

7. F. Boas: Selbstvergiftung bei *Aspergillus niger*.

(Aus dem botanischen Laboratorium der Akademie Weihenstephan.)

(Eingegangen am 8. Januar 1919.)

In einer kleinen Arbeit, welche soeben in den *Annales mycologici* erscheint, habe ich auf die Tatsache hingewiesen, daß *Cladosporium* bei Kultur auf Würzgelatine, oder in Zuckerlösungen mit Harnstoff als Stickstoffquelle sehr rasch durch enzymatische Vorgänge so große Mengen Ammoniak (und vermutlich auch durch Proteolyse Amine) erzeugt, daß die Kulturen in kurzer Zeit getötet werden. Einen anders gelagerten Fall durch Säureselbstvergiftung hat WEHMER¹⁾ bei *Penicillium* und *Aspergillus fumigatus* beschrieben.

Sehr leicht kann man den Vorgang der Selbstvergiftung durch Ammoniak bei *Aspergillus niger* beobachten, wenn der Pilz auf einem geeigneten Substrat kultiviert wird. Als solches hat sich eine Lösung von 5 % Maltose + 2 % Harnstoff (neben den nötigen Mineralsubstanzen: 0,25 KH_2PO_4 und 0,15 % $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) erwiesen. Mit Maltose bildet nämlich *Aspergillus* verhältnismäßig weniger Oxalsäure als z. B. mit Saccharose; es kann daher die gebildete Oxalsäure auch leichter durch Spaltung des Harnstoffes neutralisiert werden. Der unverbrauchte Harnstoffrest liefert dann durch enzymatische Spaltung noch solche Mengen Ammoniak, daß die Lösungen stark alkalisch werden und daß das entstehende Alkali z. B. schon leicht durch den Geruch festgestellt werden kann. Die Ammoniakbildung geht soweit, daß die Nährlösung sich mit Phenolphthalein deutlich rötet; auf alle Fälle gibt α -Naphtholphthalein stets einen deutlichen Umschlag, damit ist eine $[\text{H}^+]$ von $10^{-7,5}$ — $10^{-8,3}$ angedeutet. Genauere Messungen erübrigen sich für den vorliegenden Fall.

Die starke Alkalisierung der Nährlösung beruht übrigens auf 2 Vorgängen, nämlich 1. auf der Spaltung von Harnstoff und 2. auf dem Verlauf der Selbstverdauung, der Proteolyse der Pilzdecke. Beide Vorgänge liefern alkalisch reagierende Substanzen, Ammoniak und, wie der Geruch der Kulturen andeutet, Amine.

1) C. WEHMER; Ber. Deutsch. Bot. Ges., Bd. 31. 1913.

Durch diese Substanzen wird dann Myzel und Konidienmasse sehr rasch getötet. Es ist natürlich nötig, eine derartige Harnstoffmenge der Nährlösung zuzusetzen, daß die gebildete Oxalsäure mindestens völlig neutralisiert werden kann, im anderen Falle bleibt der beabsichtigte Erfolg aus. Als genügende Harnstoffmenge haben sich 1,6—2 ‰ erwiesen.

Einige Protokolle sollen nun die vorerwähnten Ausführungen erläutern.

Versuch I. Nährlösung¹⁾: 5 ‰ Dextrose + 5 ‰ Maltose, 1,6 ‰ Harnstoff + 0,5 ‰ Acetamid. Temperatur 32 ° C. Versuchsbeginn 30. IX. 1918.

Es bildet sich eine dicke, weiße Decke; warum hier die Konidienbildung ausblieb, ist unklar. Am 5. X. bereits deutlicher Geruch nach Ammoniak. Ein pfenniggroßes Stück der Decke unter sterilen Bedingungen auf Würzegelatine gebracht wächst nicht mehr; der Pilz ist also bereits tot. Ob Acetamid hierbei irgend eine Nebenrolle gespielt hat, ist nicht bekannt.

Versuch II. 5 ‰ Maltose, 1,6 ‰ Harnstoff, Versuchsbeginn 10. X. 1918. Die Nährlösung färbt sich am 19. X. mit Phenolphthalein rot, es sind Konidien vorhanden, der Pilz ist tot, wie die Überimpfung auf gehopfte Bierwürze zeigt.

Versuch III. 5 ‰ Saccharose, 9 ‰ Harnstoff. Bei dieser Harnstoffkonzentration findet nur langsames Wachstum statt, es bildet sich eine braungelbe, lockere, ziemlich dünne Decke; die Nährlösung färbt sich hellrötlichbraun, nach 7 Tagen sehr starker Geruch nach Ammoniak, der Pilz ist tot. Die Nährlösung färbt sich intensiv rot mit Phenolphthalein.

Versuch IV. 5 ‰ Maltose, 2 ‰ Harnstoff. Versuchsbeginn 8. XI. 1918. Es bildet sich eine stattliche, schwarze Konidiendecke. Am 4. XII. starker Geruch nach Ammoniak. Bei der Überimpfung auf Bierwürze am 15. XII. sind von 4 Kulturen 3 tot; die vierte Kultur wächst nur äußerst langsam, war also jedenfalls auch bereits am Absterben.

An diesen Versuchen ist der Mangel an Selbstregulation bemerkenswert. Der Pilz erzeugt zwar (vermutlich regulatorisch) das Harnstoff spaltende Enzym, muß aber dann

1) Reste von Lösungen für andere Versuche; diese Reste wurden zu den Selbstvergiftungsversuchen verwendet. Es wurden 30 ccm Nährlösung in 50 ccm ERLÉNMEYERKölbchen angewendet. Impfung mit dem Platindraht; reichlich!

die Wirkungen dieses Enzyms über sich ergehen lassen, was in kurzer Zeit zum Tode führt.

Mit anderen Pilzen, wie *Botrytis cinerea* und *Oidium* wurden unter gleichen Versuchsbedingungen negative Ergebnisse erzielt. Die Kulturen blieben noch nach Monaten am Leben, da hier die enzymatische Harnstoffspaltung nicht zu überschüssigem Ammoniak führt.

8. Hugo de Vries: *Oenothera Lamarckiana* mut. simplex.

(Eingegangen am 16. Januar 1919.)

Im Jahre 1906 entstand in meinem Versuchsgarten eine neue Mutationsform, welche in vielen Hinsichten eine Parallele zu meiner *Oenothera Lamarckiana* mut. *velutina* (syn: *O. blandina*) bildet¹⁾. Wie diese hat sie nahezu keine tauben Samen, und geht ihr die Spaltbarkeit in Zwillinge, nach Kreuzungen, ab. Die betreffenden Kreuzungen bilden aber mit ihr nicht die Bastarde vom Typus *Velutina*, sondern jene vom Typus *Laeta*, und in dieser Beziehung ist die neue Form somit der *O. blandina* entgegengestellt.

Diesen neuen Typus nenne ich *Oenothera Lamarckiana* mut. *simplex*. Er ist namentlich deshalb wichtig, weil er die Mutabilität der *Lamarckiana* beibehalten hat, während diese der mut. *Velutina* bekanntlich völlig fehlt.

Von einer rein gezüchteten Familie von *Oen. Lam. mut. oblonga* hatte ich in 1903—1906 die erste, zweite und dritte Generation. In dieser letzteren trat in einem Exemplare die mut. *simplex* auf. Aus dieser Pflanze erhielt ich, nach künstlicher Selbstbefruchtung, in 1913 eine zweite und in 1914 eine dritte Generation. Die letztere wiederholte ich in 1915 und 1917, aber jedesmal in geringem Umfange. Im Sommer 1917 machte ich dann die erforderlichen reinen Selbstbestäubungen, um in 1918 die vierte Generation in nahezu 2000 Exemplaren zu kultivieren. Gleichzeitig wurden die unten zu besprechenden Kreuzungen vorgenommen.

1) *Oenothera Lamarckiana* mut. *velutina*, Botan. Gazette 1917, Bd. 63, S. 1—25 und Kreuzungen von *Oenothera Lamarckiana* mut. *velutina*, Zeitschr. f. ind. Abst. 1918, Bd. 19, S. 1—38.