

Untersuchungen über bakterielle Hemmwirkungen auf das Wachstum von *Fusarium oxysporum* f. *cubense*

Von K. W. Kuchar (Technische Hochschule, Wien)

Mit 7 Textfig.

Versuche mit Hyphomyceten, insbesondere Mucedineen, haben erwiesen, dass gewisse Bakterienstämme die genannten Pilze hemmen oder auch lösen können (Kuchar, 1959, im Druck). Daher war mit einiger Wahrscheinlichkeit zu erwarten, dass auch für Tuberculariaceen, so die Gattung *Fusarium* und namentlich *Fusarium oxysporum* f. *cubense*, Bakterien gefunden werden könnten, die in diesem Sinne wirksam sind.

Arbeiten anderer Autoren, die sich auf die Wechselwirkung bzw. Hemmung von Pilzen und Bakterien beziehen, schienen diese Vermutung zu stützen. Ich verweise auf solche Arbeiten, wie z. B. von Stevenson (1954) über die antibiotische Wirkung von *Actinomyces* auf *Helminthosporium* und die Arbeit von Pridham (1956), die sich auf die Wirkung von Streptomyceten auf *Phytophthora* u. a. bezieht. Zwar ist in diesen Arbeiten von Pilzen die Rede, aber nicht von dem hier interessierenden *Fusarium oxysporum*. Darüber (allerdings nicht über die f. *cubense*) handelt die Arbeit von Buxton (1955), die über das verschiedene Verhalten gegenüber Actinomyceten und die diagnostische Bedeutung dieses Verhaltens berichtet.

Meine orientierenden Versuche in dieser Richtung, mit 45 frisch isolierten Bakterienstämmen verschiedener systematischer Stellung ergaben, dass besonders ein Sporenbildner — über dessen Systematik eine weitere Arbeit berichten wird — aktiv war.

Nährböden und Kultur von *Fusarium oxysporum* f. *cubense*.

Die erste Frage gilt den Nährböden und der Kultur. Es dreht sich darum, einerseits solche Nährböden anzuwenden, die die Kultur des Pilzes ermöglichen, zudem sollen es auch Nährmedien verschiedener Provenienz sein, um durch Passagen die physiologische Aktivität des Pilzes aufrechtzuerhalten (Florey, 1949). Diese Medien dienen lediglich der Fortzüchtung des Pilzes und haben das Impfmateriale zu liefern. Andererseits handelt es sich um die eigentlichen Versuchsmedien, die gleichermassen für den Pilz als auch für die untersuchten Bakterienstämme günstige Entwicklungsmöglichkeiten bie-

ten sollen. Für die Pilzkultur wurden Würze, Kartoffel und Brot verwendet. Die Züchtungstemperatur war stets 25° C aus später zu erörternden Gründen. Das Impfmateriale stammt von den Laboratorien der United Fruit Co. Boston, Mass.

Der Pilz wurde auf Agarplatten frisch nerangezüchtet und die nach dem Tröpfchenverfahren von Lindner gewonnenen Einzelkulturen bildeten den Ausgangspunkt für alle weiteren Versuche. Der Pilz wurde alternierend auf den angegebenen Nährböden kultiviert und zugleich wurden Parallelproben in steriler Erde angelegt.

W ü r z e n ä h r b ö d e n. Ungehopfte Brauerei-Vorderwürze wird zwei Stunden im Dampftopf gekocht, über ein Kieselgurfilter abgenuchts oder zentrifugiert und das klare Filtrat oder Zentrifugat mit Leitungswasser auf 10° Bllg. eingestellt. Auf Kölbchen abgefüllt folgt dreimalige fraktionierte Sterilisation. Für manche Versuche wird der Würze 2% Agar zugesetzt, dieser über Nacht quellen gelassen und durch kurzes Aufkochen gelöst und filtriert.

K a r t o f f e l n ä h r b ö d e n. Nach der üblichen Vorbehandlung und nach steriler Entfernung des Periderms werden die Knollen in Scheiben geschnitten und in sterile Petrischalen gelegt, die mit wasserfeuchtem Zellstoff ausgelegt sind. Die nicht weiter sterilisierten Kartoffelscheiben werden drei Tage lang bebrütet und die infizierten Schalen eliminiert. Es waren auch dreimal im Dampf sterilisierte Kartoffel in Gebrauch.

B r o t n ä h r b ö d e n. Schwarzbrottscheiben in sterilen Petrischalen, die mit angefeuchtetem Zellstoff ausgekleidet sind, werden einer dreimaligen Dampfsterilisation unterworfen.

Von allen geprüften Nährböden hat sich die Würze oder der Würzeagar als bestes Nährmedium erwiesen. In der Regel ist nach einigen Tagen Inkubation ein deutliches Myzel wahrnehmbar, das sich dann rasch weiterentwickelt und nach etwa einer Woche sind reichlich Mikrokonidien gebildet. Die Makrokonidien entwickeln sich langsamer und sind auch weniger zahlreich. Im Endstadium sind die Kolonien als geschlossene, fest zusammenhängende Decken ausgebildet. Auf Würzeagar entsteht allmählich das für die Tuberculariaceen typische gallertige stromatische Gefüge.

Auf Brotnährböden erfolgt das Wachstum rascher, es entwickelt sich üppiges Luftmyzel, die Stromabildung unterbleibt meistens oder ist nur kümmerlich.

Die Kartoffel sind am wenigsten als Nährböden geeignet. Auf den ungedämpften Kartoffeln bildet sich nur spärlich und langsam ein dürftiges Myzel; etwas besseres Wachstum ist auf den dampfsterilisierten Scheiben zu erzielen. Die Kultur auf Kartoffeln führt vor allem zu einer ziemlich starken Desaminierung, der Stickstoffgehalt des Nährbodens fällt, hingegen werden die Zellwände, insbesondere die Mittellamelle kaum oder nur schwach angegriffen. Ein

Absinken des Pentosegehaltes ist zumindest in der ersten Zeit kaum nachweisbar. Deshalb unterbleibt die Mazeration, auch bei längerer Züchtung.

Züchtungs-Temperatur.

Die Literatur gibt für *Fusarium oxysporum* Temperaturen von 38—40° C als Maximum für das Myzelwachstum und die Aggressivität an; das Optimum liegt wie für viele andere Fusarien bei 25—30° C (Goss, 1923). Zudem erfolgt die Infektion der Kartoffel bereits bei 12° C, wo der Pilz also seine Aggressivität entwickelt, ohne indessen bei dieser Temperatur virulent zu sein, d. h. er vermag bei dieser Temperatur zwar in den Wirt einzudringen, ohne vorläufig Krankheitserscheinungen hervorzurufen. Immerhin, das Myzelwachstum findet selbst bei dieser Temperatur statt.

Es wurde daher bei allen folgenden Versuchen — wo es darum ging, einheitliche Kulturbedingungen sowohl für den Pilz als auch für die Bakterien zu schaffen — die Temperatur von 25° C beibehalten. In diesem Temperaturbereich zeigen sowohl der Pilz als auch die Bakterien gutes Wachstum.

Bouillon-Würze als Kollektivnährmedium für *Fusarium* und Bakterien.

In der Würze wachsen die untersuchten Bakterien schlecht oder gar nicht und deshalb mussten Nährböden gesucht werden, die zwar Würze für das Pilzwachstum enthalten, zugleich aber auch den Bakterien möglichst optimale Wachstumsbedingungen bieten. Als brauchbar haben sich Bouillon-Würze-Gemische erwiesen, die auch für die weiteren Versuche verwendet wurden. Dabei hat sich herausgestellt, dass, wie zu erwarten, in Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Nährmediums Ertragsschwankungen innerhalb gewisser Grenzen auftreten. Vor allem mussten die Peptonpräparate untersucht werden, von denen einige durch tryptischen Eiweissabbau gewonnen wurden. Fig. 1 zeigt das Wachstum auf einem Nährboden, dessen Peptonkomponente aus einem Gemisch zweier Peptonarten besteht, und dieser Nährboden wurde schliesslich für alle folgenden Versuche beibehalten.

Die Bouillon besteht aus Hefewasser mit Pepton und Kochsalz. Der Wuchsstoffgehalt des Hefewassers macht dieses Substrat als Nährmedium-Komponente gut geeignet. Ebenso brauchbar ist Hefeautolysat: 1 kg Presshefe wird mit 250 ml Wasser angerührt und mit 8,75 g K-metabisulfat und 1,25 ml konz. Salzsäure versetzt. Nach 24 Stunden bei 45—50° C wird filtriert. Der Stickstoffgehalt des Autolysates ist 16—17 g/l. Vor der Verwendung wird das Autolysat auf 700 mg/l Stickstoff verdünnt und weiter so wie Hefewasser verwendet.

Wachstumskurve.

Die hier und bei den weiteren Versuchen angewandte Methodik ist die bei Studien dieses Arbeitsgebietes übliche (vgl. z. B. K u c h a r, 1950). Als Nährlösung wurde die beschriebene Bouillon-Würze verwendet. Die Kulturdauer beträgt 14 Tage,

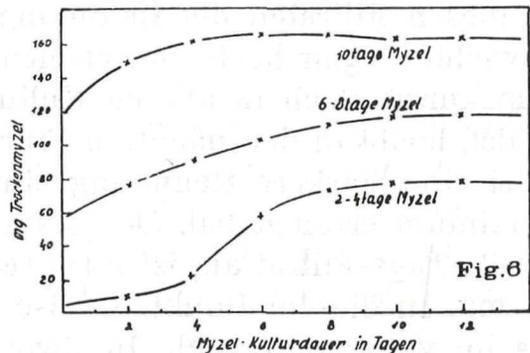
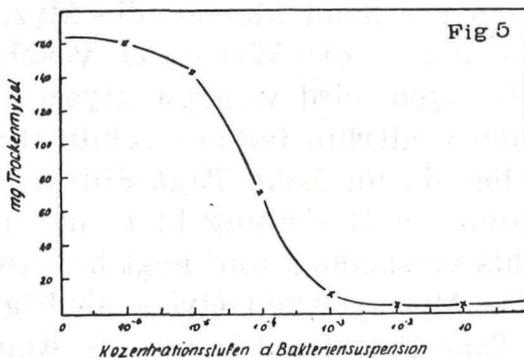
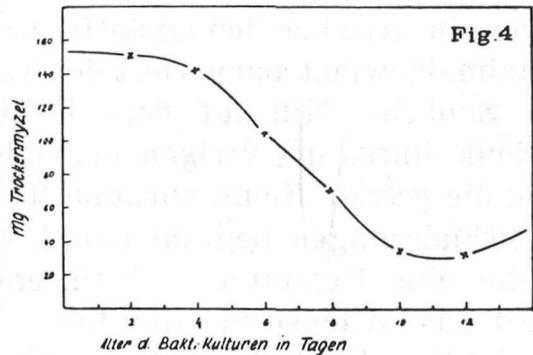
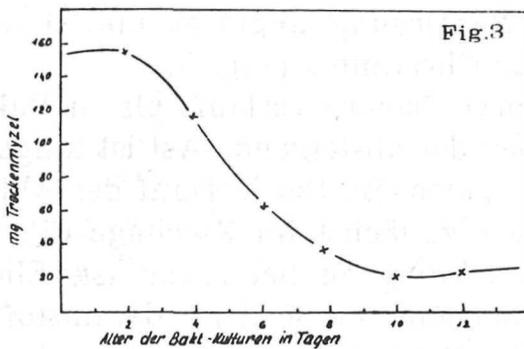
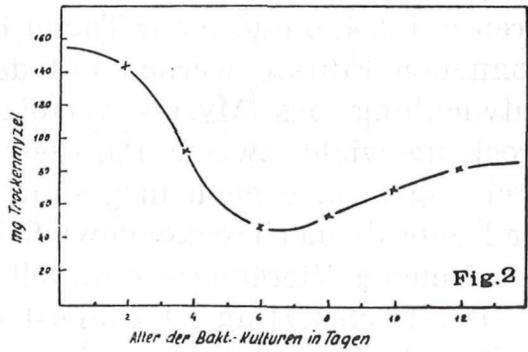
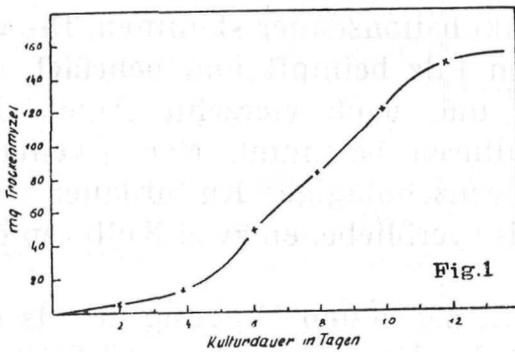
Die erste Phase, das Keimstadium und die erste Entwicklung, ist etwa am vierten Tag abgeschlossen. (Fig. 1). Jetzt macht sich die Autokatalyse stärker bemerkbar, die Stoffproduktion steigt rapid, die Wachstumskurve verläuft nahezu linear. In diesem Stadium beginnt die Deckenbildung mit vermehrtem Wachstum an den Glasrändern, so dass sich nach etwa acht Tagen ein deutlicher Ring mit Lufthyphen zeigt. Die Zuwachsquote beträgt rund 20 mg pro Tag und am zwölften Tag ist oft das Maximum erreicht, manchmal etwas später. Dann überwiegen die hemmenden Faktoren so stark, dass damit das Erntemaximum erreicht wird und der weitere Zuwachs unterbleibt. In der Schlussphase, wenn also die Kurve sich parallel zur Abszisse zu krümmen beginnt, ist meist die Decke voll ausgebildet. Das vorerst submers Myzel bildet auch in der Mitte Lufthyphen und nach 14 Tagen ist dann meist eine homogene weisse Lufthyphendecke ausgebildet. Die Konidienbildung setzt ganz allgemein ein, die Kurve wird parallel zur Abszissenachse. Die Ausbildung neuer Lufthyphen wird während der zweiten Phase kontinuierlich fortgesetzt. Das Luftmyzel kann aber in der Mitte auch fehlen und bleibt dann nur auf den Rand beschränkt. Trotzdem ist die Decke geschlossen, wenn auch in der Mitte submers, und auf die quantitative Bildung der Trockensubstanz kaum von entscheidender Bedeutung.

Hemmwirkung in Mischkulturen.

Um die direkte Wirkung der Bakterien auf den Pilz zu untersuchen, wird der Pilz in wachsende Bakterienkulturen mit der oben beschriebenen Bouillon-Würze als Nährsubstrat geimpft. Im einzelnen wird so vorgegangen: Serien mit vier Kölbchen von je 300 ml Inhalt und mit je 50 ml Nährlösung, werden mit dem Bakterienstamm geimpft. In Abständen von zwei Tagen folgt die Pilzimpfung und nach weiteren 14 Tagen Inkubation die Bestimmung der Trockengewichte. Somit erhält man die Pilzproduktion in Bakterienkulturen verschiedenen Alters, die also beim Versuchsbeginn null, zwei, vier Tage usw. alt waren. Nun ist aber zur Beurteilung wesentlich, dass nach der Pilzimpfung die Bakterien weiter wachsen. Daher verblieb der Pilz der ersten Serie — also am Tage Null geimpft — in einer insgesamt vierzehntägigen Bakterienkultur; die zweite Serie beinhaltet sechzehntägige Bakterienkulturen, die dritte achtzehntägige usw. Nachdem der Stoffwechsel der Bakterien nicht gestoppt ist,

ergibt sich eine Kurve, die das Resultat sowohl der Hemmwirkung als auch aller weiteren Stoffwechselfvorgänge der wachsenden Bakterienkultur darstellt. (Fig. 2).

Die Versuche zeigen, dass dann, wenn die Pilzimpfung in ganz junge Bakterienkulturen erfolgt, das Pilzwachstum kaum gehemmt erscheint. Der Pilz erreicht noch Maximalernten von 160 mg, manchmal auch darüber. In älteren Bakterienkulturen ist die Wirkung schon deutlich, das Myzelgewicht sinkt und in Sechstage-Kulturen ist es am kleinsten. Damit ist das Hemmungsmaximum erreicht und zugleich der Knickpunkt der Kurve. Von da ab nimmt sie einen ziemlich steilen Verlauf nach oben, die Hemmwirkung älterer Bakterienkulturen nimmt relativ rasch ab. Der letzte Kurvenabschnitt wird langsam flacher, doch liegt er bereits ausserhalb der vorherrschenden Wirkung des eigentlichen Hemmstoffes. Autolyseprodukte überlagern dessen Wirkung, es treten Deformationen des Myzels auf (vgl. auch Porter, 1932) und die Situation wird also hier ganz unübersichtlich. Jedenfalls liegen selbst diese Kurventeile — wo also die



Hemmwirkung stark schwindet — dennoch weit unter jenen der Wachstumskurve.

Hemmwirkung des Kulturfiltrates.

Es hat sich also herausgestellt, dass die Hemmwirkung mit der Kulturdauer abnimmt. Nicht geht daraus hervor, wie gross der Hemmungsanteil in einem bestimmten Zeitpunkt der Bakterienkultur ist, denn die Bakterien wachsen ja weiter und die Hemmwirkungen summieren sich. Um also festzustellen, wie hoch der tatsächliche Hemmwert einer Bakterienkultur bestimmten Alters ist, muss jeweils das Bakterienwachstum gestoppt werden, was hier durch Abtrennung der Bakterienzellen vom Nährmedium geschieht.

Ausgangsmaterial für die Bakterienansätze war eine 24-stündige Agarkultur, mit der die Bouillon-Würze geimpft wurde. Nach sechs Stunden bei 25° C wird in sterile Erlenmayerkölbchen pipettiert. Serien von je vier dieser Bakterienkulturen werden in Abständen von je zwei Tagen durch Bakterienfilter 1 G 5 keimfrei filtriert. Auf diese Weise erzielt man sterile Kulturfiltrate, die von Bakterienkulturen mit 2, 4, 6 und mehr Tagen Inkubationsdauer stammen. Die gewonnenen Filtrate werden mit dem Pilz beimpft und bebrütet, die Entwicklung des Myzels verfolgt und nach vierzehn Tagen das Trockengewicht zweier Parallelkulturen bestimmt. Nach weiteren zwei Tagen, also nach insgesamt sechzehntägiger Kulturdauer wird zur Kontrolle das Trockengewicht der verbliebenen zwei Kulturen der betreffenden Viererserie ermittelt.

Der Höchstertrag ist zumeist mit der ersten Wägung bereits erreicht. Als Vergleich werden zu jeder Versuchsserie stets Pilzkulturen in frischer hemmstofffreier Nährlösung angelegt und deren Maximalgewicht nach vierzehn Tagen bestimmt (Fig. 3).

Zunächst fällt auf, dass die Kurve flacher verläuft als in Bakterienkulturen des vorigen Versuches: der absteigende Ast ist länger, und die grösste Hemmwirkung tritt später ein. Der Verlauf der Aktivitätsänderungen beginnt damit, dass zunächst im Zweitage-Filtrat kaum eine Hemmung der Pilzentwicklung zu bemerken ist. Eher wird das Wachstum stimuliert. Nachdem die weitere Hemmstoffproduktion durch die Abtrennung der Bakterien unterbunden ist, ist in diesen Filtraten die Hemmung entsprechend kleiner, die Myzelgewichte liegen hoch und erreichen nahezu die Werte der Wachstumskurve. Doch in älteren Kulturfiltraten wird weniger Myzel gebildet, bleibt in den nächsten Filtraten weiterhin fallend, schliesslich setzt eine stärkere Hemmung ein, bis sie im Zehn-Tage-Filtrat ihr Maximum erreicht hat. Das Maximum der Hemmung hält auch im Zwölf-Tage-Filtrat an, ist nach rechts verschoben und liegt bei etwa 20 mg. In diesem Punkt ist also das Myzelgewicht etwas niedriger als im vorigen Versuch. In Zwölf-Tage-Filtraten können die Koni-

dien zwar noch keimen, es bilden sich kleine Myzelflocken, doch stärkere Pilzentwicklungen bleiben aus. Jedenfalls bleibt das Myzel submers, Lufthyphen oder Konidien werden nicht gebildet.

Nun steigt die Kurve langsam an, doch verläuft sie weniger steil als in lebenden Bakterienkulturen, die Werte bleiben aber trotz des Anstiegs immer noch weit unter den Werten der Wachstumskurve, und also auch dieser Abschnitt liegt noch im Bereich der Hemmung.

Wirkung von Filtrat-Konzentraten in frischer Nährlösung.

Die Bestimmungen der Filtrat-Hemmwirkung sagen aus, wie sich die Hemmstoffaktivität im Verlauf der Bakterienentwicklung ändert, doch wäre zu analysieren, welcher Anteil auf die fungistatische Komponente fällt und wieweit auch die anderen hemmenden Faktoren die Maximalernten des Pilzes mitbestimmen. Es ist ja so, dass die Wachstumshemmung nicht allein von der Hemmstoffproduktion abhängt, sondern auch von anderen Faktoren, so etwa von autolytischen Zerfallsprodukten. Vor allem tritt die Nährstoffmenge als begrenzender Faktor auf; oder anders ausgedrückt, der Erschöpfungsgrad des Nährmediums (Oppermann, 1951, Schmidt, 1925). Die mit dem Filtrat erhaltene Kurve ist somit der Ausdruck der Summe aller Komponenten, besonderl der aufsteigende Ast: der Wirkung des Hemmstoffes und der Hemmung infolge der Erschöpfung des Nährmediums.

Bei der physiologischen Analyse der Wachstums- oder besser der Hemmungskurve, kann der Faktor „erschöpfter Nährboden“ durch frische Nährlösung — dem Hemmfiltrat beigemischt — ausgeschaltet werden. Da die frische Nährlösung, die also alle Nährstoffe unvermindert enthält, in dem Gemisch volumsmässig den Hauptanteil bilden soll, muss der hemmende Anteil als Konzentrat vorliegen. Es werden also Kulturen angesetzt, deren Versuchslösung zu 95% aus Bouillon-Würze und zu 5% aus konzentriertem Filtrat, entsprechend 50 ml der ursprünglichen Kulturflüssigkeit, besteht. So können also die beiden Komponenten, die in der gleichen Richtung wirken — Hemmstoffe und „erschöpfter Nährboden“ — getrennt dargestellt werden. Es darf aber nicht übersehen werden, dass nicht nur die alleinige Erschöpfung des Substrates hemmend wirkt (sie macht sich in der Wachstumskurve übrigens ab dem zwölften Kulturtag stärker bemerkbar), sondern dass mit dem Hemmstoffkonzentrat auch andere Stoffwechselprodukte, ebenfalls konzentriert, zugeführt werden. Immerhin gewährleistet das Verfahren die optimale Nährstoffversorgung zu Beginn des Versuchs, und schaltet damit die vom Nährstoffmangel verursachte Hemmung in den ersten Stadien aus.

Für die Versuche entfallen auf je 45 ml frischer Nährlösung 5 ml konzentrierten Filtrates der jeweiligen Entwicklungsstufe. Die Gewinnung des Konzentrates erfolgt so, dass zehn Tage alte Bakterienkulturen, also mit maximaler Hemmwirkung, zentrifugiert werden. Es folgt sterile Filtration der klaren Lösung und anschliessend wird im Vakuum bei Zimmertemperatur auf etwas weniger als ein Zehntel des ursprünglichen Volumens eingedampft. Mit wenigen Tropfen doppelt destillierten Wassers wird das Konzentrat auf genau ein Zehntel des ursprünglichen Volumens aufgefüllt und abermals durch Bakterienfilter sterilisiert.

Die mit dem Pilz beimpften Kulturen mit frischer Nährlösung plus Konzentrat ergeben nach vierzehntägiger Bebrütung die Maximalwerte.

Um mit Sicherheit das Maximalgewicht zu erfassen, erfolgen Gewichtsbestimmungen an Parallelkulturen der jeweiligen Serie nicht nur am vierzehnten Kulturtag, sondern bereits am zehnten und zwölften Tag sowie auch am sechzehnten Tag. Angegeben sind die Maximalgewichte, die in der Regel mit dem vierzehnten Tag erreicht waren.

Hier kommt nun die Kurve (Fig. 4) so zustande, dass in den submaximalen Hemmungsbereichen die Hemmwirkung teils aufgehoben, teils stark verzögert wird. Vor allem am Anfang tritt die Verzögerung deutlich in Erscheinung. Aber bereits in Sechs-Tage-Konzentraten nimmt die Hemmung rasch zu, erreicht, wie in nichtkonzentrierten Filtraten, im Zehn-Tage-Konzentrat das Maximum, ohne indessen die Werte des Filtrates zu erreichen. Mit anderen Worten: die Hemmwirkung des Konzentrates ist in den ersten Kurvenbereichen vermindert oder aufgehoben, und erst die höheren Hemmstufen entfalten sich vollauf. Dieser Effekt kommt möglicherweise so zustande, dass in der frischen Nährlösung ein Teil der Hemmstoffe gebunden, also biologisch inaktiv wird — diese Rate ist an sich nicht gross — und erst bei Absättigung dieser bindenden Kräfte bleibt der weitaus grössere Teil der Hemmstoffe frei verfügbar und tritt als Hemmungseffekt voll in Erscheinung. Die letzte Phase, der ziemlich steile Anstieg der Kurve, ist wohl auf die hier günstigeren Nährbedingungen zurückzuführen.

Abhängigkeit der Hemmwirkung von der Bakterienkonzentration.

Bisher war der Hemmungsfaktor wesentlich als Funktion der Entwicklungszeit gewertet worden: die Entwicklung des Hemmstoffes, seine Abschwächung in Abhängigkeit von der Kulturdauer der produzierenden Bakterienkulturen. Nun ist aber die fungistatische Wirkung der Bakterienkulturen auch eine Funktion der Zellenzahl. Zwar geht mit der Kulturdauer auch eine Zellvermehrung einher, es

ist also nicht nur das Alter der Kultur eine Variable, sondern auch die Zellenzahl verändert sich. Und eben deshalb lassen die bisherigen Versuche nicht erkennen, wie hoch die Bakterienkonzentration einer Bakterienkultur sein muss, um den Hemmungseffekt in den angegebenen Volumina hervorzubringen. Daher sollen in diesem Versuch nur gleichaltrige Kulturen verwendet und allein die Bakterienkonzentration verändert werden.

Die Versuche sind mit gleichaltrigen jungen Kulturen angesetzt, die sich noch in der logarithmischen Entwicklungsphase befinden. Es sind natürlich auch in solchen Kulturen nicht alle Zellen gleich alt, doch ist der relative Anteil aller Altersstufen in jeder Volumeneinheit gleich gross. Daher muss sich die Summe der physiologischen Zustände aller Zellen nach aussen, d. h. in diesem Fall hemmwirkend, als signifikante Grösse manifestieren, die für alle Ansätze gleich sein muss.

Kölbchen mit 50 ml der üblichen Kollektiv-Nährlösung und mit dem Pilz beimpft, werden zwei bis drei Tage bebrütet, und — nachdem sich das Myzel soweit entwickelt hat, dass die ersten Flocken sichtbar werden — mit Bakterien geimpft.

Ausgangspunkt für die Bakterienkulturen sind 24-stündige, aus mehreren Passagen gewonnene Agarkulturen. Von hier in 50 ml Bouillon geimpft, entwickelt sich nach 48 Stunden eine Kultur, die zentrifugiert und mit steriler physiologischer Kochsalzlösung dreimal gewaschen wird. Das Zentrifugat wird in 50 ml steriler Nährlösung suspendiert; dies ist die Ausgangskonzentration für die Versuche, in der Tabelle mit 1 bezeichnet. Die Konzentrationsstufe 10 wird durch Suspendierung des Zentrifugats in 5 ml Nährlösung hergestellt, die übrigen durch entsprechende Verdünnung.

Von den Pilzkulturen mit jeweils 1 ml der entsprechenden Bakteriensuspension wird jene Stufe ermittelt, die eine deutliche Wachstumshemmung hervorruft.

Zu Beginn der Versuche sind also alle Kulturen gleichen Alters, nur die Bakterienkonzentrationen sind verschieden.

In Kölbchen mit der geringsten Konzentration entwickelt sich nach vierzehn Tagen ein kräftiges Myzel mit geschlossener Decke; es ergab sich keine Hemmung. Möglicherweise haben wir es hier mit einer Wechselwirkung zu tun, die auf dasselbe toxische Prinzip begründet ist, das auch die Welkeerscheinungen bei phanerogamen Wirtspflanzen hervorruft und das sich keineswegs nur auf *Fusarium oxysporum* beschränkt, sondern auch von verschiedenen anderen Pilzen gebildet wird (vgl. G ä u m a n n, 1951). (Fig. 5).

Die nächsten Kölbchen zeigten anfangs eine gewisse Verzögerung, die später wieder verschwand und nach vierzehntägiger Kultur war das Maximalgewicht gleich dem der unbehandelten Kontrollen. Erst die Stufen von 10^{-3} aufwärts haben diejenige Bakterienkonzentra-

tion, die erforderlich ist, um den gewünschten Hemmungseffekt zu erreichen, d. h. die Zuwachsquote an Bakterienzellen ist in diesen Fällen so gross, dass sie den hemmenden Einflüssen des Pilzes widerstehen und zudem die Wachstumsgeschwindigkeit des Pilzes übertreffen.

Bei älteren Myzelien, z. B. viertägigen Kulturen, waren schon weit höhere Bakterienkonzentrationen erforderlich, um den Hemmungseffekt zu erzielen.

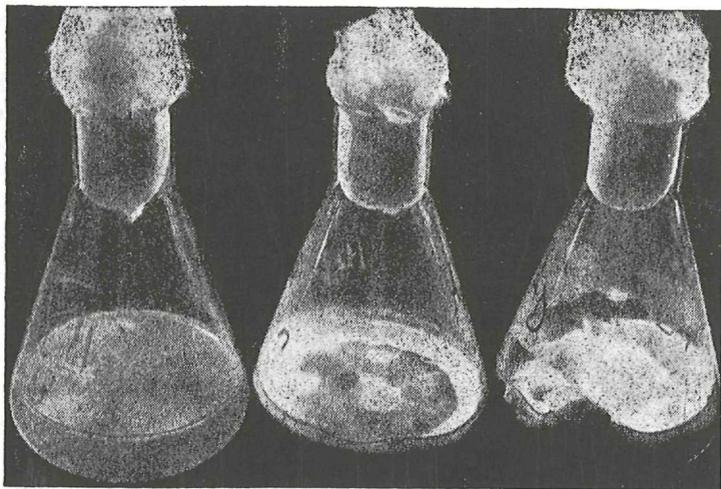


Fig. 7. — Wachstumshemmung von *Fusarium oxysporum* f. *cubense* durch Bakterien. Im ersten Kolben von links starke Hemmung; nur submerses Wachstum. Die mittlere Kultur ist schwächer gehemmt; am Glasrand weisses Luftmycel. Der rechte Kolben zeigt eine normale ungehemmte Pilzkultur.

Hemmwirkung auf die Entwicklungsstadien des Pilzes.

Wesentlich wäre noch die Frage, wie die Bakterien und deren Hemmstoffe auf die Entwicklungsstadien des Pilzes wirken. Bisher war die Versuchsanordnung so, dass der Pilz in die Nährlösung oder Kultur geimpft wurde und somit der ganze Entwicklungsgang von der keimenden Konidie oder von den ersten Keimstadien bis zum Maximalgewicht der Hemmwirkung ausgesetzt war. Die so erhaltenen Ergebnisse sind also der summarische Ausdruck der entgegengesetzt wirkenden Faktoren, einerseits der exponentialen und autokatalytischen Vermehrung der Zellen, andererseits der hemmenden Faktoren, also der Hemmstoffe, der autolytischen Produkte, des erschöpften Nährmediums usw. Wieweit aber die einzelnen Entwicklungsphasen von der Hemmwirkung betroffen werden, entscheiden diese Versuche nicht.

Die Hemmwirkung auf die Entwicklungsstadien wurde so untersucht, dass auf 2-, 4-, 6- und mehrtägige Pilzkulturen jeweils 2 ml frischer 24-stündiger Bakterienkultur verimpft wurde. In Abständen von je zwei Tagen wurde das Trockenmyzel bestimmt. Die Ergebnisse sind in Fig. 6 wiedergegeben.

Das 2-Tage-Myzel wird anfangs kaum gehemmt, erst später macht sich die Hemmwirkung bemerkbar, das Maximalgewicht geht über 76,2 mg (Mittelwert) nicht hinaus. Das 6-Tage-Myzel zeigt erst später Wachstumshemmungen und erreicht 125 mg. Das 10-Tage-Myzel wird nicht oder kaum gehemmt und erreicht, bisweilen mit einer kleinen Verzögerung, den normalen Maximalwert.

Zusammenfassung:

Eine Reihe frisch isolierter Bakterienstämme wurde auf ihre antibiotische Wirkung gegenüber *Fusarium oxysporum f. cubense* untersucht. Davon übt ein sporenbildender Stamm besonders auf die jüngeren Entwicklungsstadien des Pilzes eine hemmende Wirkung aus. Die Hemmstoffproduktion verstärkt sich nach einer gewissen Anlaufzeit und klingt dann wieder ab. Es besteht eine Wechselwirkung, die sich darin äussert, dass die Hemmung an eine bestimmte definierbare Bakterienkonzentration gebunden ist. Unterhalb dieser Schwelle erfolgt keine Hemmung, vermutlich durch toxische Wirkungen des Pilzes.

Literatur.

- Buxton, E. W., and Richards, M. G.: J. gen. Microbiol. **13** (1955).
Florey, H. W. u. a.: Antibiotics. London-New York-Toronto. 1949.
Gäumann, E.: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl. Basel 1951.
Goss, R. W.: Nebraska agr. exp. stat. res. Bull. **23** (1923).
Kuchar, K.: Sydowia, Annales Mycologici Ser. II. **4** (1950).
Oppermann, A.: Arch. f. Mikrobiol. **16** (1951).
Pridham, T., Lindenfelser, L., Stodola, F.: Phytopathology **46** (1956).
Schmidt, R.: Jahrb. wiss. Bot. **64** (1925).
Stevenson, J. L.: Nature (London) **174** (1954).

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Sydowia](#)

Jahr/Year: 1959

Band/Volume: [13](#)

Autor(en)/Author(s): Kuchar Karl Wilhelm

Artikel/Article: [Untersuchungen über bakterielle Hemmwirkungen auf das Wachstum von *Fusarium oxysporum* f. *cubense*. 167-177](#)