

### 73. G. Ritter: Ammoniak und Nitrate als Stickstoffquelle für Schimmelpilze.

(Eingegangen am 12. Dezember 1909.)

Wenn man die Verwertung des Ammoniak- und Nitratstickstoffs durch Schimmelpilze einer vergleichenden Prüfung unterziehen will, so ist es durchaus nicht gleichgültig, welches Ammonsalz zu diesen Versuchen genommen wird. BUTKEWITSCH<sup>1)</sup> und später NIKITINSKY<sup>2)</sup> haben gezeigt, daß *Aspergillus niger* sich auf Ammonsulfat besser entwickelt als auf Ammonchlorid oder -nitrat. Diese Resultate lassen es schon vermuten, daß Ammonsalze schwächerer Mineralsäuren (z. B. Ammonphosphat) noch günstiger als Ammonsulfat wirken müssen. Das trifft in der Tat sowohl für *Aspergillus niger*<sup>3)</sup> als auch für andere Pilze, z. B. verschiedene Mucoraceen zu<sup>4)</sup>. Diese Tatsache ist in den Arbeiten, welche der Frage über die Nitratassimilation der Pilze gewidmet sind, nicht berücksichtigt, was übrigens sehr natürlich ist, da diese Arbeiten bedeutend früher als die oben zitierten Untersuchungen erschienen sind,

LAURENT<sup>5)</sup>, welcher diese Frage am eingehendsten untersucht hat, benutzte als Stickstoffquelle nur Ammonsulfat und Natriumnitrat und fand dabei, daß einige Pilze (*Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, Hefearten) auf Ammonsulfat, andere dagegen (*Cladosporium herbarum*, *Mucor racemosus*, *Aspergillus glaucus*, *Alternaria tenuis*) auf Natriumnitrat eine größere Ernte liefern. So richtig es ist, den Pilzen der ersten Gruppe ein besseres Assimilationsvermögen für Ammoniak- als für Nitratstickstoff zuzuschreiben, so falsch ist es andererseits, auf Grund der LAURENT'schen Versuche die Repräsentanten der zweiten Gruppe direkt als „Nitratpilze“ zu bezeichnen<sup>6)</sup>. Meine weiter angeführten Versuchsergebnisse zeigen

1) Jahrb. f. wissenschaft. Bot. **38**, 212, 1902.

2) Jahrb. f. wissenschaft. Bot. **40**, 12—20, 1904; vgl. auch KOHN und CZAPEK, HOFMEISTERS Beitr. z. chem. Phys. VIII, 302, 1906.

3) BUTKEWITSCH, Biochemische Zeitschr. **16**, 439, 1909.

4) G. RITTER, Über die Einwirkung von Salz- und Säurelösungen auf einige Schimmelpilze. Moskau 1908 (russisch). S. 117—128.

5) Ann. de l'Inst. PASTEUR **II**, 593, 1888, und **III**, 362, 1889.

6) Vgl. JOST, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie 1908, S. 208, wo auch die von WENT untersuchte *Monilia candida* aus gleichen Gründen zu den Nitratpilzen gerechnet wird.

vielmehr, daß hier im günstigsten Falle nur von einer gleich guten Verwertung beider Stickstoffquellen, nicht aber von einer ausgesprochenen Vorliebe für Nitrate die Rede sein kann.

Da ich bei meiner Versuchsanstellung von der Tatsache ausgegangen bin, daß die von BUTKEWITSCH für *Aspergillus niger* aufgestellte Regel sich auch auf andere Pilze ausdehnt, so möchte ich zunächst meine diesbezüglichen Erfahrungen mitteilen. In meiner oben erwähnten Arbeit „Über die Einwirkung von Salz- und Säurelösungen“ usw. habe ich gezeigt, daß das Trockengewicht von *Thamnidium elegans*, *Mucor spinosus*, *Mucor racemosus* und *Rhizopus nigricans* bei der Kultur auf Traubenzuckerlösungen mit anorganischen Ammonsalzen eine regelmäßige Abnahme in der Reihe Ammonphosphat, -sulfat und -chlorid zeigt. In der Tabelle I sind die Resultate einer neuen Versuchsserie angeführt, in welche *Mucor racemosus*, *Thamnidium elegans*, *Mucor mucedo* und *Rhizopus nigricans* aufgenommen sind. Die drei letzteren unterscheiden sich von *Mucor racemosus* und den weiter zu behandelnden Objekten dadurch, daß die Fähigkeit, Nitrate zu assimilieren, ihnen so gut wie ganz abgeht. Auf einer 5 proz. Traubenzuckerlösung mit Mineral-salzen und 1 pCt.  $\text{KNO}_3$  entwickeln sie sich nur äußerst schwach und liefern z. B. nach 20tägiger Kultur auf 50 ccm Kulturflüssigkeit folgendes Trockengewicht:

<i>Thamnidium elegans</i> . . . . .	0,0002 g
<i>Mucor mucedo</i> . . . . .	0,0010 „
<i>Rhizopus nigricans</i> . . . . .	0,0018 „

Beim Vergleich der verschiedenen Ammonsalze verfuhr ich folgendermaßen: als Kohlenstoffquelle wurde reinster Traubenzucker (5 proz.) genommen, die Ammonsalze in einer 1 proz.  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  äquivalenten Menge (d. h. ca. 212 mg N auf 100 ccm) eingeführt; außerdem enthielt die Lösung 0,1 pCt.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,05 pCt.  $\text{MgSO}_4$  und eine Spur  $\text{Fe}_2\text{Cl}_6$ .

Diese Nährlösung wurde in ca. 200 ccm fassende ERLLENMEYER-Kolben (aus Jenaer Glase) zu je 50 ccm verteilt, sterilisiert und mit Sporen aus Agarreinkulturen der entsprechenden Pilze beimpft. Von jedem Pilz wurden zwei Parallelkulturen angesetzt. Die Kulturen verblieben 20 Tage lang im Thermostaten bei 23 bis 25° C, dann wurde die Kulturflüssigkeit abfiltriert und ihre Azidität durch Titration (Indikator: Methylorange) bestimmt und das Trockengewicht des Mycels auf übliche Weise ermittelt.

Das Trockengewicht des Mycels ist in der Tabelle I in Gramm angegeben; die in Klammern beigefügten Zahlen zeigen,

wie viel Kubikzentimeter  $\frac{1}{10}$  norm. Lauge zur Neutralisation von 10 ccm Kulturflüssigkeit notwendig waren.

Tabelle I.

	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	$\text{NH}_4\text{Cl}$
<i>Mucor mucedo</i>	0,059 (1,0) 0,048 (0,9)	0,021 (0,55) 0,018 (0,5)	0,017 (0,5) 0,013 (0,4)	0,012 (0,4) 0,011 (0,35)
<i>Thamnidium elegans</i>	0,166 (1,7) 0,151 (1,6)	0,028 (0,7) 0,027 (0,6)	0,016 (0,5) 0,015 (0,5)	0,015 (0,4) 0,013 (0,4)
<i>Mucor racemosus</i>	0,210 (2,2) 0,198 (2,0)	0,045 (1,5) 0,043 (1,5)	0,138 0,124	0,033 (0,9) 0,029 (0,8)
<i>Rhizopus nigricans</i>	0,529 (4,0) 0,527 (3,8)	0,150 (3,5) 0,143 (2,8)	0,110 (2,3) 0,105 (2,1)	0,091 (1,7) 0,090 (1,5)

Aus dieser Tabelle ersehen wir erstens, daß sowohl das Trockengewicht, als auch die Azidität der Kulturflüssigkeit in allen Horizontalreihen, d. h. vom Ammonphosphat zum Ammonchlorid, eine stetige Abnahme zeigt. Eine einzige Ausnahme bildet *Mucor racemosus* auf Ammonnitrat.

Das verhältnismäßig hohe Mycelgewicht ist hier dadurch bedingt, daß *M. racemosus* sich von den anderen drei Pilzen durch seine Fähigkeit zur Ausnutzung des Nitrastickstoffs scharf unterscheidet<sup>1)</sup>.

Zweitens sehen wir, daß Ammonnitrat, welches so oft und gern als Stickstoffquelle für Schimmelpilze angewandt wird, in manchen Fällen nur sehr geringe Ernten liefert und beinahe ebenso unvorteilhaft wie Ammonchlorid wirkt<sup>2)</sup>.

Drittens bemerken wir beim Durchsehen der Vertikalreihen ebenfalls eine ziemlich regelmäßige Zunahme des Trockengewichts und der Azidität. Die Pilze sind nämlich in der Tabelle I nach

1) Die Kulturflüssigkeit reagiert in diesem Falle auch sauer, aber diese Azidität ist nicht durch freie Mineralsäure bedingt und kann deshalb nicht mit Methylorange festgestellt werden. Mit Phenolphthalein ergab die Titration 5,6 ccm  $\frac{1}{10}$  norm. Lauge auf 10 ccm Flüssigkeit.

2) Daß die Ernten auf  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  dennoch etwas höher als auf  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ausfallen, ist darauf zurückzuführen, daß die freiwerdende  $\text{HNO}_3$  für die betreffenden Objekte tatsächlich etwas weniger giftig als die Salzsäure ist. Bei der Kultur von *Aspergillus niger* auf diesem Ammonsalze haben BUTKEWITSCH und NIKITINSKY (l. c.) einander widersprechende Resultate erhalten. Die Verhältnisse liegen aber für *Aspergillus niger* nicht so klar, denn erstens konsumiert er nicht nur das Ammoniak, sondern auch den Nitrastickstoff, und zweitens ist die  $\text{HNO}_3$  in höheren Konzentrationen, welche in *Aspergillus*-kulturen auftreten, etwas giftiger als  $\text{HCl}$ .

ihrer Empfindlichkeit gegenüber freien Säuren angeordnet, und wir sehen also, daß die Fähigkeit zur Aufnahme des Ammoniaks aus den anorganischen Ammonsalzen in einem direkten Verhältnis zur Widerstandsfähigkeit des betreffenden Pilzes gegenüber der freiwerdenden Mineralsäure steht.

Allerdings kann hier von einer genauen Proportionalität nicht die Rede sein. Das Trockengewicht hängt nämlich noch von verschiedenen zum Teil unkontrollierbaren individuellen Eigenschaften der Pilze ab. Von diesen Eigenschaften scheint eine besonders wichtig zu sein, und je nach ihrem Vorhandensein oder Fehlen kann man die Schimmelpilze in zwei Gruppen einteilen. Das ist nämlich die Befähigung zur raschen und regelmäßigen Deckenbildung. Von den oben angeführten Pilzen kommt sie nur *Rhizopus nigricans*, sonst, wie bekannt, besonders *Aspergillus niger* zu. Es läßt sich nun feststellen, daß die deckenbildenden Pilze eine viel stärkere Entwicklung zeigen und dabei viel mehr freie Säure entbinden, als nach der Bestimmung der Giftigkeit der betreffenden Säuren geschlossen werden dürfte.

Ein Blick auf die folgende Tabelle II läßt den Unterschied zwischen den Repräsentanten der einen und der anderen Gruppe gut erkennen und gibt zugleich auch einen Begriff von der verschiedenen Widerstandsfähigkeit der Pilze gegenüber freien Säuren.

Zum richtigen Verständnis der angeführten Zahlen muß bemerkt werden, daß die Grenzkonzentration der Salzsäure für Sporenkeimung und auch die Azidität der Kulturflüssigkeit in einer Nährlösung von Traubenzucker und  $\text{NH}_4\text{Cl}$  festgestellt wurde<sup>1)</sup>.

Tabelle II.

	Grenzkonzentration für HCl	HCl-Konzentration in der Kulturflüssigkeit
<i>Aspergillus niger</i> . . . . .	0,07—0,08 norm.	0,11—0,12 norm.
<i>Rhizopus nigricans</i> . . . . .	0,013 "	0,017 "
<i>Mucor racemosus</i> . . . . .	0,01 "	0,008 "
<i>Mucor spinosus</i> . . . . .	0,008 "	0,007 "
<i>Thamnidium elegans</i> . . . . .	0,005 "	0,004 "
<i>Mucor mucedo</i> . . . . .	0,0045 "	0,004 "

Während also die deckenbildenden Pilze — *Aspergillus niger* und *Rhizopus nigricans* bedeutend mehr freie Salzsäure aus  $\text{NH}_4\text{Cl}$  entbinden, als der Grenzkonzentration derselben entspricht, bleibt

1) Bei einer organischen Stickstoffquelle verschiebt sich diese Grenze bedeutend, wie ich schon früher gezeigt habe. (Diese Berichte, XXV, 255, 1907 und ausführlicher in der oben zitierten russischen Abhandlung S. 51—79.)

bei den anderen Pilzen, welche ein untergetauchtes Mycel bilden, die Azidität der Kulturflüssigkeit hinter derjenigen der Grenzlösung eher zurück<sup>1)</sup>.

Auf Grund der oben mitgeteilten Tatsachen werden wir also nicht fehl gehen, wenn wir für vergleichende Versuche mit Nitraten und Ammonsalzen als geeignetstes Ammonsalz das Phosphat nehmen. Und zwar genügt es meistens schon, das einbasische Salz zu nehmen, denn vergleichende Versuche mit  $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$  und  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  zeigten mir, daß *Cladosporium herbarum* und *Aspergillus glaucus* sich auf dem einbasischen Salz eher besser als auf dem zweibasischen entwickeln. Für den säureempfindlichen *Mucor racemosus* ist allerdings das letztere vorzuziehen.

Als Versuchsobjekte dienten mir die von LAURENT als ausgesprochene Nitratpilze charakterisierten *Aspergillus glaucus*, *Cladosporium herbarum* und *Mucor racemosus*. (*Alternaria tenuis* stand mir leider nicht zur Verfügung.) Die Versuchsanordnung war im wesentlichen dieselbe, wie in der oben beschriebenen Versuchsreihe. Als Stickstoffquelle diente einerseits  $\text{KNO}_3$  (1,01 pCt.), andererseits Ammonphosphat, -sulfat und -nitrat in äquivalenten Mengen (d. h. ca. 140 mgr. N auf 100 ccm); als Kohlenstoffquelle — 5 pCt. Traubenzucker. Alle Kulturen wurden doppelt angesetzt. Die Menge der Kulturflüssigkeit, Temperatur und Versuchsdauer wie oben.

Tabelle III<sup>2)</sup>.

	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	$\text{KNO}_3$	$(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	$\text{NH}_4\text{NO}_3$
<i>Aspergillus glaucus</i>	0,018 (0,065) 0,014 (0,06)	0,158 0,147	0,272 0,270	— —	0,360 0,341
<i>Cladosporium herbarum</i>	0,374 (3,1) 0,366 (3,0)	1,016 0,972	1,068 (6,5) 0,995 (6,3)	— —	1,040 0,990
<i>Mucor racemosus</i>	0,045 (1,5) 0,043 (1,5)	0,201 0,196	0,210 (2,2) 0,198 (2,0)	0,258 0,252	0,138 0,124

1) Es ist also nicht ohne weiteres zulässig, aus der Konzentration der Säure in der Kulturflüssigkeit auf die Grenzkonzentration für Sporenkeimung zu schließen (wie das von NIKITINSKY und KOHN und CZAPEK l. c. getan wird), ganz abgesehen davon, daß die Natur der Stickstoffquelle dabei besonders berücksichtigt werden muß.

2) In dieser Tabelle sind nur diejenigen Aziditätsbestimmungen angeführt, welche mit Methylorange ausgeführt werden konnten. In den übrigen Fällen reagierten die Kulturflüssigkeiten sauer auf Lackmus und Phenolphthaleïn, abgesehen von zwei weiter unten zu besprechenden Ausnahmen.

Die Tabelle III zeigt uns nun, daß alle drei Pilze (wie schon LAURENT bemerkt hatte) allerdings auf  $\text{KNO}_3$  besser, als auf Ammonsulfat gedeihen, daß aber auf Ammonphosphat *Aspergillus glaucus* und *Mucor racemosus* bedeutend größere Ernten, als auf Nitrat liefern, und nur *Cladosporium* keinen nennenswerten Unterschied in der Entwicklung auf  $\text{KNO}_3$  und  $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$  zeigt.

Interessant ist das Verhältnis dieser Pilze zum Ammonnitrat. *Mucor racemosus* gibt darauf mittlere, die beiden anderen hohe und sogar maximale Ernten, und so sehen wir also, daß in einigen Fällen die Verwendung des Ammonnitrats als N-Quelle in der Tat sehr vorteilhaft sein kann. Diese Fälle beziehen sich augenscheinlich auf solche Pilze, welche den Nitrat-N ungefähr ebensogut wie den Ammoniak-N zu konsumieren imstande sind. Für ein gutes Gedeihen auf Ammonnitrat ist es also noch nicht genügend, die Fähigkeit zur Nitratassimilation nur bis zu einem gewissen Grade zu besitzen, wie das z. B. für *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* und *Penicillium*-Arten bekannt ist<sup>1)</sup>.

Ist nun durch diese Versuche die Frage vom Verhältnis dieser Pilze zum Nitrat- und Ammonstickstoff endgültig entschieden? Man könnte nämlich den Einwand machen, daß die Entwicklung auf  $\text{KNO}_3$  schließlich durch die Ansammlung von freiem Alkali in der Nährsalzlösung gehemmt wird. Die Untersuchung der Kulturflüssigkeiten ergab nun, daß für *Aspergillus glaucus* dieser Einwand auf keinen Fall zutrifft, da er eine auf Lackmus sauer reagierende Flüssigkeit liefert. (Zur Neutralisation von 20 ccm derselben wurden 2 ccm  $\frac{1}{10}$  norm. Lauge verbraucht.) Die Kulturflüssigkeit von *Cladosporium* und *Mucor racemosus* zeigte allerdings auf Lackmus eine schwach alkalische Reaktion. Die Titration des ersteren wurde durch die dunkle Färbung erschwert, die zweite erwies sich dagegen mit Phenolphthalein als nahezu neutral, indem schon ein Tropfen  $\frac{1}{10}$  norm.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  zur Ansäuerung genügte. Es ist kaum anzunehmen, daß diese schwache Alkalinität die Entwicklung des

1) Diese Pilze bilden nach LAURENT (dessen Angaben ich bestätigen kann) schon auf Ammonsulfat mehr Trockensubstanz als auf Nitraten aus. — Daß *Aspergillus niger* auf  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  sich sogar schlechter entwickelt, als auf allen anderen anorganischen Ammonsalzen, wurde schon früher erwähnt (BUTKEWITSCH, Jahrb. f. wiss. Bot. 38, 1902, und Biochem. Zeitschr. 16, 1909). Demgegenüber ist mir die Angabe von CZAPEK (Biochemie der Pflanzen II S. 105) unverständlich, welcher behauptet, daß Ammonphosphat am günstigsten wirkt, worauf  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , dann  $\text{KNO}_3$  und schließlich  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  kommt. Das widerspricht einerseits den alten Resultaten von LAURENT und andererseits den neuen von BUTKEWITSCH und NIKITINSKY.

Pilzes ganz hemmen könnte. Jedoch sind zur Klärung dieser und zahlreicher anderer, die Nitratassimilation der Schimmelpilze betreffenden Fragen weitere Untersuchungen notwendig. Dieselben sind im Gange.

Die bisher gewonnenen Resultate lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Das Ammoniak wird aus seinen Mineralsalzen von den Schimmelpilzen desto besser aufgenommen, je schwächer (also ungiftiger) die freiwerdende Säure ist.
2. Die Entwicklung der Schimmelpilze auf Nährlösungen mit anorganischen Ammonsalzen als N-Quelle steht in direktem Verhältnis zu ihrer Widerstandsfähigkeit gegenüber freien Säuren.
3. In Bezug auf die Menge der dabei entbundenen Mineralsäuren lassen sich die Pilze in zwei Gruppen teilen: die deckenbildenden Pilze (*Aspergillus niger*, *Rhizopus nigricans*) entbinden bedeutend mehr Säure, als für die Keimung ihrer Sporen zulässig ist, die untergetaucht wachsenden (verschiedene Mucoraceen) eher weniger, als dieser Grenzkonzentration entspricht.
4. Die als „Nitratpilze“ bezeichneten *Aspergillus glaucus*, *Mucor racemosus* und *Cladosporium herbarum* entwickeln sich auf Kosten des Ammonstickstoffs mindestens ebensogut, zum Teil sogar entschieden besser, als auf Kosten des Nitratstickstoffs.
5. Die drei obengenannten Pilze besitzen dennoch eine stark ausgesprochene Fähigkeit zur Nitratassimilation; schwächer ist dieselbe bei *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* und *Penicillium*-Arten, welche schon auf Ammonsulfat größere Ernten als auf Nitraten liefern, ausgebildet; eine dritte Gruppe endlich (*Rhizopus nigricans*, *Mucor Mucedo*, *Thamnidium elegans*) verhält sich den Nitraten gegenüber ganz ablehnend.

Nowo-Alexandria, Institut für Land- und Forstwirtschaft.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft](#)

Jahr/Year: 1909

Band/Volume: [27](#)

Autor(en)/Author(s): Ritter G.

Artikel/Article: [Ammoniak und Nitrate als Stickstoffquelle für Schimmelpilze  
582-588](#)