusserer» Umstände beeinflusst. Einer der wichtigsten dieser Umweltfaktoren ist, wie neuere Arbeiten von STAKMAN und LEVINE, DICKSON, ECKERSON, LINK, JONES und HOLBERT u. a. (zit. bei FISCHER & GÄUMANN, 1929) ergeben haben, die Boden- und Lufttemperatur.

Um sich optimal zu entwickeln, stellen Parasit und Wirt ganz bestimmte Ansprüche an die Aussentemperatur, die von Fall zu Fall wechseln können. Je näher die Aussentemperatur den optimalen Wachstumstemperaturen von Parasit und Wirt steht, um so günstiger sind für diese die Lebensbedingungen. Für das Gelingen und die Stärke der Infektion ist entscheidend, bei welcher Temperatur das Wachstumsoptimum der beiden Partner erreicht wird. Eine bestimmte Temperatur kann für die Entwicklung der Wirtspflanze günstig sein, während die gleiche Temperatur auf das Gedeihen des Parasiten nachteilig wirkt. In diesem Fall werden die Abwehrreaktionen des Wirtes stark unterstützt und eine Infektion ist kaum zu erwarten. Wird dagegen die Entwicklung des Parasiten durch die Temperatur gefördert, das Wachstum des Wirtes aber nicht angeregt oder sogar gehemmt, so ist eine Infektion wahrscheinlich. Der Infektionsverlauf ist also die Resultierende dieser beiden, in entgegengesetzter Richtung wirkenden Wachstumsvorgänge. Fallen die Temperaturansprüche von Parasit und Wirt zusammen, so hat man theoretisch über den ganzen Temperaturbereich einen annähernd gleichen Befall zu erwarten.

Sind die Ansprüche jedoch verschieden, so wird der Befall an einer bestimmten Stelle am stärksten sein, eben dort, wo der Parasit gegenüber dem Wirt in bezug auf die Entwicklungsmöglichkeit im Vorteil ist.

Aus den oben dargelegten Gründen ist die Kenntnis der Temperaturansprüche von Parasit und Wirt zum Verständnis der Infektionsbedingungen notwendig. Die hier zunächst zu besprechenden Versuche haben die Aufgabe, die Abhängigkeit des Wachstums der Parasiten von der Temperatur zu zeigen. Entsprechende Untersuchungen wurden durchgeführt mit *Fusarium herbarum*, *F. nivale* und *F. culmorum*.

## 1. Wachstum von *Fusarium herbarum* und *F. nivale* auf festen und in flüssigen Nährböden

### Versuchsmethodik

Der einzig gangbare Weg zur Lösung dieser Aufgabe besteht in der Kultur der Pilze auf künstlichen Substraten. Dabei stehen 2 Möglichkeiten offen: 1. Kultur auf festen Nährböden, 2. Kultur in flüssigen Nährmedien. Feste Nährböden eignen sich besonders zur Feststellung des Längenwachstums, bzw. der Zuwachsgeschwindigkeit. Diese stellt ohne Zweifel einen brauchbaren Maßstab für die Wachstumsenergie eines Pilzes dar; die Methode hat aber den Nachteil, dass nur das an der Oberfläche gebildete Myzel berücksichtigt wird. Die Kultur in einer Nährlösung erlaubt, das entstandene Myzel quantitativ zu bestimmen. Als Mangel dieser Methode mag gelten, dass der Sauerstoffzutritt gegenüber der Kultur auf festen Nährböden erschwert und der Unterschied zwischen natürlichem und künstlichem Substrat noch grösser ist. Die Verfahren ergänzen sich, weshalb beide in den vorliegenden Versuchen Verwendung fanden.

Für die Bestimmung des Längenzuwachses diente als Nährboden Malzagar, der im Liter 20 g Agar und 40 g Malzextrakt der Firma Wander A.-G. in Bern enthielt. Nach der Analyse der Fabrik waren in der angegebenen Menge Malzextrakt vorhanden: 16,4 g Maltose, 12,8 g Dextrin, 2,8 g Albuminosen und Peptone und 0,6 g Nährsalze (phosphorsaurer Kalk und phosphorsaure Magnesia, Alkalien).

100 ccm des verflüssigten Nährbodens wurden in Kolleschalen von ca. 20 cm Durchmesser abgefüllt und im Dampftopf bei 1 Atmosphäre Druck 3 mal, während 1½ Stunden sterilisiert. Hierauf wurde mit einer Impfnadel ein kleines Stückchen aus einer sporenfreien *Fusarium*-Kultur in die Mitte des erstarrten Substrates gebracht. Die 120 beimpften Schalen gelangten in 12 Thermostaten, deren Tempe-

peraturen in Intervallen von  $3^{\circ}$  den Bereich von  $0-33^{\circ}$  C umfassten. Die Temperaturen wurden täglich kontrolliert, und aus den Ablesungen am Schlusse eines Versuches die mittlere Temperatur berechnet. Hatte das Myzel der am stärksten wachsenden Kulturen den Rand der Schalen erreicht, was nach 10—15 Tagen der Fall war, so wurde von jeder Kultur der kleinste und der grösste Durchmesser des Myzelrasens gemessen, aus beiden Werten das arithmetische Mittel gezogen und aus den 10 zusammengehörenden Zahlen einer Temperaturserie der mittlere Durchmesser berechnet. Der mittlere Fehler gibt über die Schwankung der Resultate Auskunft. Gelegentlich musste eine Kultur infolge Mischinfektion aufgegeben werden.

Für die Kultur in Nährlösungen wurden 100 ccm einer geeigneten Nährflüssigkeit in Erlenmeyerkolben von 400 ccm Inhalt abgefüllt, diese mit Watte verschlossen und wie oben fraktioniert sterilisiert. Zur Beimpfung der Kolben diente eine konzentrierte Sporensuspension. In jeden Kolben mit Nährlösung wurden 3 Ösen voll dieser Sporenaufschwemmung übertragen. Je 10 Kolben kamen in einen Thermostaten zu stehen. Nach 2—3 Wochen wurden die Kulturen aus den Thermostaten entfernt und in den nächsten Tagen verarbeitet. In einigen Fällen musste ein Teil der Kolben in den Kühlraum gestellt werden ( $-1,0$  bis  $+1,0^{\circ}$  C), wo sie 1—2 Tage verblieben. Wie die Versuchsergebnisse zeigen, ist das Wachstum bei dieser Temperatur ganz minimal, so dass die entstandenen Fehler nicht stören. Das Myzel wurde auf Filter gebracht und 2 mal mit kochendem Wasser übergossen, um die Hyphen abzutöten. Filter und Myzel wurden mit Wasser von  $60-70^{\circ}$  C ausgewaschen, in einem Thermostaten bei  $30^{\circ}$  etwas angetrocknet und endlich das lufttrockene Myzel bei  $103^{\circ}$  C während 4 Stunden zur Trockne gebracht. Die Tabellen geben das arithmetische Mittel der 10 beobachteten Myzel-Trockengewichte einer Temperaturserie und den mittleren Fehler wieder.

### Versuchsergebnisse

#### a) Versuche mit *Fusarium herbarum*

Tabelle 1 stellt das Längenwachstum von *F. herbarum*, Stamm 204 auf Malzagar dar.

Zur Bestimmung des Myzel-Trockengewichtes von *Fusarium herbarum* diente RICHARD'sche Nährlösung. Diese enthält auf 1 Liter destilliertes Wasser 0,5 g Monokaliumphosphat, 2,5 g Magnesiumsulfat, 4 g Kaliumnitrat, 10 g Ammoniumnitrat. 50 g Traubenzucker und 20 mg Eisenchlorid. Der entstehende Niederschlag von Eisenphosphat war sehr geringfügig und konnte daher vernachlässigt werden. In dieser Nährlösung wuchs der von Baarn bezogene wie der selbst

**Tab. 1** Mittlere Durchmesser der Kulturen von *F. herbarum*, Stamm 204 auf Malzagar nach 15 Tagen. (Abb. 4.)

Mittlere Temperatur ° C	Mittlerer Durchmesser mm	Mittlerer Fehler mm
-0,9	3,9	± 0,3
+3,1	14,6	± 0,8
6,1	31,1	± 0,5
8,2	43,1	± 0,8
11,7	64,2	± 0,9
14,7	82,1	± 1,05
18,0	109,9	± 0,9
20,9	134,9	± 1,1
24,0	144,4	± 0,6
26,9	133,0	± 2,2
30,1	38,1	± 2,7
33,3	0	0

isolierte Stamm 204 sehr gut. In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der beiden Versuchsserien vereinigt.

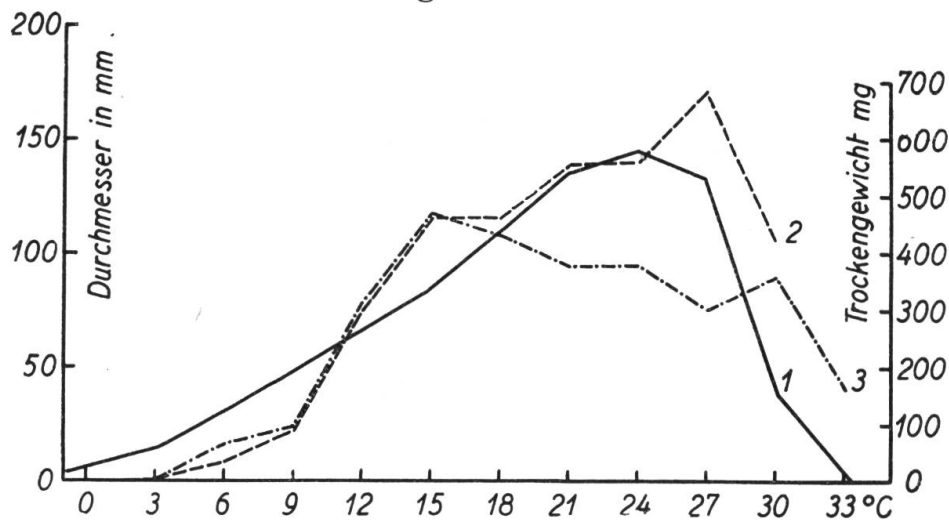


Abb. 4. Wachstum von *Fusarium herbarum*, Stamm 204 (1) auf Malzagar und des Stammes Baarn (3) und 204 (2) in RICHARD'scher Nährlösung.

Das Wachstumsoptimum von *Fusarium herbarum*, Stamm 204, auf Malzagar liegt im Bereich von 21—27° C mit einem flachen Maximum bei 24°. Nach den höhern Temperaturen nimmt das Wachstum sehr rasch ab; bei 30° wurde ungefähr gleich viel Myzel gebildet wie bei 9°, bei 33° dagegen keines mehr. Bei -0,9° C wächst der Pilz wohl schwach, aber noch merklich; die untere Wachstumsgrenze konnte nicht mehr bestimmt werden, sie liegt vermutlich noch etwas tiefer.

**Tab. 2** Myzel-Trockengewichte von *Fusarium herbarum*, Stamm Baarn und Stamm 204, nach 28–30 Tagen. Kultur in RICHARD'scher Nährlösung. (Vergl. Abb. 4.)

Temperatur der Thermostaten ° C	<i>Fusarium herbarum</i> , Stamm Baarn, 28 Tage alt		<i>F. herbarum</i> , Stamm 204, 30 Tage alt	
	Myzel- Trockengewicht mg	Mittlerer Fehler mg	Myzel- Trockengewicht mg	Mittlerer Fehler mg
—0,6	0	—	0	—
3,2	Spuren	—	Spuren	—
6,1	63,1	± 4,0	33,1	± 2,1
8,7	96,4	± 8,7	87,2	± 12,4
12,0	312,2	± 23,6	298,4	± 47,6
14,5	470,2	± 28,4	462,3	± 44,6
17,9	432,1	± 16,1	462,2	± 20,4
21,0	377,9	± 25,3	554,6	± 27,9
24,0	378,9	± 12,8	559,8	± 57,6
27,2	301,3	± 17,5	684,0	± 30,6
30,2	357,7	± 25,0	421,8	± 31,5
32,9	164,1	± 27,6		
19,3 im Licht			679,7	± 29,4
im Dunkeln			554,6	± 41,2

Bei Kultur in Nährlösung ist auffallend, dass gegenüber der Kultur auf festem Substrat die Wachstumsgrenzen beträchtlich nach oben verschoben sind. Das Wachstum der beiden untersuchten Stämme beginnt bei 3° C. Bis 15° erfolgt ein steiler, gemeinsamer Anstieg; während aber bei Stamm 204 das Myzel-Trockengewicht von hier an noch stark zunimmt, hat der Stamm von Baarn bei dieser Temperatur schon sein Wachstumsoptimum erreicht. Die entsprechende Kurve sinkt von 15° langsam bis 30° und fällt dann steil ab. Die Wachstumsintensität zwischen 15° und 24° ist nicht wesentlich verschieden. Die Differenzen der Einzelbestimmungen liegen hier wohl zum Teil ausserhalb der Fehlergrenzen; berechnet man jedoch den mittleren Fehler der Gewichtsunterschiede, so ergibt sich, dass die betreffenden Werte den üblichen Bedingungen nicht genügen. (Die Differenz zweier Einzelbestimmungen einer Versuchsreihe soll bekanntlich mindestens das 3fache des zugehörigen mittleren Fehlers betragen.) Man kann daher den Temperaturbereich von 15–24° als das Gebiet des optimalen Wachstums dieses Stammes betrachten. Der Stamm 204 dagegen weist bei 27° ein ausgeprägtes Optimum auf; nach der Seite des Maximums fällt die Kurve sehr schnell.

Für das verschiedene Verhalten der beiden Stämme scheinen 2 Erklärungen möglich zu sein. Entweder handelt es sich um biologische Rassen von *Fusarium herbarum* mit ungleichen physiologischen Eigenschaften oder der von Baarn bezogene Stamm ist infolge fort-dauernder Kultur auf künstlichen Nährsubstraten degeneriert und vermag bei Temperaturen um 24° nicht mehr in gleichem Masse zu gedeihen.

Angaben über das Wachstum von *Fusarium herbarum* sind in der Literatur spärlich. SCHAFFNIT (1912) beobachtet auf festen Nährböden bei 20° besseres vegetatives Wachstum als bei 12 und 26°, während in unsern Versuchen der Pilz bei 27° noch annähernd gleich gut wächst wie bei 20°.

Gleichzeitig mit den Kulturen in den Thermostaten wurden beimpfte Kolben im Laboratorium bei Zimmertemperatur aufgestellt, und zwar 10 Kolben im Licht, ca. 1 m vom Fenster entfernt und 10 Kolben im Dunkeln dicht daneben in einer Kartonschachtel. Die Ergebnisse sind der Tabelle 2 angefügt. In den Kulturen, die im vollen Tageslicht standen, entwickelte sich deutlich mehr Myzel, die Sporenproduktion dagegen war bei beiden Reihen gleich. Der Unterschied im Myzel-Trockengewicht der Licht- und Dunkel-Kulturen liegt ausserhalb des mittleren Fehlers. Die mittlere Temperatur des Raumes betrug während des Versuches 19,3° C; die Kulturen wurden zeitweise von der Sonne beschienen.

#### b) Versuche mit *Fusarium nivale*

Malzagar erwies sich zur Kultur von *Fusarium nivale* als geeignetes Substrat. Zur Prüfung gelangten die Stämme 302 und 408; der letztere deshalb, weil seine Verwendung bei den Infektionsversuchen vorgesehen war. In Tabelle 3 sind die Resultate der beiden Versuchsserien zusammengestellt.

Die obere Wachstumsgrenze liegt für beide Stämme etwas oberhalb 33° C. Der Stamm 408 wächst optimal bei 21° (20—22°) C, für den Stamm 302 wurde ein Optimum bei 21—24° festgestellt. Bemerkenswert ist, dass der Stamm 408 bei 0° in 13 Tagen noch Myzelrasen von durchschnittlich 20 mm Durchmesser bildet; sein Minimum befindet sich vermutlich bei —3,0° C.

*Fusarium nivale* in einer Nährlösung zu kultivieren bereitete anfänglich Schwierigkeiten. In RICHARD'scher Lösung gedieh nur der von Baarn bezogene Stamm, doch ging später sein Wachstum darin stark zurück (vergl. S. 32). Für Stamm 302 erwies sich das gleiche Substrat als ungeeignet, ebenso die Lösungen nach KNOP (KÜSTER, 1913, S. 17) und MELIN (MELIN, 1925), wobei der Pilz stets mittelst

**Tab. 3** Längenwachstum von *Fusarium nivale*, Stamm 302 auf Malzagar nach 10 Tagen und von Stamm 408 nach 13 Tagen.

<i>Fusarium nivale</i> , Stamm 302, 10 Tage alt			<i>Fusarium nivale</i> , Stamm 408, 13 Tage alt		
Mittlere Temperatur ° C	Mittlerer Durchmesser mm	Mittlerer Fehler	Mittlere Temperatur ° C	Mittlerer Durchmesser mm	Mittlerer Fehler
-0,8	3,4	± 0,5	-0,9	20,0	± 1,3
+2,9	16,0	± 1,7	+3,2	36,3	± 3,3
6,0	31,9	± 2,5	6,0	68,2	± 2,6
9,0	52,5	± 3,2	8,9	94,8	± 5,7
11,8	96,3	± 2,0	12,3	135,6	± 4,2
14,2	120,0	± 2,2	15,1	147,9	± 4,9
18,0	145,1	± 1,5	18,0	176,5	± 3,2
21,0	158,8	± 1,0	21,1	204,9	± 1,0
24,2	159,5	± 0,7	23,8	182,0	± 1,8
27,2	46,0	± 6,6	27,2	55,8	± 6,5
30,1	1,9	± 1,04	30,3	Spuren	—
32,4	0	—	32,9	0	—

Konidien übertragen wurde. In einer Lösung nach BURGEFF (BURGEFF, 1909) war wenigstens bei den tiefern Temperaturen schwaches Wachstum zu verzeichnen. Zusätze von asparaginsaurem Natrium (2<sup>0/00</sup>), Glykokoll (2<sup>0/00</sup>) und Gelatine (1<sup>0/0</sup>) zu den genannten Lösungen brachten wohl teilweise gesteigertes Wachstum, indessen war die

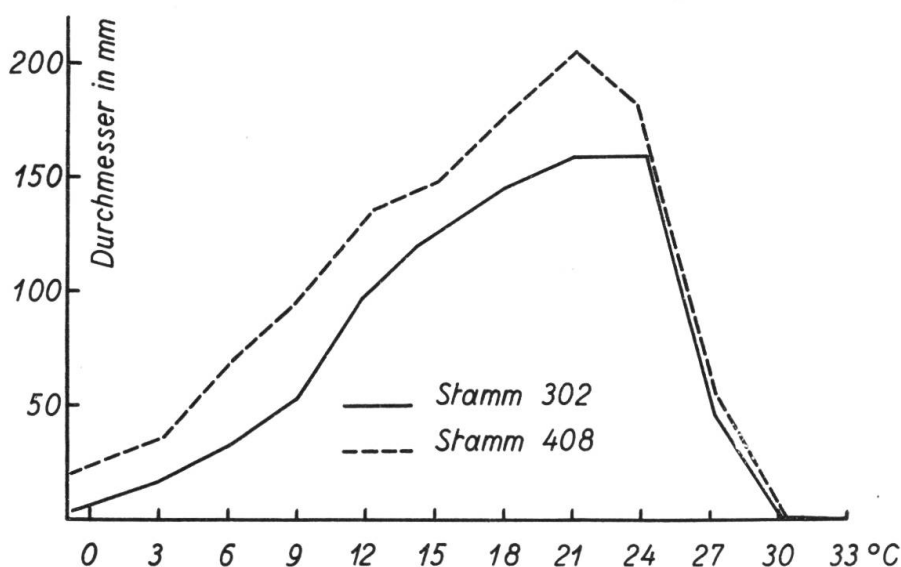


Abb. 5

Wachstum von *Fusarium nivale*, Stamm 302 und 408 auf Malzagar.



Myzelbildung in keinem Fall befriedigend. Zusätze von Glycerin, Milchsäure und Traubenzucker wirkten ungünstig. Als brauchbar erwies sich die KNOP'sche Lösung I in Verbindung mit 2,5% Apfelpektin. Die Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung: Kalziumnitrat 1 g, Magnesiumsulfat, Kaliumchlorid und Monokaliumphosphat je 0,25 g, 1 Tropfen einer 1% Eisenchloridlösung, 25 g Apfelpektin in 1000 ccm destilliertem Wasser. Mit dieser Lösung wurde eine erste Versuchsserie durchgeführt. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 4 (Abb. 6).

**Tab. 4** Myzel-Trockengewichte von *Fusarium nivale*, Stamm 302, nach 27 Tagen. Kultur in KNOP'scher Lösung mit Pektin.

Mittlere Temperatur ° C	Mittleres Myzel-Trockengewicht mg	Mittlerer Fehler mg
-0,6	Spuren	—
+3,1	26,8	± 1,2
6,1	34,4	± 1,35
9,0	37,7	± 0,7
11,6	44,2	± 0,6
14,9	44,6	± 2,5
17,8	56,7	± 1,1
21,1	52,2	± 1,2
24,0	61,3	± 1,6
27,1	Spuren	—
30,2	0	—

Das Wesentlichste an diesem Versuch ist wohl der Befund, dass *Fusarium nivale* Pektin als Nährstoff verwerten kann. In der entsprechenden KNOP'schen Lösung ohne Pektin war das Wachstum sehr mangelhaft.

Der Versuch ergibt für *Fusarium nivale* ein Wachstumsminimum bei 0° und ein Optimum bei 24° C, das Maximum liegt wenig oberhalb 27° C. Die Unregelmässigkeiten der Kurve bei 15 und 21° sind nicht sichergestellt. Da die Myzelerträge zu klein sind, um daraus sichere Schlüsse über das Verhalten des Pilzes in einer Nährlösung ziehen zu können, musste nach einem anderen, geeigneteren Medium gesucht werden. Der beste Erfolg wurde endlich mit einer Lösung von 50 g Malzextrakt (siehe S. 20) in 1 Liter destilliertem Wasser erzielt. Es war notwendig, die Lösung vor dem Sterilisieren einmal aufzukochen und von dem entstandenen Eiweissniederschlag durch filtrieren zu trennen. Nach der üblichen 3-maligen Sterilisation zeigte die Lösung eine Wasserstoffionenkonzentration von pH 5,26. Die Beimpfung der Kolben geschah in der üblichen Weise mit Hilfe einer Sporensuspension.

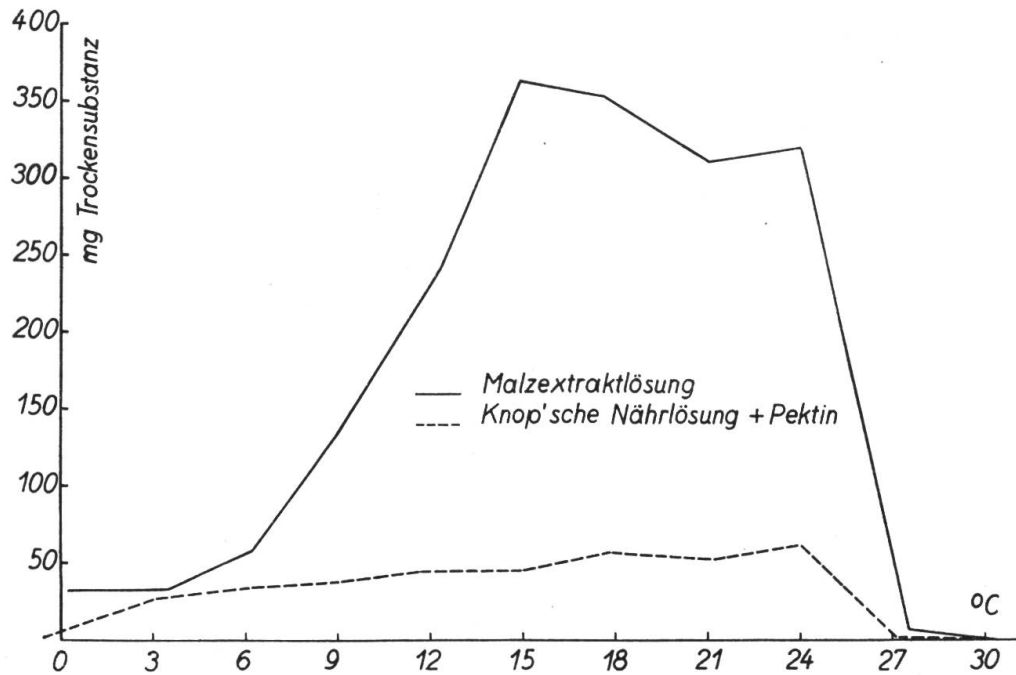


Abb. 6. Wachstum von *Fusarium nivale*, Stamm 302 in Malzextraktlösung und in Knop'scher Nährlösung mit Pektin.

Die Malzextraktlösung übertraf die Erwartungen in jeder Weise. Innerhalb weniger Tage entwickelte sich bei den optimalen Temperaturen eine dichte Myzeldecke; auch Sporenbildung war festzustellen. Nach einer Woche war unverkennbar das Wachstum bei 21 und 24 ° am besten. Nach 21 Tagen wurden die Kulturen in den Kühlraum gestellt und in den beiden nächsten Tagen verarbeitet. Wie sich nachher herausstellte, war die Versuchsdauer zu lang. Die in Tabelle 5

**Tab. 5** Myzel-Trockengewicht von *Fusarium nivale*, Stamm 302, nach 21 Tagen. Kultur in Malzextraktlösung (5%). (Abb. 6.)

Mittlere Temperatur °C	Mittleres Myzel-Trockengewicht mg	Mittlerer Fehler mg
+ 0,2	32,0	± 1,8
+ 3,5	33,2	± 1,4
6,2	58,2	± 1,0
8,9	133,2	± 3,6
12,3	240,9	± 9,8
14,9	363,5	± 11,3
17,6	354,2	± 22,3
21,0	311,3	± 11,9
24,0	320,1	± 13,2
27,5	6,7	± 2,1
30,3	0	—

wiedergegebenen Myzel-Trockengewichte lassen ein Optimum bei  $15^{\circ}$  erkennen, was aber mit der Beobachtung während des Versuches im Widerspruch steht. Dieser Gegensatz scheint seine Erklärung darin zu finden, dass bei den optimalen Temperaturen der Nährstoffvorrat nicht für die ganze Dauer des Versuches ausreichte. Nach LUZ (1934), der ähnliche Verhältnisse für *Fusarium lycopersici* beschreibt, hat man anzunehmen, dass von dem Zeitpunkte an, wo die Nährstoffe (in unserem Falle Maltose und Eiweissverbindungen) aufgebraucht sind, ältere Myzelien absterben, ihre Zellinhalte durch die nun permeablen Wände diffundieren und zum Teil für den Aufbau neuer Hyphen verwendet werden. Dadurch wird verständlich, dass in der Folge, von  $15^{\circ}$  an, das Myzelgewicht nicht auf derselben Höhe bleibt, sondern abnimmt, und zwar um so mehr, je früher der Nährstoffvorrat erschöpft war. Zieht man durch den Punkt, wo die Kurve umknickt ( $15^{\circ}$ ), eine neue Abszisse und trägt von dieser aus die negativen Differenzen der Myzelerträge nach oben ab, so ergibt sich eine Kurve, die viel besser den beobachteten Verhältnissen entspricht. Man geht daher kaum fehl, das Wachstumsoptimum des Pilzes in dieser Lösung bei  $21$  und  $24^{\circ}$  C anzunehmen.

Das Wachstumsmaximum von  $27^{\circ}$  deckt sich vollkommen mit dem des vorhergehenden Versuches in KNOP'scher Lösung mit Pektin. Hinsichtlich der untern Wachstumsgrenze besteht soweit Übereinstimmung zwischen den beiden Versuchen, als der Myzelertrag bei  $3^{\circ}$  beinahe gleich hoch ist; dagegen vermag *Fusarium nivale* in Malzextraktlösung bei  $0^{\circ}$  noch zu gedeihen; das Minimum liegt hier unter dem Nullpunkt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Versuche mit *Fusarium nivale* auf Malzagar stimmen gut mit den Angaben von SCHAFFNIT (1912) überein. Die Werte von TOGASHI (1931) liegen zum Teil höher als die hier angegebenen; die Wachstumsoptima decken sich, als Maximum gibt TOGASHI aber  $32^{\circ}$  und als Minimum sogar  $+7,0^{\circ}$  C an. Ob bei seinen Versuchen eine andere Rasse von *Fusarium nivale* vorgelegen hat oder ob die Unterschiede auf die Verschiedenheit des Substrates (Birnaragar) zurückzuführen sind, muss dahingestellt bleiben.

Bezüglich einer Zusammenfassung der Ergebnisse verweise ich auf Tabelle 7 am Schlusse dieses Abschnittes (S. 30).

#### Versuche mit *Fusarium culmorum*

Vergleichshalber sei das Ergebnis eines Versuches mit *Fusarium culmorum* in RICHARD'scher Nährlösung hier beigefügt. Aus Tabelle 6 ist ersichtlich, dass der Pilz sein Wachstum bei  $3^{\circ}$  beginnt. Das

Optimum von 24° ist gegenüber beiden benachbarten Werten sichergestellt, dagegen liegen die Myzelgewichte von 15—21° innerhalb der Fehlergrenzen. Man braucht also bei 15° kein zweites Optimum anzunehmen. Bei 33° wird noch eine beträchtliche Myzelmenge gebildet, der Versuch ist daher noch auf die beiden folgenden Temperaturstufen zu ergänzen. SCHAFFNIT (1912) ermittelt ein Maximum bei 34°, TANJA (1933) auf Malzagar ein solches zwischen 33—36°; während ihre Versuche ein ziemlich breites Optimum ergaben (21—27°), fällt das Minimum wiederum mit unserem Befund zusammen.

**Tab. 6** Myzel-Trockengewicht von *Fusarium culmorum*, Stamm von Baarn, nach 28 Tagen. Kultur in RICHARD'scher Nährlösung.

Temperatur °C	Mittleres Myzel-Trockengewicht mg	Mittlerer Fehler mg
3,2	Spuren	—
6,1	19,1	± 3,7
8,7	94,2	± 28,6
12,0	388,6	± 60,3
14,5	567,3	± 60,7
17,9	554,6	± 34,4
21,0	500,8	± 25,2
24,0	681,6	± 53,1
27,2	461,7	± 33,9
30,2	241,8	± 7,5
32,9	222,3	± 7,8

*Fusarium culmorum* stellt somit deutlich grössere Wärmeansprüche als z. B. *Fusarium nivale*, was für die Infektionsmöglichkeit von besonderer Bedeutung sein dürfte.

Zum Schlusse seien die Ergebnisse der Wachstumsversuche bei verschiedener Temperatur übersichtlich dargestellt (siehe Tab. 7). Bei der Übertragung der gewonnenen Ergebnisse auf die natürlichen Verhältnisse muss man sich jedoch stets daran erinnern, dass die physikalische und chemische Beschaffenheit der künstlichen Substrate von der des Ackerbodens weitgehend verschieden ist. Am ehesten scheint mir der Vergleich der auf Malzagar erzielten Werte mit den Bedingungen des Bodens zulässig zu sein, obwohl z. B. die osmotischen Zustände der Ackerkrume von denen des genannten Nährbodens ebenfalls stark abweichen.

**Tab. 7** Temperaturansprüche von *Fusarium herbarum*,  
*F. nivale* und *F. culmorum*.

Fusarium-Art	Substrat	Minimum °C	Optimum °C	Maximum °C
<i>F. herbarum</i>				
Stamm 204	Malzagar	unter - 1,0	24,0	um 33,0
Stamm 204	RICHARD'sche Nährlösung	+ 3,0	27,0	über 33,0
Stamm Baarn	RICHARD'sche Nährlösung	+ 3,0	15,0	über 33,0
<i>F. nivale</i>				
Stamm 302	Malzagar		21,0 — 24,2	um 32,0
Stamm 408	Malzagar	unter - 1,0	21,1	um 31,0
Stamm 302	KNOP'sche Lösung + Pektin	- 0,6	24,0	27,1
Stamm 302	Malzextrakt- lösung	unter 0°	21,0 — 24,0	etwas über 27,5
<i>F. culmorum</i>				
Stamm Baarn	RICHARD'sche Nährlösung	+ 3,0	24,0	über 33,0

## 2. Veränderung der Reaktion der Nährlösung

Ein anderer der am Anfang dieses Kapitels erwähnten Aussenfaktoren, die das Wachstum von Parasit und Wirt beeinflussen, ist die chemische Beschaffenheit des Bodens, des Substrates oder des Zellsaftes des Wirtsgewebes. Neben der Art und der Menge der Ionen, für die Parasit und Wirt ein mehr oder weniger ausgeprägtes selektives Vermögen besitzen (LAGERBERG, zit. bei FISCHER und GÄUMANN, 1929), spielt besonders die Wasserstoffionenkonzentration eine wichtige Rolle. Beide Partner entwickeln sich meist in einem bestimmten Konzentrationsbereich optimal, während Reaktionen, die ausserhalb dieser Grenzen liegen, die Wachstumsvorgänge bedeutend hemmen.

Den Einfluss der Reaktion des Substrates auf die Entwicklung der Parasiten, wie *Fusarium nivale*, *F. herbarum* und *F. culmorum* haben SCHAFFNIT und MEYER (1930) untersucht. Aus ihren Versuchen geht hervor, dass die genannten Arten schwach saure bis schwach alkalische Bodenreaktion vorziehen; einzig *Fusarium culmorum* wächst, wenn auch in geringerer Masse, noch bei einer Reaktion von pH 4,10. Den Reaktionsansprüchen der Pilze entsprach auch der Erfolg der Infektionsversuche; der stärkste Befall trat bei Infektion mit *Fusarium*

*nivale* und *F. culmorum* in der Nähe des Neutralpunktes auf; *F. herbarum* vermochte die Pflanzen im schwach sauren wie im alkalischen Bereich gleich stark zu infizieren.

Die Wasserstoffionenkonzentration der für die Wachstumsversuche (Seite 20—29) verwendeten künstlichen Substrate betrug bei Malzagar pH 5,48, bei RICHARD'scher Nährlösung pH 4,51 und bei Malzextraktlösung pH 5,26.

Nach dem oben Gesagten kann es für den Parasiten nicht gleichgültig sein, welche Reaktion der Zellsaft des Wirtsgewebes aufweist. Nach KAPPEN (1918) liegt diese für die verschiedenen Nutzpflanzen zwischen pH 5,0 und 7,2. In diesem Zusammenhange erhält die Fähigkeit einiger *Fusarium*-Arten, in künstlicher Kultur die Reaktion der Nährlösung zu verändern, besondere Bedeutung. So konnte LUNDEGÄRDH (1923) für *Fusarium herbarum*, WHITE (1927) für *F. lycopersici* und TANJA (1933) für *Gibberella Saubinetii* (Dur. et Mont.) Sacc. nachweisen, dass sich die Reaktion der Nährflüssigkeit während der Versuchsdauer von 50—70 Tagen von der sauren nach der alkalischen Seite hin verschiebt. Die Reaktion der Nährlösung strebt nach dem im alkalischen Gebiete liegenden, isometabolischen Punkte hin, der auch erreicht wird, wenn die Anfangsreaktion der Lösung bereits alkalisch war. Von diesem Punkte an bleibt die Alkalinität der Flüssigkeit annähernd konstant.

In der bisherigen Literatur wurde diese Erscheinung vorwiegend als ein primäres Vermögen des Parasiten gedeutet, die Reaktion des Nährmediums nach der ihm zusagenden Seite zu verschieben und man war geneigt, diese Erkenntnis ohne weiteres auf die natürlichen Verhältnisse beim Infektionsvorgang zu übertragen. Ob sich aber in der lebenden Pflanzenzelle dieselben physiologischen Vorgänge abspielen, wie in diesem speziellen Fall in synthetischer Nährlösung, ist nicht erwiesen. LUZ (1934) gelangt neuerdings auf Grund eingehender Untersuchungen an *Fusarium lycopersici* und *F. lini* zu einer andern Auffassung. Er betrachtet die Verschiebung der Reaktion nicht als einen primären, sondern als einen sekundären Vorgang, der durch die veränderte Ionenaufnahme bei beginnendem Nährstoffmangel bedingt wird. Danach würde also das Vermögen der betreffenden *Fusarium*-Arten, den Zellsaft der befallenen Pflanzen aktiv zu verändern, gar nicht bestehen, und der Parasit wäre gegenüber dem Wirt nicht mehr im Vorteil.

Für *Fusarium nivale* fehlten bis jetzt derartige Untersuchungen. Es ist aber wünschenswert, gerade auch das Verhalten dieses Pilzes zu kennen, da er vielfach als die für unsern Getreidebau gefährlichste *Fusarium*-Art bezeichnet wird. Da sowohl *Fusarium lycopersici* als

Vertreter der Sectio Elegans wie *Gibberella Saubinetii* als Vertreter der Sectio Discolor die besagte Eigenschaft zeigen, ist es auch in systematischer Hinsicht von Interesse, ob das zur Sectio Arachnites gehörende *F. nivale* die gleiche Eigentümlichkeit aufweist.

Die Lösung der Frage sollte im Anschluss an WHITE (1927) ebenfalls durch Kultur des Pilzes in Lösungen von verschiedener Reaktion erreicht werden. Vorversuche hatten ergeben, dass *Fusarium nivale*, Stamm Baarn in RICHARD'scher Nährlösung (siehe S. 24) befriedigend wuchs. Später ging diese Fähigkeit zurück, was mit ein Grund war, warum die Versuche nicht fortgesetzt werden konnten. Um das Ausfallen der Phosphate in Form unlöslicher Verbindungen beim Alkalisierung der Lösung zu vermeiden (Bildung von  $\text{NH}_4\text{MgPO}_4$ ), wurde Magnesium und Eisen weggelassen. Der Pilz wuchs in dieser modifizierten, magnesiumfreien Nährlösung annähernd gleich gut wie in der magnesiumhaltigen (siehe die Myzelerträge in Tab. 8). Durch Zusatz von 1 n Natronlauge wurde die ursprüngliche Reaktion der Lösung verändert. Im ganzen wurden 2 Versuchsserien angelegt; die erste zeigte nach dem Sterilisieren einen pH-Wert von 3,97 (ohne NaOH), die zweite nach Zusatz von Natronlauge einen solchen von 5,16 (ebenfalls nach der Sterilisation gemessen). Die weitere Behandlung erfolgte wie früher angegeben (S. 20); einzig die Beimpfung musste in einer andern Weise vorgenommen werden. Da der aus Baarn bezogene Stamm von *Fusarium nivale*, der für diese Untersuchungen Verwendung fand, keine Makrokonidien bildete, wurden an Stelle einer Sporenaufschwemmung möglichst kleine Stückchen einer Agar-Kultur in die Kolben übertragen. Die beimpften Kolben gelangten in einen Raum, dessen Temperatur 21—22° C betrug. In Abständen von 2—3 Tagen wurde von 5, in einzelnen Fällen auch nur von 4 Kulturen das Myzel abfiltriert und nach der auf Seite 21 beschriebenen Weise das Myzeltrockengewicht ermittelt. Eine Probe des Filtrates diente für die Bestimmung der Reaktion der Lösung. Die Messung der Wasserstoffionenkonzentration geschah wie auch in frühern Versuchen elektrometrisch mit der Platin-Chinhydronelektrode. Die Schwankungen der pH-Werte der 4—5 Einzelbestimmungen betragen weit weniger als eine pH-Einheit, so dass unbedenklich das arithmetische Mittel daraus gezogen werden konnte (JANCKE, 1931). Aus dem gleichen Grunde lässt es sich rechtfertigen, die zugehörigen mittleren Fehler zu berechnen.

Die Ergebnisse der beiden Versuchsreihen, die in Tab. 8 wiedergegeben sind, stimmen gut überein. Die Myzelerträge nehmen in Versuch II, von kleineren Schwankungen, die innerhalb der Fehlergrenzen liegen, abgesehen, mit dem Alter der Kulturen regelmässig

zu. Im ganzen betrachtet ist dies auch bei Serie I der Fall. Vor dem 30. Tage beobachtet man hier einen raschen Zuwachs des Myzel-Trockengewichtes, dem eine Abnahme bis zum 39. Tage folgt. Der Myzelertrag am 42. Tage steht wieder auf gleicher Höhe wie der am 30. Tage. Da diese beiden Werte sicher gestellt sind, kann man den unregelmässigen Verlauf nicht einfach auf Versuchsfehler zurückführen. Der relativ starke Zuwachs steht möglicherweise im Zusammenhang mit einer vermehrten Aufnahme von Ammoniak-Stickstoff, wodurch die vorausgehende Zunahme der Azidität verständlich würde.

**Tab. 8** Myzel-Trockengewicht und Reaktion der Nährflüssigkeit bei Kultur von *Fusarium nivale*, Stamm Baarn in modifizierter (magnesiumfreier) RICHARD'scher Lösung.

Serie I: Ausgangsreaktion pH = 3,97					Serie II: Ausgangsreaktion pH = 5,16				
Tage	Reaktion pH	Mittl. Fehler	Myzel- ertrag mg	Mittl. Fehler mg	Tage	Reaktion pH	Mittl. Fehler	Myzel- ertrag mg	Mittl. Fehler mg
0	3,97	± 0,03	—	—	0	5,16	± 0,02	—	—
3	3,95	± 0,05	11,5	± 4,0	3	4,51	± 0,04	17,3	± 3,0
6	3,50	± 0,02	21,8	± 2,5	6	3,25	± 0,06	50,4	± 5,7
9	3,22	± 0,03	63,1	± 10,9	8	3,09	± 0,02	112,4	± 11,7
11	3,32	± 0,04	68,4	± 8,6	10	3,10	± 0,01	129,2	± 13,5
12	3,19	± 0,03	97,9	± 6,8	13	3,20	± 0,01	124,0	± 9,6
14	3,46	± 0,03	96,9	± 6,2	15	3,12	± 0,04	160,2	± 12,7
16	3,25	± 0,04	123,4	± 22,5	20	3,22	± 0,04	225,4	± 18,2
18	3,47	± 0,08	164,9	± 16,0	22	3,23	± 0,04	252,1	± 31,0
20	3,42	± 0,11	186,2	± 10,2	24	3,42	± 0,01	280,6	± 13,0
23	3,48	± 0,19	213,9	± 32,2	27	3,40	± 0,02	312,6	± 19,4
25	3,33	± 0,11	203,7	± 22,3	30	3,52	± 0,03	363,0	± 38,2
27	3,10	± 0,02	219,8	± 10,4	32	3,46	± 0,04	344,3	± 21,7
30	3,21	± 0,09	343,8	± 42,3	35	3,59	± 0,05	325,0	± 30,3
32	3,22	± 0,11	297,5	± 30,8	37	3,44	± 0,05	374,0	± 33,9
34	3,24	± 0,15	—	—	39	3,43	± 0,05	484,0	± 36,9
37	3,20	± 0,07	278,6	± 61,8	42	3,47	± 0,06	444,4	± 18,9
39	3,07	± 0,03	252,1	± 15,0	49	3,34	± 0,08	579,0	± 43,9
42	3,02	± 0,07	349,6	± 56,4	52	3,22	± 0,07	556,1	± 45,2
44	3,13	± 0,10	343,6	± 56,3	55	3,44	± 0,13	518,4	± 26,3
46	3,16	± 0,08	472,7	± 51,3	58	3,29	± 0,07	579,0	± 43,4

Mit dem stetigen Anstieg des Myzelertrages in Versuch II ist erwiesen, dass der Nährstoffvorrat, trotzdem das Magnesium in der Lösung fehlte, bis zum Schlusse des Versuches ausreichte. Die verhältnismässig hohen Ernten fallen um so mehr auf, als auch die



Wasserstoffionenkonzentration der Nährlösung bedeutend über den von SCHAFFNIT und MEYER (1930) gefundenen Werten der optimalen Wachstumsreaktion stand. Da sich die Angaben dieser beiden Autoren aber auf das Wachstum auf Erde und in Bodenauszügen beziehen, ist ein Vergleich mit unserm Versuch nicht ohne weiteres möglich. Dazu müssten Untersuchungen über das Wachstum von *Fusarium nivale*, wie auch von *F. herbarum*, auf synthetischen Nährböden und Lösungen von verschiedenen pH-Werten vorliegen. Solche Versuche fehlen aber bis dahin; wohl prüfte LUNDEGÅRDH (1923) das Wachstum von *F. herbarum* und anderer *Fusarium*-Arten in Lösungen ungleicher Reaktion, er ermittelte aber dabei nur die Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration des Substrates, nicht auch die Myzelgewichte.

Für den Verlauf der Reaktion der Nährflüssigkeit in den vorliegenden Versuchsserien ist das steile Abfallen zu Beginn derselben charakteristisch. Betrug die Reaktion der ersten Serie anfänglich  $\text{pH} = 3,97$ , so sank sie innerhalb von 9 Tagen auf  $\text{pH} = 3,22$ . In der Folge nahm sie bis zum 23. Tage wieder etwas zu ( $\text{pH} = 3,48$ ), fiel dann erneut rasch bis  $\text{pH} = 3,10$  und erreichte am 42. Tage  $\text{pH} = 3,03$ . Ausgeprägter ist die Zunahme der Azidität in Serie II, wo die Reaktion während 8 Tagen von  $\text{pH} = 5,16$  auf  $\text{pH} = 3,09$  fällt. Im weiteren Verlauf steigt die Kurve hier bis zum 35. Tage an ( $\text{pH} = 3,59$ ) und sinkt dann allmählich bis zum Schlusse des Versuches. In unbeimpften Kolben blieb während der ganzen Versuchsdauer die Reaktion unverändert.

Aus der starken Zunahme der Wasserstoffionenkonzentration am Anfang der Versuche scheint hervorzugehen, dass zu dieser Zeit entweder vorwiegend Kationen durch den Pilz aufgenommen werden, so dass ein Überschuss von Anionen in der Lösung zurückbleibt, oder aber Stoffwechselprodukte, wie organische Säuren, in die Flüssigkeit diffundieren. Ähnliche Verhältnisse fand auch LUZ (1934) in den schon erwähnten Untersuchungen über den Stoffwechsel von *Fusarium lycopersici*.

Das eigenartige Verhalten der Reaktion in einem magnesiumfreien Substrat liess vermuten, dass in einer vollwertigen, alle Nährstoffe enthaltenden Lösung der Reaktionsverlauf ein anderer sein werde. Diese Überlegung wurde bestätigt durch einen Vorversuch, der im Anschluss an die Myzelgewichtsbestimmungen von *Fusarium nivale*, Stamm 302, aus Malzextraktlösung (S. 27) durchgeführt wurde. Filtratproben, die aus Kulturen von  $0^\circ$ ,  $3^\circ$ ,  $6^\circ$ ,  $9^\circ$  und  $27^\circ$  stammten, ergaben die in Tab. 9 dargestellten Reaktionswerte. Die Nährlösung zeigte zu Anfang des Versuches ein  $\text{pH}$  von 5,26.

Die nachstehenden Werte stellen das arithmetische Mittel aus 2—5

**Tab. 9** Veränderung der Reaktion einer 5<sup>0</sup>/<sub>100</sub> Malzextraktlösung durch *Fusarium nivale* nach 21 Tagen.

Anfangsreaktion pH = 5,26	0°	3°	6°	9°	27°
	6,01	6,09	5,80	5,45	5,95

Bestimmungen dar. Daraus ist ersichtlich, dass die Reaktion des Nährsubstrates keineswegs fällt, sondern schwach zunimmt, bei 3° um 0,83 pH-Einheiten. Auffallenderweise ist die Zunahme der pH-Ziffern dort am grössten, wo das Wachstum schwächer war (0°, 3° und 27°). Bei der Beurteilung dieses Vorversuches muss in Betracht gezogen werden, dass die Malzextraktlösung infolge ihres hohen Gehaltes an Eiweissstoffen und Kohlehydraten gegen Reaktionsänderung stark gepuffert ist. Ausserdem handelt es sich hier nicht wie in dem letzten Versuch (Tab. 8) um den von Baarn bezogenen Stamm von *Fusarium nivale*, sondern um die Isolierung 302.

### Zusammenfassung

1. Bei Kultur von *Fusarium nivale*, Stamm Baarn, in magnesiumfreier, modifizierter RICHARD'scher Nährlösung fiel die Reaktion von ihrem ursprünglichen Werte (pH = 3,97 und 5,16) während der ersten Tage bis etwas oberhalb pH = 3,0 und entfernte sich im weiteren Verlauf der Versuche nur noch unwesentlich von diesem Punkte. Die Myzelgewichte nahmen in einem der beiden Versuche bis zum Schlusse regelmässig zu, im andern nur bis zum 30. Tage.
2. Die Reaktion einer 5<sup>0</sup>/<sub>100</sub> Malzextraktlösung wurde durch *Fusarium nivale*, Stamm 302, in 21 Tagen in der Richtung nach dem Neutralpunkte verschoben.