

Ueber den Stoffwechsel von *Fusarium lycopersici* und *Fusarium lini*

Von der

Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich

zur Erlangung

der Würde eines Doktors der Naturwissenschaften

genehmigte



Promotionsarbeit

Vorgelegt von

Gottlob Luz

aus Walddorf O.-A. Tübingen

827

Referent: Herr Prof. Dr. E. Gäumann
Korreferent: Herr Prof. Dr. Winterstein

Dessau 1934

Anhaltische Buchdruckerei Gutenberg Gustav Zichäus G. m. b. H.

Sonderabdruck aus „Phytopathologische Zeitschrift“,
Bd. VII, 1934.

Aus dem Institut für spezielle Botanik
der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich.

Vorstand: Prof. Dr. E. Gäumann.

Über den Stoffwechsel
von *Fusarium lycopersici* und *Fusarium lini*.

Von

Gottlob Luz, Walddorf.

Mit 24 Textabbildungen.

Inhaltsübersicht: I. Allgemeiner Teil: A. Einleitung. B. Gang der Untersuchungen. C. Allgemeines über die Methodik. — II. Experimenteller Teil: A. Vorversuche: a) Änderung der Azidität; b) Einfluß der Azidität auf das Wachstum; c) Die Pufferung der Kulturlösungen; d) Vorversuch über Stickstoffaufnahme. B. Hauptversuche: 1. Abschnitt: Die Nährstoffaufnahme: a) Die Stickstoffaufnahme von *Fusarium lycopersici*; b) Aufnahme der Aschenbestandteile durch *Fusarium lycopersici*; c) Kulturversuch auf sulfatfreier Nährlösung; d) Kulturversuch mit Ammonsulfat; e) Nährstoffaufnahme von *Fusarium lini*; f) Besprechung der Ergebnisse über Nährstoffaufnahme. 2. Abschnitt: Qualitative Untersuchungen über Stoffwechselprodukte in Kulturen von *Fusarium lycopersici*. 3. Abschnitt: Welkewirkung der Kulturlösungen auf Tomatenpflanzen. — III. Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

I. Allgemeiner Teil.

A. Einleitung.

Im Mittelpunkt vieler Untersuchungen über *Fusarien* stand die Frage nach den Ursachen der Welkewirkung, die diese Parasiten an ihren Wirtspflanzen hervorbringen. Die Erkenntnis, daß toxische Stoffe beim Welken mitwirken, führte zur Untersuchung des physiologischen Verhaltens der Pilze auf künstlichem Nährsubstrat (Webb, 1919, Hopkins, 1922, White, 1927, Ahmet, 1933 u. a.). Dabei stand die Frage nach den Stoffwechselprodukten der Pilze im Vordergrund, da diese wohl beim Welken eine wichtige Rolle spielen. Die bisherigen Ergebnisse müssen jedoch durch weitere Versuche ergänzt werden. Der Einfluß einiger chemischer und physikalischer Faktoren auf Keimung und Wachstum wurde untersucht. Uns interessieren besonders die Beobachtungen über die Azidität der Nährlösung.

Webb (1919), Sherwood (1923), Hopkins (1922), White (1927) verfolgten den Einfluß der Azidität auf Keimung und Wachstum von *Fusarium*. Sie stellen übereinstimmend fest, daß Keimung und Wachstum innerhalb eines weiten Aziditätsbereichs möglich ist. Sherwood gibt für *Fusarium lycopersici* als untere Grenze einen pH-Wert von 2,2, als obere

Grenze einen Wert von 8,4 an. Nach Webb und White liegt häufig die Grenze etwas höher. White zeigt, daß die obere Aziditätsgrenze für das Wachstum bei den von ihm untersuchten Stämmen zwischen 8,6 und 10,2 schwankt. Die pH-Werte für Optimum und Wachstumsgrenze sind nach unseren Ergebnissen auch stark von der Zusammensetzung der Nährlösung abhängig. Die genannten Autoren finden ferner, daß verschiedene *Fusarien* hinsichtlich der Abhängigkeit des Wachstums von der Azidität ein doppeltes Optimum aufweisen. Das eine liegt im stark sauren, das andere im neutralen oder alkalischen Bereich. White stellt z. B. für eine Anzahl von Stämmen von *Fusarium lycopersici* ein erstes Optimum bei pH 4—5,5, ein darauffolgendes Minimum von 5—7 und ein zweites Optimum oberhalb 7 fest. Im einzelnen variieren die Stämme. Hopkins findet entsprechendes für *Gibberella Saubinetii*. Eine Doppelgipfeligkeit soll auch wieder bei der Infektion in Abhängigkeit von der Azidität auftreten. Hopkins erhält bei pH 3,9 81%, bei pH 5,5 23,2%, bei pH 8,6 100% kranke Weizenkeimlinge. Es bleibt weiterer Untersuchung vorbehalten, festzustellen, wie weit im Einzelfall günstiger oder ungünstiger Einfluß der Azidität auf das Wachstum des Parasiten und das Wachstum des Wirtes zusammenfallen oder sich entgegenwirken. Die Beobachtung, daß zwei Optima vorhanden sind, wurde auch bei der Prüfung des Einflusses der Azidität auf Bakterienvermehrung (Cohen und Clark, 1919) und auf Keimung und Wachstum von höheren Pflanzen gemacht (Arrhenius 1922, Salter und Mc Ilvaine, 1920). Es handelt sich demnach um eine allgemeiner auftretende Erscheinung. Robbins (1923, 1924) sucht eine Deutung zu geben. Er geht davon aus, daß das Plasma ebenso wie andere Kolloide einen isoelektrischen Punkt besitzt. Nun steht fest, daß z. B. Leitfähigkeit, Viskosität, Quellung, Diffusion von Farbstoffen bei der Azidität des isoelektrischen Punktes ein Minimum haben. Dasselbe glaubt Robbins für die Permeabilität der Nährstoffe annehmen zu dürfen. Die Ursache des Wachstumsminimums, das zwischen zwei Optima liegt, läge nach ihm in der verminderten Nährstoffaufnahme bei der Azidität des isoelektrischen Punktes. Iljin (1928) fand auch bei Versuchen mit Georginenknollen und Alliumzwiebeln, daß für die Permeabilität von Zucker und Kalium bei pH 7 ein Minimum besteht.

Eine zweite Beobachtung über das pH wurde gemacht. Wird eine Nährlösung von bestimmtem Ausgangs-pH mit *Gibberella Saubinetii*, mit *Fusarium lini* oder *lycopersici* beimpft, so tritt bald eine Veränderung der Azidität ein. White (1927) berichtet von *Fusarium lycopersici*, daß bei einem Ausgangs-pH von 9,04 und von 7,15 die Wasserstoffionenkonzentration zunächst zunimmt, dann aber wieder abnimmt bis zu einem pH von 8,5. Hier scheint sich ein gewisses Gleichgewicht eingestellt zu haben, denn von nun an tritt eine weitere Veränderung nicht mehr ein. Man hat diesen Endpunkt als den isometabolischen Punkt bezeichnet. Bei einem

Ausgangs-pH von 4,04, sagt White, strebe das pH direkt dem isometabolischen Punkt zu, ohne daß vorher eine Ansäuerung der Lösung zu konstatieren sei.

Eine Veränderung des pH kann, abgesehen von *Fusarien*, auch bei einer Reihe anderer Pilze beobachtet werden: *Aspergillus niger*-Stämme, *Penicillium*-, *Citromyces*-Arten führen bei einer Nährlösung von gegebenem Ausgangs-pH sehr rasch eine Ansäuerung herbei, der pH-Wert kann dabei bis 1,4 sinken. Ursache der Ansäuerung ist hier die Bildung von organischen Säuren, Oxalsäure, Zitronensäure, Fumarsäure und Glukonsäure. Die Erhöhung der Azidität (d. h. die Verschiebung der Reaktion der Lösung nach der sauren Seite) führt bei genügendem Zuckervorrat zu dem Punkt, der für den Pilz die Wachstums- und Lebensgrenze darstellt. Nach dem Verschwinden des Zuckers wird die angereicherte organische Säure wieder aufgebraucht und die Azidität nimmt wieder ab (d. h. die Reaktion verschiebt sich nach der alkalischen Seite). Wir haben also hier einen Umkehrpunkt analog dem, der bei *Fusarien* auftritt. Selbst der isometabolische Punkt dürfte nicht fehlen, denn auch bei diesen Kulturen wird sich im Alter, wenn alle verwertbaren Nährstoffe aufgebraucht sind, schließlich ein Gleichgewichtszustand einstellen. Morquer (1931) berichtet, daß *Dactylium macrosporium* auf Nährlösung einem pH von 5,5 zustrebe; ist der pH-Wert der Lösung bei Versuchsbeginn 4,0, so erhöht er sich nach einiger Zeit auf 5,5; umgekehrt tritt bei einer ursprünglich alkalischen Reaktion eine Ansäuerung der Nährlösung durch Bildung von Zitronensäure bis pH 5,5 ein. Das Wachstumsoptimum liegt etwa bei pH 5,0. Morquer schließt aus den Ergebnissen, daß hier die Bildung der Zitronensäure die Aufgabe der Regulation der Azidität habe. Der Pilz strebe dem für das Wachstum günstigsten pH zu. Der Gedanke, daß die Pilze durch aktive Veränderung des pH einen Säuregrad herstellen, der ihren Lebensbedingungen am besten entspricht, ist in der Literatur öfters ausgesprochen worden. Aus dem Beispiel von *Aspergillus niger* geht schon hervor, daß der Gedanke nicht allgemein gültig ist.

Die für vorliegende Untersuchungen gestellte Frage lautet: Welches sind die Ursachen der Aziditätsänderung in Kulturen von *Fusarium*? Drei Möglichkeiten bestehen für den Pilz zur Änderung des pH-Wertes der Nährlösung:

1. Bevorzugung bestimmter An- bzw. Kationen.
2. Bildung bestimmter Stoffwechselprodukte, die eine Verschiebung der Reaktion in alkalischer oder saurer Richtung zur Folge haben können; hierher ist auch die bei der Atmung entstehende Kohlensäure zu rechnen, die — wenigstens in stark alkalischen Lösungen — die Azidität beeinflussen kann.
3. Kombination der beiden genannten Möglichkeiten.

Unsere erste Aufgabe war daher eine Prüfung der Nährstoffaufnahme der Pilze. Sie umfaßt den Hauptteil der Arbeit. Es fragte sich: Läßt sich aus den Ergebnissen über die Nährstoffaufnahme der empirisch festgestellte pH-Verlauf rekonstruieren? Im negativen Fall schließt sich als zweite Frage an: Welcher Art sind die an der Aziditätsänderung beteiligten Stoffwechselprodukte?

Es ergab sich bei Verarbeitung der Resultate von selbst, daß — abgesehen von der Frage nach den Ursachen der Aziditätsänderung — einige andere Probleme gestreift wurden. Wir hielten es z. B. für zweckmäßig, bei der Besprechung der Ergebnisse über Nährstoffaufnahme unsere Resultate mit heute geltenden Anschauungen über Pflanzenernährung in Beziehung zu bringen. Ferner haben wir versucht, einige Nutzenwendungen in bezug auf die Welkekrankheit zu machen; denn letzten Endes sollen vorliegende Untersuchungen nur einen Beitrag zur Klarstellung der Physiologie von *Fusarien* darstellen und damit auch das Problem der Welkekrankheit einer Lösung näher bringen.

Vorliegende Arbeit wurde von Frühjahr 1932 bis Frühjahr 1934 im Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich ausgeführt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. E. Gäumann für die Anregung zu der Arbeit, für sein stetes Interesse und die freundliche Unterstützung während ihrer Durchführung herzlich zu danken. Herrn Dr. H. Pallmann gebührt ebenfalls mein aufrichtiger Dank für die wertvollen Anregungen, durch die er die Arbeit förderte.

B. Gang der Untersuchungen.

Die Untersuchungen zerfallen in Vorversuche und Hauptversuche. Für die Vorversuche wurde *Fusarium lycopersici* verwendet. Mit dem uns zur Verfügung stehenden Stamm wurden folgende Untersuchungen durchgeführt.

1. Es wurde der Verlauf der Azidität während der Kulturdauer bestimmt. Von dem Ergebnis dieses Versuchs war die Brauchbarkeit des Stammes für die weiteren Untersuchungen abhängig.
2. Es wurde geprüft, ob die in der Literatur angegebenen Beobachtungen über den Einfluß der Azidität auf das Wachstum auch bei dem vorliegenden Pilzstamm festzustellen sind.
3. Es mußte die Pufferung der verwendeten Nährlösung und eine eventuell eintretende Änderung derselben festgestellt werden.
4. Es wurde während einer kurzen Kulturperiode die Stickstoffaufnahme geprüft.

Die Hauptversuche zerfallen in drei Teile. Im ersten Teil befaßten wir uns mit der Nährstoffaufnahme von *Fusarium lycopersici* und *lini*. Diese Versuche sollten zeigen, inwieweit die Aziditätsänderung aus der Nähr-

stoffaufnahme erklärt werden kann. Daran schloß sich im zweiten Teil die qualitative Prüfung auf Stoffwechselprodukte, insbesondere organische Säuren, in Kulturen von *Fusarium lycopersici* an. Im dritten Teil wurde versucht, einige Beobachtungen, die sich im Lauf der Versuche ergaben, in Beziehung zu der toxischen Wirkung von Kulturlösungen auf Tomaten zu bringen. Einige Welkeversuche wurden mit *Fusarium lycopersici* ausgeführt.

C. Allgemeines über die Methodik.

Hauptobjekt für die Untersuchungen war *Fusarium lycopersici*. Die mit *Fusarium lini* angestellten Versuche sollten zeigen, ob die bei *Fusarium lycopersici* erhaltenen Resultate spezifisch für diesen Pilz sind, oder ob sie auch auf andere — mindestens nah verwandte — Pilzarten übertragen werden können. Für die Anzucht der Kulturen dienten Schrägnährböden von folgender Zusammensetzung:

15 g Agar,
40 g Malzextrakt nach Wander,
1 l destilliertes Wasser.

Nach reichlicher Sporenbildung wurden die Pilze für die Durchführung der Versuche auf flüssiges Nährsubstrat mittels Sporenimpfung übertragen. Wir verwendeten für die Versuche eine modifizierte Richardsche Nährlösung von folgender Zusammensetzung:

50 g Glukose,
10 g Ammoniumnitrat,
5 g Monokaliumphosphat,
2,5 g Magnesiumsulfat,
0,02 g Eisenchlorid,
1 l destilliertes Wasser.

Je 100 ccm dieser Nährlösung wurden in Erlenmeyerkolben von 400 ccm Inhalt eingefüllt, diese in der üblichen Weise mit Watte verschlossen und dreimal im Abstand von 24 Stunden im Dampftopf sterilisiert. Sowohl *Fusarium lycopersici* als auch *Fusarium lini* gedeihen auf der Nährlösung gut. Zur gleichen Zeit wurden einige hundert Kolben mittels einer sterilen Pipette beimpft und im Kulturraum bei einer Temperatur von 21° C aufgestellt. Myzelgewichts-, pH-Bestimmungen und Analysen kamen bei den jungen Kulturen im Abstand von ein bis zwei Tagen, im späteren Altersstadium, wo die Veränderungen langsamer erfolgen, in größeren Zeitabständen zur Durchführung. Für die Bestimmungen wurden je zehn Kulturen verwendet, die Myzelien auf Filtern gesammelt, bei 103° C zum konstanten Gewicht getrocknet und einzeln gewogen. Die Filtrate wurden zusammengegossen und dem Gesamtfiltrat die für die jeweilige Analyse notwendige Menge entnommen. Die Azidität wurde elektrometrisch bestimmt, anfangs in jeder einzelnen Kulturlösung, später in dem zusammengegossenen Filtrat. Die Bestimmungsmethoden bei den Analysen werden in den einzelnen

Unterabschnitten näher beschrieben. Zu Beginn der Versuche wurde der Gehalt der Lösung an Nährstoffen jeweils empirisch festgestellt.

II. Experimenteller Teil.

A. Vorversuche.

a) Änderung der Azidität.

Hauptzweck des ersten Vorversuchs war, festzustellen, wie die Azidität einer Nährlösung genannter Zusammensetzung, auf der *Fusarium lycopersici* wächst, sich verändert. Außer pH wurde noch das Myzelgewicht und der Zuckerverbrauch bestimmt. Für die Zuckerbestimmung wurde die Reduktionsmethode nach Bertrand (s. Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. 2, 1932, S. 782) benutzt. Ein anfänglicher Versuch, den Zuckergehalt nach Willstätter (1918) durch Titration mittels Jodlösung und Natriumsulfat zu bestimmen, schlug fehl, da nach mehrtägiger Kulturdauer der Jodverbrauch, statt zurückzugehen, stark zunahm und daher die Zuckerwerte viel zu hoch ausfielen. Wie sich später zeigte, war die Ursache des hohen Jodverbrauchs die Bildung von Äthylalkohol, mit dem sich das Jod zu Jodoform umsetzt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 und Abb. 1 wiedergegeben.

Ausgangs-pH der Lösung war 3,9. Zunächst verschiebt sich die Reaktion der Kulturlösung in saurer Richtung. Der pH-Wert erreicht am fünften

Tabelle 1.

Aziditätsänderung, Wachstum und Zuckerverbrauch bei *Fusarium lycopersici*.

Kulturdauer Tage	pH	Temperatur ° C	Myzeltrockengewicht mg	Zuckergehalt g
Ausgangslösung	3,90	—	—	4,80
2	3,83	20,0	—	—
3	3,68	20,0	9 ± 1,0	4,73
4	3,55	20,0	19 ± 1,9	4,67
5	3,41	20,4	86 ± 5,2	4,42
6	3,73	22,3	175 ± 6,7	3,68
7	3,93	22,3	197 ± 5,0	2,82
8	4,03	23,0	247 ± 5,1	1,79
9	4,40	22,0	290 ± 8,5	0,87
10	5,14	21,0	352 ± 6,2	0,44
11	6,08	20,0	400 ± 8,5	0,13
12	6,52	20,0	421 ± 11,1	0,08
13	6,81	20,0	430 ± 13,6	Spuren
14	7,28	21,0	426 ± 6,0	Spuren
15	7,52	22,0	—	0
17	7,78	23,5	562 ± 20,5	0
19	7,70	25,5	591 ± 20,1	—
21	7,37	25,5	636 ± 25,6	—
23	7,21	27,0	705 ± 37,3	—
28	8,06	28,0	776 ± 17,1	—
31	8,37	24,0	743 ± 15,5	—
34	8,43	24,5	677 ± 8,0	—
38	8,50	22,5	733 ± 14,8	—
45	8,46	23,0	725 ± 14,8	—
56	8,43	23,5	—	—

Tag den tiefsten Punkt von 3,41; vom fünften bis achten Tag steigt er langsam, in den folgenden Tagen rasch bis etwa zum Neutralpunkt an. Am 17. Tag ist ein Wert von pH 7,78 erreicht. Nun tritt eine zweite Ansäuerung ein. Bis zum 23. Tag fällt der pH-Wert wieder. pH 7,21 bildet einen dritten Umkehrpunkt. Der letzte Anstieg führt zu einem Wert von pH 8,50, der etwa am 35. bis 38. Tag erreicht ist. Diese Reaktion behält die Lösung auch weiterhin bei. Bis zum 56. Tag treten keine größeren

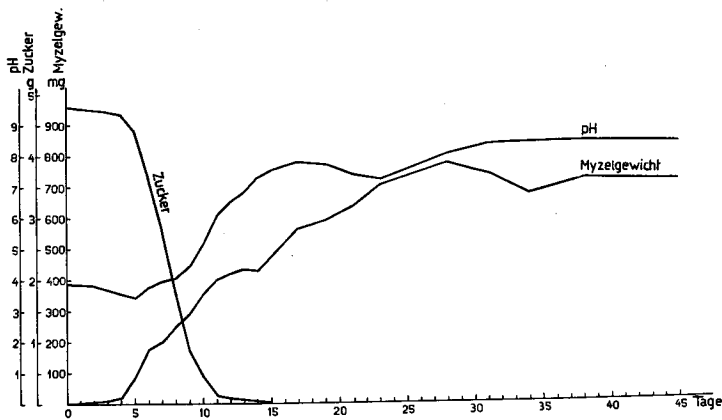


Abb. 1.

Aziditätsänderung, Wachstum und Zuckerverbrauch bei *Fusarium lycopersici*.

Schwankungen als 0,1 pH-Einheiten mehr auf. pH 8,5 stellt also für unseren Stamm von *Fusarium lycopersici* auf der verwendeten Nährlösung den isometabolischen Punkt dar. Es muß bemerkt werden, daß während der Durchführung des Versuchs die Temperatur des Raumes stark schwankte, wie aus Tabelle 1 zu entnehmen ist. Die anfängliche Vermutung, daß diese Schwankung einen Einfluß auf den Verlauf der pH-Kurve ausgeübt haben könnte, hat sich nicht bestätigt; die verschiedenen Umkehrpunkte treten bei sämtlichen Versuchen wieder auf, können also auf keinen Fall als Zufallserscheinungen des vorliegenden Versuchs aufgefaßt werden. Die Abweichungen des pH der Einzelkulturen vom angegebenen Mittelwert sind gering, sie gehen über 0,2 pH-Einheiten nur selten hinaus.

Vergleichen wir das Ergebnis über den pH-Verlauf mit den Literaturangaben. White (1927) sagt, daß bei hohem Ausgangs-pH von 7—9 zunächst ein Absinken des pH-Wertes stattfindet, während bei einem Ausgangs-pH von 4 direkt der isometabolische Punkt angesteuert werde. Es wird an anderer Stelle noch zu erörtern sein, daß solche Unterschiede bei Verwendung verschiedener *Fusarium*-stämmen wohl möglich sind. Andererseits kann auch diese Zunahme der Wasserstoffionenkonzentration leicht übersehen werden, da sie im jüngsten Stadium der Kulturen stattfindet und rasch wieder durch die Abnahme verdeckt wird. Bei alkalischem Ausgangs-

pH erfolgt die Entwicklung und infolgedessen auch die Zunahme langsamer; das Absinken des pH-Wertes tritt daher deutlicher in Erscheinung. Auch die zweite Ansäuerung von pH 7,8 auf 7,2 geht aus den Versuchen von White nicht hervor, dagegen ist ein entsprechender Abfall bei den Ergebnissen von Tanja (1933) an *Gibberella Saubinetii* deutlich zu erkennen; es wurde ihm dort, da die Fragestellung eine andere war, jedoch keine weitere Beachtung geschenkt.

Das Myzelgewicht steigt bis zum 11. Tag rasch an, erreicht einen Wert von etwa 0,4 g, bleibt bis zum 14. Tag nahezu konstant, um dann weiter zuzunehmen. Am 28. Tag ist der Höchstwert von 0,78 g erreicht, dann tritt wieder ein leichter Rückgang ein.

Der Zuckervorrat, der anfangs 4,8 g betrug, sinkt bis zum 11. Tag auf 130 mg, am 15. Tag ist der Zucker verschwunden.

Es ist sowohl bezüglich des pH-Verlaufs, als auch bezüglich der Myzelentwicklung eine gewisse Periodizität nicht zu verkennen. Auch bei Berücksichtigung des mittleren Fehlers bleibt ein deutlicher Knick in der Wachstumskurve am Ende der zweiten Kulturwoche bestehen. Zeitlich fällt das Ende der ersten Wachstumsperiode mit dem Zuckerverbrauch zusammen. Das Weiterwachsen des Myzels trotz Aufbrauchs der dargebotenen Kohlehydrate hat White damit erklärt, daß er in den Zellen des jungen Myzels größere Mengen von Glykogen angereichert findet, während dies nach 60 Tagen Kulturdauer verschwunden ist. Doch ist die Erklärung nicht befriedigend, denn die gespeicherten hochmolekularen Stoffe werden ja auch schon zu Anfang mitgewogen und es ist nicht recht zu verstehen, wie durch Umwandlung dieser Stoffe im Innern der Zellen beinahe eine Verdoppelung des Myzelgewichtes ermöglicht werden sollte, wobei die Reservestoffe auch noch das Atmungsmaterial liefern müßten. Es muß demnach eine Zufuhr von kohlenstoffhaltigen Nährstoffen von außen erfolgen.

b) Einfluß der Azidität auf das Wachstum.

Auch in diesem Versuch sollte die Anwendbarkeit bereits gewonnener Ergebnisse auf unseren Stamm von *Fusarium lycopersici* geprüft werden. Zur Herstellung der gewünschten Azidität wurden zu den Nährlösungen entsprechende Mengen von Schwefelsäure bzw. Kalilauge gefügt. Die Verhältnisse liegen bei *Fusarien* insofern kompliziert, als ja das pH sich rasch ändert: Liegt das Wachstumsoptimum beispielsweise bei pH 5, so wird ein Myzel, das bei diesem Ausgangs-pH sich entwickelt, sehr rasch die Nährlösung so verändern, daß eine andere als die optimale Azidität resultiert, die dann das Wachstum hemmt. Ein Myzel, das bei niedrigerem Ausgangs-pH gezüchtet worden ist, wird nach einiger Zeit den optimalen Aziditätsbereich hergestellt haben und eventuell dann das Myzelgewicht

Tabelle 2.
Wachstum von *Fusarium lycopersici* bei verschiedenem Ausgangs-pH auf modifizierter Richardscher Nährlösung und auf Malzextraktlösung.

a) Auf modifizierter Richardscher Nährlösung.

Kulturdauer Tage	Ausgangs-pH 3,25		Ausgangs-pH 3,85		Ausgangs-pH 4,65		Ausgangs-pH 5,70		Ausgangs-pH 6,36		Ausgangs-pH 6,83		Ausgangs-pH 7,25		Ausgangs-pH 8,10	
	Myzel- trocken- gewicht mg	End- pH	Myzel- trocken- gewicht mg	End- pH	Myzel- trocken- gewicht mg	End- pH	Myzel- trocken- gewicht mg	End- pH	Myzel- trocken- gewicht mg	End- pH	Myzel- trocken- gewicht mg	End- pH	Myzel- trocken- gewicht mg	End- pH	Myzel- trocken- gewicht mg	End- pH
6	97 ± 5,0	3,30	121 ± 5,8	3,54	137 ± 8,7	3,57	106 ± 8,5	4,14	74 ± 5,1	5,86	55 ± 6,0	6,34	—	—	0	—
9	189 ± 5,3	3,94	234 ± 6,5	4,08	249 ± 7,1	4,11	202 ± 3,9	4,35	139 ± 3,9	5,40	127 ± 8,1	5,82	39 ± 2,0	6,52	0	—
13	246 ± 14,7	4,65	322 ± 11,8	4,75	335 ± 9,0	5,13	330 ± 8,9	5,53	229 ± 5,4	5,03	200 ± 4,8	5,78	104 ± 11,3	6,20	0	—
20	366 ± 11,0	5,98	486 ± 17,8	7,25	524 ± 19,9	7,47	552 ± 11,9	7,61	463 ± 15,4	6,78	401 ± 8,1	6,88	246 ± 12,3	6,29	0	—

b) Auf Malzextraktlösung.

Kulturdauer Tage	Ausgangs-pH 4,20		Ausgangs-pH 4,90		Ausgangs-pH 5,64		Ausgangs-pH 6,30		Ausgangs-pH 7,00		Ausgangs-pH 7,40		Ausgangs-pH 8,25		Ausgangs-pH 8,41		Ausgangs-pH 8,70		
	Myzel- trocken- gewicht mg	End- pH	Myzel- trocken- gewicht mg	End- pH	Myzel- trocken- gewicht mg	End- pH	Myzel- trocken- gewicht mg	End- pH	Myzel- trocken- gewicht mg	End- pH	Myzel- trocken- gewicht mg	End- pH	Myzel- trocken- gewicht mg	End- pH	Myzel- trocken- gewicht mg	End- pH	Myzel- trocken- gewicht mg	End- pH	
8	234 ± 10,8	5,06	239 ± 7,9	5,14	211 ± 7,5	5,31	249 ± 7,5	5,51	273 ± 6,2	5,78	240 ± 9,5	5,98	120 ± 8,0	6,87	15 ± 1,5	—	0	—	—

der anderen Kulturen ebenfalls erreichen, wenn nicht übertreffen. Ob eine solche Verschiebung des maximalen Myzelgewichtes in Abhängigkeit von der Azidität stattfindet, wurde dadurch geprüft, daß Myzelwägungen 6, 9, 13 und 20 Tage nach der Impfung stattfanden. Tabelle 2a und Abb. 2 zeigen die Resultate eines Versuchs, bei dem die beschriebene modifizierte Richardsche Nährlösung verwendet wurde.

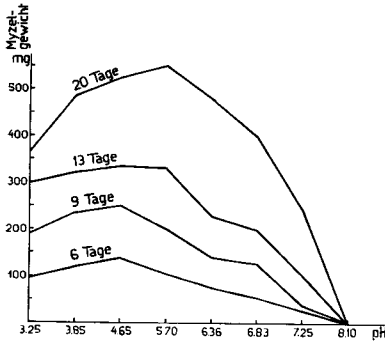


Abb. 2.

Wachstum von *Fusarium lycopersici* bei verschiedenem Ausgangs-pH auf modifizierter Richardscher Nährlösung.

steigt die Tension des NH_3 , als Folge davon kann eine Hemmung des Wachstums eintreten. 2. Es bildet sich im alkalischen Gebiet ein Niederschlag von NH_4MgPO_4 , dadurch wird ein Teil der gelösten Nährstoffe hauptsächlich des Phosphats dem Pilz entzogen, auch dies kann zu mangel-

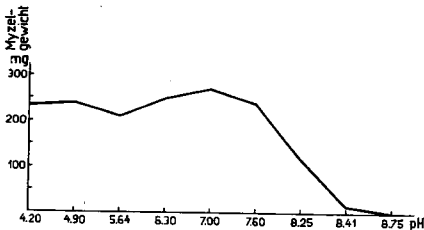


Abb. 3.

Wachstum von *Fusarium lycopersici* bei verschiedenem Ausgangs-pH auf Malzextraktlösung bei achttägiger Kulturdauer.

Tabelle 2b und Abbildung 3 zeigen, daß die obere Wachstumsgrenze in diesem Fall bei etwa pH 8,7 liegt. Der Einfluß zwischen pH 4 und pH 7,4 ist nicht sehr groß. Es scheint jedoch eine Doppelgipfeligkeit der Kurve vorzuliegen mit einem Minimum bei pH 5,64. Der tiefe Wert bei dieser Azidität liegt wie aus Tabelle 2 zu entnehmen ist, außerhalb des mittleren Fehlers.

Es ergibt sich, daß die Wirkung der bei der Keimung vorhandenen Azidität auch später im großen Ganzen in Erscheinung tritt, doch hat eine leichte Verschiebung stattgefunden. Am 6., 9. und 13. Tag wurde das Maximalgewicht bei Ausgangs-pH 4,65 erhalten; am 13. Tag ist es von den bei pH 5,70 gewachsenen Kulturen nahezu erreicht und am 20. Tag übertroffen. Auffallend ist, daß schon bei pH 8,10 keine Keimung mehr stattgefunden hat, während die obere Grenze sonst höher angegeben wird. Zwei Möglichkeiten kommen als Ursache in Frage: 1. Durch die Erhöhung des pH-Wertes mittels KOH

steigt die Tension des NH_3 , als Folge davon kann eine Hemmung des Wachstums eintreten. 2. Es bildet sich im alkalischen Gebiet ein Niederschlag von NH_4MgPO_4 , dadurch wird ein Teil der gelösten Nährstoffe hauptsächlich des Phosphats dem Pilz entzogen, auch dies kann zu mangelhaftem Wachstum im alkalischen Gebiet und Herabdrückung der oberen Wachstumsgrenze führen. Ein weiterer Versuch wurde daher auf einer Nährlösung durchgeführt, die 50 g Malzextrakt und 20 g Glukose im Liter Wasser enthielt. Da die Lösung sehr schlecht gepuffert war, wurde noch 0,5 g Monokaliumphosphat zum Liter Lösung gegeben. Die Myzelgewichtbestimmungen fanden am 8. Tag nach der Impfung statt.

c) Die Pufferung der Kulturlösungen.

Es war für die späteren Versuche von Wert zu wissen, welche Mengen von Säure bzw. Lauge notwendig sind, um die in Frage kommenden Aziditätsänderungen herbeizuführen. Die Messungen wurden mit der Ausgangslösung (unbeimpfte, sterile Nährlösung) mit einem pH von 3,90, einer 10 Tage alten Kulturlösung mit einem pH von 5,48, einer 15 Tage alten Kulturlösung mit einem pH von 6,74 und einer 30 Tage alten Kulturlösung mit

Tabelle 3.

Änderung des pH einer Kulturlösung bei Zugabe von Lauge bzw. Säure.

(Oberhalb des Querstriches Zugabe von Säure, unterhalb desselben Zugabe von Lauge.)

Ausgangslösung		Lösung nach 10 Tagen Kulturdauer		Lösung nach 15 Tagen Kulturdauer		Lösung nach 30 Tagen Kulturdauer	
Zugabe $\text{cm}^3 \frac{n}{4}$ Lauge	pH	Zugabe $\text{cm}^3 \frac{n}{4}$ Lauge	pH	Zugabe $\text{cm}^3 \frac{n}{4}$ Lauge	pH	Zugabe $\text{cm}^3 \frac{n}{4}$ Lauge	pH
0	2,30	0	2,29	0	2,31	0	2,24
2	2,37	12	2,50	8	2,54	6	2,55
4	2,60	18	2,89	14	2,79	8	2,66
6	2,91	22	3,16	18	3,06	10	2,87
7	3,21	24	3,23	20	3,17	12	3,19
7,2	3,34	26	3,35	22	3,45	14	3,68
7,4	3,40	27	3,49	24	3,74	16	4,21
7,6	3,55	28	3,56	26	4,04	18	4,56
7,8	3,77	29	3,70	27	4,28	20	4,87
8,0	3,90	30	3,84	28	4,48	22	5,56
		31	4,01	29	4,71	24	5,82
8,2	4,21	32	4,25	30	4,97	26	6,10
8,6	4,87	33	4,41	31	5,22	28	6,33
9,0	5,08	34	4,60	32	5,52	30	6,52
9,4	5,27	35	4,91	33	5,74	32	6,77
10	5,48	37	5,24	35	6,03	34	6,96
11	5,80	38	5,48	36	6,18	36	7,26
12	5,95			37	6,33	38	7,57
13	6,05	39	5,57	38	6,46	40	7,87
14	6,26	40	5,73	39	6,53		
15	6,29	42	5,96	40	6,74	42	8,23
16	6,42	44	6,26			44	8,47
17	6,54	46	6,48	41	6,87	46	8,66
18	6,66	48	6,68	42	7,00	50	8,92
19	6,78	50	6,90	44	7,33		
20	6,90	52	7,04	46	7,71		
21	6,99	54	7,32	48	8,11		
22	7,12	56	7,55	50	8,35		
23	7,23	58	7,91	52	8,55		
24	7,37	60	8,30	54	8,79		
25	7,41	62	8,63	56	9,01		
26	7,62	64	8,91				
27	7,82						
28	7,89						
29	8,06						
30	8,21						
32	8,43						
34	8,63						
38	8,89						

einem pH von 7,87 durchgeführt. Zunächst wurden zu je einer Probe von 100 ccm mittels einer Bürette kleine Portionen von Schwefelsäure gefügt und dabei die Änderung des pH-Wertes gemessen. Die Zugabe von Schwefelsäure wurde so lange fortgesetzt, bis ein pH-Wert von etwa 2,3 erreicht war. Zu einer zweiten Probe von 100 ccm wurden kleine Portionen

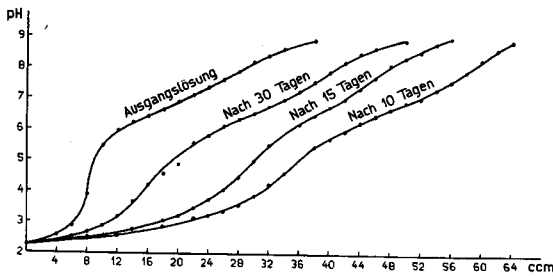


Abb. 4.

Änderung des pH einer Kulturlösung (100 ccm) bei Zugabe von Lauge bzw. Säure.

von Natronlauge gefügt und ebenfalls dabei die Azidität bestimmt, bis ein pH von etwa 8,9 erreicht war. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 3 und Abb. 4 dargestellt. Aus der Tabelle ist zu ersehen, wieviel Kubikzentimeter Lauge nötig wären, um die Reaktion der Lösung von pH 2,3 allmählich bis pH 8,9 zu verschieben.

Es ist bei der Tabelle zu berücksichtigen, daß die Werte zwischen dem jeweiligen Ausgangs-pH und pH 2,3 durch Säurezugabe, die Werte zwischen Ausgangs-pH und pH 8,9 durch Laugenzugabe gewonnen wurden.

Im neutralen und alkalischen Bezirk ist bei der sterilen Nährlösung verhältnismäßig viel Lauge oder Säure notwendig, um die Azidität zu ändern, hingegen ruft eine kleine Zugabe im Gebiet zwischen pH 3,0 und pH 5,5 schon eine starke Änderung des pH-Wertes hervor; so sind z. B. für 100 ccm Nährlösung nur

$0,4 \text{ ccm } \frac{n}{4}$ Schwefelsäure nö-

tig, um den pH-Wert von 4,0 auf 3,5 herunterzudrücken.

Es ergibt sich daraus, daß der Pilz die gemessene Erhöhung der Azidität zu Beginn der Kulturdauer schon durch eine ganz geringe Änderung des vorhandenen

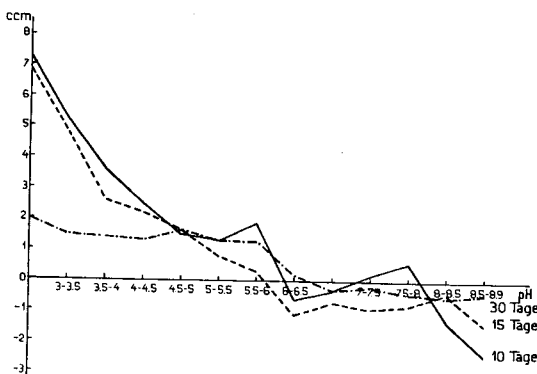


Abb. 5.

Pufferungsunterschiede gegenüber der Ausgangslösung im Lauf der Kulturdauer zwischen pH 2,5 und 8,9.

Ionengleichgewichtes herbeiführen kann. Die Pufferung der Nährlösung ändert sich im Lauf der Kulturdauer stark, wie sich aus Tabelle 4 und Abb. 5 ergibt.

Die Werte für Tabelle 4 und Abb. 5 wurden aus Abb. 4 entnommen. Am stärksten ist die Pufferung bei einer zehn Tage alten Kulturlösung,

Tabelle 4.

Änderung der Pufferung der Ausgangslösung durch *Fusarium lycopersici* im pH-Bereich von 2,3–8,9.

pH-Bereich	Ausgangslösung Verbrauch $\text{cm}^3 \frac{n}{4}$ -Lösung	Lösung nach 10 tägiger Kulturdauer		Lösung nach 15 tägiger Kulturdauer		Lösung nach 30 tägiger Kulturdauer	
		Verbrauch $\text{cm}^3 \frac{n}{4}$ -Lösung	Differenz gegen Ausgangslösung	Verbrauch $\text{cm}^3 \frac{n}{4}$ -Lösung	Differenz gegen Ausgangslösung	Verbrauch $\text{cm}^3 \frac{n}{4}$ -Lösung	Differenz gegen Ausgangslösung
2,5–3,0	3,3	10,6	+ 7,3	10,2	+ 6,9	5,3	+ 2,0
3,0–3,5	1,2	6,4	+ 5,2	6,0	+ 4,8	2,7	+ 1,5
3,5–4,0	0,5	4,1	+ 3,6	3,1	+ 2,6	1,9	+ 1,4
4,0–4,5	0,3	2,8	+ 2,5	2,5	+ 2,2	1,6	+ 1,3
4,5–5,0	0,5	2,0	+ 1,5	2,1	+ 1,6	2,1	+ 1,6
5,0–5,5	1,2	2,5	+ 1,3	2,0	+ 0,8	2,3	+ 1,3
5,5–6,0	2,3	4,2	+ 1,9	2,6	+ 0,3	3,6	+ 1,3
6,0–6,5	4,7	4,1	– 0,6	3,6	– 1,1	4,9	+ 0,2
6,5–7,0	4,3	4,0	– 0,3	3,6	– 0,7	4,0	– 0,3
7,0–7,5	3,7	3,9	+ 0,2	2,8	– 0,9	3,5	– 0,2
7,5–8,0	3,5	4,2	+ 0,7	2,7	– 0,8	3,1	– 0,4
8,0–8,5	4,1	2,8	– 1,3	3,7	– 0,4	3,6	– 0,5
8,5–8,9	5,4	3,0	– 2,4	4,0	– 1,4	5,8	+ 0,4

verringert sich aber wieder bei den älteren Kulturen und gleicht sich derjenigen der sterilen Nährlösung wieder mehr an. Die Erhöhung der Pufferung findet aber nur im stark sauren Bezirk statt. Um den pH-Wert von 2,5 auf 3,0 zu erhöhen, braucht man bei 10 tägiger Kulturdauer 7,3, bei 15 tägiger 6,9, bei 30 tägiger noch 2,0 ccm $\frac{n}{4}$ NaOH mehr als bei steriler Nährlösung.

Bei pH 5 sind die Unterschiede nur noch gering, und bei noch niedrigerer Azidität scheint die Pufferung sogar etwas vermindert worden zu sein. Wir müssen uns zunächst auf die Feststellung der Tatsachen beschränken. Eine Aufklärung über die Veränderung im einzelnen wird bei der Zusammensetzung der Nährlösung, die sich im Lauf der Kulturdauer durch Ausscheidung von Stoffwechselprodukten noch weiter kompliziert, kaum möglich sein; doch soll bei der späteren Besprechung der Analysenresultate wenigstens die starke Änderung der Pufferung im sauren Bereich berücksichtigt werden.

d) Vorversuch über Stickstoffaufnahme.

Da der Stickstoff, der in Form von Ammoniumnitrat dargeboten wurde, von den später quantitativ zu bestimmenden Stoffen den größten Anteil am Myzelbau hat, so lag die Vermutung nahe, daß der Stickstoffstoffwechsel einen wesentlichen Faktor bei der Aziditätsänderung darstellt. Während einer kurzen Kulturzeit von zwei Wochen wurde die Aufnahme des Stickstoffs verfolgt. Zweck des Versuchs war, festzustellen, ob ein analytisch erfaßbarer Unterschied zwischen der Aufnahme von NH_4

und NO_3 besteht, d. h. ob sich eine gründliche Verfolgung der Stickstoffaufnahme während einer langen Versuchsdauer empfiehlt. Gesamtstickstoff und Ammonstickstoff der Nährlösung wurden bestimmt. Der Nitratstickstoff wurde als Differenz zwischen Gesamtstickstoff und Ammonstickstoff errechnet. Für die Bestimmung des Gesamtstickstoffs mußte wegen des hohen Nitratgehalts der Nährlösung die von Jodlbauer modifizierte Kjeldahl-Methode angewandt werden (s. Abderhalden, Biol. Arbeits-

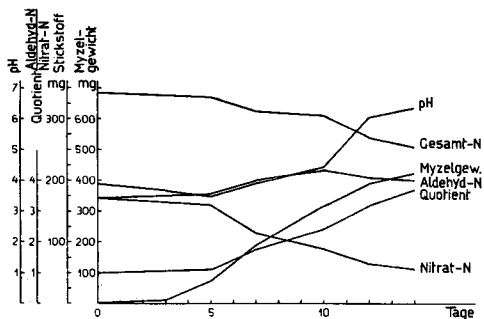


Abb. 6.
Verlauf der Stickstoffaufnahme
in einer Kulturlösung (100 ccm) von *Fusarium
lycopersici* bei 14 tägiger Kulturdauer.

Doppelbestimmungen statt. Der Ammonstickstoff wurde mit Hilfe von Formaldehyd (Okuda, s. Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse, 1932, Bd. 2, S. 95) bestimmt und in Tabelle 5 und Abb. 6 als Aldehydstickstoff bezeichnet. Nachdem die Kulturlösung auf den Umschlagspunkt von Phenolphthalein gebracht ist, wird neutraler Formaldehyd zugefügt. Dieser verbindet sich mit dem Ammonstickstoff und macht die äquivalente Säuremenge frei. Die Säure wird gegen Phenolphthalein titriert und aus dem Laugenverbrauch der ursprüngliche Gehalt an NH_4 -Gruppen berechnet. Eine pH- und Myzelgewichtsbestimmung wurde bei dem Versuch ebenfalls durchgeführt.

Tabelle 5.
Änderung des Stickstoffgehaltes einer Kulturlösung (100 ccm)
von *Fusarium lycopersici* bei 14 tägiger Kulturdauer.

Kulturdauer	pH	Myzeltrocken- gewicht	Gesamt- stickstoff	Aldehyd- stickstoff	Nitrat- stickstoff	Quotient Aldehyd- stickstoff Nitrat- stickstoff
Tage		mg	mg	mg	mg	
Ausgangslösung	3,89	—	342	171	171	1
3	3,67	10 ± 0,7	—	—	—	—
5	3,49	73 ± 4,4	335	175	160	1,09
7	3,91	189 ± 5,6	312	198	114	1,75
10	4,41	314 ± 6,3	306	217	89	2,43
12	6,05	389 ± 4,2	269	205	64	3,18
14	6,36	432 ± 6,5	254	200	54	3,71

methoden I, 3, S. 505): Die bis auf wenige Kubikzentimeter eingedampfte Lösung wird mit Phenolschwefelsäure versetzt, wobei die Nitrate in Nitrophenol übergehen, dieses muß weiter durch Zugabe von Natriumthiosulfat zu Paramidophenol reduziert werden, dann kann der Aufschluß und die Weiterbehandlung in üblicher Weise nach Kjeldahl erfolgen. Verwendet wurden für die Bestimmung 25 ccm der vom Myzel abfiltrierten Lösung. Es fanden

Aus Tabelle 5 und Abb. 6 ergibt sich, daß der Ammonstickstoffgehalt von 171 mg auf 217 mg sich erhöht. Dieses Gewicht ist nach zehn Tagen erreicht, hingegen zeigt der Nitratstickstoff eine rasche Abnahme, besonders vom fünften Tag an nach der Impfung. Der Quotient Ammonstickstoff: Nitratstickstoff, der zu Beginn des Versuchs = 1 ist, muß rasch ansteigen und die Reaktion der Nährlösung alkalischer werden. Am Verlauf der Kurve des Gesamtstickstoffgehalts ist der Knick zwischen 10. und 12. Tag auffallend; der Stickstoffgehalt des Myzels würde am 12. und 14. Tag 17 bzw. 19% des Trockengewichts betragen. Tatsächlich hängt der starke Abfall der Stickstoffkurve mit dem starken Anstieg des pH-Wertes vom 10. auf den 12. Tag zusammen. Es hat beim Eindampfen der Lösung bei der Vorbereitung der Gesamtstickstoffbestimmung ein Verlust an Ammonstickstoff stattgefunden.

Aus dem Versuch geht hervor, daß die Stickstoffaufnahme einen wesentlichen Anteil an der Veränderung der Azidität haben muß. Eine genauere Verfolgung erwies sich als notwendig.

Während des letzten Vorversuchs wurden auch einige qualitative Prüfungen ausgeführt. Es wird in der Literatur angegeben, daß in Kulturen von *Fusarien* Aldehyde entstehen (Lathrop, 1917), die als Ursache der Welkekrankheit anzusprechen seien. Nach dem Verbrauch des Zuckers — in unserem Fall nach zweiwöchentlicher Kultur — fielen Prüfungen mit Fehlingscher Lösung immer negativ aus. Auch das Destillat einer zehn Tage alten Kulturlösung gab mit Fehlingscher Lösung keine Aldehydreaktion. Eine Prüfung auf Äthylalkohol fiel positiv aus. Die jungen Kulturen von *Fusarium lycopersici* haben einen starken Geruch nach gärendem Most. Eine Kulturlösung wurde daher destilliert, das Destillat mittels Essigsäure verestert. Der Geruch zeigte Äthylester an. Äthylalkohol ist aus der Kulturlösung verschiedener *Fusarien* bekannt und wurde auch quantitativ bestimmt. Anderson (1924) fand bei *Fusarium lini*, daß zunächst eine Zunahme, nach dem Zuckerverbrauch wieder eine Abnahme der Alkoholmenge zu konstatieren ist.

Alte Kulturen von *Fusarium lycopersici* zeigen einen deutlichen Geruch nach Ammoniak. Rotes Lakmuspapier, in eine erhitzte Nährlösung gehalten, bläut sich, auch wenn die Nährlösung den Neutralpunkt noch nicht erreicht hat. Auf diese Tatsache muß beim Eindampfen der Lösung für die Gesamtstickstoffbestimmungen Rücksicht genommen werden.

B. Hauptversuche.

1. Abschnitt: Die Nährstoffaufnahme.

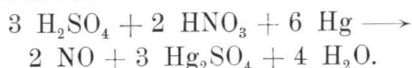
a) Die Stickstoffaufnahme von *Fusarium lycopersici*.

Es war bei dem Vorversuch über Stickstoffaufnahme aufgefallen, daß nach kurzer Zeit eine größere Menge von Ammoniak in der Lösung nachzuweisen war, als ursprünglich zugegen war. Sind diese hohen Werte

tatsächlich auf Vermehrung des Ammoniaks zurückzuführen, oder wurden eventuell organische Stickstoffverbindungen mitbestimmt? Auch Aminosäuren reagieren z. B. mit Formalin. Um nicht organische Stickstoffverbindungen mitzubestimmen, wurde in den Hauptversuchen der Ammonstickstoff im Vakuum bei 35 bis 40°C mit Magnesiumoxyd abdestilliert, in vorgesetzter $\frac{n}{4}$ Schwefelsäure aufgefangen und titriert. Für die Analyse kamen 50 ccm Kulturlösung zur Verwendung.

Außer der Gesamtmenge des Ammoniaks wurde auch die durch bloßes Erhitzen entweichende Ammoniakmenge bestimmt. Von 100 ccm Lösung wurde die Hälfte ohne Zusatz von Lauge abdestilliert, das Destillat in $\frac{n}{4}$ Schwefelsäure aufgefangen und titriert.

Vor allem mußte für die Bestimmung des Nitrats nach einer anderen Methode gesucht werden, die unabhängig von der Bestimmung des Gesamtstickstoffs und des Ammonstickstoffs ist. Sie soll etwas eingehender beschrieben werden. Am geeignetsten erschien uns die gasvolumetrische Methode nach Lunge (Lunge-Berl, Chemisch-technische Untersuchungsmethoden, 1921), die darauf beruht, daß sich die Salpetersäure mit Schwefelsäure und Quecksilber zu Stickoxyd umsetzt nach der Formel:



Das Nitrometer von Lunge wurde für unsere Zwecke modifiziert. Es wurde die in Abb. 7 dargestellte Apparatur zusammengestellt.

Sie besteht aus einem Schüttelgefäß mit anschließender Niveaueugel, die zum Teil mit Quecksilber gefüllt ist und einer Gasbürette, in die das entwickelte NO hinübergedrückt wird; auch die Gasbürette ist mit einem Niveaugefäß, das 30%ige NaOH enthält, verbunden. Schüttelgefäß und Bürette sind je mit doppelt durchbohrtem Glashahn versehen und sind durch einen Vakuumschlauch miteinander verbunden. Die Bestimmung des Nitrats in unserer Nährlösung kompliziert sich dadurch, daß der Zucker bei Zugabe von konzentrierter Schwefelsäure in der sich erwärmenden Lösung verkohlt. Dabei wird unsere Bestimmung in der Weise beeinflusst, daß die erhaltene NO-Menge zu niedrig ausfällt. Die Konzentration der

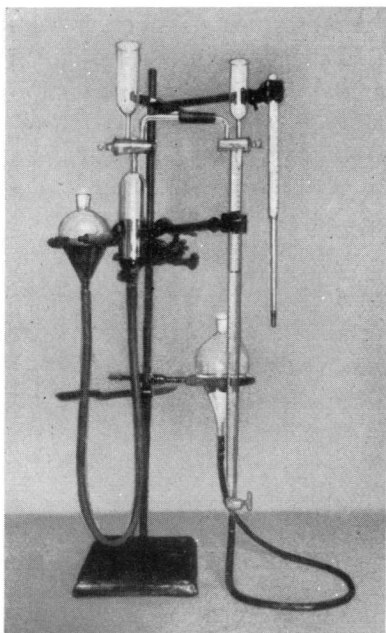


Abb. 7.
Apparatur
zur Bestimmung der Nitrate.

Säure darf aber andererseits nicht unter 75—80% sinken, da die Werte sonst ebenfalls zu niedrig werden. Richtige Werte erhält man durch vorsichtige Zugabe der Schwefelsäure, wobei die Flüssigkeit zwecks Vermischung leicht geschüttelt wird. Gleichzeitig wird das Gefäß mit Leitungswasser gekühlt.

Die Bestimmung geht nun folgendermaßen: Zunächst wird die Gummiverbindung zwischen Schüttelgefäß und Gasbürette gelöst, die an das Schüttelgefäß anschließende Kapillare einschließlich der Durchbohrung des Hahns mit destilliertem Wasser gefüllt und mit einem Glasstöpsel verschlossen. Durch den Trichter werden 5 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit in das Schüttelgefäß gegossen und durch Heben des Niveaugefäßes die Luft vollständig verdrängt. Darauf werden bei geschlossenem Hahn in den Trichter 25 ccm reiner konzentrierter Schwefelsäure gegeben. Die im Halsteil des Trichters noch befindlichen Luftblasen können leicht mit Hilfe eines fein ausgezogenen Glasstabes beseitigt werden. Nun wird die Schwefelsäure vorsichtig — anfangs tropfenweise — unter öfterem leichtem Bewegen des Gefäßes zugegeben. Eine Berieselung mit Leitungswasser sorgt für Abkühlung. Die zweite Hälfte der Schwefelsäuremenge kann man rascher zufließen lassen, ohne daß sich die Lösung zu stark erhitzt und eine Verkohlung des Zuckers eintritt, und ohne daß vorzeitige starke Gasentwicklung einsetzt. Die H_2SO_4 -Konzentration sinkt nicht unter 80%. Nun wird sehr kräftig durchgeschüttelt. Die Gasentwicklung verläuft dabei stürmisch. Nach drei Minuten wird das Niveaugefäß mit der Hg-Flüssigkeit gesenkt, damit sich alle Gasblasen aus der Flüssigkeit entfernen (Voraussetzung für gutes Gelingen ist absolutes Dichthalten der Hahnen) und die Verbindung mit der Gasbürette wieder hergestellt. Beim Hinüberdrücken des Gases vom Schüttelgefäß in die mit NaOH angefüllte Bürette muß ebenfalls sorgfältig verfahren werden, da zunächst noch einige Luftblasen, die sich in der Gummiverbindung und in dem an die Bürette anschließenden Kapillarstück befinden, verdrängt werden müssen. Nach sechs Minuten hat das Gas Außentemperatur angenommen. Es wird Volumen, Temperatur und Barometerstand abgelesen, das Volumen auf Normaldruck und Normaltemperatur reduziert. 1 ccm NO entspricht 0,625 mg Nitratstickstoff.

Da für die Bestimmung nur 5 ccm Lösung verwendet werden konnten, ist der Faktor für die Umrechnung des Nitratgehalts auf 100 ccm ziemlich hoch, Ablesefehler und andere Bestimmungsfehler bleiben aber bei geringem Nitratgehalt so groß wie bei höherem Gehalt, die Lösung wurde deshalb vor der Nitratanalyse auf $\frac{2}{5}$ ihres Volumens eingeeengt, d. h. 250 ccm der Kulturlösung wurden auf 100 ccm eingedampft und daraus 5 ccm für die Analyse entnommen. Der Umrechnungsfaktor wird dadurch von 20 auf 8 herabgesetzt.

Zwei Probebestimmungen wurden nach der Methode durchgeführt.

Eine Lösung, die 125 mg Nitratstickstoff enthielt, sonst analog der von uns verwendeten Nährlösung zusammengesetzt war, wurde analysiert.

Gefunden wurden bei der 1. Bestimmung 124,3 mg — Fehler — 0,6%,

2. Bestimmung 123,0 mg — Fehler — 1,6%.

Die Bestimmungsmethode für den Gesamtstickstoff blieb dieselbe wie im Vorversuch. Vor dem Eindampfen wurde die Lösung jedoch mit Schwefelsäure bis zum Umschlagspunkt mit Methylorange zur Verhütung von Verlusten an Ammonstickstoff angesäuert.

Alkohol wurde ebenfalls quantitativ mit Hilfe des Pyknometers bestimmt. Zur Verwendung kamen 200 ccm Kulturlösung, die bis zur Hälfte abdestilliert wurden. Die Destillation wurde zur Anreicherung des Alkohols mehrmals wiederholt, bis das Destillat weniger als 50 ccm betrug. Dann wurde mittels eines Pyknometers von 50 ccm Inhalt das spezifische Gewicht

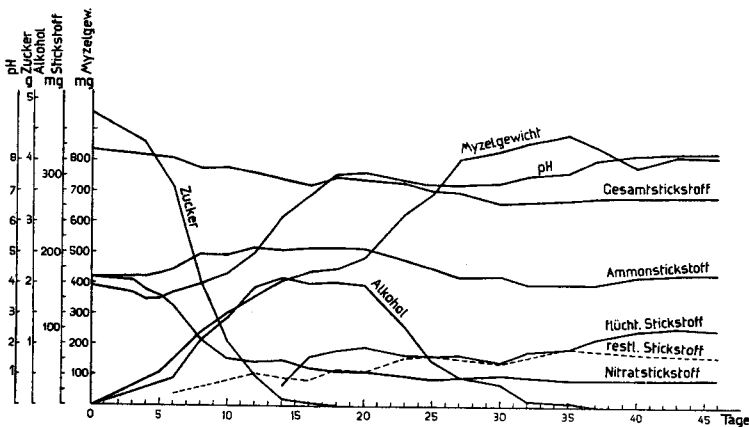


Abb. 8.

Aziditätsänderung, Verlauf der Stickstoffaufnahme, des Zuckerverbrauchs, der Alkoholbildung und des Wachstums bei *Fusarium lycopersici*.

des Destillats bestimmt und der Alkoholgehalt nach Tabellen (Abderhalden, Biochemische Arbeitsmethoden, Bd. 2, S. 6) berechnet. Zur Abtrennung des Alkohols von sauren oder alkalischen flüchtigen Stoffen wurde die Lösung vor der ersten Destillation mit Phosphorsäure angesäuert. Dabei gehen Alkohol und flüchtige Säuren über. Das Destillat wurde alkalisch gemacht und wiederum zur Hälfte abdestilliert. Nun werden auch die sauren flüchtigen Bestandteile zurückgehalten, so daß das zweite Destillat nur aus alkoholischer Lösung besteht. Eine Probebestimmung wurde mit einer alkoholischen Lösung, die 1,588 g Alkohol enthielt, ausgeführt. Gefunden wurden 1,570 g; Fehler — 1,1%.

Der Zucker wurde wie früher nach Bertrand bestimmt.

Sämtliche Bestimmungen wurden doppelt durchgeführt. Die Resultate differierten bei den meisten Bestimmungen nur um wenige Milligramm. Nur bei den Ammonbestimmungen war der Unterschied etwas größer. Er

Tabelle 6.

pH, Wachstum, Gehalt der Kulturlösung (100 ccm) von *Fusarium lycopersici* an Stickstoff, Zucker und Alkohol
im Lauf der Kulturdauer.

Kulturdauer Tage	pH	Myzel- trocken- gewicht	Zucker- gehalt	Alkohol- gehalt	Ammon- stickstoff	Nitrat- stickstoff	Flüchtiger Stickstoff	Restlicher Stickstoff	Gesamt- stickstoff	Stickstoff- verbrauch %/ des Trocken- gewichts
		mg	g	g	mg	mg	mg	mg	mg	
Ausgangslösung	3,90	—	4,80	—	167,0	167,0	—	—	334,0	—
3	3,67	—	—	—	168,7	165,0	—	—	—	—
4	3,47	—	4,30	—	169,5	152,2	—	—	—	—
5	3,50	107 ±	—	—	178,3	144,5	—	—	—	—
6	3,67	—	3,58	0,443	178,1	130,5	—	14,9	323,5	9,9
8	3,96	227 ±	2,04	1,060	198,4	87,8	—	23,9	310,1	10,5
10	4,31	300 ±	1,25	1,428	197,7	60,6	—	53,1	311,4	7,5
12	4,97	354 ±	0,48	1,925	206,2	56,1	—	42,2	304,5	8,3
14	6,15	411 ±	0,10	2,086	203,1	58,5	26,6	35,9	297,5	8,9
16	6,84	440 ±	0,04	1,995	206,1	49,0	—	32,9	288,0	10,4
18	7,52	451 ±	0	2,020	207,6	45,5	72,6	46,3	299,4	7,7
20	7,62	487 ±	0	1,959	206,4	45,9	76,1	44,1	296,4	7,7
23	7,35	630 ±	0	1,328	190,7	38,8	66,3	62,0	291,5	6,7
25	7,23	695 ±	—	0,990	181,6	35,4	64,8	65,3	282,3	7,4
27	7,23	809 ±	—	0,483	168,8	—	67,5	—	280,1	6,7
30	7,31	835 ±	—	0,366	170,4	40,0	58,0	56,0	266,4	8,0
32	7,52	863 ±	—	0,098	160,4	—	71,9	—	—	—
35	7,62	889 ±	—	0,068	159,6	35,5	75,3	75,3	270,4	7,2
37	8,04	853 ±	—	0	170,1	—	88,8	—	273,0	7,1
40	8,21	785 ±	—	0	170,1	35,0	98,9	69,3	274,4	7,6
43	8,25	821 ±	—	—	173,4	—	102,7	—	—	—
46	8,29	814 ±	—	—	173,3	36,1	101,3	65,6	275,0	7,2

betrug in Einzelfällen bei Umrechnung auf 100 ccm Kulturlösung bis 10 mg. Die Temperatur des Versuchsraumes betrug 21° C, sie schwankte während der Durchführung des Versuchs um nicht mehr als 1° C.

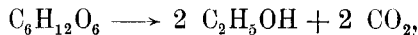
Die Resultate sind in Tabelle 6 und Abb. 8 wiedergegeben.

Der pH-Verlauf ist derselbe wie bei den Vorversuchen: zuerst eine Zunahme der Wasserstoffionenkonzentration bis zum Umkehrpunkt bei pH 3,47, ein anfangs langsamer, dann rascher Anstieg des pH-Wertes bis 7,62, ein Absinken bis 7,23 und schließlich ein letzter Anstieg bis 8,29.

Das Myzelwachstum läßt wieder deutlich zwei Wachstumsperioden erkennen. Die Entwicklung erfolgt etwas langsamer als beim ersten Vorversuch, sonst stimmen die Ergebnisse aber vollständig mit den früheren überein.

Der Zucker ist am 18. Tag aufgebraucht.

Die Alkoholmenge nimmt bis zum 14. Tag zu — der Zuckergehalt beträgt zu dieser Zeit noch 100 mg — dann tritt wieder eine langsame Abnahme ein, erst am 37. Tag konnte kein Alkohol mehr gefunden werden. Die gebildete Alkoholmenge ist beträchtlich. Verläuft der Prozeß der Alkoholbildung nach der Formel:



so müssen bei 100%iger Umwandlung des Zuckers in Alkohol aus den dargebotenen 4,80 g Glukose 2,452 g Äthylalkohol entstehen. Die höchsten erhaltenen Alkoholwerte schwanken um 2 g. Es ergibt sich also, daß Äthylalkohol das Hauptstoffwechselprodukt bei der Zuckerverarbeitung während der ersten Wachstumsperiode darstellt. In der zweiten Wachstumsperiode bildet Alkohol dagegen die Kohlenstoffquelle für das Myzel. Nach dem Aufbrauch des Alkohols wird das Wachstum eingestellt, es tritt am Schluß sogar wieder eine Verminderung des Gewichtes um etwa 100 mg ein. Dieser Rückgang des Myzelgewichtes war nach einmonatlicher Kulturdauer auch im Vorversuch zu konstatieren. Er hängt, wie weitere Versuche noch deutlich gezeigt haben, mit proteolytischen Vorgängen zusammen.

Die Gesamtstickstoffmenge nimmt ab, solange das Myzel in lebhaftem Wachstum begriffen ist. Vom 30. Tag an ist jedoch kein Rückgang mehr zu verzeichnen. Beziehen wir den Verbrauch an Gesamtstickstoff auf das Myzeltrockengewicht, so ergibt sich ein Stickstoffgehalt des Myzels von 7—10%. Es scheint nach den in Tabelle 6 angegebenen Werten, daß bei den alten Kulturen eine Verminderung des Stickstoffgehalts eingetreten ist. Die Werte liegen in den ersten 14 Tagen fast durchweg höher als in den folgenden Wochen. Mit der Annahme einer Proteolyse bei alten Kulturen steht dies gut in Einklang. Der Gehalt des Myzels an Eiweißsubstanzen geht im Alter zurück, der Gehalt an Zellwandsubstanzen nimmt zu.

Der Nitratstickstoff wird in der 1. Periode des Wachstums außerordentlich stark vermindert. Von 167 mg ist er am 10. Tag auf 60,6 mg

gefallen, dann findet nur noch eine allmähliche weitere Abnahme statt. In den folgenden 14 Tagen werden trotz starken Wachstums nur etwa 20 mg Nitratstickstoff verbraucht, und vom 23. Tag an bleibt der Nitratstickstoffgehalt der Lösung konstant.

Der Verlauf der Ammonstickstoffkurve zeigt, daß der Ammoniakgehalt zu Beginn der Kulturdauer tatsächlich eine Zunahme erfährt. Die höchsten Werte von etwa 40 mg Zunahme erhalten wir vom 12. bis zum 20. Tag, dann tritt wieder eine Abnahme ein. Der Gehalt fällt bis zum 34. Tag auf das Anfangsniveau von etwa 160 mg zurück, um schließlich nochmals leicht anzusteigen.

Aus den Resultaten über Stickstoffaufnahme geht hervor, daß in der ersten Wachstumsperiode Nitratstickstoff, in der zweiten Wachstumsperiode Ammonstickstoff zum Aufbau der Eiweißsubstanzen und N-haltigen Zellmembranen dient. Wir fragen uns: Warum macht der Pilz diesen merkwürdigen Weg, warum nimmt er zu Beginn des Versuches mehr Nitrat auf, als für den Aufbau notwendig ist? Ferner, warum verbraucht er am Schluß auch nicht vollends den Rest, wie es doch z. B. bei der Zuckeraufnahme geschehen ist? Strebt der Pilz der optimalen Wachstumsazidität zu? Wir haben früher gesehen, daß der Pilz von pH 4—7 auf Malzextraktlösung fast gleich gut wächst, auf der von uns verwendeten Nährlösung ein pH von etwa 5,0 am günstigsten ist, dies wird aber bald überschritten. Dieser Gedanke muß also ausscheiden. Wollen wir eine Erklärung finden, so müssen wir den gegenseitigen Beziehungen der einzelnen Kurven zu einander nachgehen. Dies soll später bei der Diskussion der Resultate geschehen.

Wieweit läßt sich nun die Änderung der Azidität aus den gewonnenen Resultaten erklären? Aus dem Verlauf der Stickstoffaufnahme — ausschließlicher Verbrauch von Nitrat, Erhöhung des Ammongehalts — muß sich ein starker Anstieg des pH-Wertes ergeben. Die Veränderung der Azidität von pH 3,9 auf 7,5 wäre daraus zu erklären. Es ist aber zunächst nicht einzusehen, warum der Anstieg nicht gleich zu Beginn des Versuchs einsetzt; am 4. und 5. Tag, wo sich das Verhältnis Ammonstickstoff: Nitratstickstoff schon deutlich zugunsten des Kations verschoben hat, liegt der pH-Wert noch immer tiefer als zu Beginn des Versuchs. Aus dem Rückgang des Ammoniumgehalts vom 20. bis 27. Tag von 206,4 mg auf 168,8 mg, wobei der Nitratgehalt ziemlich konstant bleibt, ergibt sich ferner das Absinken des pH von 7,62 auf 7,23. Wir können dem Resultat auch entnehmen, daß bei Verwendung einer andern Stickstoffquelle, z. B. KNO_3 , diese zweite Zunahme der Wasserstoffionenkonzentration nicht zu erfolgen braucht. Nicht erklärlich ist aus der Stickstoffaufnahme der letzte Anstieg des pH-Wertes von 7,23 auf 8,29 (im Vorversuch auf 8,5). Nach den Pufferungskurven (Tabelle 3 und Abb. 4) müssen in diesem pH-Bereich erhebliche Mengen von OH-Jonen frei gemacht werden, um eine solche Veränderung hervorzubringen. Eine wesentliche Vermehrung

des Ammoniums findet nach dem 27. Tag, an dem der dritte Umkehrpunkt liegt, nicht mehr statt. Die Gesamtstickstoffmenge nimmt ebenfalls kaum mehr zu, es ist also nicht damit zu rechnen, daß größere Quantitäten organisch gebundenen Stickstoffs, etwa in Form von NH_2 -Gruppen an die Nährlösung abgegeben werden, dagegen beträgt die Zunahme des Stickstoffs, der beim Erhitzen entweicht, vom 27. bis 45. Tage etwa 35 mg. Es bleiben für die Erklärung zwei Möglichkeiten: Erstens, es müssen in die Lösung starke Kationen gelangen, die natürlich nur aus dem Myzel stammen können, oder zweitens, es müssen Anionen aus der Lösung verschwinden. Nun bleibt die Nitratmenge während des letzten Kulturabschnitts konstant, an weiteren Anionen befinden sich in der Lösung PO_4 und SO_4 ; da aber die Myzelmenge vom 32. Tag an nur noch eine geringe Zunahme erfährt, so ist kaum damit zu rechnen, daß diese Stoffe noch in größeren Quantitäten aufgenommen werden. Wie spätere Versuche ergaben, kommt SO_4 überhaupt nicht in Frage. Es bleiben für die zweite Möglichkeit nur organische Säuren übrig.

Die Kurve des Ammoniaks, das durch bloßes Erhitzen abdestillierbar ist (in Tabelle 6 und Abb. 8 als flüchtiger Stickstoff bezeichnet), verläuft, wie zu erwarten war, parallel zur pH-Kurve: bis zum 20. Tag, dem zweiten Umkehrpunkt der pH-Kurve, eine Zunahme, dann ein Rückgang um etwa 15 mg und schließlich wieder eine Zunahme um mehr als 35 mg.

Addiert man den Gehalt der Kulturlösung an Nitrat und an Ammonium, so müßte sich die Gesamtstickstoffmenge ergeben. Dies ist nicht der Fall. Die Gesamtstickstoffmenge ist erheblich größer als die Summe aus Nitrat- und Ammonstickstoff. Die Differenz beträgt schon am zehnten Tag 53 mg und steigt in alten Kulturen auf über 60 mg an. Sie wurde in Tabelle 6 und Abb. 8 als restlicher Stickstoff bezeichnet. Es ist nun zu berücksichtigen, daß sich in den Differenzwerten die Fehler von drei verschiedenen Bestimmungen addieren. Die Werte liegen wahrscheinlich allgemein etwas zu hoch, denn die Analysenresultate der Nitrat- und besonders der Ammonbestimmungen liegen eher etwas unter als über dem wirklichen Wert. Daß bei alten Kulturen organischer Stickstoff als Eiweißabbauprodukte ausgeschieden wird, ist wohl verständlich, um so auffallender ist es, daß auch schon am achten Tag mehr als 20, am zehnten Tag mehr als 50 mg als Differenz gefunden werden. Es muß die Frage offen bleiben, ob der bei den noch jungen Kulturen gefundene Stickstoff in gleichen Verbindungen vorliegt und auf gleiche biologische Vorgänge zurückzuführen ist, wie der bei den alten Kulturen gefundene.

Stellen wir nochmals das Ergebnis über die Ursachen des pH-Verlaufs heraus: Aus der Aufnahme des Stickstoffs (Bevorzugung des Nitrats vor Ammonium) muß eine starke Verschiebung der Reaktion in alkalischer Richtung resultieren. Der Abfall des pH-Wertes von 7,62 auf 7,23 ist eine Folge des Ammoniumverbrauchs. Nicht erklärbar ist 1. das Sinken des

pH-Wertes in den ersten vier bis fünf Tagen und 2. der letzte Anstieg von 7,23 auf 8,29. Der gleichartige Verlauf des pH während der ersten und zweiten Wachstumsperiode könnte zu der Vermutung führen, daß der Abfall zu Beginn der ersten und zu Beginn der zweiten Wachstumsperiode und der Anstieg gegen das Ende der ersten und das Ende der zweiten Wachstumsperiode auf gleiche Ursachen zurückzuführen sei. Daß dies nicht der Fall ist, geht aus dem Gesagten mit Sicherheit hervor.

b) Aufnahme

der Aschenbestandteile durch *Fusarium lycopersici*.

Um der Frage der Aziditätsänderung weiter nachzugehen, wurde in einer Versuchsserie die Aufnahme der übrigen Nährstoffe Kalium, Magnesium, Phosphat und Sulfat verfolgt. Es sollte vor allem festgestellt werden, ob durch bevorzugte Aufnahme eines Ions auch hier eine Aziditätsänderung resultiert, beispielsweise könnte durch eine starke Aufnahme eines Kations eine Ansäuerung stattfinden, also eine Beeinflussung der Azidität resultieren, die der aus der Stickstoffaufnahme sich ergebenden entgegengesetzt ist. Weiterhin war der Zweck des Versuchs, das Bild über die Nährstoffaufnahme des Pilzes zu vervollständigen.

Es wurden Aschenanalysen ausgeführt. Die Methodik mußte gegenüber früheren Versuchen etwas abgeändert werden. Ein Versuch, die eingedampfte Nährlösung zu veraschen, führte zu einem schlechten Erfolg. Es gelingt schwer, die großen Mengen von Zucker, die sich zu Beginn des Versuchs in der Nährlösung befinden, auf trockenem Weg zu veraschen. Daher wurden die Analysen nicht mit der Kulturlösung, sondern mit dem Myzel durchgeführt. Eine größere Menge von Kulturen, am Anfang bis zu 30, später meist 10, kamen für eine Aschenanalyse zur Verwendung. Die Myzelien wurden nach Abfiltrierung der Nährlösung zunächst mit verdünnter Zitronensäure abgespült, um Ammoniummagnesiumphosphat, das sich bei der Erhöhung des pH-Wertes ausscheidet und teilweise am Myzel haftet, zu lösen; dann wurde mit destilliertem Wasser mehrere Male nachgewaschen. Die gesamte Myzelmenge wurde getrocknet, gemahlen, gewogen und verascht. Die Veraschung fand in einer Quarzschale statt, da Platin bei langem Erhitzen infolge des starken Kohlenstoff- und Phosphatgehalts angegriffen wurde. Die Asche wurde gewogen, in stark verdünnter Salzsäure aufgenommen, die Lösung auf 100 ccm aufgefüllt und auf die einzelnen Analysen verteilt. Ein Viertel der Lösung diente der Bestimmung von Phosphat, ein Viertel der Bestimmung von Magnesium und die restliche Hälfte der Bestimmung von Sulfat und Kalium.

Die Bestimmung von Phosphat geschah mit Hilfe der Ammoniummolybdatmethode. Nach Eggertz-Finkener (s. Treadwell, 1923, Kurzes Lehrbuch der analyt. Chemie) wird die salpetersaure Lösung in der Hitze mit Ammoniummolybdat versetzt, bis eine weitere Fällung nicht

mehr stattfindet. Der Niederschlag wurde im Goochtiiegel gesammelt, mit Salpetersäure und Ammoniumnitrat enthaltendem Wasser gewaschen, bei 170° C zum konstanten Gewicht getrocknet und gewogen.

Magnesium wurde mittels $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ aus alkalischer Lösung nach der Methode von Schmitz (s. Treadwell, 1923) ausgefällt, abfiltriert, geglüht und als Magnesiumpyrophosphat gewogen.

Die Bestimmung von Kalium war mit derjenigen von Sulfat verbunden. Die salzsaure Lösung wird zunächst mit BaCl_2 versetzt, das ausfallende BaSO_4 abfiltriert, geglüht und gewogen. Das Filtrat wird mit $\text{Ba}(\text{OH})_2$ bis zum Farbumschlag mit Phenolphthalein alkalisch gemacht. Dabei fällt das vorhandene Phosphat aus und wird abfiltriert. Das überschüssige Barium muß aus dem Filtrat durch Zugabe von NH_3 und $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ ausgefällt und ebenfalls abfiltriert werden. Nun enthält die Lösung außer Kalium nur noch Ammonsalze. Nach dem Eindampfen werden alle Salze durch Zugabe von H_2SO_4 in Sulfate übergeführt. Das Kaliumsulfat kann durch vorsichtiges Glühen leicht von Ammonsulfat befreit werden, da letzteres dabei sublimiert. Nach dem Abdampfen des Ammonsulfats wird der Rückstand noch kurz auf dem Teklubrenner geglüht, im Exsikkator abgekühlt und gewogen. Das Abdampfen der Ammonsalze geschah in einer Platinschale.

Für Phosphat, Magnesium und Kalium wurden Probebestimmungen durchgeführt. Eine Lösung enthielt in Form von Magnesiumsulfat und Monokaliumphosphat:

	29,6 mg Mg	
	56,5 mg PO_4	
	23,3 mg K	
Gefunden wurde:	30,8 mg Mg	Fehler + 4,0 %
	58,8 mg PO_4	Fehler + 4,1 %
	24,8 mg K	Fehler + 6,4 % (1. Bestimmung)
	25,2 mg K	Fehler + 8,1 % (2. Bestimmung)

Infolge des Wägefehlers ist der Bestimmungsfehler in Prozenten ausgedrückt, bei geringer Substanzmenge verhältnismäßig hoch, doch fällt der Fehler bei einer größeren Anzahl von Bestimmungen, wo es auf den Gesamtverlauf ankommt, nicht allzusehr ins Gewicht.

Die Resultate gehen aus Tabelle 7 und Abb. 9 und 10 hervor. Die Werte sind jeweils auf ein Myzeltrockengewicht von zehn Kulturen bezogen.

Schon bei den ersten Analysen zeigte sich, daß die Aufnahme von Sulfat minimal ist. Die Trübung, die die angesäuerte Lösung der Aschenbestandteile beim ersten Versuch ergab, war nicht stärker, als sie ein Tropfen einer $\frac{n}{4}$ Lösung von Schwefelsäure, auf das Volumen unserer Analysenlösung aufgefüllt, ergibt, d. h. die Asche von 1,251 g Myzeltrockengewicht enthielt nicht mehr als 1,5 mg Sulfat. Bei den folgenden Analysen

Tabelle 7.
Gehalt des Myzels von *Fusarium lycopersici* an Aschenbestandteilen.

Kulturdauer Tage	pH	K ₂ O			P ₂ O ₅			MgO			SO ₄	Gesamtasche		Myzel- trocken- gewicht von 10 Kul- turen g
		mg	Prozent der Asche	Prozent des Trocken- gewichts	mg	Prozent der Asche	Prozent des Trocken- gewichts	mg	Prozent der Asche	Prozent des Trocken- gewichts		mg	Prozent des Trocken- gewichts	
6	3,51	46,2	44,8	3,7	47,9	46,5	3,8	7,2	6,9	0,6	Spuren	103	8,2	1,251
7	3,68	65,7	42,0	3,5	82,2	52,6	4,3	12,5	8,0	0,6	"	156	8,2	1,891
8	3,79	85,5	46,2	3,8	93,3	50,4	4,1	15,1	8,1	0,7	"	185	8,2	2,247
9	4,01	101,8	45,8	3,6	111,7	50,3	4,0	17,1	7,7	0,6	"	222	8,0	2,783
10	4,23	123,1	46,1	3,6	122,1	45,7	3,6	23,6	8,8	0,7	"	267	7,8	3,425
11	4,32	109,1	42,8	3,0	129,9	50,9	3,6	20,4	8,0	0,6	"	355	7,0	3,650
12	5,12	129,4	41,4	3,1	160,2	51,3	3,8	24,1	7,7	0,6	"	312	7,4	4,174
13	5,88	131,5	40,1	2,7	181,4	55,2	3,7	27,5	8,3	0,6	"	328	6,7	4,919
14	6,33	135,4	36,5	2,6	207,5	55,9	4,0	37,6	10,1	0,7	"	371	7,0	5,171
15	6,54	69,6	30,0	1,5	129,6	55,9	2,8	24,1	10,4	0,5	"	232	4,9	4,685
16	6,85	23,5	26,9	0,5	51,9	61,7	1,1	13,3	15,8	0,3	"	84	1,8	4,589
17	7,40	28,5	27,8	0,6	60,1	58,9	1,3	19,0	18,6	0,4	"	102	2,3	4,454
20	7,55	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	91	1,8	5,087

war die Trübung mit BaCl_2 nicht stärker. Es lohnte sich daher nicht, die SO_4 -Menge genauer zu bestimmen.

Wie die Ergebnisse zeigen, werden Phosphat und Kalium in den ersten zehn Tagen der Kulturdauer in annähernd gleicher Menge aufgenommen, dann geht aber der Gehalt der Asche an Kaliumoxyd sehr stark zurück; er fällt von etwa 45% auf 27%. Der Gehalt an Phosphat nimmt dagegen zu.

Parallel mit dem Phosphatgehalt geht der Magnesiumgehalt. Vom zwölften Tag an ist hier eine Zunahme von 8 auf 18% zu konstatieren.

Werden Asche und Aschenbestandteile auf das Myzeltrockengewicht bezogen, so ergibt sich eine Überraschung. Der Aschengehalt schwankt anfangs um 8% des Trockengewichts, geht allmählich auf 7–7,5% zurück, sinkt vom 14. auf den 15. Tag plötz-

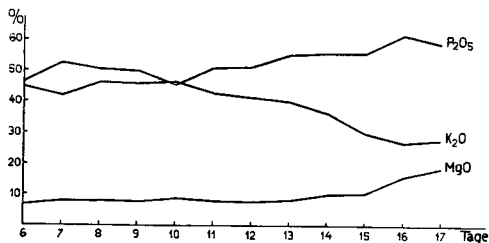


Abb. 9.

Aschenbestandteile in Prozent der Gesamtasche von *Fusarium lycopersici*.

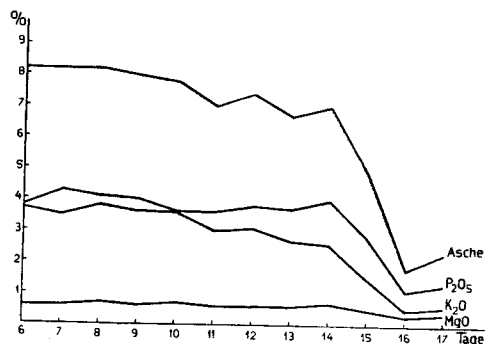


Abb. 10.

Gesamtasche und Aschenbestandteile in Prozent des Myzeltrockengewichts von *Fusarium lycopersici*.

lich auf 4,9 und am 16. Tag auf 1,8%, am 17. und 20. Tag schwankt er ebenfalls um diesen Wert. Dasselbe zeigt der Gehalt des Myzeltrockengewichts an Phosphat und Kalium. Bei Phosphat erfolgt der starke Rückgang ebenfalls plötzlich vom 14. auf den 16. Tag. Er ist am 16. Tag auf nahezu $\frac{1}{4}$ des Wertes vom 14. Tag gesunken. Der Rückgang des Kaliumgehalts erfolgt allmählicher, vom 10.—16. Tag sinkt er von 3,6 auf 0,5%, d. h. also auf $\frac{1}{7}$ seines früheren Wertes. Viel geringer ist der Rückgang des Magnesiumgehalts, er sinkt nur etwa auf die Hälfte.

Was ist nun die Ursache des Rückgangs des Aschengehalts? Suchen wir eine Verbindung zu den früheren Ergebnissen herzustellen. Der Zeitpunkt des stärksten Rückgangs fällt zusammen mit dem Verschwinden des Zuckers, der höchsten Alkoholkonzentration, einem hohen Gehalt an Ammonium bei hohem pH-Wert und ferner mit dem Abschluß der ersten Wachstumsperiode. Die Erklärung kann nur die sein, daß ein großer Teil des Myzels um diese Zeit abstirbt, die Membran dabei ihre Semipermeabilität verliert und ein Teil der Salze, vor allem derjenigen, die im Zellsaft gelöst sind, wieder aus den Zellen herausdiffundiert. Ob die Diffusion in

erster Linie während des Auswaschens der Kulturen oder auch schon in der Kulturlösung stattfindet, konnte bis jetzt nicht nachgeprüft werden. Bemerkenswert ist, daß die Aschenbestandteile nicht gleichmäßig an der Diffusion teilnehmen. Nach den Erfahrungen über Ionendiffusion (Lundegårdh, 1932) nimmt die Diffusionsgeschwindigkeit der Ionen mit der Wertigkeit ab. Es wäre also zu verstehen, daß der Rückgang des Kaliumgehaltes größer ist als der Gehalt an zweiwertigem Magnesium und an dreiwertigem Phosphat. Andererseits kann auch die Art der Bindung der Elemente in den Zellen mitbestimmend sein.

Daß das Myzel eine kurze Lebensdauer besitzt, wurde durch Plasmolyseversuche bestätigt. Die Plasmolyse wurde mit 25 % iger Salpeterlösung durchgeführt. Bei jungem Myzel, das einige Tage nach der Impfung den Kulturen entnommen wird, tritt die Plasmolyse sofort ein. Schon nach acht bis zehn Tagen sind manche Zellen geschrumpft und plasmolysieren nicht mehr, und nach zweiwöchentlicher Kultur tritt Plasmolyse bei einer großen Zahl von Myzelfäden nicht mehr ein. Die toten Myzelfäden sind auch bei bloßer mikroskopischer Betrachtung zu erkennen, sie sind stark geschrumpft, viel dünner als normale Zellen, weniger durchsichtig und haben eine körnige Struktur. Makroskopisch merkt man die Veränderung am Myzel dadurch, daß die Decken, die am zehnten und zwölften Tag noch sehr turgeszent sind, innerhalb der folgenden Tage erschlaffen.

Der Rückgang des Aschengehaltes ließ es zweckmäßig erscheinen, die Bestimmungen nach 2 $\frac{1}{2}$ Wochen abzubrechen, da durch das dauernde Entstehen von jungen Zellen und das Absterben von alten Zellen ein wirkliches Bild über die Aufnahme der Nährsalze bei alten Kulturen doch nicht mehr erhalten werden kann. Die Beobachtung, daß das Myzel nach zweiwöchentlicher Kulturdauer zum großen Teil tot ist, muß auch bei andern Stoffwechseluntersuchungen berücksichtigt werden, denn es ist sehr wahrscheinlich, daß nicht nur Nährsalze aus dem toten Myzel herausdiffundieren, sondern auch organische Stoffe. Will man also verhüten, Produkte des zerfallenden Plasmas als normale Stoffwechselprodukte des gesunden Myzels zu betrachten, so darf man nur junges Myzel oder junge Kulturlösungen zur Untersuchung verwenden.

In Tabelle 8 ist der Nährstoffgehalt der Kulturlösung nach verschiedener Kulturdauer dargestellt; die Menge der Einzelionen ist in Milliäquivalent ausgedrückt. Der Gehalt der Lösung an den bei den Aschenanalysen bestimmten Stoffen ergab sich als Differenz zwischen ursprünglichem Gehalt und der Menge der aufgenommenen Salze. Die Aufnahme von Sulfat wurde nicht berücksichtigt, da sie ja nur minimal ist und bei der vorhandenen Pufferung der Nährlösung für eine Aziditätsänderung belanglos ist. Die Ergebnisse der Stickstoffaufnahme wurden ebenfalls in die Tabelle einbezogen.

Tabelle 8.

Gehalt einer Kulturlösung (100 ccm) von *Fusarium lycopersici* an NH_4 , K, Mg, NO_3 , PO_4 und SO_4 , ausgedrückt in Milliäquivalent.

Kulturdauer Tage	NH_4	NO_3	Ueber- schuß- Kationen	K	Mg	PO_4	SO_4	Ueber- schuß- Anionen
Ausgangslösung	11,92	11,92	0	3,67	4,15	11,02	4,15	7,35
6	12,71	9,31	3,40	3,57	4,09	10,81	4,15	7,30
7	—	—	—	3,53	4,05	10,67	4,15	7,24
8	14,16	6,27	7,89	3,49	4,03	10,62	4,15	7,25
9	—	—	—	3,45	4,01	10,54	4,15	7,23
10	14,11	4,33	9,78	3,41	3,96	10,50	4,15	7,28
11	—	—	—	3,44	3,98	10,47	4,15	7,20
12	14,72	4,00	10,72	3,39	3,95	10,34	4,15	7,15
13	—	—	—	3,39	3,93	10,25	4,15	7,08
14	14,50	4,17	10,33	3,38	3,84	10,14	4,15	7,07
15	—	—	—	3,52	3,95	10,47	4,15	7,15
16	14,71	3,50	11,21	3,62	4,04	10,80	4,15	7,29
17	—	—	—	3,61	4,00	10,76	4,15	7,30

Man sieht: Die Azidität der Nährlösung kann sich durch den Verbrauch von Kalium, Magnesium, Phosphat und Sulfat kaum verschieben. Die Aufnahme der Aschenbestandteile hat auf die Änderung der Azidität keinen Einfluß. Die Vermutung, daß aus der Aufnahme der Aschenbestandteile eine Veränderung des pH-Wertes resultieren könnte, die der aus der Stickstoffaufnahme sich ergebenden entgegengesetzt wäre, hat sich nicht bestätigt. Der Abfall des pH-Wertes zu Beginn des Versuchs hat also mit der Aufnahme der Aschenbestandteile nichts zu tun. Eine wesentliche Verschiebung der Azidität der Lösung kann lediglich durch die Stickstoffaufnahme herbeigeführt werden.

c) Kulturversuch auf sulfatfreier Nährlösung.

Bei der Bestimmung der Aschenbestandteile war der minimale Sulfatverbrauch aufgefallen, daher wurde ein Versuch durchgeführt, der statt Magnesiumsulfat auf 1 Liter 1,8 g Magnesiumnitrat enthielt. Der Magnesiumgehalt bleibt dabei gleich wie früher. Die Lösung enthielt schwefelhaltige Stoffe nur in Spuren, die beim Impfen der Kolben mit 0,4 ccm Sporenaufschwemmung oder durch Verunreinigung anderer Salze hineingelangt waren. Die anderen Salze wurden in gleicher Menge wie bisher zugegeben.

Aus Tabelle 9 und Abb. 11 geht hervor, daß der Pilz mit allergeringsten Mengen von Schwefel auskommt. Das Wachstum erfolgte etwas langsamer und unregelmäßiger als bei der bisher üblichen Zusammensetzung des Nährsubstrats. Nach 12 Tagen ist beispielsweise ein Gewicht von 265 mg gegen 354 mg, nach 37 Tagen ein Gewicht von 565 mg gegen 853 mg erreicht. Der pH-Verlauf ist wie bisher.

Tabelle 9.
Wachstum von *Fusarium lycopersici* und pH-Verlauf
auf sulfatfreier Nährlösung.

Kulturdauer Tage	pH	Myzeltrockengewicht mg
Ausgangslösung	4,68	—
2	4,46	7
4	3,95	26
6	3,55	69 ± 6,4
7	3,99	139 ± 10,5
9	4,43	255 ± 18,1
12	4,85	265 ± 17,8
14	5,44	292 ± 20,6
17	6,28	334 ± 15,2
20	6,84	443 ± 8,7
23	7,69	458 ± 16,0
26	7,75	492 ± 5,6
28	7,71	479 ± 13,4
31	7,54	452 ± 13,1
34	7,54	529 ± 15,3
37	7,58	565 ± 12,2
45	7,88	618 ± 10,8

d) Kulturversuch mit Ammonsulfat als Stickstoffquelle.

Auch dieser Versuch dient der Bestätigung bisheriger Resultate. Der Stickstoff wurde als Ammonsulfat dargeboten. Ist die Bevorzugung des Nitrations gegenüber dem Ammoniumion an der Aziditätsänderung stark beteiligt, so muß bei Darbietung von Ammonsulfat die Lösung sauer werden und der isometabolische Punkt bei sehr niedrigem pH-Wert liegen. Es wurde außerdem in dem Versuch geprüft, wie sich der Pilz entwickelt, wenn ihm die stark bevorzugte Nitratquelle fehlt und statt dessen das nach den bisherigen Ergebnissen wenig zusagende Ammonium geboten wird. Tabelle 10 und Abb. 12 zeigen die Ergebnisse.

Tabelle 10.
Wachstum von *Fusarium lycopersici* und pH-Verlauf
mit Ammonsulfat als Stickstoffquelle.

Kulturdauer Tage	pH	Myzeltrockengewicht mg
Ausgangslösung	4,31	—
2	3,37	13
4	2,59	146 ± 7,5
7	2,40	278 ± 10,3
11	2,28	322 ± 12,6
15	2,27	378 ± 11,5
19	2,17	408 ± 13,4
33	2,17	425 ± 9,8
45	2,20	390 ± 9,1

Die pH-Kurve nimmt den vorausszusehenden Verlauf. Die Werte sinken in den ersten vier Tagen bei kräftigem Wachstum von 4,3 auf

2,6, dann wird bei langsamer Entwicklung des Myzels allmählich ein pH von etwa 2,2 erreicht. Diese Azidität wird beibehalten, sie dürfte die untere Wachstumsgrenze darstellen, denn auch das Myzelgewicht bleibt vom 19. Tag an ziemlich konstant bei einem Wert von etwa 400 mg. Überraschend ist, daß das Wachstum zu Beginn des Versuchs wesentlich rascher erfolgt, als auf Nitrat enthaltender Lösung. Nach vier Tagen beträgt das Gewicht bereits 146 mg, nach sieben Tagen 278 mg, während es bei bis-

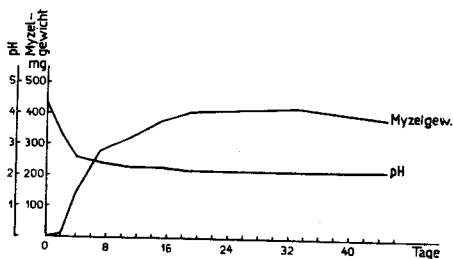


Abb. 11.

Wachstum von *Fusarium lycopersici*
und pH-Verlauf auf sulfatfreier
Nährlösung.

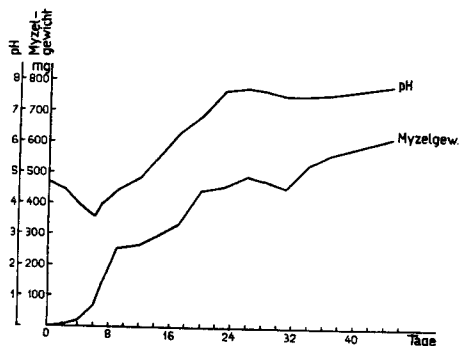


Abb. 12.

Wachstum von *Fusarium lycopersici*
und pH-Verlauf mit Ammonsulfat
als Stickstoffquelle.

heriger Zusammensetzung der Nährlösung nach fünf Tagen erst 107 mg und nach acht Tagen 227 mg betrug. Die Versuchstemperatur war wie früher 21° C. Erst nachdem die Lösung so sauer geworden ist, daß eine Hemmung der Myzelentwicklung eintritt, wird das Gewicht von dem der früheren Versuche übertroffen.

e) Nährstoffaufnahme bei *Fusarium lini*.

Die Kultur- und Bestimmungsmethoden waren in vorliegendem Versuch dieselben wie bisher. Auf Doppelbestimmungen mußte jedoch verzichtet werden, sie konnten nur stichprobenweise durchgeführt werden. Daher sind die Bestimmungsfehler etwas größer, was in den stärkeren Kurvenschwankungen besonders der Differenzkurve zwischen Gesamtstickstoff und Nitrat- + Ammonstickstoff zum Ausdruck kommt. Aschenanalysen und Stickstoffanalysen wurden an derselben Versuchsserie durchgeführt. Das Myzel einer größeren Anzahl von Kulturen wurde auf einem Filter gesammelt, getrocknet und gewogen. Beim Mahlen des Myzels tritt meist ein geringer Gewichtsverlust auf, daher wurde das zur Veraschung kommende Myzel nach dem Mahlen nochmals gewogen. Tabelle 11, 12 und 13 und Abb. 13, 14 und 15 geben die Resultate wieder. Die in Tabelle 12 angegebenen Werte beziehen sich auf das gemahlene Myzel von zehn Kulturen.

Tabelle 11.

pH, Wachstum, Gehalt der Kulturlösung (100 cem) von *Fusarium lini* an Stickstoff, Zucker und Alkohol im Lauf der Kulturdauer.

Kulturdauer Tage	pH	Myzel- trocken- gewicht mg	Zucker- gehalt g	Alkohol- gehalt g	Ammon- stickstoff mg	Nitrat- stickstoff mg	Flüchtiger Stickstoff mg	Restlicher Stickstoff mg	Gesamt- stickstoff mg	Stickstoff- verbrauch Prozent des Trocken- gewichts
Ausgangslösung	3,85	—	4,90	—	167,0	167,0	—	—	334,0	—
5	3,58	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	4,47	215	3,55	—	164,9	126,3	—	—	—	—
7	5,15	250	2,48	1,00	166,2	107,2	—	—	—	—
8	5,34	260	1,65	—	169,5	92,6	8,75	38,7	300,8	12,8
9	5,51	272	0,83	1,79	168,0	75,5	16,8	—	—	—
10	—	280	0,62	—	176,3	70,9	26,6	45,4	292,6	14,4
11	6,06	316	0,35	—	185,2	62,9	25,5	—	—	—
12	6,19	343	0,28	2,08	184,4	58,6	32,5	46,1	289,1	13,1
13	6,40	332	0,15	—	195,7	56,6	34,5	—	—	—
14	6,52	346	—	2,19	195,5	55,4	39,9	34,1	285,0	14,1
15	6,80	372	—	—	197,2	51,9	46,9	—	—	—
16	7,15	381	Spuren	1,85	193,3	55,3	53,5	34,9	283,5	13,2
17	7,23	400	0	—	192,6	50,7	51,8	—	—	—
19	7,41	490	—	1,80	199,0	48,9	53,9	24,3	272,2	12,6
21	7,32	538	—	1,36	194,6	50,4	47,9	—	—	—
23	7,32	641	—	—	182,7	47,5	52,5	26,7	256,9	12,0
26	7,51	676	—	0,56	182,0	50,4	57,4	24,3	256,7	11,2
29	8,02	800	—	0,22	163,1	42,7	78,7	43,7	249,5	10,5
33	8,43	719	—	0	159,2	45,9	95,2	60,8	265,9	9,5
38	8,32	695	—	—	175,5	44,1	91,0	45,8	265,4	9,9
43	8,48	654	—	—	169,5	42,4	94,3	54,6	266,0	10,4

Aziditätsänderung, Wachstum und Nährstoffaufnahme entsprechen in ihrem Gesamtverlauf den bei *Fusarium lycopersici* gefundenen Ergebnissen. Wieder treten bei der pH-Kurve die bereits beschriebenen Phasen auf. Die beiden Wachstumsperioden, die einerseits am Konstantbleiben des Myzelgewichts, andererseits aus dem Rückgang des Aschengehalts nach etwa zweiwöchentlicher Kulturdauer zu erkennen sind, können ebenfalls wieder festgestellt werden, wenn auch der Knick in der Wachstumskurve weniger deutlich hervortritt als bei *Fusarium lycopersici*. Zuckeraufnahme, Alkoholbildung und -verbrauch, Stickstoffaufnahme sind ähnlich wie bei *Fusarium lycopersici*. Auch hier finden wir nicht mehr die Gesamtstickstoffmenge der

Tabelle 12.
Gehalt des Myzels von *Fusarium lini* an Aschenbestandteilen.

Kulturdauer Tage	K ₂ O			P ₂ O ₅			MgO			SO ₄	Gesamtasche		Myzel- trockengewicht von 10 Kulturen
	mg	Prozent der Asche	Prozent des Trockengewichts	mg	Prozent der Asche	Prozent des Trockengewichts	mg	Prozent der Asche	Prozent des Trockengewichts	mg	mg	Prozent des Trockengewichts	
6	92	50,5	4,4	89,3	48,9	4,2	12,3	6,7	0,6	2,2	182	8,7	2,085
8	60,4	43,1	2,4	69,4	49,6	2,7	9,0	6,4	0,4	Spuren	140	5,5	2,566
9	93,4	46,0	3,5	102,1	50,3	3,8	14,6	7,1	0,5	1,0	203	7,6	2,688
10	70,5	47,0	2,6	—	—	—	12,2	8,1	0,4	Spuren	150	5,5	2,698
11	76,6	41,3	2,5	87,5	47,3	2,8	11,1	6,0	0,4	„	185	6,0	3,070
12	73,5	37,9	2,1	—	—	—	12,1	6,2	0,3	„	194	5,7	3,426
13	51,6	33,3	1,6	83,1	53,6	2,4	15,1	9,6	0,5	„	155	4,8	3,237
14	32,7	28,8	0,9	63,0	55,8	1,8	13,4	11,8	0,4	„	113	3,3	3,459
15	14,6	26,5	0,4	28,5	51,8	0,8	9,5	17,3	0,3	„	55	1,5	3,724
17	17,4	29,0	0,4	34,8	58,0	0,9	7,0	11,6	0,2	„	60	1,5	4,003

Tabelle 13.
Gehalt einer Kulturlösung (100 ccm) von *Fusarium lini*
an NH₄, K, Mg, NO₃, PO₄''' und SO₄'', ausgedrückt in Milliäquivalent.

Kulturdauer Tage	NH ₄ '	NO ₃ '	Ueber- schuß- Kationen	K'	Mg''	PO ₄ '''	SO ₄ ''	Ueber- schuß- Anionen
Ausgangslösung	11,92	11,92	0	3,67	4,15	11,02	4,15	7,35
6	11,77	9,02	2,75	3,48	4,05	10,64	4,15	7,26
7	11,86	7,65	3,21	—	—	—	—	—
8	12,09	6,61	5,47	3,54	4,08	10,72	4,15	7,25
9	11,99	5,39	6,60	3,47	4,03	10,59	4,15	7,24
10	12,58	5,06	7,52	3,52	4,05	—	4,15	—
11	13,22	4,49	8,73	3,51	4,06	10,65	4,15	7,23
12	13,16	4,18	8,98	3,52	4,05	—	4,15	—
13	13,95	4,04	9,91	3,56	4,03	10,67	4,15	7,23
14	13,94	3,95	9,99	3,60	4,04	10,75	4,15	7,26
15	14,07	3,70	10,37	3,64	4,07	10,90	4,15	7,34
16	13,80	3,95	9,85	—	—	—	—	—
17	13,75	3,62	10,13	3,64	4,09	10,87	4,15	7,29

Nährlösung als Nitrat- und Ammonstickstoff. Aus den genannten Gründen sind die Schwankungen bei der Differenzkurve größer als bei *Fusarium lycopersici*. Aus Tabelle 13 ergibt sich, daß auf eine Aziditätsänderung der Nährlösung auch bei *Fusarium lini* nur die Stickstoffaufnahme Einfluß

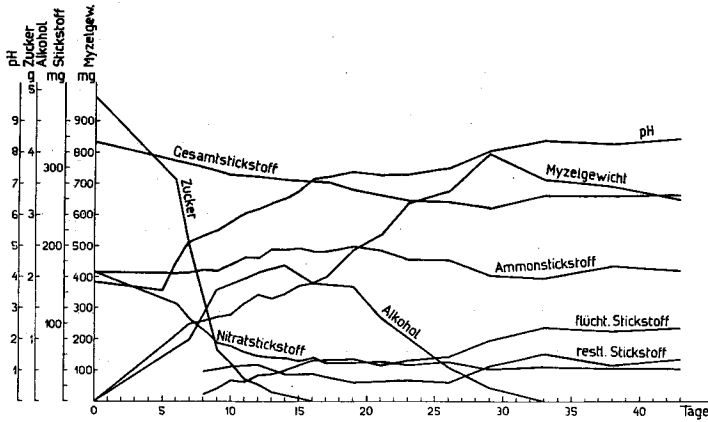


Abb 13.

Aziditätsänderung, Verlauf der Stickstoffaufnahme, des Zuckerverbrauchs, der Alkoholbildung und des Wachstums bei *Fusarium lini*.

haben kann. Die anderen Salze werden in solchem Verhältnis aufgenommen, daß der pH-Wert nahezu konstant bleiben würde.

Auf einige Unterschiede gegenüber den früheren Versuchen sei noch hingewiesen. Der pH-Wert steigt zu Beginn des Versuchs wesentlich rascher an. Nach sieben Tagen ist ein pH von 5 bereits überschritten,

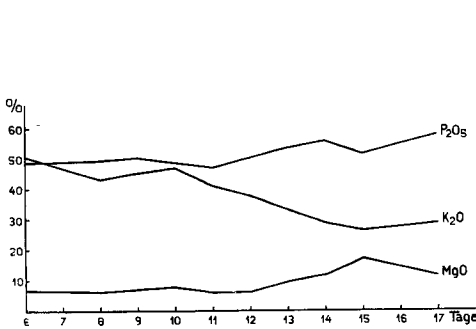


Abb. 14.

Aschenbestandteile in Prozent der Gesamtasche von *Fusarium lini*.

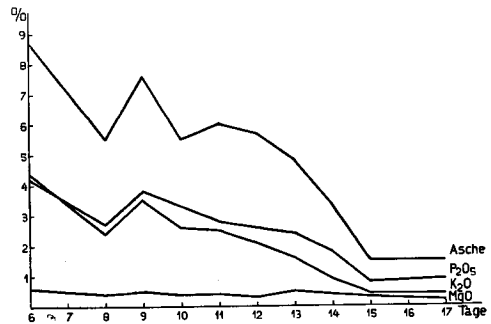


Abb. 15.

Gesamtasche und Aschenbestandteile in Prozent des Myzeltrockengewichtes von *Fusarium lini*.

während das pH bei *Fusarium lycopersici* zu gleicher Zeit noch unter 4 liegt. Während der dritten Phase des pH-Verlaufes konnte nur ein Rückgang um 0,09 pH-Einheiten gemessen werden. Die Azidität kann daher vom 19. bis 23. Tage als konstant bezeichnet werden. Der Ammonstick-

stoffgehalt sinkt während dieser Zeit, sinkt auch noch, nachdem die pH-Kurve bereits wieder anzusteigen beginnt. Die Zunahme von Kationen bzw. Abnahme von Anionen überwiegt also bereits jetzt wieder gegenüber dem Verschwinden von OH-Gruppen durch NH_3 -Aufnahme. Im übrigen entspricht der letzte Anstieg der pH-Kurve demjenigen von *Fusarium lycopersici*.

Der Stickstoffgehalt des Myzels ist bei *Fusarium lini* etwas größer als bei *Fusarium lycopersici*. Er beträgt bei den jungen Kulturen etwa 13% und sinkt bis zum 30. Tage auf etwa 10%. Anderson (1924) gibt den Stickstoffgehalt der von ihm mit anderer Methodik untersuchten Stämme von *Fusarium lini* zu 8 bis 9% an, hält aber für möglich, daß seine Werte etwas zu niedrig sind. Auch er berichtet von einem Rückgang des Stickstoffgehaltes bei alten Kulturen.

f. Besprechung der Ergebnisse über Nährstoffaufnahme.

Aus den Versuchen ergab sich, daß die Bevorzugung von Nitrat eine Verschiebung der Reaktion in alkalischer Richtung zur Folge haben muß; es

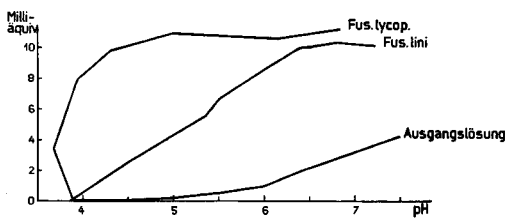


Abb. 16.

pH-Verlauf bei Zunahme von Kationen in Kulturlösungen (je 100 ccm) von *Fusarium lycopersici* und *Fusarium lini* und in der Ausgangslösung.

war aber nicht erklärlich, warum der pH-Wert nicht sofort entsprechend der Nitrataufnahme ansteigt. Dieser Gegensatz zwischen gemessener und erwarteter Veränderung der Azidität wird noch deutlicher, wenn wir bei der Verfolgung der Resultate die Beobachtungen über Pufferung zum Vergleich heranziehen. Tabelle 14 und Abb. 16 zeigen die Menge der im Lauf der ersten Wachstums-

periode freiwerdenden Kationen, ausgedrückt in Milliäquivalent, und die zugehörigen pH-Werte der Kulturlösung und zum Vergleich die Menge der Kationen, die für eine bestimmte Änderung der Azidität der Ausgangslösung notwendig sind.

Aus Tabelle 14 und Abb. 16 ergibt sich, daß in der Lösung von *Fusarium lycopersici* trotz eines Überschusses von 3,45 Milliäquivalent Kationen die Wasserstoffionenkonzentration sich erhöht. 7,99 Milliäquivalent genügen eben, um die Azidität auf demselben Stand zu erhalten wie zu Beginn des Versuchs. Zur Erhöhung des pH-Wertes auf 5, das nach zwölf Tagen Kulturdauer erreicht ist, sind 10,92 Milliäquivalent nötig, während bei der unbeimpften Lösung schon 0,225 Milliäquivalent genügen. Vom zwölften Tag ab findet ein weiterer Kationenzuwachs kaum mehr statt, aber erst jetzt beginnt der pH-Wert stark anzusteigen. Bei einem Zuwachs von nur 0,35 Milliäquivalent steigt der pH-Wert von 4,97 auf 6,84. Bei der Ausgangslösung braucht man zur gleichen Änderung etwa 3 Milli-

Tabelle 14.

Zuwachs an Kationen und entsprechende Änderung der Azidität in Kulturlösungen (je 100 ccm) von *Fusarium lycopersici* und *Fusarium lini* und in der Ausgangslösung.

Kultur- dauer Tage	<i>Fusarium lycopersici</i>		<i>Fusarium lini</i>		Ausgangslösung	
	Ueberschuß- Kationen Milli- äquivalent	Zugehöriger pH-Wert	Ueberschuß- Kationen Milli- äquivalent	Zugehöriger pH-Wert	Zugabe- Kationen Milli- äquivalent	Zuge- höriger pH-Wert
0	0	3,90	0	3,85	0	3,90
6	3,45	3,67	2,48	4,47	0,075	4,5
8	7,99	3,96	5,57	5,35	0,225	5,0
9	—	—	6,71	5,51	0,55	5,5
10	9,85	4,31	—	—	1,05	6,0
11	—	—	8,85	6,06	2,20	6,5
12	10,92	4,97	—	—	3,25	7,0
13	—	—	10,03	6,40	4,27	7,5
14	10,61	6,15	10,08	6,52	—	—
15	—	—	10,38	6,80	—	—
16	11,27	6,84	—	—	—	—
17	—	—	10,19	7,23	—	—

äquivalent. Es ergibt sich also folgender Widerspruch: Solange durch einseitige Ionenaufnahme erhebliche Mengen von Kationen in der Lösung frei werden, tritt nur eine geringe Abnahme der Wasserstoffionenkonzentration ein; die stärkste Veränderung erfolgt erst, nachdem ein weiteres Freiwerden von Kationen nicht mehr konstaterbar ist. Bei *Fusarium lini* ist der Gegensatz zwischen beobachteter Azidität und auf Grund der Nährstoffaufnahme erwarteter Azidität nicht so stark wie bei *Fusarium lycopersici*, immerhin ergibt sich auch hier, daß die Menge der frei werdenden Kationen den pH-Wert viel stärker erhöhen müßte, als es tatsächlich geschieht; auch hier findet ferner noch eine Verminderung der Wasserstoffionenkonzentration statt, ohne daß ein Kationenüberschuß auf Grund der Nährstoffaufnahme sich feststellen läßt.

Zur Lösung des Widerspruchs müssen wir annehmen, daß die frei werdenden Kationen durch organische Säuren gebunden und später durch Verbrauch der Säuren wieder frei gemacht werden. Ein Maß für die Mengen der gebildeten Säuren gibt die Ordinatendifferenz zwischen der Kurve der Ausgangslösung und den Kurven der Kulturlösungen. Wir sehen, daß die Bildung von organischen Säuren anhält, bis in Kulturen von *Fusarium lycopersici* ein pH von 5, in Kulturen von *Fusarium lini* ein pH von 6,8 erreicht ist. Der Maximalgehalt beträgt bei *Fusarium lycopersici* 10,72 Milliäquivalent, bei *Fusarium lini* 7,58 Milliäquivalent. Dies würde beispielsweise einem Oxalsäuregehalt von 500 bzw. 350 mg entsprechen. Natürlich können die Zahlen nur Näherungswerte geben, da bei der Berechnung der Dissoziationsgrad einzelner Säuren unberücksichtigt bleiben mußte. Die maximalen Mengen sind am Ende der zweiten

Kulturwoche erreicht und fallen mit dem Verschwinden des Zuckers zusammen, wie dies auch bei der Alkoholbildung der Fall war. Nach dem Aufbrauch des Zuckers erfolgt gleichzeitig mit der Verarbeitung des Alkohols auch ein langsamer Aufbrauch organischer Säuren; die Folge davon ist der nunmehr einsetzende starke Anstieg des pH-Wertes von 5 auf etwa 7,5. Nach der Kurve der Ausgangslösung ist dazu eine Abnahme der Säuren um etwa vier Milliäquivalent notwendig. Es ist anzunehmen, daß die allmähliche Verarbeitung der Säure durch den Pilz auch weiterhin fortgesetzt wird. Wenn zunächst bei *Fusarium lycopersici* trotzdem der pH-Wert von etwa 7,5 auf 7,2 sinkt, so ist dies auf die Aufnahme von Ammonium zurückzuführen. Bei *Fusarium lini* scheint sich Aufbrauch von Ammonium und Aufbrauch von organischer Säure das Gleichgewicht zu halten, so daß der pH-Wert für kurze Zeit konstant bleibt. Am Schluß der Kulturdauer dürfte wieder die Aufnahme von Säure überwiegen und die Folge ist bei *Fusarium lycopersici* und *lini* ein letzter Anstieg des pH-Wertes bis etwa 8,5.

In einem Vorversuch wurde gezeigt, daß die Pufferung der Lösung nach zehn Tagen ein Maximum im sauren Bezirk erreicht hat, nach 15 Tagen ist sie wieder etwas vermindert worden, und nach 30 Tagen hat sie sich wieder stark der Ausgangslösung angeglichen. Diese Beobachtung läßt sich gut mit der angenommenen Bildung und dem Wiederaufbrauch von organischen Säuren in Einklang bringen.

Ziehen wir die Folgerungen aus dem Dargelegten: Die Änderung der Azidität ist eine Folge des Zusammenwirkens von Nährsalzaufnahme und Bildung und Verbrauch von organischen Säuren. Die Bildung von organischen Säuren ist zu Beginn des Versuchs bei hoher Zuckerkonzentration so stark, daß die frei werdenden Kationen zum größten Teil gebunden werden, in den ersten Tagen findet sogar eine Zunahme an Anionen und somit ein Anwachsen der Azidität statt. Diese erste Phase des pH-Verlaufs ist mehr oder weniger Zufall und hängt von der Fähigkeit des verwendeten Pilzstammes, größere oder geringere Mengen von organischen Säuren zu bilden, ab. Es ist ja im pH-Bereich von 3,5 bis 4 nur ein sehr geringer Anionenüberschuß nötig, um die gemessene Erhöhung der Azidität herbeizuführen. Auch der Rückgang des pH-Wertes von 7,5 auf 7,2 kann bei einzelnen Stämmen fortfallen. Keine Beobachtung gibt Anlaß, anzunehmen, daß die Schaffung einer optimalen Azidität für den Stoffwechsel des Pilzes einen primären Faktor darstellt, d. h. daß der Pilz Nährsalzaufnahme oder Ausscheidung von Stoffwechselprodukten so gestaltet, daß ein für das Wachstum günstiger pH-Wert resultiert. Es wäre sonst nicht einzusehen, warum der Pilz durch starke Nitrataufnahme den pH-Wert erhöht, obwohl auch NH_4 eine gute Stickstoffquelle ist, und ihn andererseits gleichzeitig durch Bildung organischer Säuren herunterdrückt. Bildung und Verbrauch organischer

Säuren ist in allererster Linie vom Zuckergehalt der Lösung abhängig. Auch für die Bevorzugung des Nitrats zu Beginn des Versuchs sind wohl andere Faktoren als die Azidität maßgebend.

Eine eingehendere Betrachtung erfordern noch unsere Ergebnisse über Stickstoffaufnahme. Bei Untersuchungen über Ionenpermeabilität bei den Pflanzen nimmt Ammoniumnitrat eine besondere Stellung ein, da hier beide Ionen als Stickstoffquelle dienen können (Lundegårdh, 1932). Mevius (1928) hat versucht, klarzulegen, wann dieses Salz physiologisch sauer, neutral oder alkalisch reagiert. Ausschlaggebend ist nach seinen Ausführungen die NH_3 -Tension. Die NH_3 -Tension ist abhängig von der Konzentration des Ammonsalzes und vom pH-Wert der Lösung. Erhöhung der Konzentration und Erhöhung des pH-Wertes bedingen eine Zunahme der Tension des undissoziierten Ammoniaks. Proportional der Tension ist die Diffusionsgeschwindigkeit des Moleküls. Daraus ergibt sich, daß die Aufnahmegeschwindigkeit des Ammoniums bei gleicher Salzkonzentration im neutralen und alkalischen Bezirk höher sein muß, als im sauren Bezirk, während in stark saurer Lösung das Nitration bevorzugt werden wird. Werden im Innern der Pflanzenzellen Ammoniumgruppen gebildet, so kann eine Exosmose eintreten, und zwar wird sie um so stärker sein, je niedriger der pH-Wert und damit die NH_3 -Tension der Lösung ist. Solche Ausscheidungen von Ammoniak bei starker Reaktion wurden von Prianischnikov (1928) und Mevius und Engel (1929) beobachtet. Die Ansicht von Mevius erhält eine Stütze durch Versuche von Butkewitsch, W. und Butkewitsch, Wl. (1929). Sie beobachteten, daß NH_4 und NO_3 bei pH 3 in äquivalenten Mengen durch eine Kolloidmembran diffundieren. Bei Erhöhung des pH-Wertes ändert sich das Verhältnis zugunsten von NH_4 , bei pH 8 ist das Verhältnis des durchgewanderten $\text{NH}_4 : \text{NO}_3 = 3 : 2$.

Bei unseren Versuchen mit *Fusarium lycopersici* ist der Nitratgehalt der Nährlösung bis zum 10. Tag auf etwa 60 mg gesunken, bei *Fusarium lini* wird derselbe Wert am 11. bis 12. Tag erreicht. Von nun ab findet nur noch ein sehr langsamer weiterer Rückgang des Nitratwertes statt, vom Ende der dritten Kulturwoche an bleibt er praktisch konstant. Der pH-Wert beträgt bei *Fusarium lycopersici* am 10. Tag 4,31, bei *Fusarium lini* am 11. bis 12. Tag 6,1 bis 6,2. Die Ergebnisse stimmen insofern mit den Anschauungen von Mevius überein, als tatsächlich der weit übertragende Teil der Nitratmenge im sauren Bezirk, bei *Fusarium lycopersici* im stark sauren Bezirk aufgenommen wurde. Doch ergeben sich Widersprüche, wenn wir den Verlauf genau verfolgen. Es muß zunächst beachtet werden, daß Nitrat nicht nur in überwiegender Menge, sondern ausschließlich aufgenommen wird. Eine Ammonaufnahme findet überhaupt nicht statt. Man sollte vermuten, daß bei abnehmender Azidität auch die Nitrataufnahme gegenüber der Ammonaufnahme zurücktritt. Dies ist, wie besonders *Fusarium lini* zeigt, nicht der Fall, aber auch bei *Fusarium*

lycopersici wird, wie bei *Fusarium lini* im älteren Stadium, etwa vom 10. bis 20. Tage der gesamte Stickstoffbedarf aus dem Nitrat bestritten, obwohl während dieser Zeit der pH-Wert den Neutralpunkt überschreitet und bis etwa 7,5 ansteigt. Nach den Beobachtungen von Butkewitsch, W., und Butkewitsch, Wl., wäre zu erwarten, daß schon von Anfang an Ammonium in größerer Menge als Nitrat aufgenommen worden wäre. Wir haben nun folgendes zu beachten: In unserer Nährlösung liegen zwei Systeme vor; das erste besteht aus der Nährlösung selbst und, wenn wir von den vitalen Eigenschaften des Plasmas absehen, dem Plasma als einem semipermeablen Körper, ähnlich der Gelatine oder dem Kollodium. In diesem System würde die NH_3 -Diffusion bei höherem pH-Wert als 3 überwiegen. Nun kommt aber dazu als zweites System das lebendige Plasma, das durch seine Lebenstätigkeit die nach rein physikalischen Gesetzen sich einstellenden Gleichgewichte verschiebt.

Wollen wir die genannten, wenigstens scheinbaren Widersprüche zu den Anschauungen von Mevius zu klären versuchen, so müssen wir unser Augenmerk auf die Erhöhung des Ammoniumgehalts der Nährlösung richten. Der maximale Ammoniumgehalt ist bei *Fusarium lycopersici* nach 12 Tagen erreicht, der pH-Wert beträgt um diese Zeit 4,97. Bei *Fusarium lini* erhalten wir die maximale Ammoniakkonzentration von etwa 195 mg nach 13 Tagen bei einem pH von 6,4. Hauptanstieg der Ammonstickstoffkurve und Hauptabfall der Nitratkurve fallen in beiden Fällen zeitlich etwa zusammen. Die Anreicherung von Ammoniak ist ein spezifisches Resultat der Wirkung des Systems „lebendiges Plasma“. Das Gleichgewicht, das ohne diese Tätigkeit bei der Diffusion von Ammonnitrat durch das „semipermeable Plasma“ zwischen Kation und Anion herrschen würde, ist gestört worden. Durch lebhaftere Bildung von Ammoniumgruppen im Zellinnern ist ein Tensionsgefälle des Ammoniaks gegenüber der Außenlösung entstanden. Der Partialdruck des NH_3 innerhalb der Zelle ist so stark, daß nicht nur ein Eindringen von Ammoniumgruppen verhindert wird, sondern sogar ein Hinausdiffundieren des NH_3 in die Lösung stattfindet. Die Tension des NH_3 braucht im Gewebe von *Fusarium lycopersici* nicht sehr hoch zu sein, da die Azidität zur Zeit der NH_3 -Abgabe mit einem pH-Wert zwischen 3,5 und 4,9 recht hoch, die NH_3 -Tension der Lösung infolgedessen niedrig ist. Bei *Fusarium lini* wird noch bis zu einem pH von 6,5 NH_3 von den Zellen abgegeben. Eine erheblich höhere NH_3 -Tension im Zellinnern ist Voraussetzung dafür.

Damit wäre vor allem die Frage geklärt, warum der Pilz, nachdem er einmal mit der Nitrataufnahme und damit im Zusammenhang mit Ammoniakbildung begonnen hat, auch bei Erhöhung des pH-Wertes zu immer weiterer Nitrataufnahme gezwungen ist.

Durch die dauernde einseitige Aufnahme von Nitrat und Abgabe von Ammoniak an die Nährlösung muß schließlich das Tensionsgefälle des NH_3

zwischen Nährlösung und Zellinnerem mehr und mehr verschwinden. Der pflanzliche Organismus kann zwar durch dauernde weitere Anreicherung von Ammoniak im Zellinnern dafür sorgen, daß ein Tensionsgefälle erhalten bleibt, aber nur bis zu einem gewissen Grade, denn einmal muß in den Zellen eine so hohe Ammoniakkonzentration zustande kommen, daß eine weitere Anreicherung Schädigungen für den Organismus zur Folge hätte. Einige Tatsachen sprechen dafür, daß dieser Punkt bei *Fusarium lycopersici* und *Fusarium lini* bei dem maximalen Ammonstickstoffgehalt von etwa 200 mg und dem dabei gemessenen pH-Wert von 5 bzw. 6,40 erreicht ist: Ein Vorversuch über den Einfluß der Azidität zeigte, daß auf einer Nährlösung mit NH_4NO_3 als Stickstoffquelle schon bei pH 6,8 das Wachstum stark gehemmt ist im Gegensatz zum Wachstum auf Malzextraktlösung. Ferner können wir das auffallend starke Absterben des Myzels zu Ende der zweiten Woche in Zusammenhang mit der hohen NH_3 -Tension bringen. Aus den Kurven ergibt sich, daß der pH-Wert, auch nachdem der NH_3 -Gehalt seinen Höchststand erreicht hat, noch bis 7,5 ansteigt und dadurch die NH_3 -Tension erhöht. Als Folge dieser plötzlichen ungünstigen Veränderung des Nährmediums kann das Absterben vieler älterer Zellen angesehen werden, während junge, lebenskräftige diese Veränderung noch ertragen können. Im Gegensatz zu der Annahme steht zunächst die Tatsache, daß auch jetzt noch ein Myzelzuwachs stattfindet. Aber wir sehen aus dem Kurvenverlauf (Abb. 8 und Abb. 13), daß der Hauptzuwachs in der zweiten Wachstumsperiode bei sinkendem NH_3 -Gehalt und bei *Fusarium lycopersici* auch bei sinkendem pH-Wert stattfindet, daß also während dieser Zeit die Lebensbedingungen wieder günstiger werden.

Die ausschließliche Aufnahme von Nitrat in der ersten Wachstumsperiode wurde damit erklärt, daß der Pilz durch NH_3 -Bildung in den Zellen ein Eindringen des Ammoniums verhindert. Dabei blieb aber das Problem bestehen, warum denn die Zellen das gebildete Ammonium nicht weiter verarbeiten und dadurch ein Eindringen des NH_4 -Ions aus der Lösung ermöglichen. Weiter drängt sich nunmehr die schon bei früherer Gelegenheit aufgeworfene Frage auf: Warum geht der Pilz am Ende der zweiten Kulturwoche plötzlich zur Ammonaufnahme über, obwohl noch Nitrat in der Lösung vorhanden ist? Eine Erklärung etwa derart, daß der Pilz durch die Ammoniumaufnahme die Wasserstoffionenkonzentration wieder erhöht, die NH_3 -Tension zurückdrängt und dadurch wieder günstigere Wachstumsbedingungen herstellt, befriedigt nicht. Wir müssen die Schaffung günstigerer Wachstumsbedingungen als Folge der Ammonaufnahme betrachten, nicht umgekehrt. Es ist notwendig, für die Erklärung an die Erfahrungen anderer Autoren über Stickstoffassimilation anzuknüpfen.

Der erste Vorgang bei der Verarbeitung der Nitrate im Pflanzenkörper ist ein Reduktionsprozeß. Nitrite sind als Reduktionsprodukte seit langem bekannt. Daß auch Ammoniumgruppen bei der Nitratreduktion

von den Pflanzen gebildet werden, blieb lange Zeit zweifelhaft, da auch durch Desamidierung größere Ammoniakmengen entstehen können. (Butkewitsch, 1903). Es blieb Kostytschew und Tswetkowa (1920) und Warburg und Negelein (1920) vorbehalten, mit verschiedenen Methoden und an verschiedenen Objekten die Reduktion des Nitrats bis zum Ammoniak sicher nachzuweisen. Das Licht hat bei den grünen Pflanzen einen stark fördernden Einfluß auf die Nitratreduktion, ist aber nicht absolut notwendig. Auch im Dunkeln können Eiweiße aus Nitraten aufgebaut werden, sogar dieselbe Menge wie im Licht, „wenn nur eine große Menge von Kohlehydraten vorhanden ist“ (Benecke-Jost, 1924). Man sieht also: Licht oder eine geeignete Kohlenstoffquelle können die Energie für die Nitratreduktion liefern. Fischer (1897), glaubt, daß die Kohlenstoffquelle bei der Wahl der Stickstoffquelle der Heterotrophen eine wichtige Rolle spiele: „Wenn man nach ihrem Stickstoffbedürfnis die Bakterien in die vier Gruppen der Pepton-, Amido-, Ammoniak- und Nitrobakterien einordnet, wolle man nicht übersehen, daß auch die Kohlenstoffquelle, die man gleichzeitig darbietet, von großer Bedeutung für die Verwertung der Stickstoffverbindungen ist. So können die Ammonbakterien der Tabelle auch noch den Salpeterstickstoff verwenden, wenn ihnen im Zucker eine geeignete Kohlenstoffverbindung gereicht wird, während Glycerin nicht genügt.“ Von Interesse ist eine Angabe von Anderson (1924), der den Einfluß verschiedener Kohlenstoffquellen auf das Wachstum von *Fusarium lini* untersucht. Als Nährsalze bietet er NH_4NO_3 , KH_2PO_4 und MgSO_4 . Bei einer gleichzeitigen Messung des pH beobachtet er, daß auf Glukose und Xylose der pH-Wert nach anfänglichem Fallen wieder ansteigt, während er auf Alkohol als Kohlenstoffquelle von 4,45 auf 2,57 abfällt. Vergleichen wir unsere Resultate mit diesen Ergebnissen, so kann kaum ein Zweifel bestehen, daß die Wahl einer anderen Stickstoffquelle bei unseren Pilzen in engstem Zusammenhang mit der Änderung der Kohlenstoffquelle steht. Die Nitrataufnahme findet in der Zeit statt, in der den Pilzen als Kohlenstoffquelle Zucker zur Verfügung steht. Der Ammonverbrauch setzt erst ein, nachdem der Zucker gänzlich verschwunden ist und als Kohlenstoffquelle Alkohol dient. Wir müssen entsprechend den Folgerungen von Fischer annehmen, daß Äthylalkohol dem Plasma nicht genügt, um die Nitratreduktion zu vollziehen. Die von Anderson beobachtete Ansäuerung bei Verwendung von Alkohol ist darauf zurückzuführen, daß in diesem Fall schon zu Beginn der Kulturdauer nur Ammonium aufgenommen wird. Noch immer aber steht die Frage vor uns, warum der Pilz mehr Nitrat aufnimmt als zum Aufbau des Myzels notwendig ist und Ammoniak wieder ausscheidet, statt es zu verarbeiten. Wir sind versucht, obige Schlüsse noch weiter zu ziehen. Aus den Resultaten ergibt sich, daß der Zucker, der zu Beginn des Versuchs infolge seiner hohen Konzentration das Plasma überschwemmt, rasch abgebaut

und hauptsächlich in Alkohol umgesetzt wird. Dabei wird Energie frei. Es ist möglich, daß Nitrat für die Pilze ein geeignetes Mittel darstellt, um diese freiwerdende Energie, die sonst vielleicht als Wärme ausgestrahlt würde, zu verwenden. Zucker wäre demnach nicht nur Voraussetzung für Nitratreduktion, sondern Nitrataufnahme könnte andererseits auch die Zuckerverarbeitung begünstigen, daraus wäre dann auch eine überreichliche Nitrataufnahme erklärlich. Eine gründliche Untersuchung über die Beziehungen zwischen Kohlenstoffquelle und Stickstoffaufnahme wäre notwendig, um die angedeuteten Möglichkeiten zu prüfen.

Eine weitere Aufgabe bietet die Frage nach der Entstehungsweise des im Gewebe gebildeten Ammoniaks. Abgesehen von der Ammoniakausscheidung zu Beginn des Versuchs findet nochmals eine solche bei den alten Kulturen etwa vom 35. Tag an statt. Zu dieser Zeit ist auch die zweite Kohlenstoffquelle, der Äthylalkohol, nur noch in Spuren vorhanden. Das Myzelgewicht hat seinen Höchstwert bei *Fusarium lycopersici* am 35. Tag, bei *Fusarium lini* am 29. Tag erreicht und beginnt sich dann wieder zu vermindern. Die Selbstaflösung, die ja schon zu Ende der ersten Wachstumsperiode eingesetzt hat, aber durch Neuzuwachs bis jetzt verdeckt wurde, ist nun der beherrschende Prozeß geworden und das gegen Schluß der Kulturdauer ausgeschiedene Ammoniak ist eine Folge proteolytischer Vorgänge. Nicht so klar liegt der Fall bei dem zu Beginn der Versuche gebildeten Ammoniak. Die Ausscheidung ist bei *Fusarium lycopersici* schon am fünften Tag deutlich zu erkennen, am achten Tag beträgt der Zuwachs bereits 31,4 mg. Der Zuckergehalt beträgt um diese Zeit noch 2 g. Man kann daher kaum annehmen, daß um diese Zeit schon proteolytische Vorgänge in wesentlichem Maß stattgefunden haben, dagegen liegt es nahe, dieses ausgeschiedene NH_3 als direktes Reduktionsprodukt des aufgenommenen Nitrats zu betrachten. Doch muß die Frage offen gelassen werden, bevor wir nichts Näheres über den in den Differenzkurven gefundenen Stickstoff wissen.

2. Abschnitt: Qualitative Untersuchungen über Stoffwechselprodukte.

Es war schon bei früheren Versuchen aufgefallen, daß beim Eindampfen der Lösung auf dem Sandbad sich besonders bei älteren Kulturen allmählich ein weißlicher gelatinöser Niederschlag ausschied. Die Lösung läuft zunächst klar durchs Filter, zeigt aber schon bei 20 Minuten langem Erhitzen im Dampftopf Fluoreszenz. Die Substanz wurde daher weiter geprüft. 250 ccm einer 30 Tage alten Kulturlösung wurden auf dem Sandbad auf etwa 20 ccm eingedampft, mit Salzsäure angesäuert, um ausgefallenes Phosphat wieder zu lösen, und filtriert. Der auf dem Filter zurückbleibende Niederschlag ist unlöslich in Säuren, färbt sich beim Betupfen mit konzentrierter Salpetersäure gelb und gibt beim Verbrennen den charakteristischen Geruch von Eiweißverbindungen. Der Niederschlag ist damit als Eiweißstoff gekennzeichnet. Beim Ansäuern mit Essigsäure tritt eine

Trübung der Lösung auch ohne Erhitzen ein. Mit Ninhydrin gibt die Lösung eine positive Reaktion. Die Eiweiße enthalten mindestens einen Teil des Stickstoffs, der bei der Bestimmung von Nitrat und Ammonium nicht miterfaßt werden konnte, und als restlicher Stickstoff bezeichnet wurde. Die vom Eiweiß befreite braune Lösung wurde wieder eingedampft. Es bleibt eine klebrige, braune Masse zurück, auch sie enthält noch organischen Stickstoff, wie ein Verbrennungsversuch zeigte. Der Rückstand löst sich wieder leicht in Wasser. Die Ninhydrinreaktion wird nach Neutralisieren der Lösung auch jetzt noch gegeben. Beim Eindampfen riecht die Lösung stark nach Tischlerleim.

Hauptzweck der qualitativen Untersuchungen war die Prüfung auf organische Säuren. Ihre Anwesenheit ergab sich bereits aus den Resultaten über Nährstoffaufnahme. Es konnte auch angegeben werden, um welche Quantitäten es sich etwa handelt. Es ist daher unsere weitere Aufgabe, diese Säuren noch näher zu kennzeichnen.

Durch Destillation einer fünfzehn Tage alten, mit Phosphorsäure angesäuerten Kulturlösung wurde zunächst festgestellt, ob flüchtige Säuren vorliegen. Die Prüfung fiel positiv aus. Bei der weiteren Prüfung wurde eine von Wiegner (1926) angegebene Methode benützt: Wird von einer Lösung, die flüchtige Säuren enthält, ein bestimmter Teil abdestilliert, die Lösung auf das Ausgangsvolumen aufgefüllt, wieder derselbe Teil abdestilliert und dies noch einige Mal wiederholt, so geht immer derselbe Teil der zurückbleibenden Säuremenge ins Destillat. Man kann aus der Menge mehrerer aufeinanderfolgender Fraktionen die Gesamtmenge einer oder mehrerer bekannter Säuren berechnen und aus dem Verhältnis einzelner Fraktionen zueinander auch auf die Natur unbekannter Säuren schließen. Für die Destillation wurden je 400 ccm Kulturlösung benutzt und immer die Hälfte abdestilliert. Die Bestimmungen wurden nach 10-, 15- und 30 tägiger Kulturdauer durchgeführt. Die Resultate sind in Tabelle 15 dargelegt.

Tabelle 15.

Flüchtige organische Säuren nach verschiedener Kulturdauer.

Fraktion	Kulturdauer 10 Tage		Kulturdauer 15 Tage		Kulturdauer 30 Tage	
	Verbrauch $\frac{n}{20}$ NaOH	Verhältnis aufeinander- folgender Fraktionen	Verbrauch $\frac{n}{20}$ NaOH	Verhältnis aufeinander- folgender Fraktionen	Verbrauch $\frac{n}{20}$ NaOH	Verhältnis aufeinander- folgender Fraktionen
	cm ³	%	cm ³	%	cm ³	%
1	24,9		15,1		12,8	
2	22,3	89,5	11,5	76,1	8,6	67,2
3	19,7	88,3	8,1	70,4	5,7	66,3
4	18,1	91,8	7,0	86,4	4,2	73,5
5	16,5	89,2	5,7	81,2	3,1	73,5

Es ergibt sich zweierlei: 1. Die Menge der flüchtigen Säuren wird im Verlauf der Kulturdauer geringer. 2. Auch die Zusammensetzung ändert

sich, denn nach zehn Tagen beträgt das Verhältnis einer folgenden Fraktion zur vorhergehenden etwa 90%, nach 15 Tagen 80% und nach 30 Tagen 70%. Bei zehntägiger Kulturdauer geht also immer nur ein kleiner Teil, etwa 10% der vorhandenen Säure über. Bei Essigsäure beträgt das Verhältnis 63,41%. Es muß also eine Säure vorliegen, oder wenn es mehrere sind, wenigstens noch mit übergehen, die sehr schwer destilliert. Nach 30 Tagen nähert sich das Verhältnis stark dem der Essigsäure. Der Rückgang organischer Säuren, den wir auf Grund früherer Ergebnisse annehmen mußten, wird also hier bestätigt.

Der saure Rückstand des Destillates einer fünfzehntägigen Kulturlösung von 500 ccm wurde im Extraktionsapparat 30 Stunden mit Äther extrahiert und der Äther vom Extrakt abgedampft. Der eingedampfte Rückstand hat einen stechenden Geruch, der Ähnlichkeit mit dem der Essigsäure hat. Die sich bildenden Kristalle schmecken stark sauer. Auch nicht flüchtige Säuren sind also gebildet worden.

Der Extrakt wurde in etwas Wasser gelöst, ein Teil essigsauer gemacht und mit Calciumchloridlösung versetzt. Es tritt eine Trübung ein, und nach einiger Zeit bildet sich ein kleiner kristalliner Niederschlag. Die Kristalle wurden mikroskopisch geprüft. Es handelt sich um Calciumoxalat. Es wird also von dem Pilz Oxalsäure in geringer Menge gebildet. Ein zweiter Teil der wässrigen Lösung wurde zur weiteren Reinigung von mitgerissener brauner Substanz nochmals mit Äther ausgeschüttelt. Dabei blieb der größte Teil dieser Substanz, allerdings auch die Hauptmenge der Säuren, in der wässrigen Lösung zurück. Die beiden Lösungen wurden im Scheidetrichter getrennt und der Ätherextrakt weiter untersucht. Auch jetzt waren die Kristalle noch leicht bräunlich gefärbt. Der stechende Geruch, der beim ersten Extrakt auftrat, war bei diesem zweiten Rückstand verschwunden. Es wurden nun einige größere Kristalle ausgelesen, auf dem Objektträger einige Mal mit wenigen Wassertropfen abgespült und für eine Schmelzpunktsbestimmung verwendet. Die Kristalle beginnen bei 196 °C zu schmelzen und verflüssigen sich vollends rasch bei 202 bis 204 °C. Es tritt schon unterhalb der Schmelztemperatur eine leichte Bräunung auf, ein Zeichen, daß die Substanz noch nicht völlig rein ist, dasselbe zeigt die weite Spanne von 8 °C zwischen Beginn und Endpunkt des Schmelzens. Der Schmelzpunkt kommt dem der racemischen Form der Weinsäure, der mit 204 bis 206 °C angegeben ist, am nächsten.

Auf einem kleinen Uhrglas wurden nun einige weitere Kristalle in Wasser gelöst und das Bleisalz mittels Bleiacetat hergestellt. Zum Vergleich wurde dasselbe Salz aus technischer Weinsäure gewonnen. Die gut ausgebildeten Kristalle der beiden Salze stimmen in ihren Formen vollständig überein. Ein analoges Resultat ergab sich mit dem Silbersalz. Mit Silbernitrat schieden sich beim Verdunsten der Lösung auf dem Objektträger schuppenförmige Kristallblättchen mit einem Kantenwinkel von

55 bis 56 °C aus. Die Kristalle lassen sich von den aus technischer Weinsäure erhaltenen nicht unterscheiden.

Diese Resultate dürften genügen, die Substanz als racemische Form der Weinsäure zu identifizieren. Eine weitere Untersuchung über organische Säuren konnte nicht mehr durchgeführt werden.

3. Abschnitt: Welkewirkung der Kulturlösungen auf Tomatenpflanzen.

Es lag nicht in unserer Absicht, eingehende Untersuchungen über toxische Wirkung der Kulturlösungen auf höhere Pflanzen anzustellen. Nur einige wenige Beobachtungen sollen erwähnt werden.

Von verschiedenen Autoren wird berichtet, daß die Giftwirkung der Kulturlösungen von *Fusarien* auf höhere Pflanzen innerhalb der ersten zwei Wochen des Wachstums nur gering sei, eine starke Giftwirkung setze erst im Lauf der dritten Woche ein. Ahmet (1933) gibt beispielsweise für den Beginn des Welkens von Tomaten, die in Kulturlösung von *Fusarium lycopersici* gebracht worden waren, folgende Daten:

Alter der Kultur in Wochen	Beginn des Welkens in Stunden
1	24
2	18—22
3	8—10
4	5—7
6	2—3
7	2—3

Ein deutlicher Sprung befindet sich zwischen der zweiten und dritten Woche. Vergleichen wir die Resultate mit den unsrigen, so ergibt sich, daß die Stoffe, die den Hauptfaktor für das Welken darstellen, erst nach dem Aufbrauch des Zuckers ausgeschieden werden. Sie sind nicht direkte Umwandlungsprodukte des Zuckerstoffwechsels. Ein großer Teil des Myzels ist am Ende der zweiten bis Anfang der dritten Woche abgestorben. Es liegt nahe, die Zunahme der toxischen Wirkung mit dem Absterben der Pilzzellen in Zusammenhang zu bringen. Die toxischen Stoffe wären demnach Zerfallsprodukte, die bei der Autolyse des Plasmas entstehen und in die Lösung hindurchdiffundieren. Die Beobachtung verdient vor allem deshalb Beachtung, weil der Vorgang des Absterbens der Parasitenzellen sich mit Sicherheit auch in der Natur abspielt. Dies kann für die Bildung bestimmter Stoffwechselprodukte, die in Kulturen gefunden werden, nicht immer gesagt werden, da ja die Lebensbedingungen für den Pilz auf einer lebenden Pflanze wesentlich andere sind als in Nährlösung. Wir können uns wohl vorstellen, daß beim Absterben des Parasitengewebes Eiweißzerfallsprodukte entstehen, die durch den Saftstrom der Gefäße fortgeführt werden und beim Wirt Störungen hervorrufen.

Es wurde schon die Ansicht geäußert, daß gummiartige Produkte, welche die Leitbündel verstopfen, Tomaten zum Welken bringen (Bewley, 1922). Möglicherweise handelt es sich dabei um ähnliche Stoffe wie die gefundenen ausfällbaren Eiweißsubstanzen. Ein Welkeversuch, der mit einer Kulturlösung von *Fusarium lycopersici* durchgeführt wurde, die lediglich nach Abfiltrieren des Myzels zur Zerstörung von Enzymen kurz aufgeköcht, und einer solchen, die auf dem Sandbad zur Entfernung der Eiweiße bis auf wenige Kubikzenti-



Abb. 17 a.

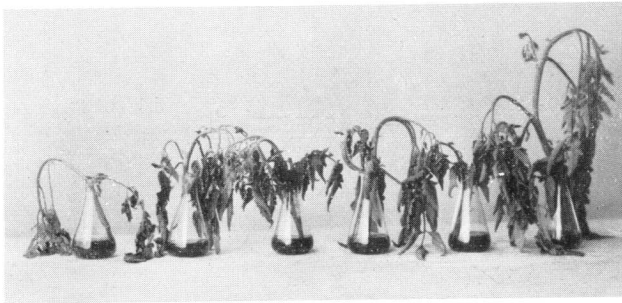


Abb. 17 b.

Wirkung von Kulturlösungen von *Fusarium lycopersici* (photographiert nach 15 Stunden).

- a) Lösung eingedampft, Eiweißstoffe ausgefällt.
- b) Lösung aufgeköcht, eiweißhaltig.

meter eingedampft wurde, kann leider nicht als eindeutig angesehen werden. Zwar waren die Unterschiede sehr auffallend. Die Kulturen waren 30 Tage alt. Die Lösung, die noch Eiweiße enthielt, erzeugte eine Welke schon nach 3 Stunden, während bei der von Eiweißen befreiten Lösung nach 24 Stunden noch keine schädigende Wirkung auf die Tomatenpflanzen beobachtet werden konnte. Aber es war bei dem Versuch keine Rücksicht auf die Azidität genommen worden. Die Kulturlösungen reagieren nach der Filtration alkalisch, haben ein pH von etwa 7,5 und enthalten nach früheren

Ausführungen erhebliche Mengen von undissoziiertem Ammoniak. In der aufgekochten Kulturlösung blieb das NH_3 zum größten Teil zurück, während es aus der vollständig eindampfenden Lösung entwich. Aus späteren Versuchen ergab sich aber, daß das NH_3 eine starke Welkewirkung hervorbringt, daher können die Unterschiede in vorliegendem Versuch auch auf Unterschiede des NH_3 -Gehaltes zurückzuführen sein. Durch das lange Eindampfen bei etwa 90°C können auch Veränderungen an den toxisch wirkenden Stoffen entstanden sein. Da Untersuchungen über Welkewirkung im hiesigen Institut im Gange sind, wurde von einer Wiederholung des Versuchs abgesehen. Abb. 17 zeigt die Welkewirkung der beiden Lösungen.

Folgende weitere Welkeversuche sind noch ausgeführt worden: 1. wurde die Wirkung von Alkohol auf Tomatenzweige geprüft, 2. wurde festgestellt, ob Destillate der Kulturlösungen von *Fusarium lycopersici* eine Giftwirkung ausüben, 3. wurde ein Versuch durchgeführt, bei dem die Azidität gleichaltriger Kulturlösungen von *Fusarium lycopersici* verschieden war.

Zur Prüfung der Alkoholwirkung wurde eine 1%ige, 2%ige, 3%ige und 4%ige Lösung von Äthylalkohol in Leitungswasser benutzt. Das Ergebnis geht aus Tabelle 16 hervor. Abb. 18 zeigt die Wirkung von 1- und 2%iger Lösung im Vergleich zur Kontrolle (Leitungswasser).

Tabelle 16.

Welkewirkung alkoholischer Lösungen auf Tomaten.

Stunden	Zustand der Pflanzen				
	4%ige Lösung	3%ige Lösung	2%ige Lösung	1%ige Lösung	Kontrolle
48	stark welk	leicht welk	—	—	—
55	völlig welk, tot	stark welk	leicht welk	—	—
60	—	völlig welk, tot	leicht welk, Blätter gerollt	—	—
120	—	—	völlig welk, tot	leicht welk, Blätter etwas gerollt	leicht welk, Blätter etwas gerollt

Die gebildeten Alkoholmengen haben nach dem Versuch für die starke Welkewirkung der Kulturlösung von *Fusarium lycopersici*, die schon nach wenigen Stunden zu beobachten ist, keine Bedeutung, bei langer Versuchsdauer ist aber immerhin eine Giftwirkung zu konstatieren. Vorausgesetzt, daß der Pilz auch beim Wachstum auf Tomatenpflanzen — etwa bei Verarbeitung der Assimilate des Wirts — Alkohol bildet, ist es wohl möglich, daß die dauernde Alkoholherzeugung eine Schwächung und Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit der Wirtspflanze bedeutet.

Nach den Ergebnissen ist zu erwarten, daß das Destillat einer zwei Wochen alten Kulturlösung infolge der Alkoholbildung ebenfalls ein Welken bewirkt. Dies ist auch der Fall. Nach Ansäuerung einer vierzehn Tage alten Kulturlösung — um das Übergehen von NH_3 zu verhindern — wurde die Hälfte der Lösung abdestilliert, das Destillat auf das ursprüngliche

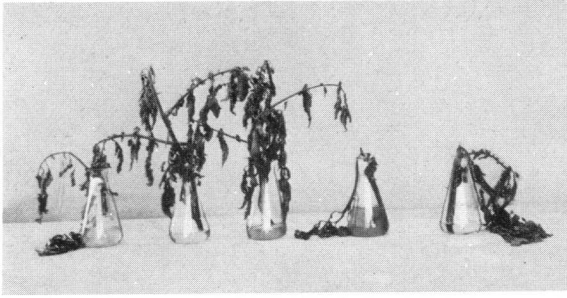


Abb. 18 a.

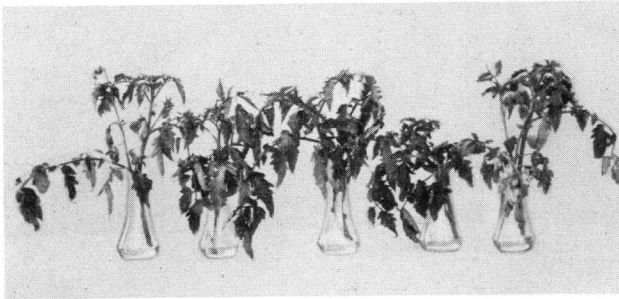


Abb. 18 b.

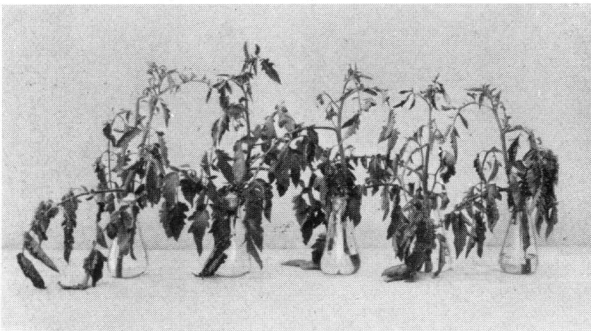


Abb. 18 c.

Einfluß alkoholischer Lösungen auf Tomaten (photographiert nach $4\frac{1}{2}$ Tagen).

- a) Einfluß einer 2% igen Lösung.
- b) Einfluß einer 1% igen Lösung.
- c) Kontrolle.

Volumen aufgefüllt und ein Welkeversuch damit ausgeführt. Die Transpiration und infolgedessen auch die Aufnahme der Lösung war während der Durchführung des Versuches infolge feuchter Witterung und mangelnden

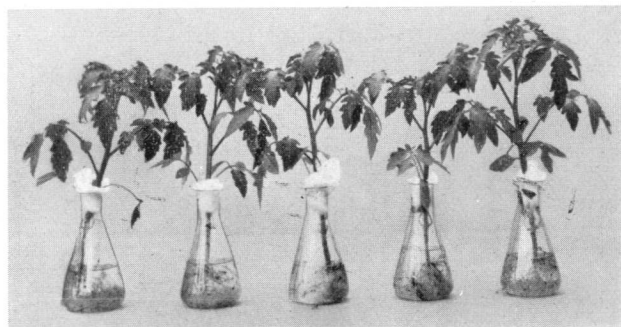


Abb. 19 a.



Abb. 19 b.

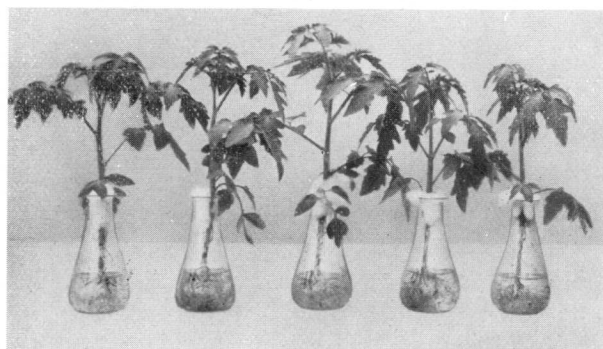


Abb. 19 c.

Wirkung des Destillats einer Kulturlösung von *Fusarium lycopersici* auf Tomaten (photographiert nach 24 Stunden).

- a) Saures Destillat.
- b) Alkalisches Destillat.
- c) Kontrolle.

Sonnenlichtes stark herabgesetzt. Trotzdem war nach drei Tagen gegenüber den Kontrollen bei sämtlichen fünf Versuchspflanzen eine deutliche Welkewirkung zu sehen. Die Giftigkeit alkoholischer Lösung und alkoholhaltigen Destillates äußert sich anders als diejenige von abfiltrierten alten Kulturlösungen. Auf Kulturlösungen wurden die Zweige und Blätter schlaff, die Stengel neigten sich. Das Welken auf Alkohollösung gleicht mehr einem Vertrocknen der Blätter und Zweige. Die Stengel bleiben dabei meist aufrecht (vgl. Abb. 17 b und Abb. 18 a).

Ein weiterer Versuch wurde ausgeführt, um die Wirkung des Destillates einer 30 Tage alten Kulturlösung zu prüfen. Zunächst wurde die Lösung mit NaOH auf den Umschlagpunkt von Phenolphthalein gebracht und die bei alkalischer Reaktion übergehenden Substanzen abdestilliert. Im Destillat finden sich auch Reste von Alkohol. Der Rückstand ($\frac{1}{2}$ des ursprünglichen Volumens) wurde wieder auf das Ausgangsvolumen aufgefüllt, mit H_3PO_4 angesäuert und nun durch Destillation der halben Flüssigkeitsmenge die sauren flüchtigen Bestandteile abgetrennt. Beide Destillate wurden auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllt und Welkeversuche damit angestellt. Die Pflanzen waren bei diesen Versuchen bewurzelt. Die Ergebnisse sind aus Abb. 19 zu entnehmen.

In saurem Destillat blieben die Pflanzen ebenso frisch wie im Leitungswasser, auch bei Ausdehnung des Versuchs auf vier bis fünf Tage. Die nach dreißig Tagen noch vorhandenen flüchtigen, organischen Säuren können also keine Welkewirkung hervorbringen. In alkalischem Destillat zeigten die Pflanzen nach 24 Stunden folgende Erscheinung: Die Stengel waren im basalen Teil ganz weich und glasig. Der obere Teil blieb ziemlich frisch, ebenso die Blätter, die nur teilweise eingerollt waren. Über die Ursache dieser Giftwirkung kann nach den Kriterien, die Mevius (1928) über Ammoniakvergiftung bei höheren Pflanzen gibt, kein Zweifel bestehen. Es handelt sich um die Wirkung von NH_3 , das bei der spezifischen Zusammensetzung unserer Nährlösung bei pH 8,5 in erheblicher Menge ins Destillat überging. Es ist möglich, daß bei ganz alten Kulturen, auch bei anderer Stickstoffquelle als Ammonnitrat, sich so viel Ammoniak in der Lösung ansammelt, daß dadurch die Giftwirkung der Lösung erhöht wird. Vielleicht ist das Ergebnis, das White (1927) bei Destillation einer sechs Wochen alten Kulturlösung erhält, auf Ammoniakwirkung zurückzuführen: "The first fraction proved highly toxic, wilting of the plants immersed in it occurring within two hours". Andere Autoren (Schaffnit und Lüdtke, 1932) stellen bei Destillaten keine Giftwirkung fest. Es ist wohl nötig, bei solchen Versuchen auf das Altersstadium der Kulturen Rücksicht zu nehmen.

Der Azidität der Nährlösung muß bei Anwesenheit von Ammonsalzen eine ausschlaggebende Rolle bei der Welkewirkung zukommen, da die Tension und damit Aufnahmegeschwindigkeit und Giftwirkung von NH_3 bei hohem

pH-Wert größer ist als bei niedrigem. Ein Versuch bestätigt dies. In eine 30 Tage alte Kulturlösung mit einem pH von 7,5 wurden bewurzelte Tomaten gestellt, eine zweite Lösung wurde vorher mit H_2SO_4 bis pH 4 angesäuert. Nach 36 Stunden waren die Pflanzen in der leicht alkalischen Lösung etwa in einem Zustand, wie diejenigen in alkalischem Destillat (vgl. Abb. 19 b), während die Pflanzen der sauren Lösung nur an den Spitzen der Blätter chlorotisch wurden, sonst aber frisch geblieben waren. Da nach Schaffnit die Azidität bei der Giftwirkung in den bei Kulturlösungen vorkommenden Grenzen keinen direkten Einfluß ausübt, so müssen wir in unserem Falle eine indirekte Wirkung des pH durch Änderung der NH_3 -Tension annehmen.

Greifen wir aus unseren Beobachtungen über Welkewirkung das Wichtigste heraus. Es ist sehr wahrscheinlich, daß das Absterben des Myzels und toxische Wirkung in engem Zusammenhang stehen, vielleicht sind ausgeschiedene Eiweißsubstanzen an der Giftwirkung beteiligt. Die Giftwirkung von Alkohol läßt sich bei 2% iger alkoholischer Lösung und bei höherer Alkoholkonzentration nachweisen. Der Alkohol kann aber nicht maßgebend an der toxischen Wirkung beteiligt sein. Bei der spezifischen Zusammensetzung unserer Lösung übt NH_3 eine Giftwirkung aus. Es ist möglich, daß bei Benutzung anderer Stickstoffquellen bei alten Kulturlösungen zu der eigentlichen Giftwirkung, die durch organische Stoffwechselprodukte verursacht wird, eine toxische Wirkung infolge Ammoniakausscheidung hinzukommt.

III. Zusammenfassung.

1. Die Änderung der Azidität in Kulturen von *Fusarium lycopersici* und *Fusarium lini* wurde ermittelt. Es sind vier Phasen des pH-Verlaufs feststellbar: 1. Rückgang des pH-Wertes von 3,9 auf etwa 3,5, 2. Anstieg von 3,5 bis etwa 7,5, 3. Rückgang bis etwa 7,2 oder Konstantbleiben, 4. Anstieg bis 8,5.
2. Die erste Phase des pH-Verlaufs ist auf Überwiegen von Anionen infolge Bildung von organischen Säuren zurückzuführen. Ein Teil der durch starke Nitrataufnahme frei werdenden Kationen wird während der zweiten Phase durch organische Säuren gebunden.
3. Die Bevorzugung von Nitratstickstoff gegenüber Ammonstickstoff führt zu einer Erhöhung des pH-Wertes während der zweiten Phase. Die Aufnahme der Aschenbestandteile hat keinen Einfluß auf die Reaktion der Lösung.
4. Aus der einseitigen Ammoniumaufnahme resultiert die dritte Phase des pH-Verlaufs.
5. Bei Eintreten von Zuckermangel werden die organischen Säuren langsam aufgebraucht, dies führt zu einer weiteren Erhöhung des

- pH-Wertes während der zweiten Phase und ist wohl auch die Ursache des letzten pH-Anstiegs, der vierten Phase.
6. Zwei Wachstumsperioden wurden festgestellt. Ein Knick in der Wachstumskurve und der Rückgang des Aschengehalts bezeichnen den Abschluß der ersten Wachstumsperiode. Er fällt mit dem Zuckerverbrauch zusammen. In der zweiten Wachstumsperiode dient Äthylalkohol als Hauptkohlenstoffquelle.
 7. Mit der Änderung der Kohlenstoffquelle ist eine Änderung der Stickstoffquelle verbunden. Stickstoffquelle während der ersten Wachstumsperiode ist Nitrat, während der zweiten Ammonium.
 8. Von den jungen Kulturen werden größere Mengen von Nitrat aufgenommen, als zum Myzelaufbau notwendig sind. Es werden erhebliche Mengen von Stickstoff wieder als NH_3 ausgeschieden. Auch andere Stickstoffverbindungen werden an die Nährlösung abgegeben; sie konnten bei den Ammon- und Nitratbestimmungen nicht miterfaßt werden.
 9. Flüchtige und nichtflüchtige organische Säuren konnten nachgewiesen werden. Die Menge der nichtflüchtigen Säuren ist am zehnten Tag nach der Impfung am größten. Als nichtflüchtige Säuren wurden in geringer Menge Oxalsäure und Weinsäure identifiziert.
 10. Die Bildung von organischen Säuren erhöht die Pufferung der Nährlösung im sauren Bezirk. Mit dem Rückgang des Säuregehalts gleicht sich auch die Pufferung wieder derjenigen der Ausgangslösung an.
 11. Als Hauptstoffwechselprodukt des Zuckerabbaus wird Äthylalkohol gebildet.
 12. In älteren Kulturen werden Eiweißverbindungen ausgeschieden. Aldehyde konnten in den Lösungen nicht nachgewiesen werden.
 13. Die wirksamsten toxischen Stoffe beim Welken sind nicht direkte Umwandlungsprodukte des Zuckerstoffwechsels, sie scheinen mit dem Absterben des Myzels in Zusammenhang zu stehen.
 14. Ammoniak, das bei der spezifischen Zusammensetzung unserer Nährlösung im alkalischen Bereich in erheblicher Menge vorhanden ist, hat starke toxische Wirkung.
 15. Äthylalkohol wirkt in Konzentrationen von 2% toxisch. Die Bildung von Alkohol könnte in der Natur wohl zu einer Schwächung der Wirtspflanze, aber kaum zum Absterben führen.

Literaturverzeichnis.

- Ahmet, H., 1933. Untersuchungen über Tracheomykosen. *Phytopathologische Zeitschrift*, **6**, S. 49.
- Anderson, A. K., 1924. Biochemistry of plant diseases. The biochemistry of *Fusarium lini*. Res. Publ. Univ. Minnesota. (Minnes. Stud. in Pl. Sc.), **5**, S. 137.
- Arrhenius, O., 1922. Hydrogen ion concentration, soil properties and growth of higher plants. *Ark. Bot.*, **18**, S. 1.
- Bach, D., 1924. Variation de la concentration des ions hydrogènes au cours de l'assimilation des sels ammoniacaux d'acides forts par *Aspergillus repens*, De Bary. *C. R. Ac. Sc.*, **178**, S. 2194.
- Bachmann, J. A., 1927. Einiges über Säuren und Aminosäuren aus Silofutter. Diss. Zürich, Weida i. Thür.
- Benecke-Jost, 1923 und 1924. Pflanzenphysiologie. Jena.
- Bewley, W. F., 1922. Sleepy disease of tomato. *Ann. Appl. Biol.*, **9**, S. 116.
- Broadfoot, W. C. and Stakman, E. C., 1926. Physiologic specialisation of *Fusarium lini*. *Phytopathology*, **16**, S. 84.
- Brown, W., 1915. Studies in the physiology of parasitism. I. The action of *Bothrytis cinerea*. *Ann. Bot.* **29**, S. 313. — 1916. III. On the relation between the infection drop and the underlying host tissue. *Ann. Bot.* **30**, S. 399. — 1917. IV. On the distribution of cytase in cultures of *Bothrytis cinerea*. *Ann. Bot.* **31**, S. 489.
- Butkewitsch, W., 1903. Umwandlung der Eiweißstoffe durch niedere Pilze und ihr Zusammenhang mit einigen Bedingungen ihrer Entwicklung. *Jahrb. wiss. Bot.*, **38**, S. 147.
- Butkewitsch, W., 1912. Das Ammoniak als Umwandlungsprodukt der stickstoffhaltigen Substanzen bei höheren Pflanzen. *Bioch. Zeitschr.* **41**, S. 431.
- Butkewitsch, W. und Butkewitsch, Wl., 1929. Über Wechselwirkungen von Ionen bei Diffusionsvorgängen. *Bioch. Zeitschr.* **204**, S. 203.
- Cohen, B. and Clark, W. M., 1919. The growth of certain bacteria in media of different hydrogen ion concentration. *Journ. Bakt.* **4**, S. 409.
- Dachnowski, A., 1914. The effects of acid and alkaline solutions upon the water relation and the metabolism of plants. *Am. Journ. Bot.* **1**, S. 412.
- Famy, F., 1923. The production by *Fusarium solani* of a toxic excretory substance, capable of causing wilting in plants. *Phytopath.* **13**, S. 543.
- Fischer, A., 1897. Vorlesungen über Bakterien. Jena.
- Fischer, E. und Gäumann, E., 1929. Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze. Jena.
- Gäumann, E., 1926. Vergleichende Morphologie der Pilze. Jena.
- Haymaker, H. H., 1928. Relation of toxic excretory products from two strains of *Fusarium lycopersici* to tomato wilt. *Journ. Agr. Res.*, **36**, S. 697.
- Hopkins, E. F., 1922. Hydrogen ion concentration in its relation to wheat scap. *Am. Journ. Bot.*, **9**, S. 159.

- Hopkins, E. F., 1921. Note on the hydrogen ion concentration of potato dextrose agar and the titration curve of this medium with lactic acid. *Phytopath.*, **11**, S. 491.
- Iljin, W. S., 1928. Die Durchlässigkeit des Protoplasmas, ihre quantitative Bestimmung und ihre Beeinflussung durch Salze und durch die Wasserstoffionenkonzentration. *Protoplasma*, **3**, S. 558.
- Kostytschew, S. und Tswetkowa, E., 1920. Über die Verarbeitung der Nitrate in organische Stickstoffverbindungen durch Schimmelpilze. *Zeitschr. physiol. Chem.*, **111**, S. 171.
- Lathrop, E. C., 1917. The generation of aldehydes by *Fusarium cubense*. *Phytopath.*, **7**, S. 14.
- Letcher, H. and Willaman, J. J., 1926. Alcoholic fermentation of *Fusarium lini*. *Phytopath.*, **16**, S. 941.
- Lüdtke, M. und Achmed, H., 1933. Über einen pflanzlichen Welkestoff. *Bioch. Zeitschr.*, **257**, S. 256.
- Lundegårdh, H., 1932. Die Nährstoffaufnahme der Pflanze. Jena.
- Labrousse et Serejanni, 1930. Recherches physiologiques sur quelques champignons parasites. *Phytopath. Zeitschr.*, **2**, S. 1.
- Mahdihassan, S., 1930. Die Wasserstoffionenkonzentration im Zellinnern von *Fusarium lini* und Hefe. *Bioch. Zeitschr.*, **226**, S. 203.
- Mevius, W., 1928. Die Wirkung der Ammoniumsalze in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration. *Planta*, **6**, S. 379.
- Mevius, W. und Engel, H., 1929. Die Wirkung der Ammoniumsalze in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration. *Planta*, **9**, S. 1.
- Michaelis, L., 1922. Monographien aus dem Gesamtgebiet der Physiologie der Pflanzen und Tiere. Bd. 1, Die Wasserstoffionenkonzentration.
- Morquer, R., 1931. Recherches morphogeniques sur le *Dactylium macrosporium*.
- Pratt, C., 1924. The staling of fungus cultures. I. General and chemical investigations of staling by *Fusarium*. *Ann. Bot.* **38**, S. 363. — II. The alkaline metabolic products and their effect on the growth of fungus spores. *Ann. Bot.* **38**, S. 599.
- Prianischnikov, D. N., 1928. Über die Ausscheidung von Ammonium durch die Pflanzenwurzeln bei Säurevergiftung. *Bioch. Zeitschr.*, **193**, S. 211.
- Reynolds, E. S., 1924. Some relations of *Fusarium lini* to potassium cyanide. *Amer. Journ. Bot.* **11**, S. 215.
- Reynolds, E. S., 1931. Studies on the physiology of plant disease. *Ann. Miss. Bot. Gard.*, **18**, S. 57.
- Ritter, G., 1909 und 1911. Ammoniak und Nitrate als Stickstoffquelle für Schimmelpilze. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.*, **27**, S. 582 und **29**, S. 570.
- Ritter, G., 1914. Ammoniumnitrat und freie Salpetersäure als Stickstoffquelle für Schimmelpilze. *Bioch. Zeitschr.*, **60**, S. 370.
- Robbins, W. J., 1923. An isoelectric point for plant tissues and its significance. *Amer. Journ. Bot.*, **10**, S. 412.
- Robbins, W. J., 1924. Isoelectric point for the mycelium of fungi. *Journ. Gen. Physiol.*, **6**, S. 259.
- Robbins, W. J. and Scott, J. T., 1925. Further studies on isoelectric points for plant tissue. *Journ. Agr. Res.*, **31**, S. 385.
- Rosen, H. R., 1926. Efforts to determine the means by which the cotton wilt fungus *Fusarium vasinfectum* induces wilt. *Journ. Agr. Res.*, **33**, S. 1143.
- Salter, R. and Mc Ilvaine, T. C., 1920. Effect of the reaction of the solutions on germination of seeds and on growth of seedlings. *Journ. Agr. Res.*, **19**, S. 73.
- Scott, I. T., 1926. Some protein analogies of the mycelium of *Fusarium lycopersici*. *Miss. Agr. Exp. St. Res. Bull.*, **92**, S. 3.

- Scott, I. T., 1929. Hydrogen ions equilibrium of mycelium mats of *Fusarium lycopersici* in salt solutions and distilled water and its correlation with the retention of acids and its relation to growth and toxicity. Am. Journ. Bot., **16**, S. 631.
- Schaffnit, E. und Lüdtke, M., 1932. Über die Bildung von Toxinen durch verschiedene Pflanzenparasiten. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., **50**, S. 444.
- Sherwood, E. C., 1923. Hydrogen ion concentration as related to the Fusarium wilt of tomato seedlings. Amer. Journ. Bot., **19**, S. 537.
- Tanja, A. E., 1933. Untersuchungen über *Gibberella Saubinetii* und die Fusariose des Weizens. Phytopath. Zeitschrift, **6**, S. 49.
- Warburg, O. und Negelein, E., 1920. Über die Reduktion der Salpetersäure in grünen Pflanzen. Bioch. Zeitschr., **110**, S. 66.
- Wardlaw, C. W., 1930. The biology of banana wilt. (Panama disease.) I. Root inoculation experiments. Ann. Bot., **44**, S. 741.
- Webb, R., 1919 und 1921. Germination of the spores of certain fungi in relation to hydrogen ion concentration. Ann. Miss. Bot. Gard., **6**, S. 201 und **8**, S. 283.
- Willaman, J. and White, G., 1928. Fermentation of pentoses by *Fusarium lini*. The Biol. Journ., **22**, S. 483.
- White, G. and Willaman, J., 1928. *Fusarium lini* and the pyruvic acid theorie of alcoholic fermentation. Bioch. Journ., **22**, S. 592.
- White, R., 1927. Tomato wilt caused by *Fusarium lycopersici*. Journ. Agr. Res. **34**, S. 197.
- Wiegner, G., 1926. Anleitung zum quantitativen agrikulturchemischen Praktikum. Berlin.
- Willstätter, R. und Schudel, G., 1918. Bestimmung von Traubenzucker mit Hypojodit. Ber. d. deutsch. chem. G., **51**, S. 780.

Lebenslauf.

Ich bin am 23. Januar 1903 als Sohn des Landwirts Christian Luz und seiner Ehefrau Marie geb. Gaiser in Walddorf, O.-A. Tübingen geboren. Nach dem Besuch der Volksschule vom siebenten bis fünfzehnten Lebensjahr wurde ich ins Lehrerseminar in Nürtingen (Württemberg) aufgenommen und legte nach sechsjähriger Ausbildung im Jahre 1924 die erste Volksschuldienstprüfung ab. Nach Ablegung einer Ergänzungsprüfung zur Erlangung der Hochschulreife wandte ich mich im Frühjahr 1926 dem Studium der Naturwissenschaften zu. Ich besuchte die Technische Hochschule in Stuttgart (vier Semester), die Universität in Kiel (ein Semester) und die Universität in Tübingen (drei Semester). Im Frühjahr 1930 legte ich die erste Dienstprüfung für das wissenschaftliche Lehramt an höheren Schulen Württembergs ab. In den folgenden beiden Jahren betätigte ich mich im Schuldienst. Im Frühjahr 1931 bestand ich die zweite Dienstprüfung für das Lehramt an höheren Schulen. Seit Mai 1932 bin ich im Institut für spezielle Botanik der E. T. H. in Zürich mit wissenschaftlichen Untersuchungen beschäftigt und habe während dieser Zeit vorliegende Arbeit ausgeführt.
