© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

tionsfähig werden, wenn sich ihre oberen Teile noch nicht oder erst wenig gekrümmt haben[1]), bis sich das Perianth zusammenzieht. Dann bewegen sich ihre unteren Teile nach innen, meist bis in eine aufrechte oder fast aufrechte Stellung, während die Krümmung ihrer oberen Teile geringer wird. Darauf verwelken sie.

---

51. M. Tswett: Physikalisch-chemische Studien über das Chlorophyll. Die Adsorptionen.

Eingegangen am 21. Juni 1906.

Es ist eine schon längst bekannte Tatsache, dass die verschiedenen als Lösungsmittel des Chlorophylls geltenden organischen Flüssigkeiten sich in sehr ungleichem Masse zur Extrahierung des Blattgrüns aus Blättern eignen. Während Alkohol oder Äther intensiv sattgrüne Auszüge liefern, geben andere Lösungsmittel, wie die Kohlenwasserstoffe der aliphatischen oder der cyklischen Reihe, auch Schwefelkohlenstoff, mehr gelbliche und überhaupt chlorophyllärmere Extrakte, selbst wenn der Extraktion getrocknetes Material unterworfen wird. Am meisten charakteristisch erweisen sich in dieser Hinsicht Petroläther und Petroleumbenzin, welche mit frischen oder bei niederer Temperatur getrockneten Blättern zusammengebracht, meistens mehr oder weniger reingelbe, durch Karotin gefärbte Auszüge geben, auf welcher Eigenschaft bekanntlich ARNAUD sein Verfahren zur Darstellung dieses Farbstoffes aus Blättern gründete.

Wenn das integrale Chlorophyll in Petroläther vollständig und reichlich löslich ist, wie allgemein angenommen, warum wird es nicht von dem genannten Lösungsmittel aus frischen oder getrockneten Blättern aufgenommen? Warum wird nur ein gelber Bestandteil herausgelöst?

Dieses für die Frage nach der physikalischen Konstitution und chemischen Zusammensetzung des Chlorophyllapparates nichts weniger als belanglose Problem bleibt aber bisher ungelöst. Dank der glänzenden Entwicklung der Chemie der Chlorophyllderivate hat man viele physiologisch weit interessantere Fragen in Vergessenheit

---

1) In den Morgenblüten werden sie im Laufe des Nachmittags konzeptionsfähig. Wenn bei heiterem, warmem Wetter die Griffel frühzeitig reichlich bestäubt werden, so beginnen sie häufig bereits zu welken, wenn sie sich erst ganz unbedeutend, oft kaum merklich gekrümmt haben. Gleichzeitig mit dem Beginne ihres Welkens beginnen die Staubgefässe ihre zweite hyponastische und der Kelch seine Schliessbewegung.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

geraten lassen. Die wenigen Forscher, welche ihre Aufmerksamkeit auf die uns beschäftigenden Erscheinungen lenkten, haben verschiedene, sich widersprechende Erklärungen vorgeschlagen, unter welchen keine als eine auf einer breiteren experimentellen Basis stehende bezeichnet werden kann.

WIESNER (1874) war wohl der erste, welcher über die abweichenden Eigenschaften des Benzols, des Toluols, des Terpentins, des Schwefelkohlenstoffes als Lösungsmittel des Chlorophylls berichtete. Der eminente Wiener Physiologe machte zugleich die Beobachtung, dass grünes Gewebe, welches mit Benzol usw. unmittelbar bearbeitet, nur eine gelbliche, schwach fluoreszierende Lösung gibt, in demselben Lösungsmittel eine prächtige Auflösung liefert, wenn es mit Alkohol durchgetränkt wird.

WIESNER erklärt sich das in der Weise, das Protoplasma sei für Benzol impermeabel und das Chlorophyll demnach diesem Lösungsmittel unzugänglich. Alkohol mache nun das Protoplasma für Benzol permeabel.

Concordante Beobachtungen machte später SACHSSE (1877, S. 9) „Da Benzol, Schwefelkohlenstoff und ätherische Öle", bemerkte er dazu, „in Wasser unlöslich oder fast unlöslich sind, so hat die genannte Massregel (Durchtränkung des Materials mit Alkohol) nur den Zweck, diesen Lösungsmitteln den Zugang zu den Chlorophyllkörnern durch Verdrängung des darin enthaltenen Wassers zu bahnen. Aus absolut trockenen Pflanzenteilen würde vermutlich die Auflösung des Blattgrüns mit Hilfe der genannten Lösungsmittel ebenso gut vonstatten gehen wie mit Alkohol."

KARL KRAUS (1875) bemerkt gleichfalls, dass Benzin aus frischen oder trockenen Blättern nur Spuren Chlorophyll auflöst; das genuine Chlorophyll sei demnach unlöslich in Benzin. Wenn das mittelst Alkohols ausgezogene Chlorophyll sich (in der GREGOR KRAUS'schen Entmischung) als in Benzin löslich erweist, so deute das auf eine chemische Veränderung des Farbstoffes unter Einfluss des Alkohols.

GUIGNET (1885) vermutet, das Chlorophyll sei in den Blättern in für Petroläther unlöslichen Hüllen eingeschlossen.

ARNAUD (1885) glaubt die elektive Herauslösung der Blätterfarbstoffe mittelst Petroläthers (aus getrocknetem Material) durch eine Art Dialyse erklären zu können, wobei das Karotin frei diffundiere, die „grüne Komponente" aber durch die zuvor im Zellsaft zur Lösung gebrachten Eiweissstoffe nach der Art der Färbereiprozesse zurückgehalten werde.

Eine der KRAUS'schen analoge, chemische Auffassung der Sache finden wir wieder bei MANN (1891) und bei MONTEVERDE (1893). Der letzte Autor erblickt das modifizierende Agens in dem Spiritus und will eine Stütze seiner Ansicht in der Tatsache finden, dass die

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

grünen BORODIN'schen Kristalle, welche er für das genuine „Chlorophyll" hält, in Petroleumbenzin (und Petroläther) unlöslich sind.[1])

Soweit mit den unser Problem betreffenden Literaturangaben. Indem ich zu der experimentellen Bearbeitung der Frage schritt, galt es mir zuerst die Einwirkung der verschiedenen indifferenten organischen Lösungsmittel auf die Blattfarbstoffe in situ näher zu prüfen.

Unter den zahlreichen benutzten Objekten erwiesen sich besonders *Plantago*-Arten und *Lamium album* als empfehlenswert. Die Zartheit der *Lamium*-Blätter und die annähernde globale Neutralität ihres Gewebesaftes stempelt dieselben zu einem überaus günstigen Objekt. (Cf. MOLISCH 1904).

Ihrem Verhalten gegen die Blattfarbstoffe nach können die geprüften Lösungsmittel in drei Gruppen verteilt werden:

1. Alkohole (Methyl-, Äthyl-, Amyl-), Aceton, Acetaldehyd, Äther, Chloroform. Diese Lösungsmittel, auf frische (zerriebene) oder trockene Bläter wirkend, lösen alle Farbstoffe gleichmässig und reichlich aus.

2. Petroläther und Petroleumbenzin. Frische, mit Sand oder Schmirgel fein zerriebene und unter dem Lösungsmittel weiter verriebene Blätter liefern mehr oder weniger reingelbe Auszüge, welche hauptsächlich durch Karotin gefärbt sind, aber auch Spuren von den anderen Farbstoffen enthalten. Das Karotin kann in dieser Weise vollständig ausgezogen werden. Getrocknete Blätter (bei niederer Temperatur!) geben ebenfalls dem Lösungsmittel ihr Karotin ab, und zwar in etwas reinerem Zustande. Gekochte oder nur bei höherer Temperatur erwärmte Gewebe liefern aber, mit den genannten Lösungsmitteln zusammengerieben, grüne Auszüge, was seine Erklärung weiter unten finden wird.

3. Benzol, Xylol, Toluol, Schwefelkohlenstoff. Sie zeigen sich in ihrer Wirkung auf die Blattfarbstoffe als zwischen den Lösungsmitteln der zwei ersten Gruppen intermediär.

Wie gesagt, werden durch Petroläther ausser Karotin nur Spuren der anderen Farbstoffe aufgelöst. Es genügt aber dem Lösungsmittel etwas abs. Alkohol (10 pCt. für frische Blätter, 1 pCt. für trockene) zuzusetzen, um sofort eine reichlich gefärbte, schön

---

1) Ich habe gezeigt (1901 I, III), dass diese Kristalle keinen genuinen Farbstoff, sondern ein eben unter andauernder Mitwirkung des Alkohols entstehendes Derivat der Chlorophylline darstellen, wie dies BORODIN (1882) selbst vermutete. Für diesen Farbstoff habe ich die Bezeichnung Metachlorophyllin vorgeschlagen. Es sei hier nochmals betont, dass ich als Chlorophyll konsequenter Weise nur das gesamte grüne Pigment der Blätter bezeichnen will und die mehr oder weniger grünen fluoreszierenden Komponenten desselben als Chlorophylline bezeichne. Es ist unerlässlich endlich zu scharfen, wissenschaftlichen Definitionen zu gelangen.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

grüne Lösung zu erhalten. Aceton oder Äther haben eine analoge Wirkung.

Durch alkoholhaltigen Petroläther kann das gesamte Chlorophyll ausgezogen werden. Worauf beruht nun diese „lösbarmachende" Wirkung des Alkohols? Da durch den reinen Petroläther die eine Komponente des Chlorophylls, das Karotin, ganz gut ausgezogen wird, so ist an die Unzugänglichkeit des Lösungsmittels zu dem Chlorophyll nicht zu denken. Eine chemische Einwirkung des Alkohols ist hier ebenfalls ausgeschlossen, wie aus den folgenden Versuchen erhellt. Frische Blätter werden mit Schmirgel zerrieben und der erhaltene Brei mit etwas 40prozentigem Spiritus versetzt. Wird nun das Material sogleich mit Petroläther behandelt, so gibt es eine grüne Lösung ab, wird es aber bei 45° getrocknet, so erhält man mittelst Petroläthers nur die gewöhnliche gelbe Karotinlösung. Der Alkohol muss demnach einfach durch seine Anwesenheit wirken, physikalisch, und nicht chemisch. Und tatsächlich lassen sich die betreffenden mittelst Alkohols ausgezogenen, in reinem Petroläther nachweisbar löslichen Farbstoffe von neuem in diesem Lösungsmittel unlösbar machen.

Meine ersten diesbezüglichen Versuche (1901, III) gestalteten sich folgendermassen. Alkohol - Petrolätherlösung des Chlorophylls wurde in Kolben gegossen, mit einigen Streifen Filtrierpapier beschickt und das Lösungsmittel in vacuo abdestilliert, wobei das Pigment dem Papier einverleibt wird. Dies trockene grüne Papier verhält sich nun den Lösungsmitteln gegenüber ganz wie das grüne Blatt, und reiner Petroläther nimmt nur Karotin auf, während eine Zugabe von Alkohol eine sofortige Entfärbung des Papieres bewirkt.

Die im Anfange dieses Aufsatzes erwähnten, bisher rätselhaft gebliebenen Erscheinungen beruhen demnach auf der Adsorption der Farbstoffe, auf der mechanischen, molekularen Affinität der Stoffe zum Chloroplastenstroma, welche wohl durch Alkohol, Äther usw., nicht aber durch Petroleumkohlenwasserstoffe überwältigt wird. Tritt aber das Pigment ausser dem Bereich der Molekularkräfte, wie z. B. beim Abkochen oder Erwärmen der Gewebe — wobei bekanntlich aus den Chloroplasten kleine grüne Tropfen hervorquellen (cf. TSWETT 1900), so löst sich der Farbstoff leicht in Petroläther, und man erhält dabei sattgrüne Auszüge.

Aus dem Vorhergesagten folgt, dass das Chlorophyll unmöglich in Form von mikroskopisch definierbaren Grana in Chloroplasten eingelagert sein kann, es müssten denn die Grana selbst ein unlösliches adsorbierendes Substrat besitzen. Übrigens ist die Granatheorie auch mikrographisch nicht zureichend begründet (cf. TSCHIRCH 1884, TSWETT 1896, 1901, III).

Es war oben gesagt, dass die dem Filtrierpapiere einverleibten

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Chlorophyllfarbstoffe (Karotin ausgenommen) von dem Substrat in Petroläther adsorptionsartig festgehalten werden. Umgekehrt werden, wie zu erwarten war, durch Filtrierpapier die betreffenden Farbstoffe ihrer Petrolätherlösung entrissen. Nicht nur aber Cellulose, sondern alle in Petrolkohlenwasserstoffen unlöslichen festen Körper adsorbieren das Chlorophyll, und wenn in feinem pulverförmigen Zustande angewandt, entfärben dessen Petrolätherlösungen teilweise oder vollständig (TSWETT 1903). Ich habe in dieser Hinsicht mehr als hundert den verschiedenen Gruppen des chemischen Systems angehörende Substanzen untersucht und immer mit prinzipiell gleichem Resultat. Ich lasse hier eine kurze Übersicht der geprüften Körper folgen.

Einfache Körper (S, Si, Zn, Fe, Al, Pb, Sb); Oxyde (SiO_2, MgO, MnO_2, PbO, Sb_2O_3, Fe_2O_3, Ag_2O, HgO, U_3O_8); Hydroxyde ($B(OH)_3$, $NaOH$, $Ba(OH)_2$, $Al(OH)_3$); anorganische Chloride (Na, K, NH_4, Ca, Mg, Al, Fe, Co, Cu, Hg); Chlorate (K, Ba); Kaliumbromid, Kaliumjodat; Nitrate (K, Ca, Ba, Pb, Ag, Cu, U); Phosphate (K, Na, NH_4, Fe); Sulfide (K, Hg); Sulfite (Na); Sulfate (K, Ca, Mg, Ba, Zn, Fe, Mn, Cu); Carbonate (Na, K, Ca, Mg, Fe); Silikate (K, Asbest), Ammoniummolybdat, Kaliumpermanganat, Ferricyankalium und Ferrocyankalium, Oxalsäure, Weinsteinsäure, Zitronensäure, Chinasäure, Gerbsäure, Harnsäure, Pikrinsäure, Phenolphtaleïn, Oxalate (NH_4, Mn); Acetate (Pb, Cu); Amide (Harnstoff, Asparagin), höhere Alkohole und Kohlenhydrate (Mannit, Dulcit, Saccharose, Galaktose, Inulin, Dextrin, Amylose); Proteinstoffe (Ovalbumin, Pepton, Hämoglobin), Trioxymethylen, Chloralhydrat, Hydrochinon, Resorcin, Pyrogallol, Anilinfarbstoffe (Gentianaviolett, Chrysoïdin u. a.), endlich eine Reihe chemisch nicht definierter Substanzen (Knochen- und Blutkohle, Ackererde, Kieselguhr).

Von den angeführten Substanzen vermögen einige auch das Karotin aus seiner Petrolätherlösung niederzureissen ($HgCl_2$, $CaCl_2$, PbS u. a.). Viele Körper wirken auf die von ihnen adsorbierten Farbstoffe zersetzend. Einige z. B. (MnO_2, $KMnO_4$, U_3O_8) zerstören vollständig das Chlorophyll, offenbar durch Oxydation. Wieder andere wirken auf die Chlorophylline nach der bekannten Art der Säuren; das sind zuerst natürlich die meisten angeführten Säuren, saure Salze und viele neutrale Salze, deren wässerige Lösungen aber hydrolytisch eine saure Reaktion annehmen. Es ist hier nicht der Ort, auf die Art und Weise dieser chemischen Einwirkungen näher einzugehen. Es soll aber die Methodik der Adsorptionsversuche und deren analytische Verwendung näher besprochen werden. Um sich eine Petrolätherlösung des Chlorophylls zu verschaffen, verfährt man

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

am besten folgendermassen. Frische Blätter (am besten *Lamium*) werden im Mörser mit feinem Schmirgel zerrieben und weiter mit alkoholhaltigem Petroläther (10 pCt.) ausgezogen. Die grüne Lösung wird mehrmals mit dem doppelten Volumen Wasser im Scheidetrichter unter fortwährendem Umrühren ausgewaschen.

Da Alkohol grössere Lösungsaffinität für Wasser als für Petroläther besitzt, so kann er auf diese Weise praktisch vollständig aus der Chlorophylllösung entfernt werden. Die ausgewaschene, für gewöhnlich etwas trübe grüne Lösung wird nun durch Zentrifugieren oder mittelst Filtration geklärt und eignet sich jetzt zu den Adsorptionsversuchen.[1])

Als passendste Adsorptionsmittel sind gefälltes Calciumcarbonat, Inulin oder Saccharose (Zuckerpuder) zu empfehlen.

Wird nun die petrolätherische Chlorophylllösung mit dem Adsorptionsmittel zusammengeschüttelt, so reisst das letztere die Farbstoffe nieder, und bei einem gewissen Überschuss desselben bleibt nur Karotin in der Lösung, welches der Adsorption entgeht. Man erhält in dieser Weise einen grünen Niederschlag und eine reingelbe, fluoreszenzlose Karotinlösung (Prüfung der Fluoreszenz in meinem Luminoskop [1901, II und 1906]). Diese Karotinlösung zeigt in ihrem Spektrum die Absorptionsbänder 492—475 und 460—445 $\mu\mu$. Wird sie mit 80prozentigem Alkohol ausgeschüttelt, so bleibt die untere, alkoholisch-wässerige Phase vollständig farblos.

Der grüne Niederschlag wird nun auf das Filter gebracht und mit Petroläther behufs Entfernung der letzten Spuren Karotin sorgfältig ausgewaschen. Die abfiltrierende gelbe Flüssigkeit kann man momentan mittelst Knochenkohle regenerieren. Jetzt wird der Niederschlag mit alkoholhaltigem Petroläther behandelt, worin er sich vollständig entfärbt, und man erhält eine schön grüne Lösung, welche nun nach KRAUS mit 80prozentigem Alkohol entmischt werden kann. Die petrolätherische Phase, blaugrün tingiert, enthält hauptsächlich die Chlorophylline, während in den unteren gelben Phasen vornehmlich die Xanthophylle enthalten sind.

Wird der Petrolätherlösung des Chorophylls das Adsorptionsmittel nicht im Überschuss, sondern portionsweise bis zum Verschwinden der Fluoreszenz zugesetzt, so bleiben dann in Lösung neben Karotin auch Xanthophylle. Dieselben können von dem Karotin befreit werden, indem man die abgegossene Lösung wieder mit dem Adsorptionsmittel behandelt und aus der sich bildenden

1) In etwas einfacherer Weise kann man sich eine passende Lösung bereiten indem man die Blätter zuvor auf einige Minuten in warmes (70—80°) Leitungswasser legt und dann, nach der Zerreibung, mit reinem Petroläther extrahiert. Es treten aber dann in den Lösungen einige hier nicht zu erörternde Derivate der Chlorophylline auf.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

sind noch geteilt, doch herrscht darüber wohl ziemlich Einigkeit, dass vorwiegend pflanzliche Parasiten eine Rolle als Erreger spielen, wenn auch jedenfalls äussere Umstände wie Witterung und Bodenbeschaffenheit von grossem Einfluss sind. Da für eine rationelle Bekämpfung die gründliche Kenntnis der Krankheit unerlässlich ist, war mir in erster Linie daran gelegen, über Ursachen und Verlauf der Wurzelbranderkrankungen Klarheit zu gewinnen.

Zunächst wurden *Pythium de Baryanum* Hesse und *Phoma betae* Frank, zwei Pilze, die allgemeiner als Erreger des Wurzelbrandes angesehen werden, auf ihre ursächliche Bedeutung für die Entstehung dieser Krankheit untersucht.

RUDOLF HESSE[1]) hatte 1872 gefunden, dass *Pythium de Baryanum* die jungen Keimlinge von *Camelina sativa*, *Trifolium repens*, *Spergula arvensis* und *Panicum miliaceum* zum Absterben bringen und diejenigen von *Zea Mays* wenigstens krank machen kann. Bei *Camelina sativa* beobachtete er auf dem Objektträger im Wasser das Eindringen des vegetativen Mycels und der Keimschläuche der Zoosporen und Conidien in kräftige junge lebende Pflanzen, bei den anderen Arten scheint er sich auf die Infektion mittels kranker Erde und auf den mikroskopischen und kulturellen Nachweis des Pilzes im erkrankten Gewebe beschränkt zu haben. Da HESSE die Rübe nur im Titel erwähnt, hat er sie vermutlich zu spät in den Kreis seiner Untersuchungen gezogen, um noch im Text über sie berichten zu können. Aber auch für den Fall, dass seine Untersuchungsmethode hier dieselbe gewesen ist, wie die bei *Camelina sativa* angewandte, HESSE also bei der Rübe nicht nur den Parasiten mikroskopisch und kulturell im Gewebe der erkrankten Pflanze nachwies, sondern auch das Eindringen des Pilzes in die Rübenpflänzchen beobachtend verfolgte, schien es mir doch wichtig zu sein, unter natürlichen Bedingungen Infektionsversuche mit Reinkulturen des Pilzes zu machen. Während ich noch versuchte, nach dem von TROW[2]) angegebenen Verfahren aus kräftig entwickeltem Luftmycel des Pilzes zu Reinkulturen zu gelangen, wurde ich durch Herrn Professor G. BERTHOLD auf die Erfolge, die er nach der Methode von G. KLEBS[3]) mit der Kultur verwandter Saprolegnieen auf Neutralgelatine erzielt hatte, aufmerk-

---

1) *Pythium de Baryanum*, ein endophytischer Schmarotzer in den Geweben der Keimlinge der Leindotter, der Rüben, des Spergels und einiger anderer landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. (Inaug.-Diss. von Göttingen.) Halle a. S. 1874. Vgl. a. LOHDE in Tageblatt der 47. Naturforscherversammlung 1874 und DE BARY in Botan. Zeitg. 1881, S. 528f.

2) A. H. TROW, Observations on the biology and cytology of *Pythium ultimum* n. sp. Annals of Botany 1901, S. 269.

3) G. KLEBS, Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 33, S. 514.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

sam gemacht und fand bald, dass die Reinkultur nach diesem Verfahren überraschend gut gelingt. Bringt man ein kleines Stück eines *Pythium* enthaltenden Rübenpflänzchens auf neutrale Fleischpeptongelatine, so wächst der Pilz so kräftig, dass er schon nach einem Tage aus dem Bereich der sich gleichzeitig bildenden Bakterienkolonien herausgewachsen ist. Durch wiederholtes Überimpfen lässt sich dann eine von Bakterien vollkommen freie Kultur erhalten. Die mikroskopische Untersuchung solcher Kultur zeigt ferner, dass sie auch frei von Pilzen mit septiertem Mycel ist; nur bleibt die Möglichkeit bestehen, dass ein gleich schnell wachsender verwandter Pilz mit unseptiertem Mycel als Verunreinigung in der Kultur vorhanden wäre. *Pythium de Baryanum* fruktifiziert nämlich weder direkt auf neutraler Fleischpeptongelatine, noch bildet es dann normale Früchte, wenn ein den Pilz tragendes Stückchen dieses Nährbodens ins Wasser gebracht wird. Dagegen bildet es sehr bald, nach drei oder vier Tagen, normale Conidien, Oogonien mit Antheridien und Oosporen, wenn der auf sterilisierten Rübenblattstielen kultivierte Pilz in Wasser gebracht wird. Durch Isolation einer so gewonnenen Conidie oder durch die Verdünnungsmethode auf Gelatineplatten, gelangt man dann leicht zu einer Reinkultur des Pilzes.

Alle meine Infektionsversuche wurden in Blumentöpfen ausgeführt, die 7—8 *kg* Erde des Dahlemer Versuchsfeldes enthielten und mit Inhalt an 2—3 auf einander folgenden Tagen etwa eine Stunde auf ca. 120° C. im Autoklaven gehalten waren. Die Sterilisation des Saatgutes, von dem nur grössere Knäule verwandt wurden, geschah in der Weise, dass die Saat $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunde in einem geschlossenen Glasgefässe mit 25prozentiger Salzsäure behandelt, dann mit sterilisiertem Wasser ausgewaschen, der anhaftende Rest der Säure mit sterilisierter Kalkmilch abgestumpft und diese mit sterilisiertem Wasser sorgfältig ausgewaschen wurde.[1])

Zur Infektion mit *Pythium* wurde eine zahllose Conidien und Oosporen enthaltende Reinkultur in sterilem Wasser aufgeschwemmt und hiermit Mitte Februar dieses Jahres ein Teil der im geschlossenen, geheizten Vegetationshaus befindlichen Töpfe am Tage der Aussaat gegossen und andere gleichzeitig mit Mycel geimpft. Das Wachstum in den 6 Kontrolltöpfen war gut; es wurden am neunten Tage im Mittel 87 gesunde Pflanzen pro Topf gezählt. Dagegen lief auf allen acht infizierten Töpfen überhaupt keine Pflanze auf, und die Untersuchung zeigte, dass die Rübensamen zum Teil bereits in den Knäueln, bei einer Länge der Radicula von etwa $^1/_2$ *cm* zu Grunde gegangen waren. Drei der Kontrolltöpfe wurden

1) Vgl. A. MAASSEN, Über Gallertbildungen in den Säften der Zuckerfabriken. Arb. a. d. Biol. Abt. f. Land. u. Forstwirtsch. am K. Ges.-A., Bd. V, Heft 1, S. 28.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

an diesem Tage mit frisch gezüchtetem Mycel geimpft, worauf noch ein grosser Teil der Pflanzen ebenfalls zu Grunde ging. Zwei weitere Reihen von Topfversuchen wurden Anfang Mai und Anfang Juni im Freien, also unter mehr normalen Verhältnissen, angestellt. Beide bestätigten das zuerst erhaltene Resultat, dass *Pythium de Baryanum* Hesse junge Rübenpflänzchen vor dem Auflaufen abzutöten und auch noch bei späterer Infektion junge kräftig entwickelte Pflanzen zu infizieren und einen Teil zu Grunde zu richten vermag.

Als zweiter Erreger des Wurzelbrandes wurde zuerst von FR. KRÜGER[1]) *Phoma betae* Frank aufgeführt. KRÜGER zeugte die Anwesenheit dieses Pilzes auf wurzelbrandigen Rübenpflanzen dadurch, dass er auf ihnen, nachdem sie längere Zeit auf feuchtem Filtrierpapier gelegen hatten, *Phoma*-Pykniden nachwies.

Da der von ihm beschriebene Infektionsversuch[2]) mit Rohkulturen und nicht mit Reinkulturen, auch nicht mit sterilisiertem Saatgut angestellt worden war, die Gegenwart von *Phoma betae* auf wurzelbrandigen Rübenpflanzen aber sehr oft festgestellt werden kann, erschien es angebracht, auch mit Reinkulturen von *Phoma betae* Infektionsversuche auszuführen. Dieser Pilz lässt sich leicht aus Sporen auf sauren Gelatinenährböden in Reinkultur erhalten und bildet nach Verlauf von etwa 14 Tagen auf ausgewachsenen sterilisierten Rübenblattstielen zahllose Pykniden mit reifen, gut keimungsfähigen Sporen. Der erste Infektionsversuch wurde Mitte März im geschlossenen Vegetationshause in der Weise durchgeführt, dass gleichzeitig mit der Aussaat reichhaltige Aufschwemmungen von Sporen auf die Erde gegeben wurden. Für diese erste Versuchsreihe wurden vier Kulturen verschiedener Abstammung benutzt, von denen zwei aus Pykniden stammten, die 1905 auf trockenfaulen Rüben verschiedener Herkunft gefunden waren, eine weitere von Blattflecken und die letzte endlich von einem wurzelbrandigen Keimpflänzchen gewonnen war. Der Erfolg der Impfung war, dass in feuchter Atmosphäre, besonders unter der Glasglocke, die Pflanzen zwar meist aufliefen, aber im Verlauf einer weiteren Woche unter vollständiger Fäulnis zu Grunde gingen.

Im Juni wurden diese Topfversuche unter natürlichen Feuchtigkeits- und Temperaturverhältnissen im Freien wiederholt. Hierbei ging zwar nur eine geringe Zahl der Pflanzen kurz nach dem Auflaufen zu Grunde, die übrig bleibende Mehrzahl aber wies eine bis

1) FR. KRÜGER, *Phoma betae* (Frank) als einer der Erreger von Wurzelbrand der Rübenpflanze. Zeitschr. des Vereins f. d. Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reiches 1893.

2) Derselbe, Weitere Untersuchungen über die neue Krankheit der Zuckerrübe, verursacht durch *Phoma betae* (Frank). Ebenda 1893.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

1 *cm* lange, meist mit Einschnürung verbundene Bräunung des untersten nicht aus der Erde ragenden Teils des Hypocotyls, also eins der typischen Krankheitsbilder des Wurzelbrandes auf. Die Kontrollpflanzen waren ausnahmslos gesund.

Dieses Resultat steht also in Übereinstimmung mit den von LINHART[1]) erhaltenen Ergebnissen, nach welchen im Keimbett, also bei grosser Feuchtigkeit, die jungen Rübenpflänzchen durch *Phoma betae* zu Grunde gehen können. HILTNER und PETERS[2]) waren dagegen zu anderen Resultaten gelangt, die allerdings bei wesentlich verschiedener Versuchsanordnung gewonnen waren. Welche Umstände diese entgegengesetzten Resultate hervorgerufen haben, lässt sich nachträglich im Einzelfalle kaum noch feststellen. Aus den eben beschriebenen neuen Versuchen geht jedenfalls mit Sicherheit hervor, dass *Phoma betae* Frank als ein obligater Wurzelbranderreger anzusehen ist.

Bei der kulturellen Untersuchung von hier eingelaufenen wurzelbrandigen Pflanzen fand ich bei einer nicht unbeträchtlichen Anzahl weder *Pythium de Baryanum*, noch *Phoma betae*, dagegen einen der Saprolegnieengattung *Aphanomyces* angehörigen Pilz. Es gelang mir, diesen im Vergleich mit *Pythium* auf Gelatine- und Agar-Nährböden ziemlich langsam wachsenden Pilz auf schwach saurer Fleischpeptongelatine nach der für *Pythium* beschriebenen Methode in Reinkultur zu gewinnen. Der Pilz, dessen Lebensbedingungen noch nicht genauer untersucht sind, wächst am besten auf neutralen Nährböden und hält sich wie *Pythium* am längsten in dem ebenfalls schon von KLEBS[3]) für Saprolegnien benutzten Erbswasser.

Zu der von DE BARY[4]) aufgestellten Gattung *Aphanomyces* werden fünf Arten gerechnet, von denen zwei für Algen parasitär sind, *A. phycophilus* de Bary und *A. norvegicus* Wille,[5]) während die andern drei bis jetzt nur als Saprophyten bekannt sind. Vier dieser Arten haben Oogonien mit höckeriger oder stacheliger Oberfläche, nur eine, *A. laevis* hat vollkommen glatte Oogonien. In Aussehen und Grösse der Oogonien, dem einzigen von DE BARY angeführten Bestimmungs-

1) LINHART, Krankheiten des Rübensamens. Österreichisch-Ungarische Zeitschrift f. Zuckerindustrie und Landwirtschaft XXVIII, 1899, S. 15. LINHART und HEGGI, Krankheiten des Rübensamens. Ebenda S. 145.

2) HILTNER und PETERS, Untersuchungen über die Keimlingskrankheiten der Zucker- und Runkelrüben. Arb. aus d. Biolog. Abt. des Kais. Ges.-Amtes, Bd. IV, 1904, S. 240. Siehe auch PETERS, Zeitschr. des Vereins der D. Zuckerindustrie 55, S. 165.

3) Vgl. KLEBS, a. a. O.

4) ANTON DE BARY, Einige neue Saprolegnieen. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik. II. S. 169.

5) N. WILLE, Om nogle Vandsoppe. Skrifter udgivne af Videnskapselskabet i Christiania 1899 No. 3.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

merkmale, stimmt diese Art mit dem von mir aus wurzelbrandigen Rüben isolierten Pilz überein, sodass ich, da auch sonst Unterschiede bisher nicht zu konstatieren waren, nicht zögere, ihn als *Aphanomyces laevis de Bary* anzusprechen. Im Juni unter den erwähnten Kautelen mit Reinkulturen des Pilzes angestellte Infektionsversuche hatten positiven Erfolg. Bei Impfung am Tage der Aussaat ging ein beträchtlicher Teil der Pflanzen im jüngsten Entwickelungszustande, noch bevor die Kotyledonen aus der Samenhöhle herausgekommen waren, ähnlich wie bei *Pythium*-Infektion zugrunde. Ein anderer Teil starb noch ab, nachdem die Pflanzen ihre Kotyledonen entfaltet hatten, und nur ein kleiner Rest überstand die Krankheit. Ebenso führte eine kurz vor dem Auflaufen der Rübenpflänzchen bewirkte Impfung noch zu einer Erkrankung, die vielfach den Tod zur Folge hatte. Die Kontrolltöpfe zeigten nur gesunde, üppig entwickelte Pflanzen. Aus den Ergebnissen dieser Versuche und dem häufigen Vorkommen des Pilzes im Gewebe kranker Rübenpflänzchen muss daher geschlossen werden, dass auch *Aphanomyces laevis* de Bary zu den Erregern des sog. Wurzelbrandes der Zuckerrüben zu zählen ist.

Der mikroskopische Nachweis der pilzlichen Parasiten in den dem Boden frisch entnommenen kranken Pflanzen gestaltete sich bisher, da Fruktifikationsorgane sehr häufig nicht aufzufinden sind, das Aussehen der Mycelien aber brauchbare Handhaben zur Bestimmung der Pilze nicht liefert, meist recht unsicher. Dagegen gelingt es leicht, die genannten Pilze in verhältnismässig kurzer Zeit zur Bildung ihrer charakteristischen Fruktifikationsorgane zu veranlassen, indem man die kranken Pflanzen für einige Zeit mit Wasser bedeckt hält. Nach verschiedenen Vorversuchen erwies sich das folgende Verfahren, dem die von HESSE angewandte Methodik zugrunde liegt, nicht nur für den Nachweis von *Pythium*, sondern auch für den der beiden anderen Pilze als das brauchbarste. Die Rübenpflänzchen werden zunächst unter der Wasserleitung kräftig abgebraust und darauf einzeln wiederholt in sterilisiertem Wasser abgewaschen. Alsdann wird je eine Pflanze, wenn nötig, nach Kappen der Blätter, in einer sterilisierten Petrischale mit sterilem Wasser eben bedeckt.

Pythium de Baryanum pflegt bei dieser Versuchsanordnung bereits nach 3—4 Tagen auch ausserhalb des Gewebes Conidien, Oogonien mit Antheridien und Oosporen, selten aber Zoosporangien mit Zoosporen zu bilden. Bei Gegenwart von *Phoma betae* finden sich auf jungen Pflanzen schon nach einigen Tagen, auf älteren oft erst nach 2—3 Wochen Pykniden. *Aphanomyces laevis* ist oft schon nach 24 Stunden, bei älteren ausheilenden Pflanzen meist nach einigen Tagen an der Bildung zahlreicher ins Wasser ragender Zoosporangien mit ruhenden, ausschwärmenden oder keimenden Zoosporen zu er-

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

kennen, während im Gewebe des Hypokotyls, seltener in anderen Teilen der Pflanze, Oogonien und reife Oosporen nachzuweisen sind. Da an eingesandten Pflanzen Mischinfektionen mehrfach zur Beobachtung kamen, wurden natürlich die nass gelegten Rüben so lange Zeit beobachtet, bis über das Vorhandensein oder Fehlen jedes der drei Erreger Klarheit geschaffen war. Nach diesem Verfahren sind im Mai und Juni d. J. in dem Herrn Regierungsrat BUSSE unterstellten Laboratorium über 800 aus den verschiedensten Teilen Deutschlands stammende Rübenpflanzen untersucht und zwar mit dem befriedigenden Ergebnis, dass bis auf wenige Ausnahmefälle der Erreger der Krankheit festgestellt werden konnte.

Zur Beurteilung dieser Ausnahmefälle ist zu bemerken, dass sie sich entweder auf Pflanzen bezogen, deren geringfügige Krankheitssypmtome die Zugehörigkeit zum Wurzelbrand ohnehin zweifelhaft erscheinen liessen, oder auf sichtlich in Ausheilung begriffene Pflanzen, die das kranke Rindengewebe bereits zum grossen Teil abgestossen hatten. Trotzdem besteht die Möglichkeit, dass mit den hier genannten drei Pilzen die Liste der Wurzelbranderreger nicht abgeschlossen ist, und dass noch andere Parasiten in Frage kommen, die sich bisher der Beobachtung entzogen haben.[1]) Es mag noch bemerkt werden, dass die hier genannten drei Parasiten bisweilen auf einem und demselben Felde neben und miteinander ihre schädlichen Wirkungen ausübten, während an anderen Orten nur zwei von ihnen oder gar nur einer als Wurzelbranderreger in Kraft treten.

Die Untersuchungen über die Wurzelbranderkrankungen der Zuckerrübe und die Versuche zu ihrer Bekämpfung werden von seiten unseres Laboratoriums fortgesetzt und eine ausführliche Arbeit über die Gesamtergebnisse wird in den „Arb. aus der Kais. Biol. Anst." erscheinen.

Kais. Biologische Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. Dahlem, Juni 1906.

---

1) J. BRZEZINSKI spricht in einer uns soeben zugegangenen Arbeit (*Myxomonas betae*, parasite des betteraves. Extrait du bullet. de l'Acad. des sciences de Cracovie. Cl. des sciences mathém. et nat. Séance du 5 mars 1906) die Ansicht aus, dass die von ihm gefundene *Myxomonas betae* nov. sp. der alleinige Erreger des Wurzelbrandes und auch der Herz- und Trockenfäule der Zuckerrübe sei und dass die anderen, bisher als Erreger angesprochenen Pilze nur als „Schwächeparasiten" aufzufassen seien.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft

Jahr/Year: 1906

Band/Volume: 24

Autor(en)/Author(s): Tswett (Zwet) Michail Semjonowitsch

Artikel/Article: Physikalisch-chemische Studien über das Chlorophyll. Die Adsorptionen. 316-329