Zeitschrift: Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft in Bern

Herausgeber: Naturforschende Gesellschaft in Bern

Band: 3 (1946)

Artikel: Zur Physiologie der pathogenen Schimmelpilze Absidia Lichtheimi und Absidia ramosa mit besonderer Berücksichtigung des Wirkstoffbedürfnisses

Autor: Vogt, R.

Kapitel: II: Das Wirkstoffbedürfnis

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-319430

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 14.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

angenommen werden, dass die Desinfektionsmittel entweder auf den kolloidalen Zustand der Zelle einwirken (Ausflockung, z. B. Schwermetallionen, Säuren), Fermente vergiften oder durch Oxydation der organischen Substanz schädigen (Jod, $KMnO_4$, H_2O_2).

II. Das Wirkstoffbedürfnis

A. Vitamine

1. Aneurin.

Auf das Aneurinbedürfnis von *Absidia Lichtheimi* ist schon hingewiesen worden. Abbildung 9 zeigt uns, dass Aneurin als beschränkender Faktor wirkt. Ein Teil der Kulturen erhielt von An-

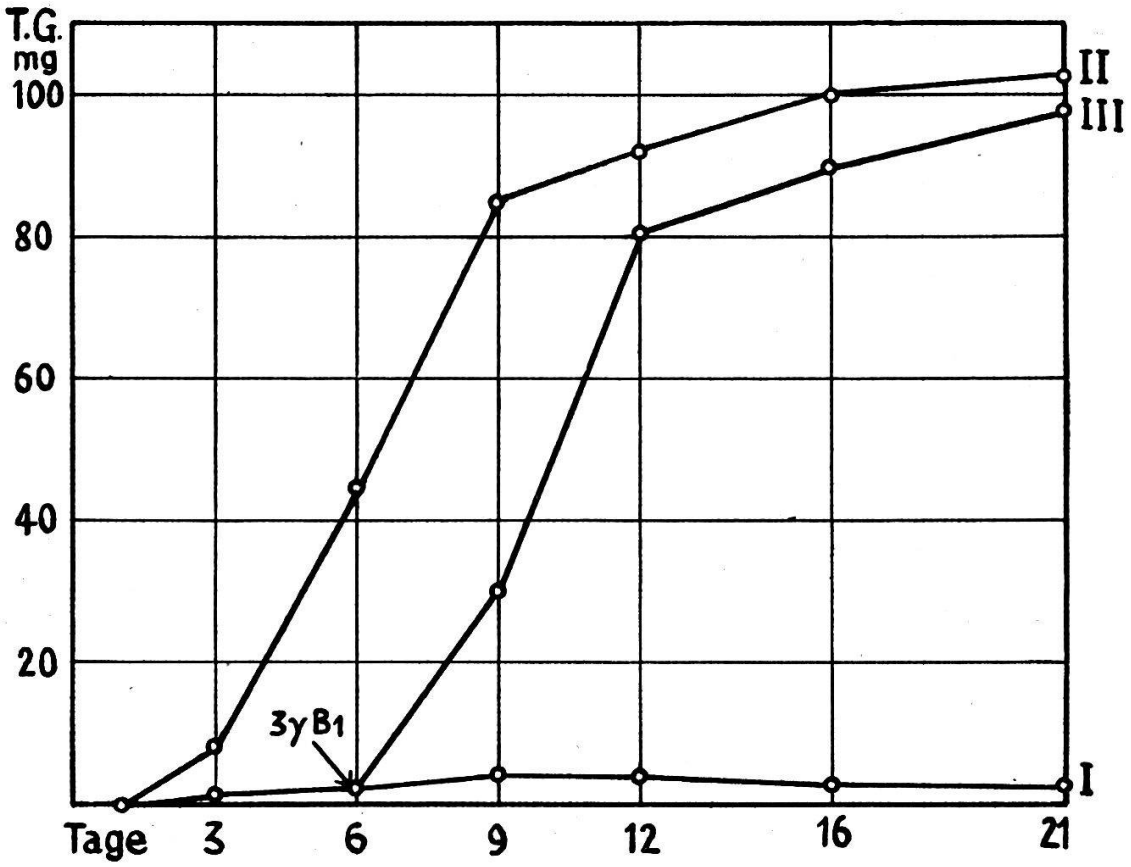


Abbildung 9.
Aneurin als beschränkender Faktor bei Absidia Lichtheimi. I: Kontrolle ohne Aneurin. II: 3 γ Aneurin pro 25 ccm von Anfang an. III: Aneuringabe von 3 γ pro 25 ccm am 6. Tag nach der Impfung.

fang an eine Aneuringabe, ein zweiter erst am 6. Tag nach der Impfung und ein dritter als Kontrolle während der ganzen Versuchsdauer kein Aneurin. Die Aneurinzugabe löst sofort ein starkes Wachstum aus, womit bewiesen ist, dass tatsächlich das fehlende Aneurin als beschränkender Faktor gewirkt hat. Am 21. Tag ist der Wachstumsrückstand beinahe eingeholt.

Abbildung 10 zeigt das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* zu verschiedenen Zeiten in Abhängigkeit von der Aneurinkonzentration mit Asparagin als Stickstoffquelle. Die Wachstumsgeschwindigkeit, sowie das maximal erreichbare T. G. fallen bis zu einer gewissen Grenze um so höher aus, je grösser die Aneurinkonzentration ist. Die optimale Aneuringabe liegt in frühen und mittleren Entwicklungszuständen zwischen 1 und 2 γ, in späten bei 0,4 γ pro 25 ccm Nährlösung. Das Optimum verschiebt sich also mit der Zeit leicht nach unten, was im Gegensatz zum Verhalten von *Mucor Ramanni-*

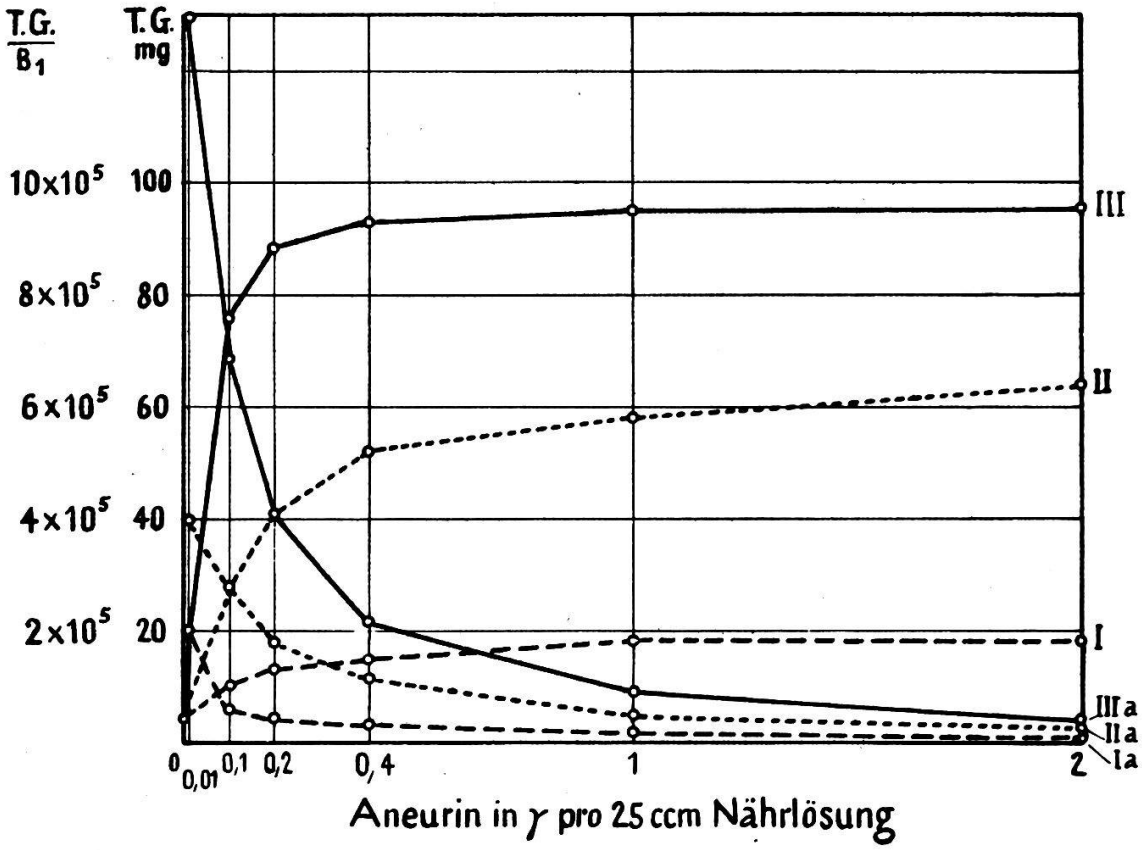


Abbildung 10.
Das Wachstum von Absidia Lichtheimi als Funktion der Aneurinkonzentration. Wachstumskurven: I: nach 4 Tagen. II: nach 7 Tagen. III: nach 14 Tagen. Mycel/Aneurin-Koeffizienten: Ia: nach 4 Tagen. IIa: nach 7 Tagen. IIIa: nach 14 Tagen.

anus (Müller 1941) steht. Erfolgt die Aneuringabe in suboptimalen Dosen, so wirkt Aneurin als beschränkender Faktor. Mit zunehmenden Aneurinmengen steigt das T. G. zuerst rasch, dann allmählich langsamer bis zum Optimum an.

1934 hat Schopfer, um den Wirkungsgrad eines vitaminischen Wachstumsfaktors auszudrücken, eine Art ökonomischen Koeffizienten, erzeugtes Trockengewicht/optimale Vitaminmenge, vorgeschlagen. Die optimale Vitaminmenge ist die bei gegebenen Versuchsbedingungen zur Erzielung der maximalen Mycelmenge erforderliche Wirkstoffdosis.

Für *Phycomyces Blakesleeanus* gibt er (Abb. 11) parallel zu der klassischen Wachstumskurve, die mit verschiedenen Aneurinmengen (stark suboptimal, suboptimal, optimal und supraoptimal) erhaltene Kurve der Mycel-Aneurin-Koeffizienten. Er zeigt, dass mit sehr schwachen Aneurindosen der Koeffizient erhöht ist (zirka $5 . 10^5$), dass er aber im Moment, wo das unter den gegebenen Versuchsbedingungen maximale T. G. erreicht wird, niedriger ist.

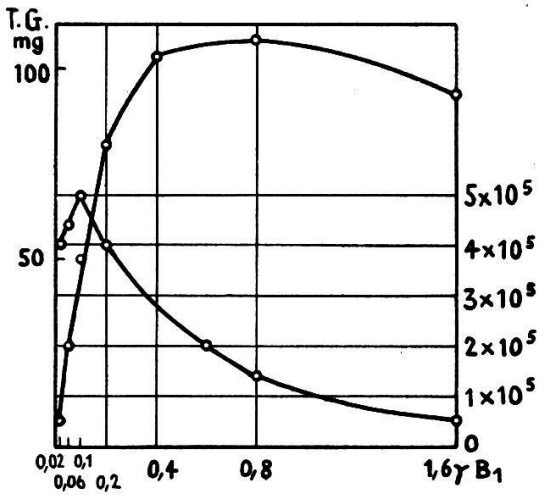


Abbildung 11.
Kurve der Trockengewichte und der Mycel-Aneurin-Koeffizienten als Funktion veränderlicher Vitaminmengen für Phycomyces Blakesleeanus (Schopfer 1934).

Robbins und Kavanagh (1938c) bestätigten die Ergebnisse von Schopfer.

Fries (1938) nahm den Begriff des Mycel-Aneurin-Koeffizienten ebenfalls wieder auf, braucht aber nur Koeffizienten, die sehr niedrigen Aneurindosen entsprechen. Für *Phycomyces Blakesleeanus* gibt er Werte, die zwischen 8 und $10 . 10^5$ schwanken. Er bestimmt die Koeffizienten auch für verschiedene andere Pilze (Asco- und Basidiomyceten) und gibt Zahlen, die zwischen $2{,}0 . 10^5$ *(Phytophtora cactorum)* und $28 . 10^5$ *(Trametes serialis)* schwanken. Für denselben Organismus sind die Werte sehr verän-

derlich, so dass in keiner Weise von einer biologischen Konstante gesprochen werden kann.

Lindeberg (1944) vergleicht den Koeffizienten von Fries mit demjenigen von Schopfer. Er stellt fest, dass es bei einem Vitaminkonzentrationsversuch schwer ist, genau anzugeben, wo die Kurve der T. G. horizontal wird, und somit sei die Ermittlung der optimalen Aneurinmenge nach Schopfer bis zu einem gewissen Grade willkürlich. Im weiteren stehe es nicht fest, dass die optimale Vitaminmenge für die Mycelbildung auch verbraucht werde. Vielmehr müsse man annehmen, dass das Aneurin beim sogenannten Optimum nicht vollständig aufgenommen wird, sondern z. T., weil andere Faktoren nicht mehr optimal wirken, in der Nährlösung zurückbleibt. Nach der Ansicht von Lindeberg ist der Koeffizient am zuverlässigsten, wenn die Versuchsbedingungen so gewählt werden, dass das Vitamin maximal wirkt, d. h. mit kleinen Aneurinmengen, bei denen angenommen werden dürfe, dass alle übrigen Faktoren optimal bleiben. Aus diesen Gründen kommt Lindeberg zum Schluss, dass der Koeffizient von Schopfer weniger zuverlässig sei als derjenige von Fries.

Zur Abklärung dieser Frage bestimmte ich für *Absidia Lichtheimi* zu verschiedenen Zeiten (früher, mittlerer und maximaler Entwicklungszustand) die Mycel-Aneurin-Koeffizienten für stark suboptimale, suboptimale, optimale und supraoptimale Aneurinmengen (Abb. 10). Die Kurven der Koeffizienten verlaufen ähnlich wie die von Schopfer für *Phycomyces* gegebene. In frühen Entwicklungszuständen liegen die erhaltenen Werte wesentlich niedriger. Je kleiner die Aneurinmenge ist, desto mehr steigen die Koeffizienten an, um bei unendlicher Verdünnung einem maximalen Wert zuzustreben (bei Schopfer sinkt der Wert für kleine Aneurinmengen wieder unwesentlich). Der Mycel-Aneurin-Koeffizient ist also auch im suboptimalen Bereich nicht konstant, sondern je nach der willkürlich gewählten Vitaminmenge verschieden. Im Gegensatz dazu lässt sich die optimale Aneurindosis und damit der entsprechende Mycel-Aneurin-Koeffizient nach Schopfer durch das Horizontalwerden der Trockengewichtskurve relativ genau bestimmen.

Der zweite Einwand ist hinfällig; denn Schopfer hat nie behauptet, dass die optimale Vitaminmenge tatsächlich auch aufgenommen werde, und dass der für diese Wirkstoffmenge berech-

nete Koeffizient das maximale Wirkungsvermögen des Aneurins ausdrücke.

Abschliessend kann festgestellt werden, dass die beiden, schon 1934 von Schopfer vorgesehenen Koeffizienten, eine verschiedene Bedeutung haben:

Der mit suboptimalen Dosen berechnete Koeffizient ist Ausdruck der Wirksamkeit des Vitamins, wenn der Pilz infolge Vitaminmangels in einem frühen Entwicklungsstadium verharrt und die Nährlösung nicht weitgehend verändert worden ist.

Der im Moment der maximalen Entwicklung berechnete Koeffizient ist Ausdruck der Wirksamkeit des Vitamins im Zeitpunkt, wo der Organismus das unter den entsprechenden Versuchsbedingungen maximale Trockengewicht erreicht hat, nachdem die maximal mögliche Vitaminmenge aufgenommen und die Nährlösung tiefgreifend verändert wurde.

Die beiden Koeffizienten sind also konventionell und je nach den Versuchsbedingungen (Art der Nährlösung, Zeit, Vitaminmenge usw.) verschieden. Man darf nicht mehr in sie hineinlegen als sie aussagen können.

Tabelle 10.
Der Einfluss supraoptimaler Aneurinkonzentrationen auf Absidia Lichtheimi.
Dauer des Versuchs: 15 Tage.

Aneurin in γ pro 25 ccm	0	0,3	3	15	30	60	120
T. G. in mg	6	63	82	85	84	83	80

Tabelle 10 zeigt, dass stark supraoptimale Vitaminmengen nicht hemmend wirken. Das 300fache der optimalen Dosis hat nur eine unwesentliche, innerhalb der Fehlergrenze liegende Verminderung des T. G. zur Folge. Um sicher zu sein, dass das Aneurin auch unter andern Ernährungsbedingungen als denjenigen der abgeänderten Coonschen Nährlösung nicht als beschränkender Faktor wirkt, setzte ich in der Regel eine schwach supraoptimale Menge (3 γ / 25 ccm) zu. Der Wirkstoff wurde mit der schwach sauren Nährlösung sterilisiert. Das Aneurin ist in saurer Lösung ziemlich thermostabil. Selbst wenn eine teilweise Zersetzung in Pyrimidin und Thiazol stattgefunden hätte, würde dies die Ergebnisse nicht beein-

flussen, da Pyrimidin und Thiazol, was noch zu besprechen sein wird, Aneurin vollständig ersetzen können.

In Tabelle 11 sind die Ergebnisse eines vergleichenden Vitaminkonzentrationsversuchs mit *Absidia Lichtheimi* und *Phycomyces Blakesleeanus* zusammengestellt. Die Versuchsdauer betrug 9½ Tage, die Temperatur bei *Absidia Lichtheimi* 28° und bei *Phycomyces* zirka 20° C. Die Kontrollen ohne Wirkstoff sind Mittelwerte aus 10, die übrigen T. G. Mittelwerte aus 6 Kulturen. Es sei noch bemerkt, dass für den ganzen Versuch dieselbe, zur gleichen Zeit angesetzte Nährlösung verwendet wurde.

Tabelle 11.
Einwirkung des Aneurins auf Phycomyces Blakesleeanus und Absidia Lichtheimi.

Aneuringehalt pro 25 ccm	*Phycomyces Blakesleeanus*	*Absidia Lichtheimi*
0,0 γ	Spur	0,83 mg T. G.
0,0001	0,92 mg T. G.	3,3
0,001	6,0	5,8
0,01	10,0	11,0
0,05	32	57
0,25	51	79
0,5	61 (Optimum)	80 (Optimum)
1,0	64	85
2,0	65	87

Im Prinzip verhalten sich beide Pilze gleich. Mit zunehmenden Aneurindosen tritt eine Erhöhung des T. G. ein. Mit *Absidia Lichtheimi* fallen aber die entsprechenden Werte höher aus. Das Aneurinoptimum liegt bei beiden Pilzen bei etwa 0,5 γ pro 25 ccm Nährlösung. Auffällig ist das Verhalten von *Absidia Lichtheimi* gegen kleinste Aneurinmengen. Die Kontrollen mit *Phycomyces* sind praktisch 0, obschon hier für die Bereitung der Sporensuspension Luft- und Substratmycel verwendet wurden, also sicher kleine Aneurinmengen aus dem Nährboden der Stammkultur in die Impfflüssigkeit gelangten. Für die Herstellung der Sporensuspension von *Absidia Lichtheimi* benützte ich nur sehr wenig Luftmycel. Diese sollte also praktisch wirkstofffrei sein. Trotzdem beträgt die Kontrolle 0,83 mg, in andern Versuchen sogar bis 7 mg. Die verhältnismässig hohen, von Versuch zu Versuch schwankenden Kon-

trollen von *Absidia Lichtheimi* scheinen darauf zu beruhen, dass dieser Pilz auf kleinste Aneurinmengen bedeutend empfindlicher ist als *Phycomyces Blakesleeanus*. Aneurinspuren, die beim Impfen in die Nährlösung gelangen oder beim Waschen der Erlenmeyerkolben zurückbleiben, spielen somit eine grössere Rolle als bei *Phycomyces*. Es wäre auch denkbar, dass der Aneuringehalt der *Absidia*-Sporen höher ist als derjenige der *Phycomyces*-Sporen. Doch wurde dies nicht geprüft.

2. *Pyrimidin und Thiazol.*

a) Normales Pyrimidin und Thiazol.

Unter dem normalen Pyrimidin und Thiazol sind immer die beiden Komponenten des Aneurins, also das 2-methyl-4-amino-5-amino-methyl-pyrimidin (als Chlorid) und das 4-methyl-5-β-oxyaethyl-thiazol verstanden. Das Molekulargewicht des benutzten Aneurins (als Chlorid) betrug 337,3, dasjenige des Pyrimidins (als Chlorid) 211,1 und dasjenige des Thiazols 143,2. Ein γ Aneurin entspricht also 0,626 γ Pyrimidin + 0,425 γ Thiazol.

Da in letzter Zeit öfters Darlegungen über die Entwicklung der bisherigen Kenntnisse von Pyrimidin und Thiazol als Wachstumsfaktoren erschienen sind, die alle notwendigen Literaturangaben enthalten, brauche ich nicht näher darauf einzutreten. Ich verweise auf Schopfer (1939), Müller (1941), Utiger (1942) und Lindeberg (1944).

Als erster stellte Knight (1937 a u. b) an *Staphylococcus aureus* fest, dass die beiden Aneurinkomponenten Pyrimidin und Thiazol in äquimolaren Mengen Aneurin vollständig ersetzen können, was später für zahlreiche andere Organismen bestätigt wurde.

Im Laufe der weiteren Forschung stellte es sich heraus, dass gewisse Organismen nur die eine oder die andere der beiden Komponenten erforderten, so z. B. *Rhodotorula rubra* nur Pyrimidin (Schopfer 1937a, 1938b) und *Mucor Ramannianus* nur Thiazol (Müller und Schopfer 1937, Müller 1941). Es wurde bewiesen, dass jeweilen die fehlende Aneurinkomponente synthetisiert werden konnte.

Eine Gruppe von Organismen zeigte auf Pyrimidin ein gewisses, beschränktes Wachstum, so *Absidia ramosa* (wie in der Einleitung erörtert, handelt es sich wahrscheinlich um die nahe verwandte Art

Absidia Lichtheimi) und *Parasitella simplex* (Schopfer 1937b und 1938b), *Polyporus squamosum* und *Septoria apii* (Schopfer und Blumer 1940), *Marasmius graminum, M. chordalis* und *M. epiphyllus* (Lindeberg 1944). Diese Organismen sind als Uebergangsstufe zwischen den Pyrimidin und Thiazol (bzw. Aneurin) und den nur Pyrimidin verlangenden Typen besonders interessant. Sie besitzen offenbar noch eine gewisse, begrenzte Synthesefähigkeit für Thiazol, die das erreichte T. G. bestimmt. Für meine Untersuchungen stellte sich die Frage, ob möglicherweise die partielle Thiazolsynthesefähigkeit durch besondere Ernährungsbedingungen beeinflusst werden könnte.

Tabelle 12 zeigt das Verhalten von *Absidia Lichtheimi* zu Aneurin und dessen Komponenten Pyrimidin und Thiazol. Aneurin lässt sich vollständig durch Pyrimidin und Thiazol ersetzen. Mit Thiazol liegen die Werte nur unwesentlich über den Kontrollen. Mit Pyrimidin ist vor allem bei supraoptimalen Konzentrationen ein beschränktes Wachstum festzustellen, welches auf eine partielle Synthesefähigkeit für Thiazol schliessen lässt. Weitere Versuche mit neu angesetzten Pyrimidinlösungen fielen negativ aus. Mittelwerte aus je 200 Kulturen ergaben für die Kontrollen T. G. von 1,98 mg, für die Kulturen mit Pyrimidin von 3,14 mg und für diejenigen mit Thiazol von 3,28 mg. Es stellte sich die Frage, warum die im ersten Versuch beobachtete, schwache Synthesefähigkeit für Thiazol plötzlich verschwinden konnte. Grundsätzlich bestanden dafür zwei Erklärungsmöglichkeiten. Entweder musste eine Verunreinigung der Pyrimidinlösung mit Spuren von Thiazol oder Aneurin oder eine gewisse Labilität in den synthetischen Fähigkeiten für Thiazol angenommen werden. Für die erste Möglichkeit sprach die grosse Empfindlichkeit von *Absidia Lichtheimi* auf Spuren von Aneurin. Eine Verunreinigung von $^{5}/_{1000}\ \gamma$ Aneurin oder $^{2}/_{1000}\ \gamma$ Thiazol pro 20 γ Pyrimidin würde genügen, um das mit Pyrimidin beobachtete Wachstum zu erklären. Angesichts der Tatsache, dass schon bei mehreren Organismen Aenderungen in den synthetischen Fähigkeiten beobachtet wurden, musste auch mit der zweiten Möglichkeit gerechnet werden.

Um die Frage abzuklären, welche der beiden Annahmen zuträfe, führte ich einen Parallelversuch mit Pyrimidin- und Thiazollösungen verschiedenen Alters und verschiedener Lieferung durch. Die Wirkstofflösungen wurden getrennt sterilisiert und über der

Tabelle 12.
Der Einfluss von Pyrimidin, Thiazol und Aneurin auf das Wachstum von Absidia Lichtheimi.

	3. Tag	7. Tag	17. Tag
Kontrolle	0,92 mg	0,5 mg	0,38 mg
Pyrimidin			
0,3 γ/25 ccm	1,9	2,4	1,3
3 γ/25 ccm	1,9	2,9	2,5
20 γ/25 ccm	3,4	7,0	7,2
Thiazol			
0,3 γ/25 ccm	0,4	0,5	0,4
3 γ/25 ccm	0,8	0,8	0,8
20 γ/25 ccm	1,7	2,8	1,9
Pyr. + Thiaz.			
je 0,15 γ/25 ccm	8	49	84
je 1,5 γ/25 ccm	7	61	98
je 10 γ/25 ccm	10	52	97
Aneurin			
0,3 γ/25 ccm	8	33	64
3 γ/25 ccm	10	65	97
20 γ/25 ccm	8	62	99

Flamme zugegeben. Ferner verwendete ich neue Wattepfropfen aus reinster Spitalwatte, um auf jeden Fall alle Verunreinigungen auszuschliessen. Die Ergebnisse sind aus Abbildung 12 ersichtlich. Entsprechende Thiazole und Pyrimidine gemischt ergaben nur wenig voneinander abweichende T. G. Mit der alten Thiazollösung waren die T. G. gegenüber den Kontrollen leicht, mit der neuen Thiazollösung der alten Lieferung ganz unwesentlich und mit der neuen Thiazollösung der neuen Lieferung überhaupt nicht erhöht. Mit der alten, im ersten Versuch (Tab. 12) verwendeten Pyrimidinlösung fand ich die beschränkte Synthesefähigkeit für Thiazol wieder, mit den neuen Lösungen nicht. Es zeigte sich also, dass der Pilz innerhalb der von mir beobachteten Zeitspanne gleich auf die verschiedenen Pyrimidinlösungen reagierte, dass also die unterschiedlichen Ergebnisse nicht auf einer Labilität in der Thiazolsynthese, sondern auf den verwendeten Pyrimidinlösungen beruhte. Die im ersten Versuch gefundene, scheinbare Synthesefähigkeit für

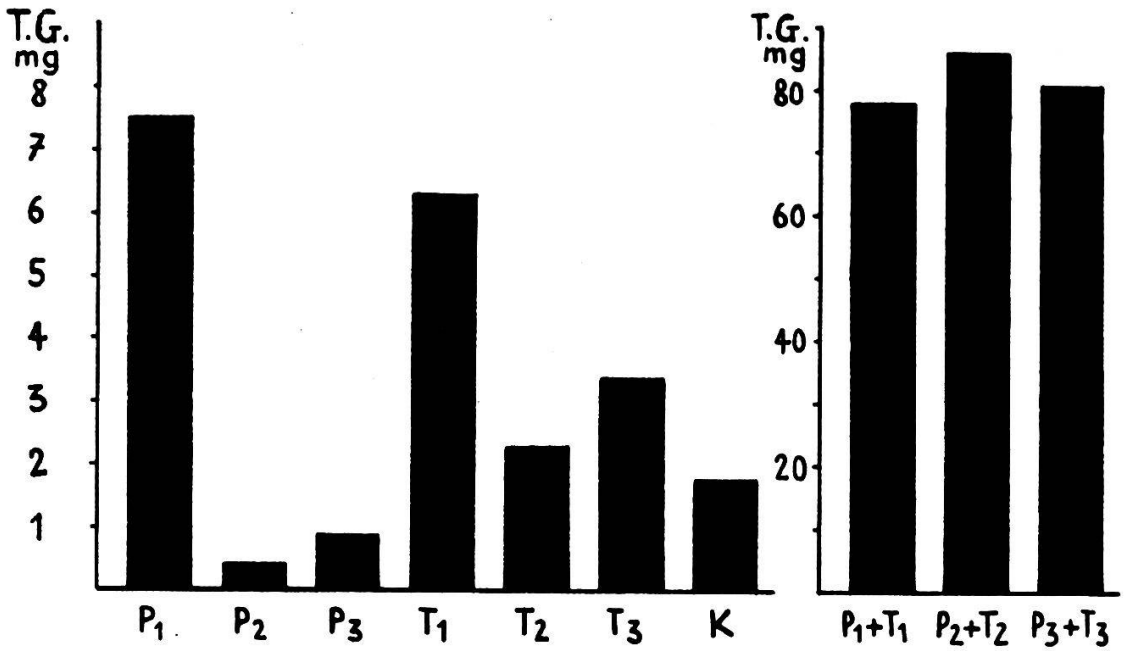


Abbildung 12.
Die Wirksamkeit von Pyrimidin- und Thiazollösungen verschiedenen Alters und verschiedener Lieferung auf Absidia Lichtheimi mit Asparagin als Stickstoffquelle. T. G. = Mittelwerte aus 10 Kulturen.

P_1 und T_1 = alte Pyrimidin- und Thiazollösung.
P_2 und T_2 = neue Pyrimidin und Thiazollösung neuer Lieferung.
P_3 und T_3 = neue Pyrimidin- und Thiazollösung alter Lieferung.
K = Kontrolle ohne Wirkstoff.

Thiazol musste also auf eine Verunreinigung des von mir gebrauchten Pyrimidins mit Thiazol oder Aneurin zurückgeführt werden.

Betrachten wir abschliessend den ersten Versuch (Tab. 12), der auf eine partielle Synthesefähigkeit für Thiazol schliessen liess, kritisch. Die entsprechenden Werte für je 0,15 γ, 1,5 γ und 10 γ Pyrimidin und Thiazol weichen nur wenig voneinander ab. Mit 20 γ Pyrimidin erhalten wir aber ungefähr dreimal so hohe T. G. wie mit 0,3 γ pro 25 ccm Nährlösung. Dieser Unterschied kann nach dem Parallelversuch mit verschiedenen Pyrimidin- und Thiazollösungen (Abb. 12) durch eine geringe Verunreinigung des Pyrimidins mit Thiazol oder Aneurin erklärt werden. Bei niedriger Pyrimidinkonzentration wirkt sich die Verunreinigung kaum aus. Bei stark supraoptimalen Dosen genügt sie aber, um ein gewisses Wachstum auszulösen. In einem Zeitversuch hört dieses aber, nachdem die Verunreinigung aufgebraucht worden ist, auf. Es zeigt sich also, dass es bei der Abklärung der Frage einer partiellen

Synthesefähigkeit für einen Wirkstoff notwendig ist, einen Zeitversuch mit supraoptimalen, optimalen und suboptimalen Wirkstoffdosen durchzuführen. Wird z. B. eine Thiazolsynthesefähigkeit von 20 % vermutet, dann sollte eine einem 20-igem Wachstum entsprechende Pyrimidinmenge genügen, um diese Entwicklung auszulösen. Ist nur bei supraoptimalen Pyrimidindosen eine partielle Entwicklung festzustellen, so besteht die Möglichkeit einer Verunreinigung des verwendeten Pyrimidins.

Tabelle 13.
Wirkung von Pyrimidin und Thiazol auf das Wachstum verschiedener Stämme von Absidia ramosa und Absidia Lichtheimi aus dem Tierspital. Wirkstoffgabe: 3 γ Pyrimidin oder Thiazol, bzw. je 1,5 γ Pyrimidin + Thiazol. Mittelwerte aus 8 Kulturen.

Stamm	Kontrolle	Pyrimidin	Thiazol	Pyrimidin + Thiazol
Absidia ramosa				
Var. Rasti	3,31 mg	3,81 mg	4,31 mg	61 mg
Var. Zürcheri, 1. Stamm	5,07	6,75	6,00	92
Var. Zürcheri, 2. Stamm	3,94	5,19	5,25	87
Var. Zürcheri, 3 Stamm	3,86	6,00	5,48	88
Absidia Lichtheimi				
2. Stamm	4,19	4,79	4,75	86

Tabelle 13 zeigt den Einfluss von Pyrimidin und Thiazol auf das Wachstum verschiedener Stämme von *Absidia ramosa* und *Absidia Lichtheimi* aus dem Tierspital. Alle untersuchten Stämme haben dasselbe Wirkstoffbedürfnis. Aneurin kann durch Pyrimidin und Thiazol ersetzt werden. Auf Pyrimidin oder Thiazol allein ist kein Wachstum festzustellen.

Nachdem die von Schopfer (l. c.) beobachtete partielle Thiazolsynthese weder an *Absidia Lichtheimi,* Stamm aus Baarn, noch an einem Stamm aus dem Tierspital wieder gefunden werden konnte, war damit auch die Frage einer Beeinflussung derselben durch besondere Ernährungsbedingungen hinfällig geworden. Trotzdem versuchte ich, mit einigen abgeänderten Nährlösungen eine gewisse Synthesefähigkeit für Thiazol auszulösen.

Um die Frage abzuklären, ob eventuell mit einer optimalen Pyrimidindosis durch Zugabe einer stark suboptimalen Thiazolmenge eine Thiazolsynthese und damit ein Wachstum bewirkt werden

könnte, wurde ein Schachbrettversuch mit Thiazol und Pyrimidin durchgeführt. Tabelle 14 zeigt, dass Pyrimidin und Thiazol in äquimolaren Mengen optimal wirken. Bei 0,004 γ Thiazol nimmt das T. G. bei mehr als 0,004 γ Pyrimidin nicht mehr zu. Eine Spur zugegebenes Thiazol verursacht also keine Thiazolsynthese.

Tabelle 14.
Absidia Lichtheimi: Schachbrettversuch mit Pyrimidin und Thiazol (mit der abgeänderten Coonschen Nährlösung).

	0 γ T	0,004 γ T	0,04 γ T	0,4 γ T	4 γ T
0,0 γ P	1,1 mg	2,7 mg	1,9 mg	2,1 mg	2,4 mg
0,004 γ P	1,2	12,1	11,3	10,1	10,2
0,04 γ P	3,0	14,0	33,8	38,2	33,5
0,4 γ P	4,3	13,0	35,7	74,7	60,9
4,0 γ P	0,9	14,9	39,3	63,2	66,3

Die weiteren Versuche zur Abklärung der Frage der Auslösung einer partiellen Thiazolsynthese durch besondere Ernährungsbedingungen sind in Tabelle 15 zusammengefasst. Keine der untersuchten Nährlösungen löste mit Pyrimidin eine beschränkte Thiazolsynthese aus.

Tabelle 15.
Der Einfluss von Pyrimidin und Thiazol auf das Wachstum von Absidia Lichtheimi unter verschiedenen Ernährungsbedingungen.

	Kontrolle	Pyrimidin 10 γ/25 ccm	Thiazol 10 γ/25 ccm	Pyrimidin + Thiazol je 5 γ/25 ccm
a) Verschiedene Stickstoffquellen				
KNO_3 (3 ‰)	0,5 mg	0,7 mg	2,8 mg	53 mg
NH_4-Citrat (4 ‰)	2,6	1,7	3,2	92
Asparagin (2 ‰)	1,4	1,1	0.5	139
b) Optimale Glukose-Asparaginkonzentration (6 % Glukose, 3 ‰ Asp.)				
	0,2	0,3	3,8	155
c) Einfluss von Spurenelementen (mit Asparagin als N-quelle)				
mit Meersalz	2,6	3,7	4,1	84
ohne Meersalz	1,5	3,2	3,4	89
mit Steinbergkat.	2,3	3,3	4,1	88
ohne Steinbergkat.	2,2	3,2	4,1	80

Diese Schlussfolgerungen, die für meine Versuche gültig sind, erklären aber nicht einwandfrei die Unterschiede zwischen den Ergebnissen von Schopfer (1936/37) und den meinigen. In Anbetracht davon, dass es heute sicher gestellt ist, dass die Synthesefähigkeiten der Mikroorganismen zeitliche Variationen aufweisen oder Variationen unterworfen werden können (im Sinne von Modifikationen oder Mutationen) müssen die erwähnten Widersprüche auch von diesem Gesichtspunkt aus betrachtet werden.

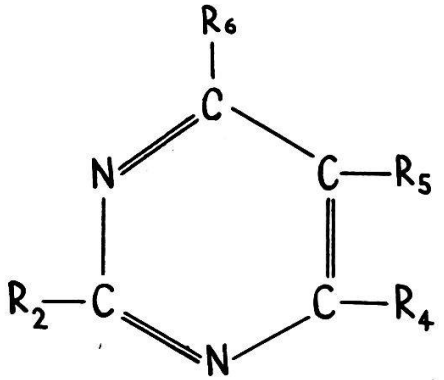
b) Pyrimidinderivate.

Folgende Pyrimidinderivate wurden sowohl einzeln als auch in Verbindung mit dem normalen Thiazol untersucht:

1. 2-methyl-4-amino-5-aminomethyl-pyrimidin (normales Pyrimidin)
2. 2-methyl-4-amino-5-oxymethyl-pyrimidin
3. 2-methyl-4-amino-5-thioformylaminomethyl-pyrimidin
4. 2,5-dimethyl-4-amino-pyrimidin
5. 2-aethyl-4-amino-5-thioformylaminomethyl-pyrimidin
6. 2-methyl-4-mercapto-pyrimidin
7. 2,5-dimethyl-4-oxy-pyrimidin
8. 2-methyl-4-oxy-6-amino-pyrimidin
9. 2,4-dioxy-pyrimidin (Uracil)
10. 2-methyl-6-amino-5-carbaethoxy-pyrimidin

Einzeln erwies sich keines der angewandten Derivate als wirksam. Die Ergebnisse in Verbindung mit dem normalen Thiazol sind in Tabelle 16 zusammengestellt. Das 2-methyl-4-amino-5-oxymethyl-pyrimidin wirkt gleich wie das normale Pyrimidin. Sowohl mit optimalen als auch mit supraoptimalen Dosen und zu verschiedenen Zeiten entsprechen sich die Werte. Die Untersuchungen an *Staphylococcus aureus* (Knight und Mac Ilwain 1938) und an Flagellaten (Lwoff und Dusi 1938a) ergaben dasselbe. Das 2-methyl-4-amino-5-thioformylaminomethyl-pyrimidin zeigt kalt sterilisiert in supraoptimalen Dosen annähernd die gleiche Wirksamkeit wie das normale Pyrimidin. Mit optimalen Gaben aber liegen die Werte nur unwesentlich über den Kontrollen. Bei Warmsterilisation sind die T. G. mit supraoptimalen Dosen wesentlich höher. Es muss eine Zersetzung erfolgt sein (Abspaltung der eventuell schwach toxisch wirkenden Thiogruppe). *Phycomyces Blakesleeanus* (Schopfer 1937c, 1938a), *Ustilago violacea* (Schopfer und Blumer 1938), *Staphylococcus aureus* (Knight und Mac

Tabelle 16.
Die Wirkung verschiedener Substitutionen im Pyrimidin auf das Wachstum von Absidia Lichtheimi.



Nr.	Stellung				je 0,15 γ P + T		je 12 γ P + T	
	2	4	5	6	5. Tag	10. Tag	5 Tag	10. Tag
1.	CH_3	NH_2	CH_2NH_2	H	20 mg	67 mg	22 mg	77 mg
2.	CH_3	NH_2	CH_2OH	H	22	61	19	73
3.	CH_3	NH_2	CH_2NHCHS	H	5	10	33	87
					6*	11*	13*	68*
4.	CH_3	NH_2	CH_3	H	3	5	4	15
5.	C_2H_5	NH_2	CH_2NHCHS	H	2*	4*	2*	5*
					4	7	10	14
6.	CH_3	SH	H	H	4	5	3	6
7.	CH_3	OH	CH_3	H	2	2	2	1
8.	CH_3	OH	H	NH_2	2	2	2	3
9.	OH	OH	H	H	4	3	4	4
10.	CH_3	H	$COOC_2H_5$	NH_2	5	8	1	2
	Thiazol allein				2	4	4	4
	ohne Wirkstoff				2	2	2	2

* Kalt sterilisiert, übrige warm sterilisiert.

Ilwain 1938) und Flagellaten (Lwoff und Dusi 1938a) verhielten sich gleich. Das 2-aethyl-4-amino-5-thioformylaminomethylpyrimidin wirkt kalt sterilisiert nicht, heiss sterilisiert schwach. Bei *Phycomyces Blakesleeanus* (Schopfer 1937c, 1938a) und *Ustilago violacea* (Schopfer und Blumer 1938) erwies sich dieses Pyrimidinderivat als wirksam. Die übrigen Pyrimidinderivate zeigten in Uebereinstimmung mit den Untersuchungen der bereits zitierten Forscher sowie von Robbins und Kavanagh (1938a) keine Wirksamkeit.

Die Konstitutionsspezifität des Pyrimidins ist sehr gross. Alle Substitutionen in Stellung 4 zerstören die vitaminische Wirksam-

keit. Die Stellung 5 ist von besonderem Interesse, weil hier die Kondensation mit dem Thiazol zum ganzen Aneurinmolekül erfolgt. Es muss eine reaktionsfähige Gruppe wie NH_2, OH oder NHCHS vorhanden sein.

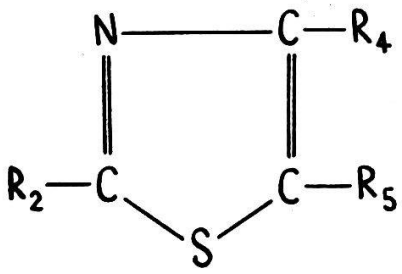
c) Thiazolderivate.

Folgende Thiazolderivate wurden untersucht:

1. 4-methyl-5-β-oxyaethyl-thiazol (normales Thiazol)
2. 3-(4'(5')-methylimidazol-4-methyl-5-β-oxyaethyl-thiazol
3. 3-benzyl-4-methyl-5-β-oxyaethyl-thiazol
4. 2-mercapto-4,5-dimethyl-thiazol
5. 2-mercapto-4-methyl-thiazol
6. 2-amino-4-methyl-thiazol
7. 2-mercapto-4-methyl-5-β-acetoxy-3-aethyl-thiazol

Allein erwies sich keines der angewandten Thiazolderivate als wirksam. Die Ergebnisse in Verbindung mit dem normalen Pyrimidin sind in Tabelle 17 zusammengestellt. Alle Thiazolderivate erwiesen sich als unwirksam. Die Konstitutionsspezifität ist also ausgeprägt. Versuche von Knight (1937b), Knight und Mac Ilwain (1938) an *Staphylococcus aureus*, Schopfer (1937c), Robbins und Kavanagh (1938b), Bonner und Erickson (1938) an *Phycomyces* und von Lwoff und Dusi (1938b) an Flagellaten ergaben ebenfalls eine grosse Konstitutionsspezifität. Aus Versuchen von Bonner und Buchmann (1938) an der Pisumwurzel dagegen ging eine geringe Konstitutionsspezifität hervor. Die verschiedenen Organismen verhalten sich also nicht gleich. Interessant sind die Ergebnisse mit dem Imidazol- und Benzylthiazol. Es handelt sich bei diesen Präparaten um ein aktives Thiazol in Verbindung mit einem inaktiven Pyrimidin. Allein sind diese Analoge unwirksam, in Gegenwart des normalen Pyrimidins voll wirksam. *Absidia Lichtheimi* ist befähigt, eine hydrolytische Spaltung vorzunehmen und so das aktive Thiazol in Gegenwart von normalem Pyrimidin auszunützen. Schopfer stellte dies erstmalig für *Phycomyces* (1937c), Knight und Mac Ilwain (1938) für *Staphylococcus aureus* fest. *Ustilago violacea* dagegen kann dieses gebundene Thiazol, möglicherweise infolge Toxizität, nicht ausnützen (Schopfer und Blumer 1938).

Tabelle 17.
Die Wirkung verschiedener Substitutionen im Thiazol auf das Wachstum von Absidia Lichtheimi. Dauer des Versuchs: 11 Tage.



Nr.	Stellung 2	Stellung 4	Stellung 5	je 0,15 γ P + T	je 1,5 γ P + T
1.	H	CH_3	CH_2CH_2OH	57 mg T. G.	80 mg T. G.
2.	Imidazol-thiazol			46	58
3.	Benzyl-thiazol			28	80
4.	SH	CH_3	CH_3	3	6
5.	SH	CH_3	H	4	3
6.	NH_2	CH_3	H	2	2
7.	SH	CH_3	$CH_2CH_2O \cdot COCH_3$	4	9
	Pyrimidin allein			3	2
	ohne Wirkstoff			2	2

B. Spurenelemente

Neben den 8 bis 10 in grösseren Mengen wirksamen mineralischen Nährelementen sind, was schon Raulin (1869) in seinen klassischen Untersuchungen über *Aspergillus niger* festgestellt hat, zum Gedeihen der Pflanzen weitere Elemente in kleinen Dosen notwendig. Diese in vitaminischen Konzentrationen wirksamen Elemente, für die der Quotient aus Trockengewichtserhöhung durch zugegebene Menge sehr gross ist, werden als Spurenelemente oder Wachstumsfaktoren mineralischer Natur bezeichnet. Eine scharfe Grenze gegenüber den mineralischen Nährelementen fehlt.

Verschiedene Forscher schlugen empirische Spurenelementmischungen vor, die das Wachstum höherer und niederer Pflanzen auf synthetischen Nährlösungen günstig beeinflussen sollten. Es seien hier z. B. Hoagland, der 1933 die sogenannte A-Z-Lösung aufstellte, Steinberg (1936a und b, 1938), Berthelot (1934) und Lindeberg (1944) erwähnt. Alle diese Spuren-

elementmischungen, deren Zusammensetzung aus Tabelle 18 hervorgeht, wurden mit *Absidia Lichtheimi* geprüft.

Tabelle 18.
Zusammensetzung verschiedener Spurenelementmischungen.
(Spurenelementgehalt in γ pro 25 ccm Nährlösung).

Element	Hoagland	Berthelot	Steinberg	Lindeberg
Fe	—	400 [2])	5 [1])	25 [1])
Zn	0,3 [2])	0,6 [2])	3,5 [2])	25 [2])
Mn	2,7 [1])	11,5 [2])	0,5 [2])	68 [1])
Ca	—	2,9 [2])	—	500 [1])
Cu	0,4 [2])	0,3 [2])	1,0 [2])	—
Ni	0,4 [2])	0,3 [1])	—	—
Mo als NH_4-molybdat	—	—	0,3	—
Co	0,3 [3])	0,3 [1])	—	—
Ti	0,5 [4])	1,7 [2])	—	—
Be	—	0,1 [2])	—	—
B als H_3BO_3	2,5	0,2	—	—
J als KJ	0,5	—	—	—
Li	1,1 [1])	—	—	—
Al	0,1 [2])	—	—	—
Sn	0,4 [1])	—	—	—
Br als KBr	0,5	—	—	—

[1]) Als Chlorid. [2]) Als Sulfat. [3]) Als Nitrat. [4]) Als Oxyd.

Alle Untersuchungen mit Spurenelementen sind mit Schwierigkeiten verbunden. Erste Voraussetzung, um die Wirkung eines Spurenelementes festzustellen, ist die Herstellung einer von Spurenelementen freien Nährlösung, was aber, selbst bei Anwendung besonderer Reinigungsverfahren, nicht völlig möglich ist.

Steinberg (1936 b) stellte z. B. in Glukose spektroskopisch Li, Na, Sr, Ca, Rb, K, Mn, Al, Fe, Rh, Ni, Ag, Cu, Mg, Sn, B und Si fest. Nach den Angaben von Merck kommen in 0,5 g Glukose, die in der Regel pro Erlenmeyerkolben zugesetzt wird, bis maximal 2,0 γ Zn, 1,5 γ Al, 15 γ Ca, 1 γ Fe und 1 γ Pb vor.

Auch mit dem Asparagin gelangt eine relativ grosse Menge derartiger Elemente in die Nährlösung. Es empfiehlt sich deshalb, bei Untersuchungen über die Wirkung von Spurenelementen das viel reiner erhältliche KNO_3 als Stickstoffquelle zu verwenden. Aber auch die reinsten anorganischen Salze enthalten noch Spurenelemente.

Abschliessend sei darauf hingewiesen, dass Pirschle (1938 und 1939) und Scharrer (1941) Zusammenfassungen über die zahlreichen bis dahin erschienenen, das Gebiet der Spurenelemente betreffenden Arbeiten gegeben haben.

1. Spurenelementmischungen nach Hoagland, Berthelot, Steinberg und Lindeberg.

a) Konzentrationsversuche.

Tabelle 19 gibt Aufschluss über die Ergebnisse. Wie das Gesetz von Arndt und Schultz verlangt, nimmt die Förderung durch Spurenelemente mit steigender Konzentration bis zu einem Optimum zu, um hierauf wieder abzunehmen und schliesslich in Hemmung überzugehen. Die Spurenelementmischungen nach Steinberg und Lindeberg erwiesen sich als sehr, diejenigen von Berthelot und Hoagland als wenig wirksam. Die von den betreffenden Forschern angegebenen Normalkonzentrationen wirken ungefähr optimal. Es ist bemerkenswert festzustellen, dass die 100-fach verdünnte Spurenelementmischung nach Steinberg, die pro 25 ccm Nährlösung einen Spurenelementgehalt von nur $^1/_{10}$ γ aufweist, schon eine Steigerung von 26 % ergibt. Die Empfindlichkeit auf Spurenelemente in Gegenwart von unentbehrlichen Vitaminen ist demnach beinahe so gross wie auf das Aneurin. Man ist daher durchaus berechtigt von Wachstumsfaktoren mineralischer Natur zu sprechen.

Tabelle 19.

Prozentuale Förderung oder Hemmung des Wachstums von Absidia Lichtheimi in Abhängigkeit von der Konzentration der Spurenelemente. (Stickstoffquelle: 4 ‰ KNO_3; N = Normalkonzentrationen nach Tabelle 18. T. G. der Kontrolle ohne Spurenelemente: 50 mg.)

	Hoagland	Berthelot	Steinberg	Lindeberg
$^1/_{100}$ N	+ 2 %	— 2 %	+ 26 %	+ 40 %
$^1/_{10}$ N	+ 12 %	+ 2 %	+ 60 %	+ 112 %
$^1/_1$ N	+ 30 %	+ 30 %	+ 166 %	+ 122 %
10 N	— 8 %	— 70 %	+ 166 %	+ 158 %
100 N	— 80 %	— 100 %	— 30 %	— 99 %

b) Einzeluntersuchung der verwendeten Spurenelemente.

Die Prüfung der Spurenelemente erfolgte in der Regel sowohl mit KNO_3 als auch mit Asparagin als Stickstoffquelle. Bei der einen Hälfte der Versuche wurde festgestellt, ob das betreffende Spurenelement einzeln, bei der andern, ob es in Verbindung mit dem Spurenelementgemisch von Steinberg eine Wirkung ausübt. Die Elemente sind nach den Gruppen des periodischen Systems geordnet.

Lithium (Untersuchungsbereich: 0 bis 100 γ pro 25 ccm Nährlösung).

Lithium ist bis dahin wenig untersucht worden. Mit den höchsten Konzentrationen fand ich eine Förderung von etwa 10 %.

Kupfer.

Tabelle 20 zeigt die Wirkung von Kupfer auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* ohne gleichzeitige Zugabe von andern Spurenelementen. Wird in der Spurenelementmischung nach Steinberg (Tab. 18) Cu weggelassen, so sind die Erträge etwa 8 % geringer. Cu fördert also das Wachstum sowohl einzeln als auch in Verbindung mit andern positiv wirkenden Kationen, wo eine gegenseitige Unterstützung, also Synergismus beobachtet wurde. Indessen sind schon verhältnismässig schwache Konzentrationen stark hemmend.

Tabelle 20.
Der Einfluss von Kupfer auf das Wachstum von Absidia Lichtheimi (mit 2,72 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle).

Cu in γ/25 ccm Nährlösung	0,0	0,01	0,1	1,0	10	100
T. G. in mg	71	66	70	80	64	41

In der Literatur finden wir zahlreiche Beobachtungen über Stimulationen und Hemmungen.

Bortels (1927) und Roberg (1928) stellten zum erstenmal eine Notwendigkeit von Cu zur Bildung des schwarzen Sporenfarbstoffes von *Aspergillus niger* fest.

Steinberg (1935 a und b, 1936 a und b), Gollmick (1936), Sakamura (1936, 1941) u. a. fanden, dass Cu nicht nur für die

Bildung des schwarzen Konidienfarbstoffes, sondern auch für die Sporenbildung und das Wachstum überhaupt nötig sind.

Molliard (1922) fand, dass der ökonomische Koeffizient von Aspergilluskulturen durch Cu erhöht wird. Es konnte festgestellt werden, dass Cu einen wesentlichen Anteil bestimmter Enzyme bildet. Kubowitz (1937) wies nach, dass die Kartoffeloxydase ein Cu-Proteid ist. Cu-salze scheinen hauptsächlich als Oxydationskatalysatoren zu wirken, womit die pflanzenphysiologischen Wirkungen (wie Bildung des schwarzen Sporenfarbstoffes durch *Aspergillus niger)* gut übereinstimmen.

Beryllium (Untersuchungsbereich: 0 bis 100 γ pro 25 ccm Nährlösung).

Die geringen Konzentrationen ergaben eine sehr schwache Förderung, die aber noch innerhalb der Fehlergrenze liegt. Bei höheren Konzentrationen trat eine schwache Hemmung auf.

In der Literatur finden wir wenig Angaben über die Wirkung des Berylliums. Pirschle (1934) beobachtete eine starke Wachstumsförderung bei *Aspergillus niger.*

Calcium.

Calcium ist eigentlich nicht zu den Spurenelementen zu rechnen. Es gehört zu den für die höheren Pflanzen absolut erforderlichen 10 Elementen. Die Notwendigkeit für Pilze ist aber bestritten.

Raulin (1869), Molisch (1894) und Benecke (1894, 1895) kamen zum Ergebnis, dass Ca kein notwendiges Element für die Gattungen *Aspergillus, Penicillium* und *Mucor* sei. Auch Bortels (1927) und Roberg (1928, 1931) konnten diese Feststellung für *Aspergillus niger* bestätigen. Für andere Pilze scheint Ca fördernd zu wirken, so dass die Notwendigkeit noch nicht endgültig abgeklärt ist.

Tabellen 21 und 22 geben Aufschluss über den Einfluss von Ca auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi.* Aus Tabelle 21 könnte auf eine Förderung durch Ca geschlossen werden. Tabelle 22 spricht dagegen. Es ist wahrscheinlich, dass die schwach positive Wirkung von Ca allein in hohen Dosen nicht auf dem Ca beruht, sondern auf andern Spurenelementen, die als Verunreinigungen des verwendeten Ca-Chlorids in die Nährlösung gelangten; sonst sollte Ca auch in Verbindung mit anderen Katalysatoren (Tab. 22) eine positive Wirkung ausüben.

Tabelle 21.
Absidia Lichtheimi: Abhängigkeit des Wachstums von der Calciumkonzentration (mit 10 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle).

Ca in γ/25 ccm Nährlösung	0	5	50	500	5000	50000
T. G. in mg	49	59	55	60	57	47

Tabelle 22.
Der Einfluss von Ca auf Absidia Lichtheimi in Verbindung mit verschiedenen Spurenelementkombinationen nach Steinberg (mit 2,72 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle).

	S	S ohne Fe	S ohne Zn	S ohne Mn	S ohne Cu	S ohne Mo
ohne Ca	120 mg	98 mg	83 mg	122 mg	110 mg	122 mg
mit 500 γ Ca pro 25 ccm Nährlösung	123	95	78	121	115	122

S = Spurenelementmischung nach Steinberg (Tabelle 18).

Zink.

Tabelle 23 zeigt, dass das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* durch Zink sehr stark gefördert wird. Die von Lindeberg (1944) angewandte Zinkkonzentration von 25 γ pro 25 ccm Nährlösung wirkt optimal. Die Steigerung des T. G. beträgt rund 70 %. Wird Zn in der Spurenelementmischung von Steinberg weggelassen, so sinkt das T. G. um 30 %. In grösseren Dosen wird das Wachstum durch Zink fast vollständig gehemmt. Zn ist das wirksamste der bis jetzt untersuchten Spurenelemente. Schon Raulin (1869) hatte gezeigt, dass Zn ein für *Aspergillus niger* notwendiges Element ist, was Steinberg (1919), Bortels (1927) und Roberg (1928, 1931) bestätigten. Leonian und Lilly (1940) fanden, dass *Phycomyces Blakesleeanus* ohne Zn kein maximales Wachstum erreicht. Lindeberg (1944) konnte für verschiedene *Marasmius*arten eine Förderung durch Zn feststellen. Lohmann (1934) erbrachte den Beweis, dass *Aspergillus niger* auf einer mit Tierkohlebehandlung gereinigten Nährlösung ohne Zinkzusatz überhaupt nicht gedeiht.

Tabelle 23.
Der Einfluss der Zinkkonzentration auf das Wachstum von Absidia Lichtheimi (mit 10 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle).

Zn in γ pro 25 ccm Nährlösung	0	0,25	2,5	25	250	2500
T. G. in mg	49	57	70	83	67	3

Ueber die Rolle des Zinks im Stoffwechsel von Schimmelpilzen ist bis heute noch nichts bekannt. Foster und Waksmann (1939) fanden, dass der ökonomische Koeffizient von *Rhizopus nigricans* erhöht wird, was mit den Beobachtungen anderer Forscher übereinstimmt. Es ist deshalb möglich, dass Zn irgendwie im Kohlehydratstoffwechsel eine Rolle spielt.

Bor (Untersuchungsbereich: 0 bis 2500 γ pro 25 ccm Nährlösung).

Unter allen Versuchsbedingungen konnte keine positive Wirkung beobachtet werden. Die grössten Konzentrationen schienen das Wachstum ganz unwesentlich zu hemmen. Bei höheren Pflanzen wurde die Notwendigkeit von Bor durch zahlreiche Untersuchungen bewiesen. Die niederen Pflanzen sind bis dahin wenig untersucht worden. Es liegen keine Beobachtungen über Stimulationen vor, wenn wir von Cusumano (1925) und Pirschle (1935) absehen, die bei *Aspergillus niger* unter bestimmten Bedingungen eine Förderung feststellten.

Aluminium (Untersuchungsbereich: 0 bis 1000 γ pro 25 cccm Nährlösung).

Es konnte unter allen Versuchsbedingungen keine Förderung, wohl aber schon bei geringen Konzentrationen eine Hemmung beobachtet werden. Die Wirkung von Al auf Pilze ist bis dahin wenig untersucht worden.

Titan (Untersuchungsbereich: 0 bis 1000 γ pro 25 ccm Nährlösung).

Mit Ti trat unter allen Versuchsbedingungen keine Förderung ein. Höhere Konzentrationen hemmten das Wachstum. In der Literatur finden wir, abgesehen von Pirschle (1935), der mit Ti-Sulfat eine stimulierende Wirkung auf *Aspergillus niger* beobach-

tete, keine weiteren Angaben über Wachstumsförderungen bei Pilzen.

Zinn (Untersuchungsbereich: 0 bis 80 γ pro 25 ccm Nährlösung).

Die niedrigsten Konzentrationen förderten schwach, die höchsten hemmten stark. Die Wirkung von Sn auf Pilze ist bis dahin wenig untersucht worden.

Molybdän (Untersuchungsbereich: 0 bis 25 γ pro 25 ccm Nährlösung).

Ich konnte mit Mo keine Wachstumssteigerung beobachten.

Bortels (1930) stellte bei Azotobacterarten eine Förderung fest und schloss daraus auf eine Bedeutung von Mo für die Bindung des Luftstickstoffs. Nach Steinberg (1936 b, 1937) ist Mo für das Wachstum von *Aspergillus niger* nötig. Da das Molybdänbedürfnis mit Nitraten grösser ist als mit Ammonsalzen und organischen Stickstoffverbindungen nimmt Steinberg an, dass es sich um einen Katalysatoren der Nitatreduktion handelt.

Mangan.

Tabelle 24 zeigt, dass Mn das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* deutlich fördert. Die von Lindeberg angegebene Normalkonzentration von 68 γ pro 25 ccm Nährlösung wirkt optimal. Die Förderung beträgt hier rund 18 %. Grössere Dosen wirken nicht hemmend.

Tabelle 24.
Der Einfluss von Mangan auf das Wachstum von Absidia Lichtheimi (mit 10 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle).

Mn in γ pro 25 ccm Nährlösung	0	0,68	6,8	68	680	6800
T. G. in mg	49	57	58	62	58	51

Bertrand und Javillier (1911 a, b, c), Bertrand (1912 a, b) und Steinberg (1935 a, b) stellten bei *Aspergillus niger* eine Förderung fest. Lindeberg (1944) beobachtete bei verschiedenen *Marasmius*arten eine mehr oder weniger starke Steigerung des T. G.

Mn scheint bei vielen Stoffwechselvorgängen als Katalysator zu dienen, z. B. bei der Nitratreduktion (Burström 1939) und beim Stärkeabbau (Biedermann und Jernakoff 1924).

Brom und Jod (Untersuchungsbereich: 0 bis 100 γ pro 25 ccm Nährlösung).

Kleine Konzentrationen schienen die T. G. unwesentlich zu erhöhen, höhere beeinflussten das Wachstum nicht. Brom und Jod sind bei Pflanzen noch wenig untersucht worden. Mit Sicherheit steht aber heute fest, dass Jod von den Pflanzen nicht benötigt wird.

Eisen.

Das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* wird durch Fe gefördert (Tab. 25). Höhere Konzentrationen dagegen wirken stark hemmend.

Schon Raulin (1869) beobachtete mit *Aspergillus niger* eine Wachstumsförderung, welche durch Steinberg (1919), Bortels (1927) und Roberg (1928, 1931) bestätigt wurde.

Tabelle 25.
Der Einfluss von Eisen auf das Wachstum von Absidia Lichtheimi (mit 10 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle).

Fe in γ pro 25 ccm Nährlösung	0,0	0,25	2,5	25	250	2500
T. G. in mg	49	54	70	64	60	4

Kobalt und Nickel.

Die Ergebnisse sind aus den Tabellen 26 und 27 ersichtlich.

Co fördert mit KNO_3 das Wachstum von *Absidia Lichtheimi.* Werden aber zugleich Steinbergkatalysatoren zugesetzt, die das Element Co nicht enthalten, so ist eine Hemmung zu beobachten. Mit Asparagin tritt weder mit noch ohne Steinbergkatalysatoren eine Förderung ein. Auf Grund dieser Versuche kann nicht von einer Notwendigkeit von Co für das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* gesprochen werden. Es scheint mir möglich, dass die Steigerung des Trockengewichts mit KNO_3 als Stickstoffquelle nicht auf dem Kobalt beruht, sondern auf andern Spurenelementen, die mit dem Kobaltchlorid in die Nährlösung gelangten. Die Steinbergkatalysatoren, sowie das Asparagin scheinen diese Spuren-

Tabelle 26.
Die Wirkung von Kobalt auf das Wachstum von Absidia Lichtheimi.

Co in γ pro 25 ccm Nährlösung	0,0	0,025	0,25	2,5	25	250
2,72 ‰ KNO_3	37 mg	39 mg	55 mg	33 mg	29 mg	6 mg
2,72 ‰ KNO_3 + Steinbergkat.	95	86	93	76	79	6
2 ‰ Asparagin	114	88	109	72	61	36
2 ‰ Asparagin + Steinbergkat.	165	152	163	159	154	43

elemente zu enthalten. Es ist deshalb keine Erhöhung des T. G. zu erwarten. Schon verhältnismässig kleine Co-Dosen hemmen die Entwicklung beträchtlich.

Ni fördert mit Asparagin und KNO_3 als Stickstoffquelle das Wachstum leicht. Bei gleichzeitiger Zugabe von Steinbergkatalysatoren tritt keine Erhöhung des T. G. ein. Schon verhältnismässig kleine Ni-Dosen hemmen das Wachstum vollständig. Aus diesen Versuchen kann nicht mit Sicherheit auf eine Notwendigkeit von Ni für eine optimale Entwicklung geschlossen werden.

In der Literatur finden wir zahlreiche Angaben über Förderungen und Hemmungen an Schimmelpilzen, die durch Co und Ni verursacht werden. Die Widersprüche in den Ergebnissen dürften

Tabelle 27.
Die Wirkung von Nickel auf das Wachstum von Absidia Lichtheimi.

Ni in γ pro 25 ccm Nährlösung	0,0	0,035	0,35	3,5	35	350
2,72 ‰ KNO_3	30 mg	27 mg	40 mg	47 mg	24 mg	0 mg
2,72 ‰ KNO_3 + Steinbergkat.	111	102	106	107	45	0
2 ‰ Asparagin	106	105	114	121	45	0
2 ‰ Asparagin + Steinbergkat.	172	163	162	154	138	0

teilweise durch verschiedene Versuchsbedingungen zu erklären sein. Unsere Versuche zeigten, dass es notwendig ist, die Wirkung eines Spurenelements unter verschiedenen Ernährungsbedingungen zu studieren, um nicht voreilig auf Stimulationen zu schliessen.

c) Kombinationsversuche mit den Spurenelementmischungen nach Lindeberg und Steinberg.

Abbildung 13 zeigt das Verhalten von *Absidia Lichtheimi* zu den Spurenelementen von Lindeberg in verschiedenen Konzentrationen, einzeln und gemischt. Die grösste Steigerung des T. G. tritt mit Zn ein. Darauf folgen Fe, Mn und Ca. Werden alle Metalle gleichzeitig zugesetzt, so addieren sich die Förderungen, d. h. die Metallmischung wirkt synergistisch.

Tabelle 28.
Prozentuale Förderung des Wachstums von Absidia Lichtheimi durch Spurenelemente nach Steinberg in verschiedener Kombination (mit 2,72 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle).

Zn + Fe + Mn + Mo + Cu	98 %
Mo allein	5
alle ohne Mo	97
Fe allein	6
alle ohne Fe	58
Mn allein	8
alle ohne Mn	97
Zn allein	45
alle ohne Zn	34
Cu allein	0
alle ohne Cu	77

Tabelle 28 ergibt, dass auch die Steinbergkatalysatoren synergistisch wirken. Es fällt auf, dass Fe und Cu einzeln nicht oder sehr schwach fördern, aber beim Fehlen in der Spurenelementmischung eine beträchtliche Erniedrigung des T. G. zur Folge haben.

d) Diskussion der verschiedenen Wirksamkeit der untersuchten Spurenelementmischungen.

Es wurde festgestellt, dass die aus nur wenigen Spurenelementen zusammengesetzten Katalysatorenmischungen nach Linde-

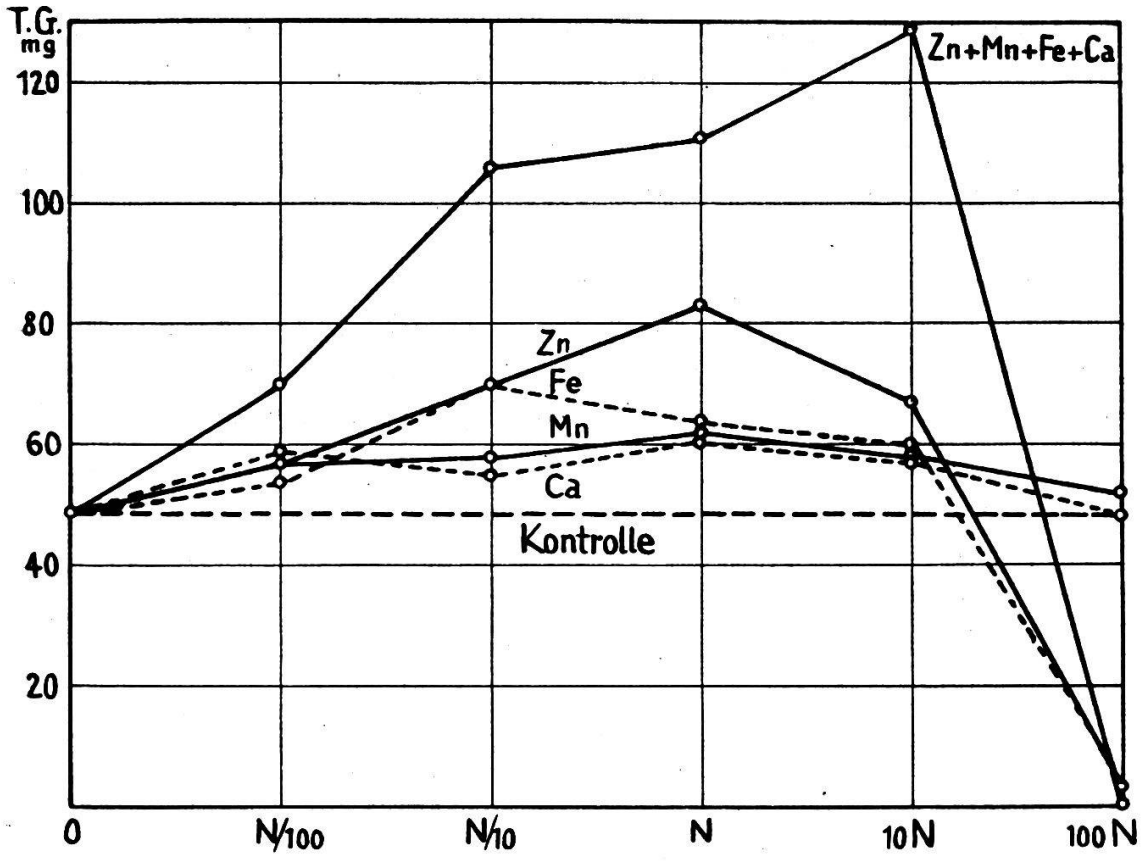


Abbildung 13.

Der Einfluss der Lindebergkatalysatoren (einzeln und gemischt) in verschiedener Konzentration auf das Wachstum von Absidia Lichtheimi (mit 10 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle).

N = Normalkonzentration (Tabelle 18).

berg und Steinberg grosse, diejenigen von Berthelot und vor allem von Hoagland nur geringe Gewichtssteigerungen bewirken. Versuche von Lindeberg (1944) ergaben für *Marasmius rotula* ebenfalls durch die A-Z-Lösung im Vergleich zu seiner eigenen Spurenelementmischung eine geringe Steigerung des T. G. Auf Grund der Einzeluntersuchung der in der A-Z-Lösung verwandten Elemente muss die schwache Wirksamkeit einerseits auf die zu geringe Konzentration des besonders wirksamen Zinks und auf das völlige Fehlen des Eisens, andererseits auf eine gewisse Hemmung durch Elemente wie Ti, Co, Al und Ni zurückgeführt werden.

e) Die Abhängigkeit der Spurenelementwirkung von den Versuchsbedingungen.

Zeit.

Aus Abbildung 14 ist die Spurenelementwirkung als Funktion der Zeit bei niederer KNO_3-Konzentration ersichtlich. Bis zum Abschluss der Hauptwachstumsperiode steigt die durch die Katalysatoren bedingte Förderung rasch bis zu einem Maximum von 170 % an, um danach allmählich abzusinken.

Werden die Katalysatoren erst nachträglich beigefügt, so setzt sofort ein intensives Wachstum ein. Nach 34 Tagen ist der Wachstumsrückstand beinahe eingeholt. Die Spurenelemente wirken also in Gegenwart von notwendigem Vitamin als beschränkender Faktor.

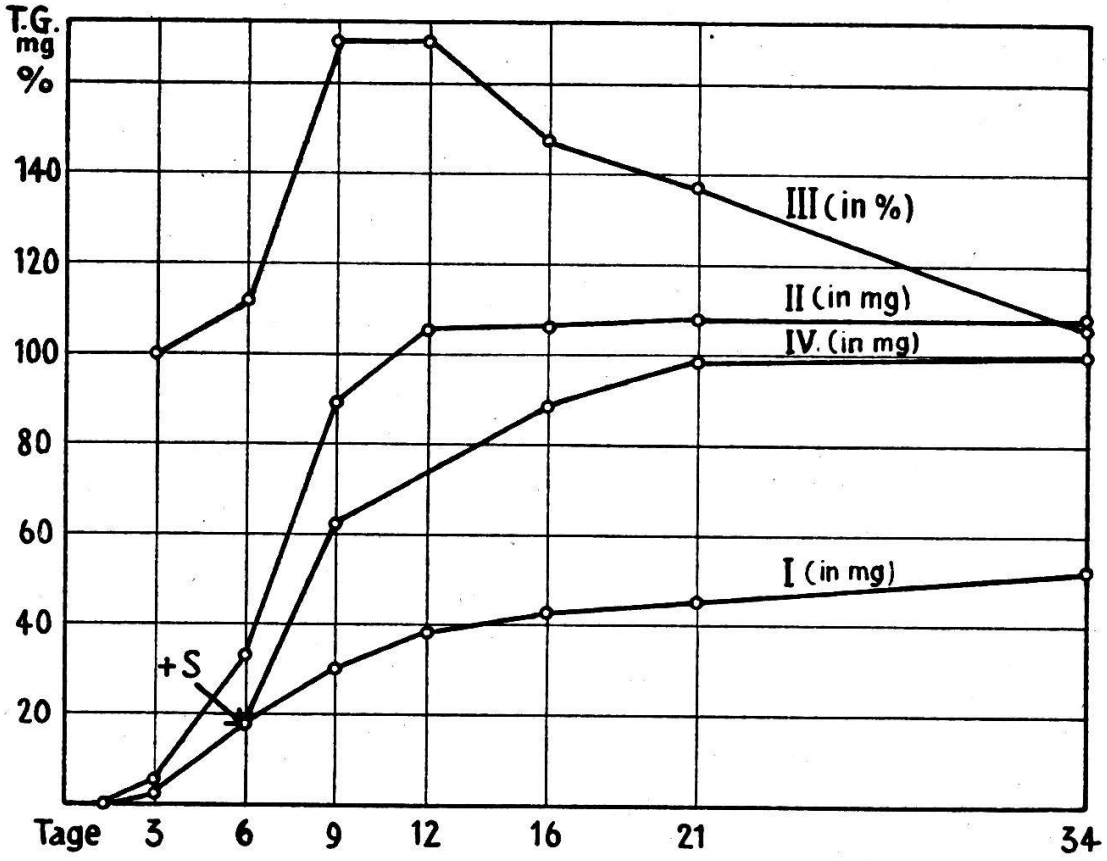


Abbildung 14.

Absidia Lichtheimi: Die Spurenelementwirkung als Funktion der Zeit. Mit 1,36 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle. Mit Steinbergkatalysatoren in Normalkonzentration (Tabelle 18).

I: Kontrolle ohne Spurenelemente; II: mit Spurenelementen; III: Förderung in %; IV: Nachträglicher Zusatz von Spurenelementen.

Mit hohen KNO_3-Konzentrationen (Abb. 15) sind die Ergebnisse ähnlich. Die Förderung ist aber anfänglich gering, um sehr rasch zu einem beträchtlich höheren Maximum (274 %) anzusteigen und hierauf wieder infolge Autolyse stark abzusinken (bis auf etwa 60 %).

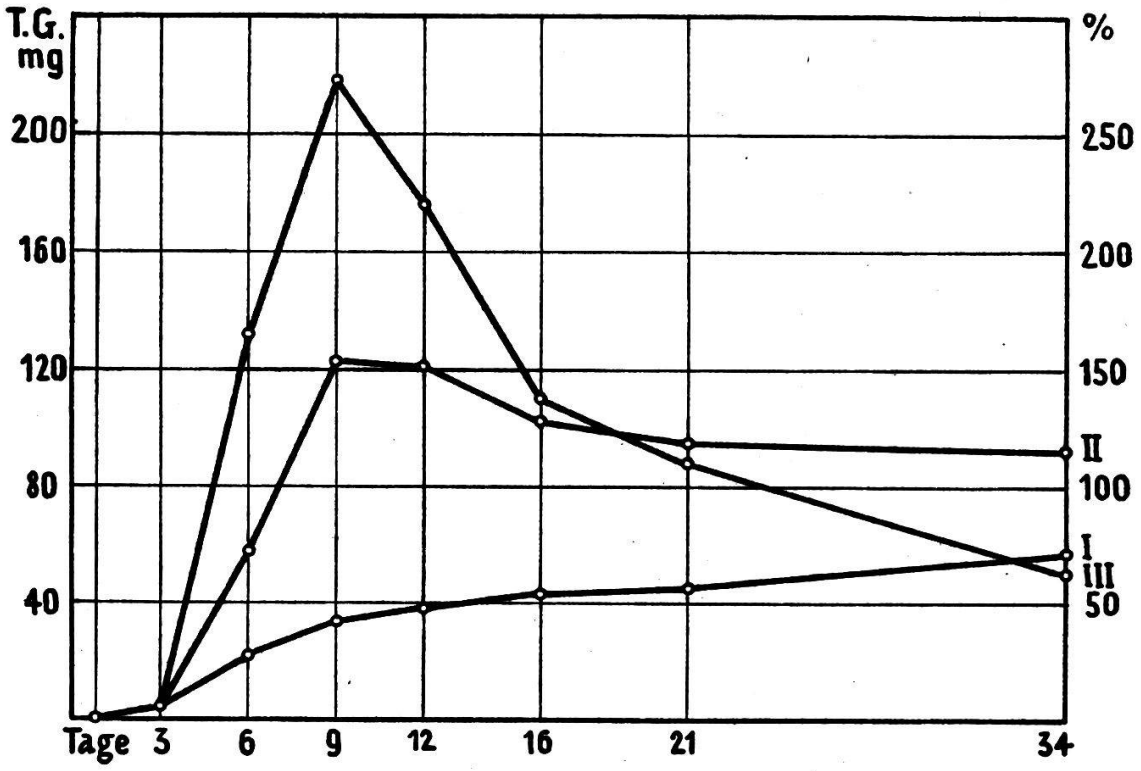


Abbildung 15.

Absidia Lichtheimi: Die Spurenelementwirkung als Funktion der Zeit. Mit 5,44 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle. Mit Steinbergkatalysatoren in Normalkonzentration (Tabelle 18).

I: Kontrolle ohne Spurenelemente; II: Mit Spurenelementen; III: Förderung in %.

Aus Abbildung 16 sind die Ergebnisse eines entsprechenden Zeitversuchs mit Asparagin als Stickstoffquelle ersichtlich. Bei einer Asparaginkonzentration von 1 ‰ üben die Spurenelemente keinen Einfluss aus. Mit 4 ‰ Asparagin sind die Ergebnisse ähnlich wie mit hohen KNO_3-Dosen. Die Förderungen sind aber bedeutend geringer (bis maximal 82 %). In späten Entwicklungsstadien wird die Autolyse durch die metallischen Katalysatoren stark erhöht, so dass eine Hemmung festzustellen ist.

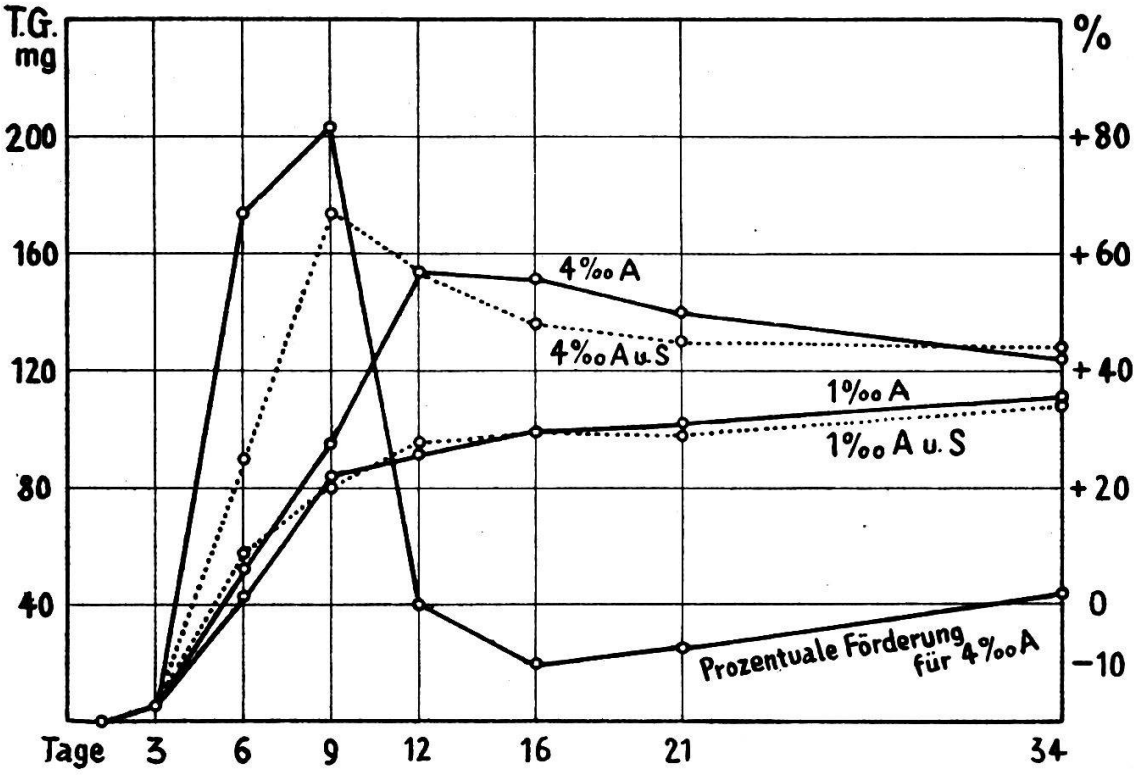


Abbildung 16.

Absidia Lichtheimi: Die Spurenelementwirkung als Funktion der Zeit, mit Asparagin als Stickstoffquelle.

S = Steinbergkatalysatoren in Normalkonzentration (Tabelle 18).

A = Asparagin.

Stickstoffkonzentration.

Abbildung 17 zeigt das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* als Funktion der Stickstoffkonzentration, mit und ohne Zugabe von Lindebergkatalysatoren. Der Stickstoff wird durch Asparagin, Ammoniumcitrat, Ammoniumtartrat oder KNO_3 geliefert. Die Kurven mit Spurenelementen stimmen im grossen und ganzen überein. Ohne Katalysatoren weichen sie bis zu einer Stickstoffdosis von 2,5 mg pro 25 ccm Nährlösung ebenfalls nicht voneinander ab. Grössere Stickstoffgaben erhöhen die T. G. mit KNO_3 nur sehr wenig, mit Ammoniumcitrat und Ammoniumtartrat wenig, mit Asparagin dagegen wesentlich mehr. Hurni (1944) konnte bei *Phycomyces Blakesleeanus* mit Ammoniumcitrat, Ammoniumtartrat und Asparagin dasselbe beobachten. Er schloss daraus, dass *Phycomyces Blakesleeanus* keine andere Stickstoffquelle so gut ausnützen könne wie Asparagin. 1945 stellte er aber fest, dass auch mit Ammoniumcitrat bei Zugabe von Spurenelementen hohe T. G. erreicht

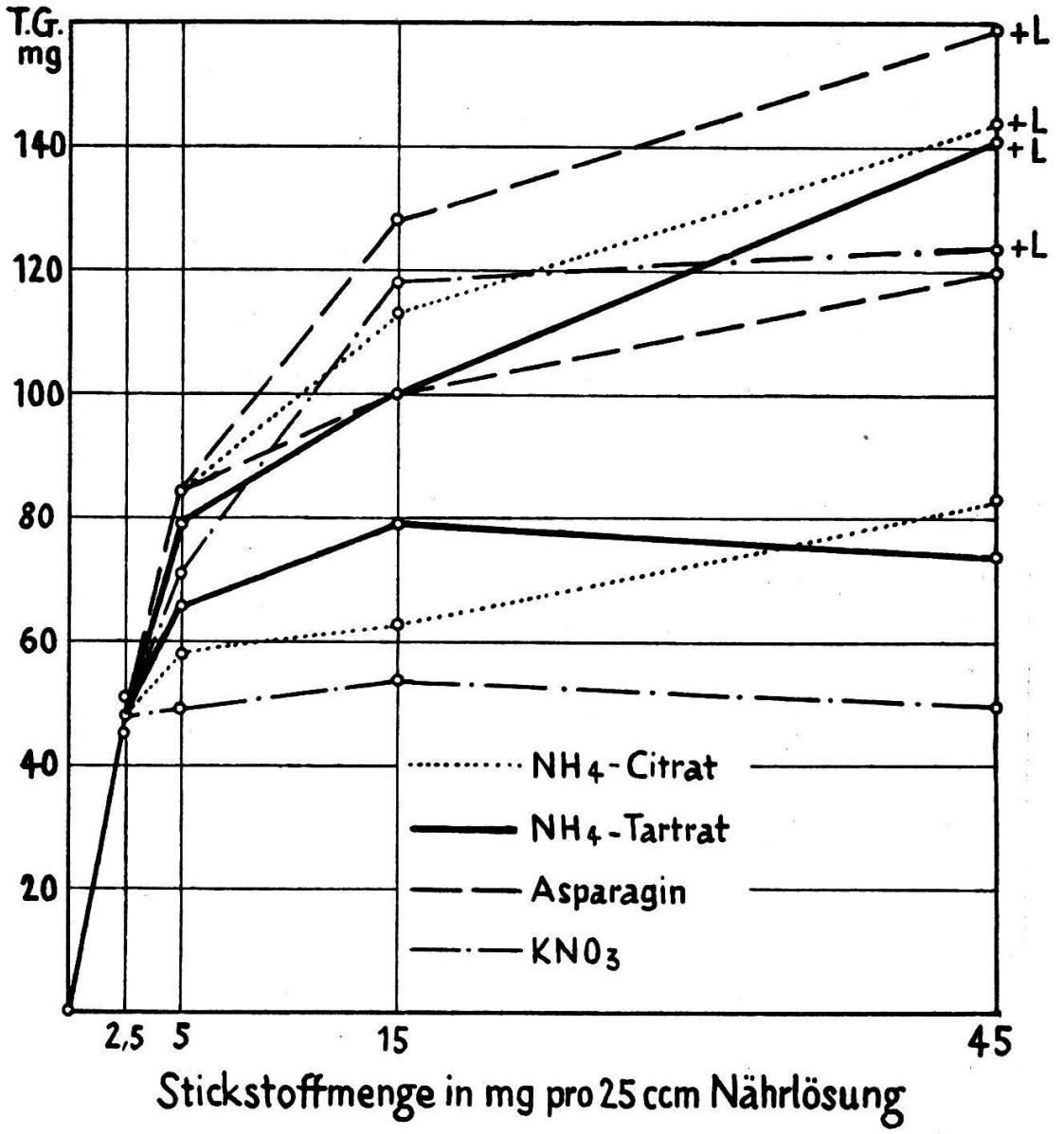


Abbildung 17.
Absidia Lichtheimi: Die Spurenelementwirkung als Funktion der Stickstoffkonzentration. Versuchsdauer: 8 Tage.
L = Lindebergkatalysatoren in Normalkonzentration (Tabelle 18).

werden. Die durch die Katalysatoren maximal erzielte Förderung betrug 270 %.

Nach meiner Ansicht sind die Ergebnisse etwa folgendermassen zu deuten: Ich nehme an, dass *Absidia Lichtheimi* den Stickstoff aus Asparagin, Ammoniumcitrat, Ammoniumtartrat und KNO_3 gleich gut aufnehmen kann, dass aber eine maximale Entwicklung (maximale Ausnutzung der vorhandenen Nährstoffe wie Glukose und Stickstoffquelle) an die Anwesenheit von Spurenelementen ge-

bunden ist. Ein Teil der Spurenelemente kommt durch die Glukose in die Nährlösung. Ist die Stickstoffmenge gering, so wirken der Stickstoffmangel und nicht die metallischen Katalysatoren als begrenzender Faktor. Werden höhere Stickstoffgaben geboten, so steigt bei dem praktisch von Verunreinigungen freien KNO_3 das T. G. nicht mehr an. Die Spurenelemente wirken als beschränkender Faktor. Mit dem weniger reinen Ammoniumcitrat und -Tartrat gelangen zusätzlich kleine Spurenelementmengen in die Nährlösung und erlauben ein geringes weiteres Wachstum. Die Trokkengewichtskurven steigen noch schwach an. Mit Asparagin sind die T. G. bis zu einer Konzentration von 1 $^0/_{00}$ (5 mg N pro 25 ccm Nährlösung) mit und ohne Katalysatoren ungefähr gleich. Die in der Glukose und dem wenig reinen Asparagin enthaltenen, metallischen Katalysatoren genügen, um ein optimales Wachstum zu ermöglichen. Bei höheren Asparagindosen reicht die noch zusätzlich durch das Asparagin in die Nährlösung gelangende Spurenelementmenge nicht mehr aus, um ein optimales Wachstum zu gewährleisten. Eine Zugabe von Spurenelementen wirkt daher fördernd. Ohne einen Stickstoffkonzentrationsversuch hätte der falsche Schluss gezogen werden können, dass die Spurenelemente nur bei KNO_3, Ammoniumcitrat und -Tartrat eine Steigerung des Trockengewichts bedingen. Das hätte leicht zu der falschen Vermutung geführt, dass die Spurenelemente eine besondere Rolle bei der Assimilation von anorganischem Nitrat- und Ammoniakstickstoff spielen, dagegen nicht bei einer organischen Stickstoffquelle wie Asparagin. Es scheint aber, wenigstens für *Absidia Lichtheimi*, dass für die maximale Entwicklung mit irgendeiner Stickstoffquelle Spurenelemente nötig sind. Asparagin würde also nicht deshalb das beste Wachstum ermöglichen, weil es ein Amid ist, sondern weil es als relativ unreine Substanz die notwendigen Spurenelemente enthält. Mit KNO_3 können bei Zugabe von Spurenelementen gleich hohe oder höhere Trockengewichte wie mit derselben Stickstoffmenge in Form von Asparagin ohne Katalysatoren erreicht werden. In vielen Versuchen kann daher an Stelle des teuren Asparagins das billige KNO_3 mit Zusatz von Spurenelementen verwendet werden.

Verschiedene Stickstoffquellen.

Tabelle 29 zeigt die Wirksamkeit der Spurenelementmischungen nach Lindeberg und Steinberg mit verschiedenen Stickstoff-

quellen. Pro Erlenmeyerkolben wurden 20 mg N (entspricht einer 2 ‰igen Asparaginlösung) beigefügt. Ohne Zugabe von metallischen Katalysatoren weichen die erhaltenen Trockengewichte stark voneinander ab. Nur Asparagin scheint leicht assimilierbar. Mit Zugabe von Steinberg- oder Lindeberg-Katalysatoren sind die Ergebnisse viel ausgeglichener, wenn wir von Harnsäure, NH_4-oxalat, $(NH_4)_2SO_4$, NH_4Cl und NH_4NO_3 (d. h. meist Salze starker Säuren, die sich wegen der freiwerdenden Säure nicht als Stickstoffquelle eignen) absehen. Günstig sind neben Asparagin vor allem Ammoniumsalze organischer Säuren, Nitrate und die Aminosäure Glykokoll, die ohne Zugabe von Metallen nur ein geringes Wachstum ergibt. Ammonniumsalze werden im allgemeinen um so besser aufgenommen, je schwächer die freiwerdende Säure ist, was mit den Beobachtungen von Ritter (1909, 1911) an verschiedenen Schimmelpilzen übereinstimmt. Interessant ist die Feststellung, dass Asparagin zwar ein hohes Trockengewicht, aber ein verhältnismässig wenig zusammenhängendes Substrat- und ein

Tabelle 29.
Absidia Lichtheimi: Die Abhängigkeit der Spurenelementwirkung von der Stickstoffquelle.

N-Quelle	Kontrolle		Lindebergkat.		Steinbergkat.	
	T. G. in mg	T. G. in %	T. G. in mg	T. G. in %	T. G. in mg	T. G. in %
! $Ca(NO_3)_2$	55	100	117	212	136	247
! KNO_3	58	100	109	188	122	210
* NH_4Cl	43	100	44	102	42	98
* $(NH_4)_2SO_4$	37	100	44	119	43	116
* NH_4NO_3	48	100	58	121	56	117
+ NH_4-oxalat	64	100	65	102	65	102
+ NH_4-citrat	70	100	100	143	104	149
! NH_4-acetat	61	100	114	186	130	213
+ NH_4-tartrat	71	100	118	166	138	194
+ Harnstoff	61	100	149	245	175	287
+ Glykokoll	68	100	93	137	132	194
+ Asparagin	130	100	145	112	160	123
! Harnsäure	63	100	63	100	64	102

! Substratmycel zusammenhängend, reichlich entwickeltes Luftmycel.
+ Substratmycel mehr oder weniger zusammenhängend, wenig Luftmycel.
* Mycel knöllchenförmig, unzusammenhängend, kein Luftmycel.

schlecht ausgebildetes Luftmycel ergibt. Mit KNO_3 erhalten wir etwas niedrigere Trockengewichte, aber stets ein gleichmässiges Luft- und ein zusammenhängendes Substratmycel.

Dieselbe Spurenelementmischung fördert die Aufnahme von Nitrat- und Ammoniakstickstoff. Dies steht im Gegensatz zu den von Utiger (1942) in der Symbiose *Mucor Ramannianus-Rhodotorula rubra* gemachten Beobachtungen, wo die Ausnützbarkeit der beiden Stickstoffarten durch verschiedene Spurenelementgemische gesteigert wurde.

Meine Ergebnisse stimmen gut mit denjenigen von Sakamura (1934, 1936, 1941), der den Einfluss von Schwermetallen auf die Ammoniak- und Nitrataufnahme bei *Aspergillus oryzae* untersuchte, überein. Sakamura fand, dass Zn, Fe, Cu und Mn die Aufnahme von Nitraten und Ammoniumsalzen förderten. Unabgeklärt blieb die Frage, warum in der Ammoniumnitratkultur Cu hemmend auf die Nitrataufnahme wirkte, obschon mit Cu sowohl bei Nitraten ($Ca(NO_3)_2$) als auch bei Ammoniumsalzen ($(NH_4)_2SO_4$) eine Steigerung des Trockengewichts eintrat. Sakamura nimmt an, dass diese Metalle, wenn auch die Wirkung im einzelnen noch unklar ist, bei der Nitratreduktion und der Aminosäuresynthese eine Rolle spielen.

Aneurinkonzentration.

Die Abhängigkeit der Spurenelementwirkung von der Aneurinkonzentration ist aus den Abbildungen 18 und 19 ersichtlich. Die Versuche wurden gleichzeitig durchgeführt, so dass die Ergebnisse mit 2 ‰ Asparagin und 2,72 ‰ KNO_3 miteinander verglichen werden können. Mit KNO_3 ist bei einer bestimmten Aneurinmenge das erhaltene Trockengewicht weitgehend von der Zugabe von Spurenelementen abhängig. Die höchsten Trockengewichte werden bei einer bestimmten Aneurinmenge mit den Katalysatoren von Steinberg erreicht. Mit 2 ‰ Asparagin als Stickstoffquelle fallen die Ergebnisse ähnlich aus. Jedoch sind die durch die Spurenelemente erreichten Steigerungen bedeutend geringer. Die Berthelotkatalysatoren, die mit KNO_3 als Stickstoffquelle nur eine geringe Steigerung des Trockengewichts verursachten, wirken hier bei höheren Aneurinkonzentrationen günstiger als die Spurenelementmischung nach Steinberg. Das unterschiedliche Verhalten von Asparagin und KNO_3 als Stickstoffquelle wird, wie be-

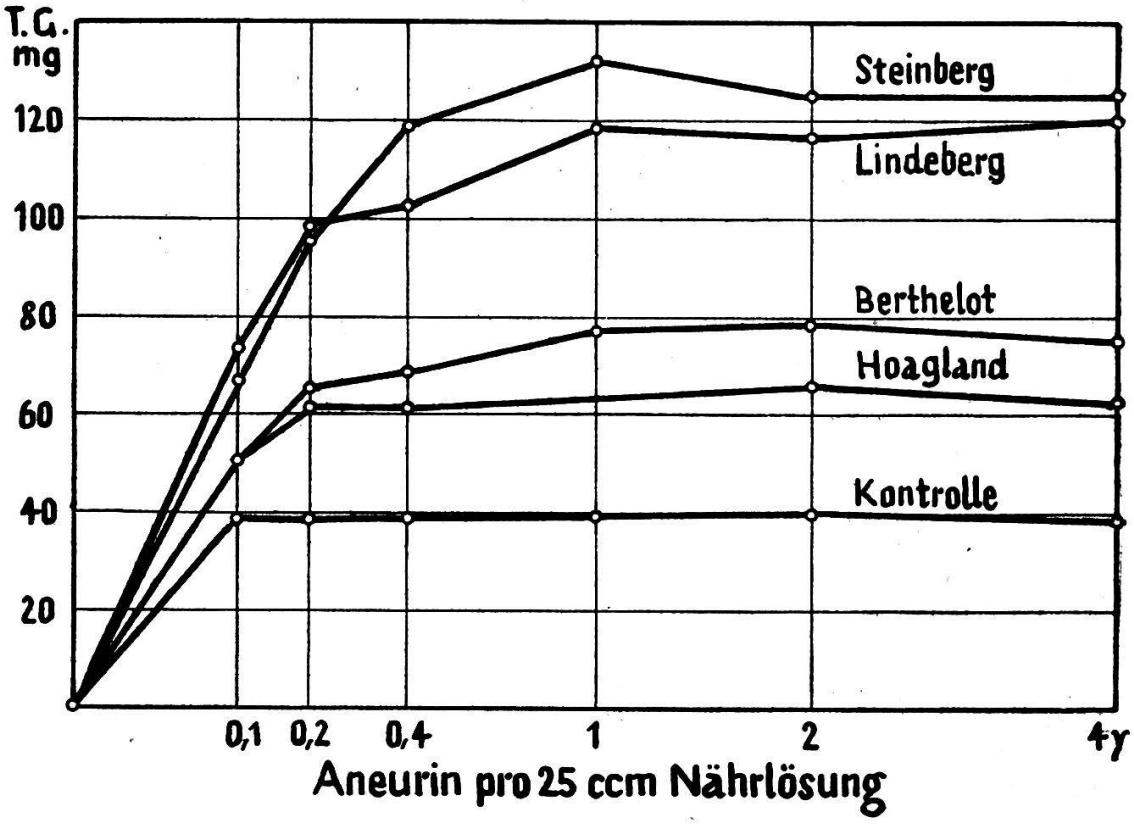


Abbildung 18.
Absidia Lichtheimi: Der Einfluss der Spurenelemente auf den Aneurinkonzentrationsversuch (mit 2,72 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle; für die Aneurinkonzentrationen sind die Wurzelwerte aufgetragen).

reits besprochen, durch den verschiedenen Spurenelementgehalt bedingt. Beim reinen KNO_3 wirkt der Gehalt der Nährlösung an metallischen Katalysatoren schon bei einer geringen Aneurinkonzentration als beschränkender Faktor. Asparagin enthält mehr Spurenelemente, die erst bei höheren Aneurinkonzentrationen als beschränkender Faktor wirken.

Abschliessend sei festgestellt, dass mit metallischen Katalysatoren auf einer wirkstofffreien Nährlösung, oder mit Pyrimidin oder Thiazol allein, kein Wachstum ausgelöst werden konnte. Es stimmt dies mit den Ergebnissen von Utiger (1942) überein, der für die beiden auxoheterotrophen Organismen, *Mucor Ramannianus* und *Rhodotorula rubra,* keine Nährlösung fand, welche die beiden Organismen auxoautotroph werden liess.

Ebenso war es mir nicht möglich, durch Spurenelemente eines der in Tabelle 16 und 17 erwähnten, inaktiven Pyrimidin- oder Thiazolderivate zu aktivieren.

Metallische Katalysatoren allein erlaubten also auf einer wirk-

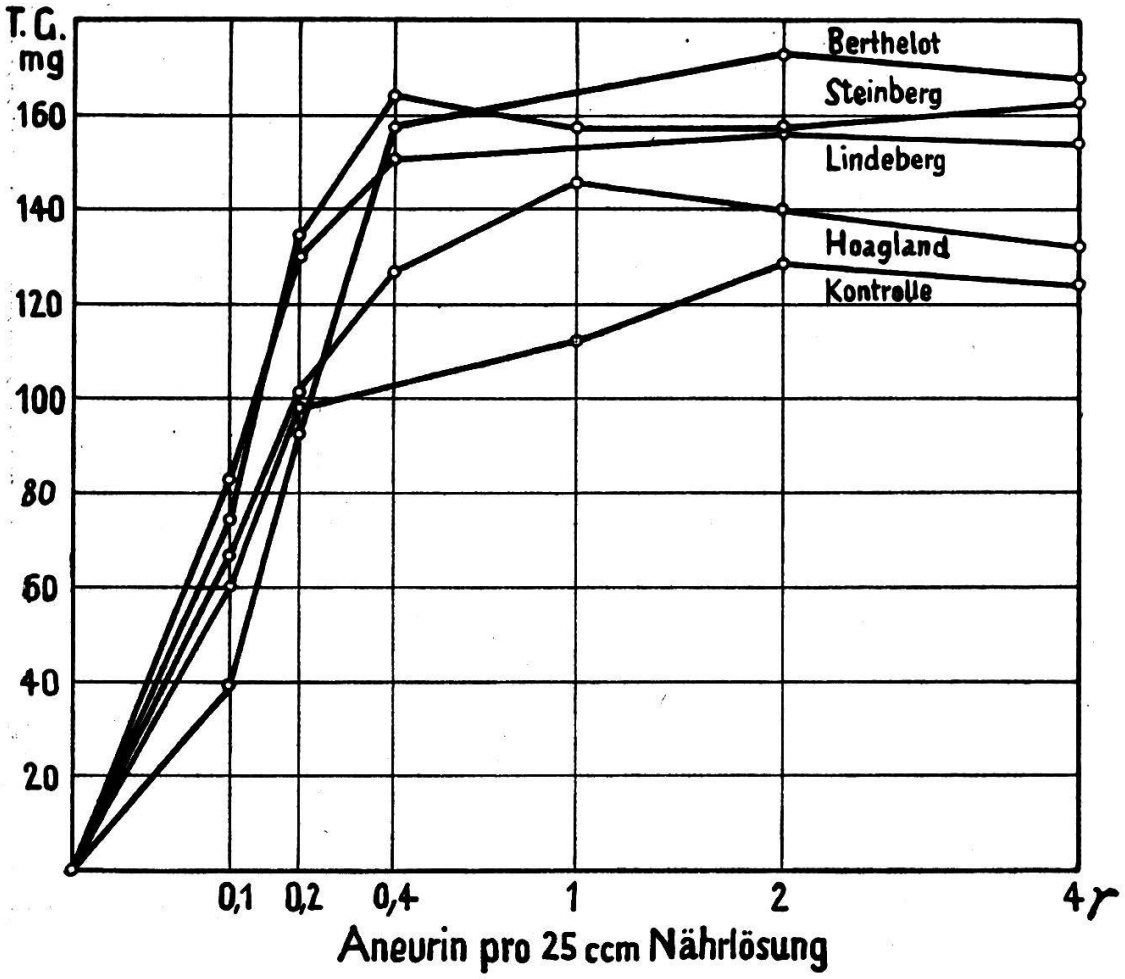


Abbildung 19.
Absidia Lichtheimi: Der Einfluss der Spurenelemente auf den Aneurinkonzentrationsversuch (mit 2 ‰ Asparagin als Stickstoffquelle; für die Aneurinkonzentrationen sind die Wurzelwerte aufgetragen).

stofffreien Nährlösung keine Entwicklung, bewirkten aber in Anwesenheit von notwendigen Vitaminen unter den angewandten Versuchsbedingungen ein dauerndes Mehrwachstum. Lohmann (1934) erbrachte den Beweis, dass *Aspergillus niger* auf einer mit Tierkohle gereinigten Nährlösung ohne Spurenelemente überhaupt nicht gedeiht. Die Spurenelemente wären in diesem Falle wie die Vitamine für die Entwicklung unbedingt notwendige Hauptwachstumsfaktoren.

2. *Das Meerwasser als Quelle von Spurenelementen.*

Unter verschiedenen Bedingungen wurde die Wirkung von Meerwasser untersucht. Die Ergebnisse fielen nicht eindeutig aus.

In einzelnen Versuchen konnte eine Förderung bis zu 30 % erzielt werden. In andern wurden mit und ohne Meerwasser ungefähr gleiche Erträge erreicht. Schopfer und Utiger (1941) beobachteten an einem allerdings etwas kümmerlichen Stamm von *Phycomyces Blakesleeanus* Steigerungen bis zu 157 %. Da das von mir verwandte Meerwasser längere Zeit aufbewahrt worden war, und es möglich ist, dass Spurenelemente vom Glas adsorbiert werden, dürfen meine Versuche nicht als absolut sicher betrachtet werden.

3. *Der Einfluss von Aschen.*

Die Prüfung der Aschen erfolgte mit 1,36 ‰ KNO_3 und 1 ‰ Asparagin als Stickstoffquelle. Die zugegebenen Aschenmengen entsprechen einer 2 %igen Lösung der unveraschten, auf das Trokkengewicht bezogenen, pflanzlichen Produkte. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 30 ersichtlich. Mit dem spurenelementreichen Asparagin ist die Wirksamkeit der zugegebenen Aschen gering, mit KNO_3 dagegen teilweise beträchtlich. Vor allem fördert Rottannen-, Hefe-, Vollmehl-, Weissmehl- und Randenasche das Wachstum. Auch Asparaginasche erhöht das Trockengewicht ansehnlich. Schon Utiger (1942) beobachtete, dass Aschen organischer Kohlenstoff-stoff-Stickstoff-Verbindungen, wie z. B. Asparagin, die Symbiose

Tabelle 30.
Der Einfluss von Aschen auf das Wachstum von Absidia Lichtheimi.

Asche	1,36 ‰ KNO_3	1 ‰ Asparagin
Kontrolle	45 mg T.G.	87 mg T.G.
Steinberg	95	106
Holz (Rottanne)	91	96
Hefe	124	92
Weissmehl	111	91
Vollmehl	109	92
Apfel	23	96
Birne	55	85
Karotte	61	99
Rande	103	114
NH_4-Citrat	58	87
Asparagin	74	—
Glukose	78	—

von *Mucor Ramannianus* und *Rhodotorula rubra* mit Ammonsulfat als Stickstoffquelle ermöglichten. Er schloss daraus, dass die organischen Kohlenstoff-Stickstoff-Verbindungen nicht deshalb günstig auf die Symbiose wirken, weil sie Kohlenstoff und Stickstoff in derselben Verbindung enthalten, sondern weil sie mit Spurenelementen verunreinigt sind.

Zusammenfassung

1. Der für den Hauptteil meiner Untersuchungen benützte Stamm von *Absidia ramosa* aus Baarn scheint wegen der Form und Grösse der Sporen der sehr nahe verwandten Art *Absidia Lichtheimi* anzugehören.

Aus einer Anzahl mit Rindermundspeichel geimpfter Kulturen aus dem Tierspital in Bern konnten Stämme isoliert werden, die ich teils als *Absidia Lichtheimi* (Var. *Rasti*), teils als *Absidia ramosa* Var. *Rasti* und *Zürcheri* bestimmte. Für einen Teil meiner Versuche zog ich einige dieser Stämme bei.

2. *Absidia Lichtheimi* und *Absidia ramosa* gedeihen auf synthetischer, wirkstofffreier Nährlösung nicht. Ein optimales Wachstum wird mit 0,4 γ Aneurin pro 25 ccm Nährlösung ermöglicht. Die Angaben von Schopfer (1937 b) über den Aneurinbedarf von *Absidia ramosa* (nach 1. wahrscheinlich *Absidia Lichtheimi)* wurden somit bestätigt.

Als Kohlenstoffquellen können die meisten Kohlehydrate (ausser Cellulose, Lignin, Xylan und Inulin) sowie höhere Alkohole, als Stickstoffquellen organische Stickstoffverbindungen wie Aminosäuren, Amide (Harnstoff und Asparagin), Peptone und Eiweisse und anorganische wie Nitrate und Ammoniumsalze schwacher Säuren gut ausgenutzt werden.

Absidia Lichtheimi und *ramosa* sind thermophil (Optimum um 37 ^{0}C, Maximum um 46 ^{0}C, Minimum um 20 ^{0}C).

Die optimale Wasserstoffionenkonzentration liegt zwischen pH 3,8 und 6,8.

3. Die Angaben von Schopfer (1937 b) über einen Ersatz von Aneurin durch Pyrimidin und Thiazol bei *Absidia ramosa* (also wahrscheinlich *Absidia Lichtheimi)* konnten bestätigt werden. Das schwache Wachstum auf Pyrimidin allein wurde dagegen nicht