

24. Carl Wehmer: Ueber den Einfluss der Temperatur auf die Entstehung freier Oxalsäure in Culturen von *Aspergillus niger* van Tiegh.

Eingegangen am 2. Juni 1891.

Während oxalsaure Salze bei Phanerogamen wie Pilzen sehr verbreitet sind, ist das Vorkommen freier Oxalsäure seltener, und wir kennen bisher nur wenige Pilz-Species, deren Stoffwechsel solche reichlich unzersetzt abzuspalten pflegt. Nach den bisherigen Erfahrungen ist das aber nicht nothwendig eine unbedingte Eigenart derselben, sondern diese Fähigkeit steht offenbar sehr wesentlich unter dem Einfluss der obwaltenden Bedingungen und kann dementsprechend willkürlich hervorgerufen werden. Allerdings ist es noch die Frage, ob dies bei jeder Species der Fall, und so wäre es nicht ausgeschlossen, dass sich doch gewisse Beziehungen zur Qualität des Stoffwechsel ergeben können. Da das Gegebenensein der Säure, wie sich zeigen lässt, ein fast Allgemeines ist, so würden solche eigentlich schon da bestehen, wo wir das eine Mal ein rasches, das andere Mal ein langsames Verschwinden derselben unter sonst gleichen Umständen beobachten.

Zu denjenigen Pilzen, welchen die ganz besondere Fähigkeit einer Oxalsäureproduction bei Cultur auf gewissen Nährlösungen zukommt, gehört *Aspergillus niger* van Tiegh., und bei diesem habe ich durch genaueres Studium die dafür massgebenden Bedingungen festzustellen gesucht.¹⁾

Cultivirt man den Pilz auf Peptonlösung und den Salzen organischer Säuren, so findet man zu allen Zeiten und besonders in älteren Culturen reichlich oxalsaure Salze, als deren Basis in dem einen Falle Ammoniak, in dem andern die des angewandten Salzes functionirt. Hingegen tritt bei Ernährung durch freie organische Säuren Oxalsäure nicht auf, während bei der Benutzung von Kohlenhydraten, Oel, Glycerin etc. ihre Anwesenheit überhaupt, sowie auch die Verbindungsform, in der wir solche finden, allein unter dem Einfluss der angewandten Mineralsalzlösung steht und insbesondere von der Natur der Stickstoffverbindung

1) In Betreff etw. Einzelheiten muss ich auf meine Arbeit über „Entstehung und physiologische Bedeutung der Oxalsäure im Stoffwechsel einiger Pilze“ in der Botan. Zeitung 1891, Nr. 15 u. f. verweisen. Auf einen muthmasslichen Einfluss der Temperatur wies ich bereits an diesem Orte hin. S. 395.

abhängig ist. Stets fehlt die Säure, sobald wir Salmiak oder Ammonsulfat anwenden, während das Gegentheil durch Benutzung von Kalium-, Natrium-, Calcium-, Ammonium-Nitrat, Ammoniumphosphat und -Oxalat sowie von Pepton erreicht wird, und von diesen bildet das salpetersaure Ammoniak insofern wieder einen besonderen Fall, als die Säure hier im Allgemeinen nur oder doch vorwiegend in freiem Zustande erzeugt und angesammelt wird, während die anderen Fälle vorzugsweise oxalsaure Salze ergeben. Diese Culturen mit salpetersaurem Ammon als Stickstoffquelle sollen uns hier näher beschäftigen.

Verfolgen wir bei mittlerer Temperatur von 15—20° das Wachstum einer solchen, indem wir eine Zahl ganz übereinstimmend zusammengesetzter Culturflüssigkeiten zur selben Zeit impfen, und nun in den einzelnen zu verschiedenen Zeitpunkten Säurebestimmungen ausführen, so ergibt sich als Regel, dass mit dem Wachstum der Decke die Menge der producirten Oxalsäure zunächst zunimmt, zu einer gewissen Zeit ein Maximum erreicht und nunmehr langsam fällt, um endlich ganz wieder zu verschwinden. Die freie Säure ist demnach auch nur vorübergehend vorhanden und wird nach einer genügend langen Versuchsdauer vom Pilze wieder zerstört — eine Thatsache, die sich durch Zusatz krystallisirter Oxalsäure zu einer derartigen Cultur auch direct erweisen lässt, während solches für oxalsaure Salze im Allgemeinen nicht — oder doch wenigstens nicht in gleichem Masse — gilt. Der Pilzdecke haben wir also die Fähigkeit einer Zersetzung zuzuschreiben, und aus anderen Beobachtungen geht hervor, dass die Abwesenheit von Säure (bei Ernährung durch Salmiak als Stickstoffquelle) auf eine sofortige Zersetzung derselben zurückzuführen ist und diese auch als das normale gefordert werden muss, da sich ansammelnde freie Säure stets nachtheilig auf das Wachstum wirkt.

In dem Auftreten freier Säure ist demnach ein für den Stoffwechsel ungünstiges Moment zu erblicken, das voraussichtlich durch irgend welche nachtheiligen Umstände, die eine sofortige Zerstörung verzögerten, herbeigeführt wurde. Dass hieran die im Substrat gebotenen Ernährungs- und Wachstumsbedingungen theilhaftig sein können, wird unmittelbar durch den bei Ersatz des Ammonnitrats durch Ammonchlorid oder -Sulfat bezw. deren Zusatz zu Ammonnitrat-Culturen erzielten Effect erwiesen, denn nunmehr findet Zerstörung der Säure nach Massgabe der Bildung und keine Ansammlung statt. Aus dem raschen Wachstum und dem erzielten hohen Trockengewicht dieser ergibt sich, dass durch Mitwirkung dieser Stoffe eine Beschleunigung des Umsatzes erzielt und vortheilhaftere Bedingungen für den Stoffwechsel geschaffen werden, wobei als nicht unwesentlich die gegebene Möglichkeit der Fortnahme bez. schnellen Zerstörung des nachtheiligen Nebenproducts theilhaftig sein mag.¹⁾ Eine Begünstigung des Stoffwechsels im Sinne eines

regeren Verlaufs lässt sich nun aber auch noch in anderer Weise erreichen, und es muss sich von vornherein die Frage erheben, ob nicht die gleiche Wirkung durch äussere Bedingungen, etwa durch Temperatur-Erhöhung, herbeigeführt werden kann. Möglicherweise handelt es sich beim Verschwinden der Oxalsäure ja um eine Oxydation, und dann ist es wahrscheinlich, dass Temperaturerhöhung auch fördernd auf sich in der lebenden Zelle abspielende Oxydationsvorgänge einwirkt.²⁾

Diese Möglichkeit ist es, welche ich einer experimentellen Prüfung unterworfen habe und auf welche sich die folgenden Mittheilungen beziehen.

Die Thatsache, dass *Aspergillus niger* ein relativ hohes Wachstumsoptimum (34—35° C.) besitzt,³⁾ forderte dazu auf, die ganz gleichen Culturen unter den günstigsten Wachstumsbedingungen anzustellen und dementsprechend wurden die geimpften Culturflüssigkeiten in einem mit Thermoregulator versehenen Heizkasten bei 33—35° C. gehalten. Geringe Schwankungen sind naturgemäss auch so nicht auszuschliessen, doch bewegte sich im Allgemeinen nach den täglichen Ablesungen das Thermometer zwischen 34 und 35° C.;⁴⁾ übrigens sind derartige Differenzen auch als wenig wesentlich anzusehen. Der geräumige, zur Zeit mit ca. 20 Kolben beschickte Heizkasten, dessen durchsichtige Vorderwand einen genaueren Verfolg des Wachstums erleichterte, war in einem lichtschwachen Raume in einiger Entfernung vom Fenster (3 m) in der Weise aufgestellt, dass die Glaswand direct dem einfallenden Licht zugekehrt war, und bei dieser Versuchsanstellung beobachtet man in vorzüglicher Weise, wie die bis ca. 0,6 cm langen Sporenträger des Pilzes deutlich unter Neigung gegen die Hinterwand des Heizkastens vom einfallenden Lichte fortwachsen; im Uebrigen ist solches aber auf Wachstum wie Sporenbildung der Decke ohne merklich fördernden oder nachtheiligen Einfluss.⁵⁾

Einzelheiten über Nährlösung etc. darf ich, da ich ausführlich hierüber mich an einem andern Orte bereits ausgesprochen,⁶⁾ übergehen; der Zucker (Dextrose) fand in der Concentration von 3 und 10 pCt.

1) Durch Fortnahme wird Neubildung des Products, also auch der Umsatz im Allgemeinen begünstigt. Vergl. PFEFFER, Pflanzenphysiologie, B. I. p. 16.

In unserem Falle ist solches überdies noch ein specifisch auf den Stoffwechsel zurückwirkendes.

2) Vergl. PFEFFER „Oxydationsvorgänge“ p. 116.

3) RAULIN, Ann. sc. V. sér. XI. p. 208.

4) Die Grenzfälle waren 33° und 35,8° C. (68tägige Beobachtung).

5) Die Differenzen in der Länge der Sporangien bei Lichtabschluss- oder -Zutritt sind nur geringe, resp. es fehlen solche überhaupt.

6) l. c. Da vorliegende eine Fortsetzung jener Arbeit, so gilt auch hier alles dort über Culturanstellung, Methode der Säurebestimmung etc. Gesagte.

Anwendung, und die Mineralsalzlösung wurde wie sonst in der Concentration von 1 pCt. der Stickstoffverbindung gegeben.¹⁾ Die Oxalsäurebestimmung fand nach der angegebenen Methode als Kalksalz statt. —

Der Unterschied im Wachsthum des unter diesen Bedingungen cultivirten *Aspergillus* gegen den bei Zimmertemperatur gezogenen ist ein ausserordentlicher. Während hier unter sonst gleichen Ernährungsbedingungen erst nach 4—5 Tagen eine mehr oder weniger vollständige junge Decke gebildet ist, findet man dort schon am 2. Tage nach der Aussaat üppig wachsende Decken mit beginnender Sporenbildung, und nach 5—8 Tagen sind solche unter Consum des Zuckers völlig ausgewachsen, sodass das aus gleichen Zuckermengen producirt Pilzgewicht (Trockensubstanz) späterhin keine Zunahme mehr erfährt. Wir beobachten das gleich schnelle Wachsthum wie in den Fällen, wo dem bei 15—20° C. cultivirten Pilze die producirt freie Oxalsäure durch Natriumphosphat entzogen und festgelegt wird, und dieses deutet schon darauf hin, dass eine Ansammlung solcher hier nicht statt hat.

Thatsächlich zeigt sich nun auch bei Verarbeitung der Culturflüssigkeiten, dass freie Säure in irgend erheblicher Menge hier zu jeder Zeit fehlt, indem eine deutliche Blaufärbung mit Congoroth nie eintritt.²⁾ Es hat also die Temperaturerhöhung keine Ansammlung freier Oxalsäure zur Folge.

Von Interesse war nun weiter die Frage, ob Oxalsäure ganz fehlt, oder ob etwa oxalsäure Salze unter diesen Umständen auftreten können. Solches könnte naturgemäss nur nach Massgabe etwa freiwerdender Basen stattfinden, und dementsprechend dürfte im günstigen Falle nur eine geringe Menge gefunden werden. Die Verarbeitung der Culturflüssigkeiten zeigt, dass der letztere Fall vorliegt, indem thatsächlich geringe Mengen von oxalsäurem Kalk gewonnen wurden. Ich lasse es dahingestellt, ob ihre Basis den anorganischen Salzen entstammt oder organischer Natur ist — der Eiweisszersetzung entstammend³⁾ — und hebe nur hervor, dass mit dem Alter der das Gewicht nicht mehr ver-

1) 1 g Ammonnitrat

0,5 „ Kaliumphosphat (prim.)

0,25 g Magnesiumsulfat (kryst.)

auf 100 ccm Flüssigkeit. Die so zusammengesetzte Nährlösung bezeichne ich kurz als Ammonnitrat-Nährlösung, während bei Ersatz des salpetersauren Ammons durch salpetersaures Kali, Salmiak etc., von Kaliumnitrat-, Salmiak- etc. Nährlösungen die Rede ist. — Complicirtere Zusammenstellungen sind zwecklos.

2) Die Reaction wurde mit wässriger Congorothlösung und hierfür präparirtem Congorothpapier wie mit Lakmusstreifen geprüft. Die zuweilen eintretende bläulich-violette Färbung des ersteren deutet auf ausserordentlich geringe Spuren freier Säure; meist verschwand sie aber nach Erwärmen der Flüssigkeit (war also durch Kohlensäure veranlasst). Bei 15° C. findet intensive Blaufärbung statt. l. c.

3) Es kann auch Ammoniak in Frage kommen, das sowohl aus dem Ammonnitrat wie der Eisweisszerspaltung entstammen könnte.

mehrenden Pilzdecke ihre Menge sichtlich zunimmt, und solche im Allgemeinen bei reichlicher Ernährung (10 pCt. Dextrose) etwas grösser zu sein scheint, obschon zur sicheren Feststellung dieser Thatsache mir umfangreichere Versuche nöthig erscheinen. Uebrigens zeigen diese, dass auch das Auftreten oxalsaurer Salze nicht strenge Regel ist, indem in einigen Fällen nur Spuren oder überall keine gefunden wurden. Die Annahme einer Unsicherheit der zum Nachweis benutzten Methode trifft nicht zu, und wir haben es hier mit auch sonst nicht seltenen individuellen Schwankungen zu thun, welche die Regel jedoch nicht verdecken können. Die Zahlenwerthe einiger Versuche seien hier eingeschaltet.

1) 50 ccm NH_4NO_3 -Nährlösung mit 3 pCt. Dextrose.¹⁾

Culturdauer	Pilzgewicht	Oxalat
4 Tage	0,273 g	0
8 "	0,363 "	0,008 g
8 "	0,400 "	0,012 "
15 "	0,390 "	0,028 "
18 "	0,382 "	0
32 "	0,386 "	Spur
42 "	0,288 "	0,072 "
42 "	— ²⁾	Spur
68 "	0,232 "	0,068 "

2) 50 ccm NH_4NO_3 -Nährlösung mit 10 pCt. Dextrose.

Culturdauer	Pilzgewicht	Oxalat
4 Tage	0,510 g	0
8 "	0,770 "	0,004 g
16 "	0,872 "	0,077 "
42 "	0,752 "	0,168 "

Bekanntlich tritt auch in Zuckerculturen mit Kalisalpeter als Stickstoffquelle neben einem oxalsauren Salz freie Oxalsäure in einer bestimmten Menge auf, und aus einigen weiteren Versuchen geht nun hervor, dass auch hier die Ansammlung freier Säure unterbleibt, dagegen nicht die des Oxalats, wie das folgende Zahlen erweisen:

1) Versuche bei Zimmertemperatur ergaben im Mittel (unter sonst übereinstimmenden Bedingungen) 0,3 g Pilzgewicht neben 0,2—0,4 g Oxalat, und durch geeignete Operationen (Titriren und Fällung) liess sich feststellen, dass nahezu die Gesamtmenge der Säure frei vorhanden war.

So ergab sich (3 pCt. Dextrose):

nach 9 Tagen		0,005 g Oxalat,
" 16 "		0,070 " "
" 46 "		0,255 " "
" 66 "		0,298 " "

und mit 10 pCt. Dextrose

" 51 "		0,365 " "
--------	-----------	-----------

2) Die hier producirte sterile, üppige, weisse Decke wurde für anderweitige Versuche zurückgelegt.

3) 50 ccm KNO_3 -Nährlösung mit 3 pCt. Dextrose.¹⁾

Culturdauer	Pilzgewicht	Oxalat
4 Tage	0,200 g	0,012 g
8 "	0,290 "	0,023 "
14 "	0,260 "	0,073 "
42 "	0,290 "	0,133 "

Ohne hieraus schon Folgerungen ziehen zu wollen, beobachten wir durchweg etwas beträchtlichere Oxalatsmengen, wie bei den 3procentigen Zuckerculturen mit Ammonnitrat. —

Man könnte nun den Einwurf erheben, dass ein Ausbleiben freier Oxalsäure in diesen Fällen noch nicht nothwendig eine Zerstörung beweist, denn es könnte eine Aenderung im Stoffwechsel dahin geführt haben, dass solche überhaupt nicht gebildet wird. Damit würde natürlich unsere Annahme, welche das Fehlen durchweg auf eine Zerstörung zurückführt, hinfällig werden. Dieser Einwurf ist berechtigt, trifft aber nicht zu, denn wir können direct beweisen, dass freie Säure in diesen Fällen thatsächlich vorübergehend vorhanden ist, und überdies selbst ausserhalb der Hyphen. Setzen wir nämlich der Cultur kohlen-sauren Kalk in genügender Menge zu, so wird damit der gleiche Effect wie bei niederer Temperatur erzielt: Das Kalksalz wird unter Gasentwicklung zerlegt, und es resultirt eine Ansammlung von Oxalat. Dabei beobachten wir mehrfach eine ähnliche und nicht selten eine noch erheblichere Wachstums-hemmung wie bei normaler Temperatur, die ich jedoch noch nicht sicher zu erklären vermag, obschon möglicherweise die Minderwerthigkeit der durch Umsetzung in der Culturflüssigkeit sich bildenden Kalkver-bindungen mit betheilig ist²⁾. — Es muss die Säure in den Zellen von *Aspergillus* offenbar in sehr bedeutender Menge entstehen, oder die Bedingungen für ihre Zersetzung im Stoffwechsel unter den ge-wählten Umständen sind sehr ungünstige, denn sonst wäre jene Er-scheinung schwer verständlich, da die durch Kalk festgelegten Quanti-täten, wie folgende Zahlen erweisen, ganz erhebliche sein können:

1) Unter anderen Umständen wurden durchschnittlich 0,3—0,4 g Oxalat er-halten (von dem ein beträchtlicher Theil nachweislich auf freie Säure ent-fällt) z. B.

nach 11 Tagen		0,351 g Oxalat
" 24 "		0,426 " "
" 42 "		0,375 " "
" 54 "		0,348 " "

2) Uebrigens möchte ich hier auch auf die lakmusbläuernde Reaction dieser Culturen hinweisen, und es ist nicht ausgeschlossen, dass diese durch die Anwesen-heit von kohlen-saurem Kalk herbeigeführte Erscheinung von Einfluss ist (ev. Ent-stehung von Ammoncarbonat durch Umsetzung des Ammonnitrats mit dem Kalk-carbonat, denn blosse alkalische Reaction braucht nicht schädigend zu wirken).

1) 50 *ccm* NH_4NO_3 -Nährlösung mit 3 pCt. Dextrose
und 5 pCt. CaCO_3 .

Culturdauer	Pilzgewicht	Oxalat
34 Tage	0,320 g ¹⁾	0,790 g
60 „	0,008 „	0,730 „

2) 50 *ccm* NH_4NO_3 -Nährlösung mit 10 pCt. Dextrose
und 5 pCt. CaCO_3 .

Culturdauer	Pilzgewicht	Oxalat
6 Tage	0,020 g	0,320 g
40 „	0,200 „	0,360 „

3) 100 *ccm* NH_4NO_3 -Nährlösung mit 20 pCt. Dextrose
und 5 pCt. CaCO_3 .

Culturdauer	Pilzgewicht	Oxalat
40 Tage	2,042 g	1,850 g
40 „	1,630 „	1,510 „

4) 100 *ccm* NH_4NO_3 Nährlösung mit 30 pCt. Dextrose
und 10 pCt. CaCO_3 .

Culturdauer	Pilzgewicht	Oxalat
40 Tage	4,382 g	1,886 g

Im Ganzen sind die Mengen der so festgelegten Säure geringere²⁾ wie beim Wachsthum bei niederer Temperatur, — eine Thatsache, die aber nichts Auffallendes bietet. So wurden hier beispielsweise aus 3procentigen Zuckerlösungen (50 *ccm* NH_4NO_3 -Nährlösung mit 5 pCt. CaCO_3) an Oxalat erhalten:

nach 16 Tagen	0,570 g
„ 46 „	1,122 „
„ 66 „	1,340 „
„ 97 „	1,642 „

und entsprechend vermehrt sich seine Menge in concentrirteren Nährlösungen.

Die schnellere Säurezersetzung bei höherer Temperatur vermögen wir aber auch noch auf anderem Wege zu zeigen. Ich wies bereits darauf hin³⁾, dass der auf einer Zuckerlösung (bez. auch auf Weinsäure) sich entwickelnde Pilz unter geeigneten Bedingungen zugesetzte freie Oxalsäure langsam zu zerstören vermag, sofern deren Menge eine gewisse Grenze nicht überschreitet. Dieser Vorgang spielt sich nun

1) Unrein (kalkoxalathaltig).

2) Es ist auffallend, wie die hier erhaltenen Trockengewichte durchweg niedrigere sind und theilweise ganz erheblich gegen die unter gleichen Bedingungen bei Zimmertemperatur erzielten zurückstehen. Dementsprechend ist auch das Wachsthum mehrfach ein schlechteres und sehr unregelmässiges, während es unter anderen Umständen — wenigstens nach Verlauf der ersten Wochen — ziemlich stetig und glatt von statten geht.

3) Bot. Zeitg. 1891, p. 325.

bei höherer Temperatur ungleich schneller ab, aber der Pilz ist auch hier gegen die Säurewirkung noch ausserordentlich empfindlich, so dass schon Differenzen von $\frac{1}{10}$ pCt. merkliche Unterschiede hervortreten lassen und Sporenbildung in den ersten 2—3 Wochen bei Gegenwart von 0,4—0,5 pCt. krystallisirter Säure nur vereinzelt stattfindet, obschon die vegetative Entwicklung weniger beeinträchtigt wird.

Bei Zusatz von 1 pCt. Säure ist aber auch diese schon sehr dürtig, indem nur die Entwicklung schmaler weisser Rasen unmittelbar an der Gefässwand stattfand und ihr Trockengewicht in zwei Fällen nach 32 Tagen nur den Betrag von 0,010 g und 0,040 g erreichte¹⁾. Die Versuche mit 0,4 und 0,5 pCt. ergaben dagegen Folgendes:

50 ccm NH_4NO_3 -Nährlösung mit 3 pCt. Dextrose und 0,4 resp. 0,5 pCt. krystallisirter Oxalsäure.

Culturdauer	Pilzgewicht	Oxalat
19 Tage	0,393 g	0,112 g
19 "	0,190 "	0,240 "
19 "	0,293 "	0,082 „ ²⁾
19 "	0,258 "	0,004 "

Aus 0,25 g krystallisirter Oxalsäure ist 0,290 g, dagegen aus 0,2 g = 0,232 g Ca-Oxalat zu erwarten, und es ergibt sich demnach, dass in der relativ kurzen Zeit die Säure merklich abgenommen und im letzten Falle nahezu verschwunden war. Dass auch hier die Sporenbildung ausblieb, muss als eigenartig angesehen werden, und wir werden diese Erscheinung hiernach wohl nicht in directen Zusammenhang mit einer specifischen Säurewirkung — obschon sie regelmässig durch solche hervorgerufen wird — setzen dürfen, sondern müssen annehmen, dass eine solche auch anderweitig herbeigeführt werden kann. Dafür spricht auch die Thatsache, dass der eine im Heizkasten angestellte Versuch eine üppige, aber total weisse, sterile Decke³⁾ lieferte, obschon freie Säure höchstens in Spuren vorhanden sein konnte (schwache Violettfärbung mit Congoroth). Es dürfte der Einfluss der Säure auf die Sporenbildung also wohl dahin aufzufassen sein, dass sie stets Ursache von irgendwelchen unbekannten Vorgängen oder Veränderungen

1) Die Säurebestimmung gab in diesen zwei Fällen erheblich mehr Säure als ursprünglich vorhanden gewesen, eine Thatsache, die sicher auffallend ist und — sofern wir aus diesen zwei Versuchen Schlüsse ableiten dürfen — dafür sprechen würde, dass unter solchen Verhältnissen der Pilz die zugesetzte Säure nicht allein nicht mehr zu zersetzen vermag, sondern auch der Stoffwechsel so sehr beeinträchtigt wird, dass selbst die neu entstehende Säure nicht mehr total zerstört werden kann (s. Tabelle). Solches ist durch weitere Versuche zu erweisen.

2) Die zwei letzten Versuche mit 0,2 g Oxalsäurezusatz, die beiden ersten mit 0,25 g.

3) Mycelstückchen derselben, auf Nährlösung übertragen, lieferten in zwei Fällen ganz normale sporenbildende Decken.

wird, die unter Umständen auch ohne sie eintreten können, und dann denselben Einfluss auf die Sporenbildung haben.

Bezeichnend ist ferner, dass lösliche oxalsaure Salze selbst unter den Bedingungen, die für freie Säure leichte Zersetzbarkeit schaffen, von *Aspergillus* nicht oder nicht merklich angegriffen werden. Sie haben im Gegentheil dieselbe Wirkung, wie sie dem kohlen-sauren Kalk zukommt und werden Veranlassung, dass die sonst der raschen Zersetzung unterliegende neugebildete Säure — wenigstens theilweise — dieser durch Bindung entzogen wird, indem das neutrale Alkalioxalat dabei in saures übergeht. Eine Zahl von Versuchen ergab Folgendes:

- 1) 50 ccm NH_4NO_3 -Nährlösung mit 3 pCt. Dextrose und 0,5 g Kalioxalat-Zusatz.

Culturdauer	Pilzgewicht	Oxalat	
		gefunden	berechnet
32 Tage	0,372 g	0,615 g	0,397 g
32 „	0,440 „	0,470 „	

- 2) 50 ccm NH_4NO_3 -Nährlösung mit 10 pCt. Dextrose und 1,5 g Kalioxalat-Zusatz.

Culturdauer	Pilzgewicht	Oxalat	
		gefunden	berechnet
32 Tage	0,898 g	1,357 g	1,190 g
32 „	1,082 „	1,325 „	

In allen Versuchen übertrifft demnach die Menge des gefundenen Oxalats die des vor Beginn zugesetzten nicht unbeträchtlich, und es hat demnach, da freie Säure fehlte, eine Bindung neugebildeter, die der Zersetzung entgangen, stattgefunden¹⁾.

Hiernach wird es wahrscheinlich, dass da, wo durch die Qualität der Nahrung die Entstehung oxalsaurer Salze vorgezeichnet (Pepton, Salze organischer Säuren), auch die abgeänderten Wachstumsbedingungen keinen wesentlichen Einfluss haben, und jene eine Weiterzersetzung nicht oder nur spurenweise erleiden. Das ist natürlich immer nur für diese hier benutzte Mineralsalzlösung (Ammonnitrat) zu verstehen, denn ich habe bereits a. a. O. gezeigt, dass bei Abänderung derselben auch *Aspergillus* solche partiell zu zersetzen vermag.

Der Ausfall der experimentellen Beantwortung dieses Punktes ist nun aber nicht der unbedingt erwartete, denn hier scheint die Natur des organischen Nährstoffes sehr wesentlich zu sein. Verwendet man

1) Der Vergleich mit den bei Zimmertemperatur erhaltenen Resultaten zeigt, dass hier im Ganzen unter ähnlichen Bedingungen etwas mehr Säure gebunden, also weniger zerstört wird. So gab der Zusatz von 1 g oxalsaurem Kali zu einer 3procentigen Zuckerlösung (50 ccm NH_4NO_3 -Nährlösung) nach 62 Tagen 1,262 g Oxalat (+ 0,472 g), der von 1,5 g zu einer gleichen 30procentigen Zuckercultur nach 62 Tagen 2,235 g Oxalat (+ 1,045 g). Zusammensetzung des Kalioxalats: $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4 + \text{H}_2\text{O}$.

Pepton, so ist das Resultat dasselbe, wie wir es sonst finden: es sammelt sich in der Nährlösung — allerdings unter schnellerem Wachstum — reichlich Oxalsäure als Ammoniaksalz an, und in älteren Culturen¹⁾ scheint dessen Menge dauernd zuzunehmen, während das Pilzgewicht sinkt:

1) 50 ccm NH_4NO_3 -Nährlösung mit 3 pCt. Pepton.

Culturdauer	Pilzgewicht	Oxalat
8 Tage	0,196 g	0,315 g
40 „	0,162 „	0,514 „

2) 50 ccm NH_4NO_3 -Nährlösung mit 10 pCt. Pepton.

Culturdauer	Pilzgewicht	Oxalat
6 Tage	0,922 g	1,603 g
40 „	0,660 „	2,120 „

Unterschiede in Pilzgewicht wie Oxalat sind nach gegen bei 15—20° angestellten Versuchen nicht wahrnehmbar²⁾, und die Temperatur hat — abgesehen von einer Beschleunigung — auf den Vorgang keinen nachweisbaren Einfluss.

Eine andere Sachlage erhalten wir jedoch, sobald wir weinsaures Ammoniak als Substrat verwenden. Hier keimen die Sporen zunächst gleichfalls aus, und es bilden sich zarte sterile Deckenanfänge, die, wie auch bei gewöhnlicher Temperatur, ungemein langsam wachsen. Während aber hier sehr bald Sporenbildung stattfindet und die Decken monatelang lebend bleiben, unterbleibt dort die Sporenentwicklung, und das vorhandene zarte Mycel stirbt nach Kurzem unter Verfärbung und Zubodensinken vollständig ab. Untersucht man nun die Nährlösung, so findet man, dass solche rothes Lakmus sofort energisch bläuet und keine nachweisbaren Spuren von Oxalsäure enthält; das erzeugte Pilzgewicht ist kaum wägbar und überschreitet in günstigen Fällen nicht einige Milligramm³⁾.

1) Bräunung der Flüssigkeit deutet hier auf eine wohl nur spurenweise Entstehung von Alkalicarbonat; gleiches beobachtet man bei alten Culturen, die bei Zimmertemperatur wachsen, so dass geringe Mengen des Oxalats vielleicht unter diesen Umständen weiter zersetzt werden. Uebrigens könnte die schwach alkalische Reaction auch durch gewisse andere Salze veranlasst werden.

2) Aus 1,5 g Pepton (50 ccm NH_4NO_3 -Nährlösung) wurden erhalten an Oxalat (30—36 Tage):

0,530 g
0,418 „
0,525 „
0,475 „
0,442 „

Aus 5 g dagegen (sonst wie vorher): 2,020 g, sodass die Zahlen so gut wie ganz übereinstimmen.

3) Von einer ausführlicheren Zusammenstellung der Versuche darf ich, da Zahlen für Oxalat überall nicht erhalten wurden, absehen (nur in einem Falle stieg das Gewicht der Pilzsubstanz auf 2 mg). Zusammensetzung der Nährlösung: NH_4NO_3 als Stickstoffquelle (100 ccm) mit 10 pCt. weinsaurem Ammon. Verarbeitung nach 42 bez.

Hier sehen wir also thatsächlich eine Wirkung der Temperatursteigerung, die aber für den Pilz verderblich ist. Soweit wir aus der Reaction (Bläuung von Lakmus, Nebel mit Salzsäure) einen Schluss ziehen können, findet hier eine Bildung von kohlensaurem Ammon statt; das Alkali wird aus dem weinsäuren Ammon abgespalten, die Weinsäure consumirt, und voraussichtlich zerstört nunmehr der Pilz die etwa gegebene Oxalsäure bez. es kommt unter diesen Bedingungen im Stoffwechsel überall nicht zu deren Abspaltung, sondern der Oxydationsprocess liefert unmittelbar Kohlensäure, und der Stoffwechsel ergibt demgemäss ein Product (Ammoncarbonat), dessen Ansammlung die Existenzfähigkeit des Organismus ausschliesst. Bereits bei den Peptonlösungen etc. sahen wir eine schwach alkalische Reaction auftreten, aber immerhin erwiesen sich die Bedingungen noch als günstigere wie hier, wo nothwendigerweise mit dem Consum eines Molecüls des Substrats beträchtlichere Mengen Basis frei werden müssen als aus dem relativ stickstoffarmen Pepton. — Es scheint der Fall noch darum von Interesse, als er zeigt, dass unter Umständen weniger günstige Wachstumsbedingungen trotzdem für den Pilz vortheilhafter sind.

Weiterhin dürfen wir ihm aber — sofern eine thatsächliche Zerstörung von Ammonoxalat vorliegt — wiederum entnehmen, dass die Resistenz oxalsaurer Salze keineswegs unbedingt ist, und auch *Aspergillus* wohl mehrfach geringe Mengen direct zu zersetzen vermag. Wie die früheren Zahlen erweisen, ist im Allgemeinen diese Fähigkeit aber eine sehr beschränkte und nur unter Umständen in's Gewicht fallende.

Die eingangs aufgeworfene Frage, ob die Ansammmlun freier Oxalsäure durch Temperaturerhöhung ausgeschlossen werden kann, ist hiernach in vollem Umfange zu bejahen, und wir dürfen — da auch Salmiak und Ammonsulfat als Stickstoffquelle bereits denselben Effect bei gewöhnlicher Temperatur erzielen, schliessen, dass der Consum dieser Salze gleichfalls fördernd auf den Stoffwechsel wirkt. Es ist dies aber keineswegs so aufzufassen, als ob nun das Ammoniak dieser eine geeignetere Stickstoffverbindung sei, sondern die Sache ist offenbar die, dass eine solche Auffassung überall nicht in Frage kommt, und allein das unmittelbare Resultat der Salmiak-Assimilation, welches ein Disponibelwerden bez. Mitwirken von Salzsäure - Molecülen (resp. Chloratomen) ergibt, von Einfluss

68 Tagen. Die Weinsäure wurde annähernd in ihrer Gesamtmenge als schön krystallisirtes Kalksalz wieder erhalten.

Bei gewöhnlicher Temperatur erzeugte der Pilz aus 1,5 g weinsäurem Ammoniak in 34—116 Tagen

0,525 g Oxalat

0,760 „ „

0,767 „ „

neben 0,030; 0,040 und 0,048 g Trockengewicht. Aus 20 g weinsäurem Ammon wurden in 107 Tagen neben 0,530 g Pilzsubstanz: 15,456 g Oxalat gebildet (oder präciser ausgedrückt: Soviel Alkalioxalat, als 15,456 g Kalkoxalat entsprechen).

ist¹⁾. Es werden damit günstigere Bedingungen für sofortige Weiterzersetzung der nachtheilig wirkenden Säure geschaffen, und dementsprechend tritt der gleiche Erfolg des beschleunigten Umsatzes zu Tage, sofern wir durch Mitwirken von säurebindenden Salzen (Alkaliphosphat etc.) Bedingungen für eine sofortige Festlegung der in Ammonnitrat-Minerallösungen abgespaltenen Oxalsäure schaffen, wie ja andererseits ein Kalkphosphat-Zusatz zu Salmiak-Minerallösung die entgegengesetzte Wirkung (verzögertes Wachsthum) hat.

Wir haben dann weiter einwurfsfrei dargethan, dass ein solches Ausbleiben der Säureansammlung nur im Sinne einer schnellen Zerstörung gedeutet werden darf, denn durch Mitwirken von kohlensaurem Kalk gelang es das thatsächliche Gegebenensein freier Säure zu zeigen. Es führte die Wärmesteigerung nicht zu einem sofortigen Zerfall der jeweilig gegebenen, also bereits im Momente des Entstehens, sondern solche tritt offenbar zuvor in reale Existenz, und hiermit stand es auch in Einklang, dass, sofern disponibel werdende Basen in Action treten, die Entstehung oxalsaurer Salze nicht unterdrückt wird. Nur ein specieller Fall nahm eine Ausnahme-stellung ein.

Endlich erwähne ich noch einiger Versuche zur Feststellung der eventuellen Nährfähigkeit der freien Oxalsäure bei der angegebenen Temperatur unter Gegenwart von Salmiak als Stickstoffquelle. Da solche, wenn auch in sehr beschränkter Weise, für *Penicillium* vorhanden, lag wenigstens die Möglichkeit einer solchen auch für *Aspergillus* nahe, aber die Resultate lassen sich nicht für eine solche deuten.

0,4 procentige Lösungen wurden nach Sporen-Impfung einige Wochen im Heizkasten gehalten, ohne dass mehr als ein Auskeimen derselben stattfand; im besten Falle erschienen kaum sichtbare Mycelhäufchen, deren Masse unwägbare war. Die Säure wies nach 3 und 4 Wochen sehr geringen, kaum in Betracht kommenden Rückgang auf, wie er durch die combinirte Licht-, Wärme- und Salmiakwirkung erklärbar wird, und dessen Betrag unter Berücksichtigung der Fehlerquelle noch als etwas zu hoch anzusehen ist. Damit wird aber weiter bewiesen, dass nicht die obwaltenden Bedingungen als solche (Wärme, Licht etc.) an der oben gezeigten raschen Zerstörung theilhaftig sind, sondern solche allein

1) Es sei daran erinnert, dass Oxydationen nicht allein durch freien Sauerstoff oder sauerstoffreiche Verbindungen, sondern auch durch Halogene hervorgerufen werden können, indem durch deren Reaction mit Wasser, neben Salzsäure etc., Sauerstoff frei wird. Auch werden Kohlenstoffverbindungen durch Chlor direct unter Bildung von Salzsäure zerstört. — Ob wir damit den Vorgang im Organismus treffen, ist allerdings eine andere Sache, wenn auch die Assimilation des Salmiaks kaum anders als mit Abspaltung von Salzsäure oder Chloratomen verbunden denkbar.

auf Rechnung des lebenden Pilzes zu setzen ist. Es wurden erhalten:

Bei 100 *ccm* NH_4Cl -Nährlösung mit 0,4 *g* krystall. Oxalsäure:

Nach 18 Tagen 0,430 *g* Oxalat

„ 27 „ 0,410 „ „

während die Berechnung aus 0,4 *g* Säure 0,464 *g* Oxalat ergibt, und hiernach nur Differenzen von 34 und 54 *mg* Oxalat = 21 bez. 33 *mg* Oxalsäure vorhanden sind.

Einen welch' hervorragenden Einfluss die Wachstumstemperatur auf die Ansammlung freier Oxalsäure hat, lässt sich nun weiter zeigen, wenn wir unseren Pilz bei sehr niederen Wärmegraden cultiviren. Keimung zeigen Sporenaussaaten auf Zuckerlösung erst oberhalb 7° C. und monatelang können sie bei dieser Temperatur ohne merkliche Veränderung aufbewahrt werden. Steigt solche nun auf 8—10° C., so beginnt ein langsames Wachstum, das aber erst nach 4—12 Wochen eine volle sporenbildende Decke ergibt. Hierbei findet nicht allein eine reichliche Abspaltung freier Säure statt, deren Menge die in normal bei 15° gewachsenen Culturen weit übertrifft, sondern solche ist auch noch unverändert vorhanden zu einer Zeit, wo in diesen ihre letzten Spuren in der Regel lange verschwunden zu sein pflegen.

Gleichzeitig hat es den Anschein, als ob unter diesen Umständen ein Nachtheil der angesammelten Säure weniger sich geltend macht und ihre Quantität durch die Menge des gebotenen und umgesetzten Zuckers mitbestimmt wird — eine Erscheinung, welche unter anderen Umständen nicht beobachtet wird¹⁾. Z. B.:

50 *ccm* NH_4NO_3 -Nährlösung mit 3 pCt. Dextrose (Temperatur 7—9° C.).

	Oxalat	Pilzgew.
222 Tage . . .	0,624 <i>g</i>	0,223 <i>g</i>
222 „ . . .	0,820 „	0,181 „

und ebenso mit 10 pCt. Dextrose:

222 Tage . . .	1,572 <i>g</i>	0,610 <i>g</i>
----------------	----------------	----------------

Vergleichen wir damit die Zahlen aus bei 15—20° gewachsenen Culturen, so ergibt sich hier als Maximum für die freie Säure (als Kalksalz gewogen) ungefähr 0,4 *g* im gleichen Flüssigkeitsvolumen (wobei es unwesentlich, ob 3 oder 10 pCt. Zucker gegeben wurden); bei verlängerter Culturdauer geht diese merklich zurück und in der Regel ist nach ca. 100 Tagen bereits ihre Gesamtmenge wieder verschwunden.

1) Bei 15° C. hat ein gesteigerter Zuckerumsatz unter übrigens gleichen Umständen keine reichlichere Abspaltung freier Säure zur Folge (Regulation ihrer Ansammlung) l. c.

Die Fähigkeit einer totalen Wiederzersetzung kommt dem Pilz hiernach unter sonst gleichen Bedingungen nur bei einer gewissen Temperatur zu, und diese erweist sich demnach als ausserordentlich wichtig und solche allein bestimmend. Es ergiebt der Stoffwechsel, sofern wir den Endeffect in's Auge fassen, unter verschiedenen Wärmeverhältnissen qualitativ verschiedene Nebenproducte, deren Ansammlung in dem einen Falle verhindert wird, sofern das für einen günstigen — und wir dürfen sagen: normalen — Stoffwechselverlauf erforderliche Wärmequantum zur Verfügung steht, während eine Herabminderung seiner Intensität durch Erhaltung eines nachtheilig wirkenden Nebenproducts einen den Organismus schädigenden Einfluss hat. Es ist sehr wahrscheinlich, dass die ausbleibende Zerstörung als Folge einer Herabsetzung der Oxydationswirkung aufzufassen und die Beschleunigung durch Wärmezufuhr — also die Zerstörung der Säure überall — auf einen nunmehr in intensiverer Weise sich abspielenden Oxydationsvorgang zurückzuführen ist. Natürlich wäre es eine verfehlte Deutung des Processes, wenn wir die Zersetzung — wie das bei anderer Gelegenheit neuerdings versucht wurde — auf eine directe Wärmewirkung zurückführen wollten, und überdies konnten wir ja das Unzutreffende dieser Vorstellung unmittelbar durch den Versuch erweisen.

Dass ein massgebender Einfluss dem Sauerstoff nicht zukommt und der Vorgang der Säureansammlung etwa nicht durch Mangel an solchem hervorgerufen wird, braucht nicht erörtert zu werden, da dem die Thatsachen selbst schon widersprechen. Die Säure ist demnach auch in diesem Sinne nicht als „unvollständiges Oxydationsproduct“ anzusehen, wie DUCLAUX¹⁾ geltend machte, und braucht überall nicht nothwendig das directe Product eines unter Sauerstoffeingriff erfolgenden Oxydationsprocesses zu sein, da der gleiche Effect durch Spaltungen, denen irgend ein complicirt zusammengesetzter Körper unterliegen kann, erreicht würde, und streng genommen dürfen wir sie nur mit Rücksicht auf das Ausbleiben ihrer vermuthlichen Oxydation als ein solches bezeichnen, obschon sich ihr Wiederverschwinden ja auch als durch Zerspaltung bedingt erklären lässt²⁾. Auch über die Natur der Verbindung, die als ihre Muttersubstanz anzusehen, können wir Sicheres nicht sagen, denn möglich ist ebensowohl eine directe Abspaltung aus dem Zuckermolecül unter Sauerstoffeingriff, wie eine Entstehung aus irgend welchen anderen Körpern, die sich in letzter Linie naturgemäss von dem consumirten Zucker ableiten. Der Vorgang ist aber darum noch von einigem Interesse, als wir die Entstehung freier organischer

1) Chimie biologique (Encyclopédie chimique publié sous la direction d. M. Frémy, T. IX., 1883, p. 219.)

2) In dieser Weise soll die Säurezersetzung am Licht unter bestimmten Umständen verlaufen, wobei neben Kohlensäure Kohlenoxyd auftritt. Für pflanzliche Verhältnisse könnte überdies noch eine Reduction in Betracht kommen.

Säuren, wenn auch anderer Qualität, mehrfach schon kennen, und die Autoren im allgemeinen geneigt sind, solche auf Sauerstoffmangel, ungünstige Ernährungsbedingungen etc. zurückzuführen. Insbesondere habe ich hier die Bildung freier Aepfelsäure bei Crassulaceen im Auge, wie sie von AD. MAYER¹⁾, DE VRIES²⁾ und WARBURG³⁾ näher untersucht wurde. Wenn ein Vergleich dieser mit der Oxalsäure auch keineswegs ohne Weiteres zulässig ist, so darf doch daran erinnert werden, dass die Vorgänge der Entstehung organischer Säuren in den Einzelheiten eine grosse Aehnlichkeit zeigen, und solche selbst wohl als durch den Verlauf des Stoffwechsels vorgezeichnete intermediäre Producte, die weiterhin für Stoffbildungsvorgänge in Betracht kommen, oder auch einen totalen Zerfall erleiden können, anzusprechen sind. Wie die Oxalsäure nach kürzerer oder längerer Zeit, so verschwindet die Aepfelsäure aus dem Blatt von *Bryophyllum* während der täglichen Insolation, um nachts sich wiederum anzusammeln, und eine ähnliche Periodicität würden wir für erstere in einer Pilzcultur herstellen können, die abwechselnd bei 10° und 35° C. gehalten würde. Ueber die Ansichten nach dem Grunde des täglichen Säureverschwindens in *Bryophyllum*-Blättern gehen die Ansichten noch auseinander; AD. MAYER spricht sich für eine Rückverwandlung in Kohlenhydrat aus, und auch G. KRAUS⁴⁾ hält dies nicht für unmöglich, während DE VRIES⁵⁾ eine unter Kohlensäure-Entbindung verlaufende Oxydation annimmt. Wenn auch eine Reduction unter Umständen stattfinden mag, und die Säure vermuthlich in bestimmten Fällen als plastisches Material dienen kann, so halte ich doch im Ganzen die DE VRIES'sche Auffassung, welche etwa bei der Zersetzung gebildetes Kohlenhydrat auf die Assimilation der freiwerdenden Kohlensäure zurückführt, für zutreffender, und ein Vergleich mit der Abspaltung und Zerstörung von Oxalsäure⁶⁾ scheint mir nicht ganz unstatthaft. Ein Wahrscheinlichkeitsbeweis dafür ergibt sich aus der von den Beobachtern festgestellten Thatsache, dass die nächtliche Säurebildung in *Bryophyllum*-Blättern bei künstlich herbeigeführter Temperaturerhöhung unterbleibt, und demnach nur unter normalen Verhältnissen, wo der nächtliche Stoffwechsel bei relativ niedrigen Wärmegraden verläuft, stattfindet. Allein die Insolation

1) Landwirthschaftl. Versuchsstat. 1875., B. XVIII, p. 410; 1878, B. XXI p. 277; 1884 p. 227; 1887, p. 127.

2) „Ueber die Periodicität im Säuregehalt der Fettpflanzen“. Amsterdam 1884.

3) „Ueber die Bedeutung der organischen Säuren für den Lebensprocess der Pflanzen (spec. der sogenannten Fettpflanzen)“ in „Unters. aus dem Botan. Institut zu Tübingen“ 1886, II. B. p. 54.

4) „Stoffwechsel der Crassulaceen“. Halle 1886, p. 25, (in „Abhandlungen der Naturforsch.-Gesellsch. zu Halle“, B. XVI.)

5) l. c.; vergl. auch WARBURG l. c.

6) Auf die KOHL-SCHIMPER'schen Hypothesen in Betreff ihrer Bildung einzugehen, darf — da solche nach Allem gegenstandslos — vermieden werden.

während des Tages in Verbindung mit der schwachen Transpiration muss bei compacten Gewebemassen eine beträchtliche Temperatursteigerung zur Folge haben, die nunmehr den Umsatz in ähnlicher Weise wie bei *Aspergillus* beschleunigt und so eine rasche Säurezerstörung veranlasst, während der nächtliche Wärmeausfall das Gegentheil ergibt. Ob diese Annahme, welche der Lichtwirkung wie der Sauerstoffentbindung in den grünen beleuchteten Zellen weniger Bedeutung beimisst, zutrifft, wäre experimentell zu entscheiden, denn dann müsste auch Temperaturherabsetzung am Tage eine Säurevermehrung zur Folge haben. Mir scheint an dem Säureauftreten bei dickblättrigen Pflanzen im Ganzen weniger der gehemmte Sauerstoffzutritt, der überdies wohl noch zweifelhaft¹⁾, — als die beträchtlichen Schwankungen in der Temperatur betheiligt zu sein, deren Einfluss sich selbstverständlich mit der Eigenart des Stoffwechsels summirt. Bekanntlich sind einige Cacteen gleichfalls sehr säurereich; hier finden wir jedoch vorwiegend Oxalsäure, welche in Form des Kalksalzes in ausserordentlicher Menge niedergeschlagen wird (bis 85 pCt. der Trockensubstanz), und diesen gleichen Vorgang beobachten wir bei gewissen kalkbewohnenden Flechten. In beiden Fällen haben wir Pflanzen vor uns, die einer starken täglichen Erwärmung und nächtlichen Abkühlung unterworfen sind, und sofern ihr Stoffwechsel reichlich Oxalsäure unzersetzt abzuspalten befähigt ist, resp. solche schwieriger zerstört, wird eine Temperaturerniedrigung, event. verbunden mit der Kalkwirkung, die Möglichkeit einer Oxalsäureanhäufung in besonderem Grade ergeben, wenn auch schon der Umsatz am Tage bei Gegenwart von kohlen saurem Kalk — analog der Erscheinung bei *Aspergillus* — solche keineswegs ausschliesst.

Uebrigens werden Versuche in diesen Fragen erst den Entscheid bringen können, und ohne solche bleibt eine Erörterung, die nur mit Möglichkeiten rechnet, stets ziemlich gegenstandslos.

In nachfolgender Tabelle sind die einzelnen, theilweise oben bereits mitgetheilten Versuche übersichtlich zusammengestellt. Selbe wurden im Leipziger Botanischen Institut ausgeführt, und bin ich dem Leiter desselben, Herrn Geheimrath Professor PFEFFER, für das denselben geschenkte freundliche Interesse in Dankbarkeit verpflichtet.

In der Tabelle giebt die erste Columne die laufende Nummer, die zweite die Culturdauer, und die dritte das (bei 110° C. getrocknete)

1) Wenigstens setzt die Aussenwand dem Sauerstoffeintritt wohl kaum erhebliche Hindernisse entgegen, da die Durchlässigkeit der Cuticula für Gase erwiesen ist (PFEFFER, l. c., p. 88), und es dürfte auch wohl im Innern ein Sauerstoffmangel kaum entstehen.

Uebrigens ist nach G. KRAUS (l. c., p. 18) der tägliche Säurewechsel allgemeine Regel und nicht bloss auf Crassulaceen beschränkt; es sind jedoch die Unterschiede bei anderen Pflanzen sehr viel geringer. KOHL glaubt ihn neuerdings, rein hypothetisch, zur Kalkoxalatbildung in Beziehung setzen zu dürfen („Kalksalze und Kieselsäure“ p. 60).

Gewicht der erzeugten Pilzsubstanz, dagegen die vierte das des gewonnenen oxalsauren Kalkes wieder.¹⁾ Die Menge des gebotenen Zuckers etc. findet sich in der fünften und die Angabe über Natur der benutzten Mineralsalzlösung in der sechsten Columnne. Die folgende giebt den etwaigen Zusatz von kohlensaurem Kalk etc. an, und die letzte das Volumen der Culturflüssigkeit, welches übrigens mit wenigen Ausnahmen 50 *ccm* betrug.

Zum Vergleiche wurden die bei 35 und 15° C. erhaltenen Zahlen nebeneinander gestellt.

Unter 4 p. 182—183 sind die Zahlen für die Intensität der Säurezersetzung gesondert aufgeführt. —

Leipzig, 30. Mai 1891.

1) Wasserfreie Oxalsäure ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$) berechnet sich daraus durch Multiplication mit dem Factor 0,6164 ($\text{Ca C}_2\text{O}_4, \text{H}_2\text{O} : \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 = 146 : 90$). An Stelle der Zahlen für das Kalkoxalat direct die entsprechenden Oxalsäurewerthe zu setzen, schien mir aus mehreren Gründen unzweckmässig, da u. a. für Beurtheilung der Versuchsergebnisse die unmittelbar gewonnenen Werthe erforderlich sind. Die Identificirung des Oxalats fand durch Bestimmung der Säure oder Basis in abgewogenen Mengen und üblicher Weise statt (Titriren mit Chamaeleon-Lösung bez. gewichtsanalytische Bestimmung des Ca O). Bei vorliegenden sehr geringen Mengen ist diese Methode entweder unsicher oder überall nicht mehr anwendbar, doch giebt die Titrirung bei 0,020 *g* noch brauchbare Resultate. In Betreff des Näheren verweise ich auf die eingangs citirte Arbeit.

I. Culturen bei 34—35° C.

1. Culturen mit Zucker als organischem Substrat.

Lfd. Nummer	Tage	Pilz- gewicht <i>g</i>	Oxalat <i>g</i>	Zucker <i>g</i>	Mineral- lösung	etwaiger Zusatz in pCt.	Volum <i>ccm</i>
1	4	0,273	0	1,5 (3 pCt.)	NH ₄ NO ₃ -N.	0	50
2	8	0,363	0,008	"	"	0	50
2a	8	0,400	0,012	"	"	0	50
3	15	0,390	0,028	"	"	0	50
4	18	0,382	0	"	"	0	50
5	32	0,386	Spur	"	"	0	50
6	42	0,288	0,072	"	"	0	50
7	42	—	Spur	"	"	0	50
8	68	0,232	0,068	"	"	0	50
9	4	0,510	0	5 (10 pCt.)	"	0	50
10	8	0,770	0,004	"	"	0	50
11	15	0,872	0,077	"	"	0	50
11a	42	0,752	0,168	"	"	0	50
12	4	0,200	0,012	1,5 (3 pCt.)	KNO ₃ -N.	0	50
12a	8	0,290	0,023	"	"	0	50
13	15	0,260	0,073	"	"	0	50
14	42	0,290	0,133	"	"	0	50
15	42	0,320 ¹⁾	0,790	1,5 (3 pCt.)	NH ₄ NO ₃ -N.	5 Ca CO ₃	50
16	60	0,008	0,730	"	"	"	50
17	6	0,020	0,320	5 (10 pCt.)	"	"	50
18	40	0,200	0,360	"	"	"	50
19	40	2,042	1,856	20 (20 pCt.)	"	"	100
20	40	1,630	1,510	"	"	"	100
21	40	4,332	1,886	30 (30 pCt.)	"	10 "	100
22	32	0,372	0,695	1,5 (3 pCt.)	"	1 K ₂ C ₂ O ₄	50
23	32	0,440	0,470	"	"	"	50
24	32	0,893	1,357	5 (10 pCt.)	"	3 "	50
25	32	1,082	1,325	"	"	"	50
26	19	0,293	0,082	1,5 (3 pCt.)	"	0,4 Oxals.	50
27	19	0,258	0,004	"	"	"	50
28	19	0,393	0,112	"	"	0,5 "	50
29	19	0,190	0,240	"	"	"	50

II. Culturen bei 15—20° C.

1. Culturen mit Zucker als organischem Substrat.

Laufende Nummer	Tage	Pilz- gewicht <i>g</i>	Oxalat <i>g</i>	Zucker <i>g</i>	Mineral- lösung	Etwaiger Zusatz in pCt.	Volum <i>ccm</i>
1	4	0,128	0,035	1,5 (3 pCt.)	NH ₄ NO ₃ -N.	0	50
2	9	—	0,005	"	"	0	50
3	16	0,120	0,070	"	"	0	50
4	23	0,185	0,170	"	"	0	50
5	37	0,225	0,275	"	"	0	50
6	47	0,215	0,255	"	"	0	50
7	54	0,290	0,248	"	"	0	50
8	66	0,298	0,262	"	"	0	50
9	17	0,620	0,171	5 (10 pCt.)	"	0	50
10	36	0,820	0,220	"	"	0	50
11	54	0,795	0,263	"	"	0	50
11a	58	0,755	0,390	"	"	0	50
12	11	0,195	0,351	1,5 (3 pCt.)	KNO ₃ -N.	0	50
13	24	0,380	0,426	"	"	0	50
14	42	0,278	0,375	"	"	0	50
15	46	0,051	1,122	1,5 (3 pCt.)	NH ₄ NO ₃ -N.	5 Ca CO ₃	50
16	72	0,130	1,340	"	"	"	50
17	16	0,037	0,082	5 (10 pCt.)	"	"	50
18	54	0,362	1,870	"	"	"	50
19	150	0,350	3,122	"	"	"	50
20	96	1,580	6,225	15 (15 pCt.)	"	—	100
21	106	0,522	5,585	15 (30 pCt.)	"	—	50
22	62	0,412	1,262	1,5 (3 pCt.)	NH ₄ NO ₃ -N.	2 K ₂ C ₂ O ₄	50
23	54	2,834	2,235	15 (30 pCt.)	"	3 K ₂ C ₂ O ₄	50
24	—	—	—	—	—	—	—
25	—	—	—	—	—	—	—
26	113	0,403	0,068	1,5 (3 pCt.)	NH ₄ NO ₃ -N.	0,4 Oxals.	50
27	113	0,392	0,062	"	"	"	50
28	—	—	—	—	—	—	—
29	—	—	—	—	—	—	—

I. Culturen bei 34–35° C.

2. Culturen mit Pepton als organischem Substrat.

Laufende Nummer	Tage	Pilz-gewicht <i>g</i>	Oxalat <i>g</i>	Nährstoff <i>g</i>	Mineral-lösung	Etwaiger Zusatz in pCt.	Volum <i>ccm</i>
30	8	0,196	0,315	1,5 (3 pCt.)	NH ₄ NO ₃ -N.	0	50
31	40	0,162	0,514	"	"	0	50
32	6	0,922	1,603	5 (10 pCt.)	"	0	50
33	40	0,660	2,120	"	"	0	50

3. Culturen mit weinsaurem Ammoniak.

34	42	0,001	0	10 (10 pCt.)	NH ₄ NO ₃ -N.	0	100
35	60	0,002	0	"	"	0	100

4. Zerstörung zugesetzter Oxalsäure in 3 procentigen Zucker-Culturen (50 *ccm* NH₄NO₃-Nährlösung.)

Laufende Nummer	Tage	Zusatz von Oxalsäure ¹⁾ <i>g</i>	Pilz-gewicht <i>g</i>	Oxalat		Differenz <i>g</i>	Zerstört an Säure <i>g</i>
				erhalten	berechnet		
				<i>g</i>	<i>g</i>		
36	19	0,2	0,293	0,082	0,232	– 0,150	0,130
37	19	0,2	0,258	0,004	0,232	– 0,228	0,194
38	19	0,25	0,398	0,112	0,290	– 0,178	0,152
39	19	0,25	0,190	0,240	0,290	– 0,050	0,043
40	32	0,5	0,040	0,760	0,577	+ 0,187	0
41	32	0,5	0,010	0,920	0,577	+ 0,343	0

1) Stets zu beziehen auf krystallisierte Säure, also $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$; ebenso die Oxalatzusammensetzung stets $\text{CaC}_2\text{O}_4 + \text{H}_2\text{O}$.

II. Culturen bei 15–20° C.

2. Culturen mit Pepton als organischem Substrat.

Laufende Nummer	Tage	Pilz-gewicht <i>g</i>	Oxalat <i>g</i>	Nährstoff <i>g</i>	Mineral-lösung	Etwaiger Zusatz in pCt.	Volum <i>ccm</i>
30	33	0,160	0,418	1,5 (3 pCt.)	NH ₄ NO ₃ -N.	0	50
31	36	0,150	0,525	"	"	0	50
32	33	0,162	0,530	"	"	0	50
33	58	0,785	2,020	5 (10 pCt.)	"	0	50

3. Culturen mit weinsaurem Ammoniak.

34	107	0,530	15,465	20 (10 pCt.)	NH ₄ NO ₃ -N.	0	200
35	34	0,030	0,767	1,5 (3 pCt.)	"	0	50
35a	70	0,040	0,525	"	"	0	50

4. Zerstörung zugesetzter Oxalsäure in 3 procentigen Zucker-(resp. 10 procentigen Weinsäure-) Culturen (50 *ccm* NH₄ NO₃-Nährlösung.)

Laufende Nummer	Tage	Zusatz von Oxalsäure <i>g</i>	Pilz-gewicht <i>g</i>	Oxalat		Differenz <i>g</i>	Zerstört an Säure <i>g</i>
				erhalten	berechnet		
				<i>g</i>	<i>g</i>		
36	113	0,2	0,403	0,068	0,232	—0,164	0,133
37	113	0,2	0,392	0,062	0,232	—0,170	0,145
38	102	0,2 } mit 10 pCt. 0,1 } Weinsäure	0,112	0	0,232	—0,232	0,200
39	102		0,070	0	0,116	—0,116	0,100
40	—	—	—	—	—	—	—
41	—	—	—	—	—	—	—

Berichtigungen.

Seite 165 ist die Fussnote wegzunehmen; sie gehört an den Fuss der Seite 164.

- „ 274 Zeile 10 von oben lies „aufrechtes Ovulum“ statt „hängendes Ovulum“.
- „ (24) ist die sub No. 11 angeführte Arbeit „Die Spermatozoïden im Pflanzenreich“ fälschlich SCHENK zugeschrieben. Die Arbeit ist von SCHAOT veröffentlicht.
- „ (75) Zeile 17 von oben lies *Brunfelsia hydrangeaeformis* statt *hydrangeae-folia*.

Tafel XX (zu C. WEHMER, Lindeninflorescenzen) enthält einige Ungenauigkeiten.

In Fig. 1 ist die obere Knospe incorrect wiedergegeben. Die äussere Schuppe fällt nach rechts, und ist dementsprechend die sie oben begrenzende Linie nach unten zu verlängern.

In Fig. 4 ist die Inflorescenzaxe in dem Punkte ihrer Krümmung ohne Unterbrechung in den die Bractee tragenden Theil fortzusetzen.



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1891

Band/Volume: [9](#)

Autor(en)/Author(s): Wehmer Carl Friedrich Wilhelm

Artikel/Article: [Ueber den Einfluss der Temperatur auf die Entstehung freier Oxalsäure in Culturen von Aspergillus niger van Tiegh. 163-183](#)