

Über den Einfluß der Nährstoffmenge auf die Entwicklung der Pilze.

Von

Ernst G. Pringsheim.

Mit 5 Kurvenfiguren.

I. Einleitung.

Zahlreiche Untersuchungen haben gezeigt, welche chemischen Elemente für pflanzliche Organismen notwendig sind und in welchen Verbindungen sie am besten geboten werden. Dagegen hat man der Bedeutung der Menge der Nährstoffe für das Ausmaß der Vermehrung, also den zahlenmäßigen Zusammenhängen zwischen Nahrung und Ansatz lebender Substanz nur nebenher einige Aufmerksamkeit geschenkt.

Bei chlorophyllfreien Pflanzen, die sich für eine derartige Untersuchung am besten eignen, können alle für die Ernährung notwendigen Substanzen in Lösung geboten werden. Ihre Menge hängt von dem Volumen und der Konzentration der Nährlösung ab. Der Einfluß beider auf das Wachstum von kleinsten Anfängen, z. B. einigen Sporen aus, läßt sich theoretisch nicht voraussagen. Nur so viel ist von vornherein klar, daß in einer größeren Lösungsmenge bei Verbrauch desselben Nährstoffquantums mehr unverbrauchte Nahrung zurückbleibt als in einer kleinen, wodurch auch hier schließlich der Gehalt an Nährstoffen für die Vermehrung ausschlaggebend werden wird.

Die Konzentration der Nährlösung beeinflußt aber in verschiedenartiger Weise das Wachstum. Wird sie zu hoch, so ist eine Hemmung der Vermehrung unvermeidlich, die neben etwa auftretenden »Giftwirkungen« eines Nährstoffes einer durch den osmotischen Druck der Lösung erschwerten Wasseraufnahme zuzuschreiben ist. Bei Herabsetzung der Konzentration werden diese Hemmungen vermieden. Dafür kommt aber schließlich ein Mangel an Nahrungsstoffen zustande, der gleichfalls eine

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN.

Verminderung des Wachstums bedingt. In diesem Bereich wird der Zusammenhang zwischen Vermehrung und Nährstoffmenge am klarsten sein.

Wird die Konzentration nur eines Nahrungsstoffes vermindert, während die übrigen in genügender Menge vorhanden sind, so ist das Wachstum hauptsächlich von dem einen, in seiner Konzentration abgestuften abhängig, der, wie man sich seit Liebig ausdrückt, ins Minimum gesetzt ist. Sind alle Nährstoffe in genügender Menge gegeben und auch nicht durch Giftwirkung oder zu hohen osmotischen Druck schädlich, so erreicht das Wachstum die relativ höchste Stufe, das »Optimum«.

Vom Optimum nach abwärts ist also ein Stoff im Minimum; er ist es, der das Wachstum bestimmt und beschränkt. Es fragt sich nun, wie das Erntegewicht unter möglichst einfachen experimentellen Bedingungen von der Menge der Nährstoffe abhängt, ob es ihr etwa einfach proportional ist? Dabei ist zunächst an den Höhepunkt und Endzustand der Entwicklung zu denken. Bevor dieser aber erreicht ist, muß die Menge der organismischen Substanz von kleinen Anfängen aus zunehmen. Wie verläuft nun dieser Anstieg, und in welcher Abhängigkeit steht er seinerseits von der gebotenen Nährstoffmenge oder Konzentration, besonders im Anfange der Entwicklung, solange der Verbrauch im Verhältnis zur Gesamtmenge noch gering ist? Man könnte annehmen, daß das Wachstum anfänglich von der Nährstoffkonzentration unabhängig wäre, solange jede Substanz noch in genügendem Maße vorhanden ist, daß also im Anfang eine dem Organismus eigentümliche maximale Vermehrungsgeschwindigkeit zu beobachten wäre, bis ein Mangel an einer der lebenswichtigen Substanzen eintritt oder das Wachstum auf andere Weise gehemmt wird. Die andere Möglichkeit wäre die, daß die Vermehrung von vornherein von der Konzentration der Nährstoffe abhinge. Dazu könnte etwa die relative Verarmung in der Nähe der wachsenden Zellen führen.

Während über die Hemmung durch größere Konzentrationen ziemlich viel Beobachtungen gesammelt worden sind, sind die angedeuteten Fragen noch wenig bearbeitet. Und doch wären sie nicht nur an sich von theoretischem Interesse, sondern sie könnten auch für andere Untersuchungen von Bedeutung werden,

so für die Technik der Nährlösungsbereitung, die bisher — etwa in bezug auf die Nährsalze in Pilz- und besonders Algennährlösungen — meist ganz willkürlich gehandhabt worden ist, dann für die Frage der Ertragssteigerung durch Giftspuren, für die Methode der Erntegewichtsbestimmung bei Ernährungsversuchen u. a. m.

Das Programm, das hier kurz skizziert wurde, ist so umfangreich, daß bisher nur ein ganz kleiner Teil bearbeitet werden konnte. Denn um verlässliche Ergebnisse zu bekommen, müssen vielfach Durchschnittswerte aus einer größeren Anzahl von Einzelbestimmungen gewonnen werden. Auch ist oft die Deutung eines Versuches von dem Ausfall eines anderen abhängig.

Die ersten Versuchsreihen wurden mit einer in der üblichen Weise willkürlich gemischten Pilznährlösung angestellt. Die Konzentrationsabstufungen wurden durch Verdünnung einer konzentrierten Lösung hergestellt, wobei den niederen Stufen besondere Aufmerksamkeit geschenkt wurde, weil hier von allerlei Störungen freiere Ergebnisse erwartet werden durften. Es wurde dann der allmähliche Zuwachs an Pilzsubstanz bei verschieden reichlicher Ernährung durch Wägung festgestellt. Ferner prüfte ich den Einfluß der Konzentrationsänderung nur eines Nährstoffes und schließlich den anderweitiger Einflüsse auf die Abhängigkeit des Wachstums von der Nährstoffmenge.

Das experimentelle Material, das von seiten älterer Autoren in den uns hier interessierenden Fragen gesammelt worden ist, verdankt seine Entstehung fast durchwegs der Notwendigkeit, für die Bearbeitung anderer Fragen eine Grundlage zu schaffen. So hat J. Nikitinsky¹⁾ die Ernten von *Aspergillus niger* in verschieden konzentrierten Nährlösungen gewogen und A. Richter²⁾ die Zunahme des Trockengewichtes im Laufe des Wachstums an demselben Pilze geprüft. Auf die Ergebnisse wird noch zurückzukommen sein. W. Benecke³⁾ hat gewisse

¹⁾ Nikitinsky, J., Über die Beeinflussung der Entwicklung einiger Schimmelpilze durch ihre Stoffwechselprodukte. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 1904. **40**, 1.

²⁾ Richter, A., Zur Frage der chemischen Reizmittel. *Centralbl. f. Bakt.* II. Abt. 1901. **7**, 417.

³⁾ Benecke, W., Die zur Ernährung der Schimmelpilze notwendigen Metalle. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 1895. **28**, 502 ff. und 522, sowie: Die Bedeutung des Kaliums und des Magnesiums für Entwicklung und Wachstum des *Asperg. niger* v. Th., sowie einiger anderer Pilzformen. *Bot. Zeitg.* 1896. **54**, 130.

Nährsalze in ihrer Konzentration abgestuft und gefunden, daß schon Spuren, etwa von Kalium, genügen, Wachstum zu ermöglichen, daß aber eine Vermehrung des im Minimum vorhandenen Kaliums eine nicht ganz proportionale Steigerung des Wachstums bedingt, bis die Erntemenge sich einem Grenzwerte nähert. Eine der unserigen ähnliche Fragestellung ist bei Rubner¹⁾ zu finden, der verschiedene Verdünnungen einer Fleischextraktlösung auf die Erzielung von Bakterienernten quantitativ prüfte. Das Ergebnis war, daß bei Abnahme der Nährstoffkonzentration die Erntemenge nicht proportional, sondern stärker fiel.

Einige Zahlen, die unser Thema berühren, hat auch Falk²⁾ an *Sporodinia* ermittelt. Benecke³⁾ weist auf sie hin und betont die Proportionalität zwischen Zuckergabe und Erntegewicht bei genügender Stickstoffgabe. Doch sind die Zahlen recht spärlich und scheinen auf Einzelkulturen zu beruhen. Eine Versuchsreihe mit längerer Abstufung wurde bei bloßer Peptonernährung gewonnen. Sie zeigt gleichfalls annähernde Proportion zwischen Nährstoff und Ernte.

Damit dürften die auf das Thema bezüglichen Angaben erschöpft sein. Sie enthalten außer der Rubnerschen alle mehr Andeutungen als abgerundete Ergebnisse.

II. Methodik.

Die angewandten Methoden sind sehr einfach. Die verschiedenen Pilze, die als Versuchsobjekte dienten, wurden in Erlenmeyerkolben von möglichst gleicher Form und Größe gezogen, und zwar im Thermostaten bei 30°. Da die Nährlösungen schwach sauer reagierten, genügte einmaliges Erhitzen im Dampftopf zum Sterilisieren, wobei die Konzentration der Lösung sich nicht änderte, soweit das aus Wägungen der Kolben vor und nach dem Sterilisieren zu ersehen war.

Geimpft wurde mit gut durchgeschüttelten Aufschwemmungen

¹⁾ Rubner, M. Beziehungen zwischen Bakterienwachstum und Konzentration der Nahrung. Arch. f. Hyg. 1906. 57, 162.

²⁾ Falck, R., Die Bedingungen und die Bedeutung der Zygotenbildung bei *Sporodinia grandis*. Beitr. z. Biol. d. Pflanz. (Cohn). 1902. 8, 273 u. 259.

³⁾ Benecke, W., Zur Technik von Ernährungsversuchen, Lafar. Handb. d. techn. Mykologie. Jena. 1904—1907. 1, 374.

von Hefezellen oder Pilzsporen immer mit derselben Platinöse. Wie vergleichende Versuche ergaben, genügt das zur Erzielung gleichförmiger Resultate, so daß also die genaue Zahl der Impfzellen für das Ergebnis nicht wesentlich ist; doch wurden stets Durchschnittswerte aus mindestens 2 bis 4 gleichen Kulturen gezogen. Vielfach erwies sich auch eine größere Zahl als notwendig. Falls einmal, was selten vorkam, eine Kultur nach dem Ansehen und Wägungsergebnis wesentlich hinter den anderen zurückblieb, wurde sie nicht mit berücksichtigt, worauf am gegebenen Orte hingewiesen wird.

Das Erntegewicht wurde nach dem Abfiltrieren und Trocknen auf einer analytischen Wage festgestellt. Als Filter kamen solche von Schleicher und Schüll zur Anwendung. Sie wurden vor dem Gebrauch mit Bleistift bezeichnet, mit destilliertem Wasser gewaschen, um etwa lose anhängende Fasern zu entfernen, und erst im Trockenschrank, dann im Exsikkator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Nach dem Filtrieren wurde kurz mit destilliertem Wasser nachgewaschen, bei 60° oder 80° und im Exsikkator getrocknet und wieder gewogen. Das Wägen mußte wegen der Hygroskopizität des Papierees sowohl wie der Pilzmasse bei feineren Versuchen im Wägegläschen vorgenommen werden. Sonst ergeben sich merkliche Fehler. So war z. B. das Gewicht von Gläschen + Filter einmal beim Herausnehmen aus dem Exsikkator:

$$\begin{array}{rcl} \text{Glas} + \text{Filter} & = & 33,561 \text{ g} \\ \text{Glas} & = & 32,767 \text{ „} \\ \hline \text{Filter} & = & 0,794 \text{ g} \end{array}$$

Das Wägegläschen wurde nun 10 Minuten an der Luft offen stehen gelassen, nun ergab sich:

$$\begin{array}{rcl} \text{Glas} + \text{Filter} & = & 33,574 \text{ g} \\ \text{Glas} & = & 32,767 \text{ „} \\ \hline \text{Filter} & = & 0,807 \text{ g} \end{array}$$

Es hatte also 13 mg Wasser angezogen, und das in 10 Minuten.

Ganz entsprechende Zahlen erhielt ich bei solchen Kontrollversuchen mehrfach.

Noch größer waren die Fehler, wenn die Ernte auf dem Filter war und länger Zeit hatte, Wasser anzuziehen. So war einmal nach dem Trocknen das Gewicht von

$$\begin{array}{rcl} \text{Glas} + \text{Filter} + \text{Ernte} & = & 37,072 \text{ g} \\ \text{Glas} & = & 33,888 \text{ „} \end{array}$$

$$\text{Filter} + \text{Ernte} = 3,184 \text{ g}$$

Nach einem Tage an der Luft:

$$\begin{array}{rcl} \text{Glas} + \text{Filter} + \text{Ernte} & = & 37,189 \text{ g} \\ & = & 33,888 \text{ „} \\ & & \underline{\hspace{1cm}} \\ & & 3,301 \text{ g} \end{array}$$

Es waren also 117 mg Wasser angezogen worden, fast vier Prozent des Gewichtes. Diese Zunahmen waren in Parallelversuchen nahezu gleich.

Sollte die Vermehrung der Pilzmasse im Laufe des Wachstums bestimmt werden, so konnte das nicht an denselben Kulturen geschehen. Für jede Bestimmung wurden dann (3—)4 gleiche Kolben angesetzt, also im ganzen viermal soviel als Etappen festgestellt werden sollten, und von Zeit zu Zeit, gewöhnlich jeden zweiten Tag, wurden 4 Kulturen abfiltriert und getrocknet. Waren die Werte nicht gleichförmig genug, so wurde der Versuch wiederholt.

Als Versuchsobjekte wurden herangezogen: *Penicillium luteum*, *Aspergillus niger*, *Mucor stolonifer*, *Mucor rhizopodiformis* und ein aus Preßhefe isolierter *Saccharomycet*, der schwach gäerte und sich durch Deckenbildung auszeichnete. Neben dem *Aspergillus* ergab besonders der letzte gute Resultate. Er wuchs gleichmäßig an, zeigte schon dem bloßen Auge quantitative Unterschiede und ging nicht durchs Filter.

Sollte die gesamte Nährstoffmenge abgestuft werden, so wurden die Lösungen zunächst in konzentrierter Form angesetzt und dann dem Volumen nach verdünnt. Meist kam die folgende in Anwendung:

Rohrzucker	200 g
$(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$	20 g
$\text{KH}_2 \text{PO}_4 + \text{H}_2 \text{O}$	1 g
$\text{Mg SO}_4 + 7 \text{H}_2 \text{O}$	1 g
Zitronensäure	0,5 g

gelöst und auf 1000 ccm aufgefüllt.

Manchmal wurde auch noch 1 g Asparagin hinzugefügt, da nicht alle Pilze ohne organisch gebundenen Stickstoff gut auskommen. Das gilt z. B. für *Mucor stolonifer*.

In den Fällen, in denen es auf genaue Dosierung der Stickstoffmenge oder auf den Einfluß von Giftspuren ankam, wurde reinste Saccharose von Merck, sonst gewöhnlicher Hutzucker verwendet.

Ebenso mußte das Wasser für die Giftversuche sehr rein sein. Es wurde daher das käufliche destillierte Wasser mit Hilfe eines Liebig'schen Kühlers, in dem das Kühlrohr aus Jenaer Normalglas bestand, noch einmal destilliert. Die sonstigen Vorsichtsmaßregeln waren die üblichen. Die Methoden reichten im allgemeinen jedenfalls aus, gut vergleichbare Ergebnisse zu erzielen, wofür man die Belege in den Protokollen findet. Die Vergleichskulturen sind einander meist ähnlicher im Ertrag als bei Richards und den anderen älteren Autoren.

III. Die Abhängigkeit der Ernte von der Nährstoffmenge.

Bevor an die eigentlichen Aufgaben herangegangen werden konnte, mußten einige Vorfragen erledigt werden, die auch an sich von Interesse sind.

Das erste war, zu erproben, ob die angewandte Vorsicht genügte, in Parallelkulturen einigermaßen gleiche Ernten zu erzielen, denn nur dann war ein Vergleich und die Erlangung brauchbarer Mittelwerte aus nicht gar zu vielen Einzelversuchen möglich.

I. Drei 200 ccm-Kolben wurden mit je 100 ccm der auf das Zehnfache verdünnten asparaginhaltigen Nährlösung, die also 2 % Rohrzucker enthielt, gefüllt und mit dem *Saccharomyceten* geimpft. Nach einer Woche bei 30° ergaben sich als Erntegewichte 213, 206 und 212 mg. Die größte Abweichung betrug also $3\frac{1}{2}\%$. Das genügte für meine Zwecke, wie sich in der Zukunft noch vielfach zeigte. Doch ließen sich manchmal größere Differenzen nicht vermeiden.

Weitere Versuche galten den Einfluß, den die Höhe der Flüssigkeitsschicht und dadurch mittelbar die nicht immer genau gleiche Form der Gefäße ausübte. Um diese Einflüsse in übertriebenem Maße einwirken zu lassen, damit eine obere Grenze

für die Fehlerquellen gefunden werden könnte, ging ich so vor, daß von derselben Nährlösung verschiedene Mengen angewendet wurden. Jedesmal kamen Kolben zur Anwendung, die etwa das Doppelte der Flüssigkeitsmenge fassen konnten. In den größten Gefäßen war die Schichtdicke natürlich am größten. Die Nährlösung war wieder auf das Zehnfache verdünnt worden, enthielt also 2% Rohrzucker.

a) Die Erntegewichte an Hefe waren nach einer Woche die folgenden:

Flüssig- keits- menge	Ernten	Auf 100 ccm um- gerechnet
250 ccm	182 mg	73 mg
100 „	83 „	83 „
50 „	54 „	108 „
25 „	24 „	96 „
15 „	14 „	93 „

b) In einem zweiten Versuche ergaben sich nach zwei Wochen:

Flüssig- keits- menge	Ernten	Auf 100 ccm um- gerechnet
250 ccm	297 mg	119 mg
100 „	147 „	147 „
50 „	78 „	156 „
25 „	35 „	140 „
15 „	20 „	133 „

c) Und schließlich, wenn erst nach drei Wochen filtriert und eine 1proz. Zuckerlösung verwendet wurde:

Flüssig- keits- menge	Ernten		Durch- schnitt	Auf 100 ccm umgerechnet
200 ccm	206 mg	205 mg	205,5	102,7
100 „	113 „	107 „	110	110
75 „	79 „	68 „	73,5	106 (98)
50 „	58 „	52 „	55	110
25 „	28 „	27 „	27,5	110

Der eine Wert für 75 ccm ist offenbar zu niedrig; benutzen wir den anderen, so erhalten wir eine besser in die Reihe passende Zahl.

Betrachten wir zuerst die letztgenannten Ergebnisse, so finden

wir, daß die Erntegewichte einigermaßen den Flüssigkeits- und damit den Nährstoffmengen entsprechen. Die Abweichungen sind nicht groß und würden bei einer größeren Anzahl von Vergleichskulturen wohl noch geringer werden. Was das Zurückbleiben in der höchsten Flüssigkeitsmenge bedeutet, ersieht man am besten aus dem Vergleich mit den kürzer währenden Versuchen a und b, wo dieser Unterschied noch größer ist. Je kürzer die Versuchszeit, desto niedriger die relativen Werte für die Ernten in der größten Flüssigkeitsmenge. Hier haben die Zellen, die ja überall aus ungefähr gleicher Impffzahl hervorgehen, offenbar noch nicht Zeit gehabt, den verfügbaren Raum zu erfüllen und die Nährstoffe auszunutzen, zumal die Flüssigkeitsschicht bei großer Lösungsmenge tiefer ist, die Pilzhaut aber an der Oberfläche schwimmt. Schwerer zu deuten ist das anfängliche Zurückbleiben des Anwachs in den kleinsten Kolben. Vielleicht spielt hier die absolute Menge des in den Flüssigkeiten gelösten Sauerstoffes oder dgl. eine Rolle.

Das Hauptergebnis wird dadurch nicht berührt. Es besteht darin, daß bei genügend langer Ausdehnung der Versuche die Ernte ziemlich genau der gebotenen Nahrung entspricht, daß aber auch nach kürzerer Zeit die Abweichungen nicht so groß sind, daß man z. B. der zufälligen kleinen Verschiedenheit in der Form der Kolben Bedeutung zusprechen müßte. Ferner zeigen die Versuche sehr klar, daß schon lange vor Erreichung des höchsten Pilzgewichtes die absolute Menge der vorhandenen Nährflüssigkeit Einfluß auf den Zuwachs hat.

Hieran schloß sich die nächste Frage: Entspricht auch bei verschiedener Konzentration die Ernte der Nährstoffmenge? Ein hier verwertbarer Versuch stammt von Nikitinsky¹⁾. Er legte als »normal« (N) die folgende Nährlösung zugrunde: 4 % Rohrzucker, 1 % NH_4NO_3 , 0,5 % KH_2PO_4 , 0,25 % MgSO_4 , 0,05 % KCl und erzielte die folgenden Ernten:

	$\frac{\text{N}}{2}$	N	2 N	3 N	4 N	5 N	6 N	7 N	8 N	9 N	10 N
% Zucker	2	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40
mg Ernte	227	392	713	1016	1430	2053	2115	2166	2010	1920	1815

¹⁾ Nikitinsky, J., Über die Beeinflussung der Entwicklung einiger Schimmelpilze durch ihre Stoffwechselprodukte. Jahrb. f. wiss. Bot. 1904. 40, 68.

Annähernd proportional der Zuckermenge war die Ernte also bis 20% Zucker. Von 32% an sank sie auch absolut. Der Einfluß der Versuchsdauer wurde nicht berücksichtigt. Da, wie wir sehen werden, in den höheren Konzentrationen das Wachstum länger anhält, kann die Proportionalität später immer noch erreicht werden.

Immerhin muß es eine Grenze geben, über die hinaus die Pilzmasse auch bei den größten Nährstoffgaben nicht anwachsen kann.

Es kommen dann chemische und osmotische Hemmungen ins Spiel. Für meine Zwecke mußten daher zunächst verhältnismäßig niedrige Konzentrationen angewandt werden, über deren Ausmaß die folgenden Versuche entscheiden sollten:

III. Die gleiche Nährstoffmenge, nämlich 2 ccm der konzentrierten Lösung, wurde auf das 25-, 50-, 100-, 200fache verdünnt, wobei wieder die Kolben die doppelte Menge Flüssigkeit fassen konnten. Hefepilz:

Zucker- konzentration	Ernte nach 10 Tagen		Summe
0,025 %	38 mg	47 mg	85
0,05 %	60 „	55 „	115
0,1 %	59 „	65 „	124
0,2 %	50 „	48 „	98

Hier wie in ähnlichen Versuchen entsprechen also die Erntegewichte auch nicht annähernd mehr der Nährstoffmenge, vielmehr finden wir bei einer bestimmten Verdünnung, die, wie wir sehen, recht beträchtlich ist, ein Maximum. Doch kommt neben dem Einfluß der verschiedenen großen Flüssigkeitsmenge, der, wie gezeigt, in derselben Richtung auf ein Maximum bei mittlerer Nährlösungsquantität hinwirkt, bei der kurzen Versuchsdauer zu der Wirkung der Konzentrationsverschiedenheiten noch der Zeitfaktor hinzu. Das geht aus späteren, wie auch aus den unter II angeführten Versuchen klar hervor. Um auch einen Einblick in den Einfluß des anderen, des Konzentrationsfaktors zu gewinnen, wurden die folgenden Versuche angestellt.

IV. Es wurden gleiche Mengen verschieden stark verdünnter Nährlösung verwendet. Der Versuch, wieder mit dem *Saccharomyces*, lief 33 Tage, wodurch sich das Maximum des Ernte-

gewichtetes nach höheren Konzentrationen verschob. Jeder Kolben von 200 ccm Fassungsgröße enthielt 100 ccm Nährlösung.

Verdünnung	Zucker	Ernte	Relative Werte
8 : 100	1,6%	13 mg	32
12 : 100	2,4 „	27 „	45
16 : 100	3,2 „	39 „	49
20 : 100	4 „	55 „	55
30 : 100	6 „	82 „	54
40 : 100	8 „	96 „	48
50 : 100	10 „	124 „	49

Die Pilzmasse entspricht nun ungefähr der Zuckergabe, da der Pilz bei der längeren Versuchsdauer Zeit gehabt hat, die größeren Nährstoffmengen auszunutzen. Auf 1 g Zucker kommen durchschnittlich 12 mg Hefe. Die relativen Erntemengen sind also nicht sehr verschieden, doch ergibt sich deutlich ein Optimum bei 4% Zucker, während besonders die stärksten Verdünnungen mit 8 mg Hefe auf 1 g Zucker zurückbleiben. Das Maximum beträgt 14 mg Hefe auf 1 g Zucker.

Da die Frage, ob bei verschiedenen Nährlösungskonzentrationen die Ernte der Nährstoffmenge entspricht, ein besonderes Interesse beansprucht, so wurde sie auch noch an anderen Pilzen geprüft. Zur Anwendung kamen *Aspergillus niger* und *Mucor rhizopodiformis*.

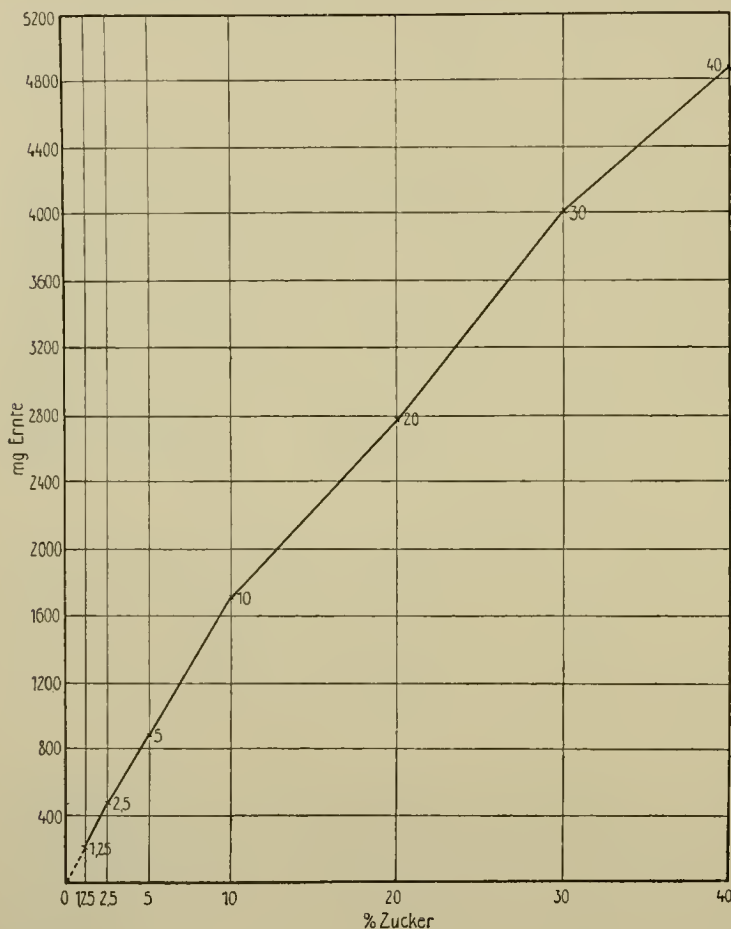
V. *Aspergillus niger* verträgt besonders hohe osmotische Drucke und vermag auch große Zuckermengen gut auszunutzen. Dementsprechend ist hier die Proportionalität zwischen Nährstoffmenge und Pilzernte recht weitgehend. Zur Anwendung kam die oben angegebene Nährlösung mit anorganisch gebundenem Stickstoff und zwar in Konzentrationen, die von 1,25 bis 40% Zucker abgestuft waren. Von Ammonsulfat war immer der zehnte Teil des Zuckergewichtes zugegen.

Es wurden dabei die folgenden Ernten erzielt:

Aspergillus niger.

% Zucker	1,25	2,5	5	10	20	30	40
Erntedurchschnitt in mg	231	454	893	1701	2782	4029	4855

Die Durchschnitte sind aus 2 bis 10 Einzelbestimmungen berechnet (vgl. Protokolle S. 616). Bei den höchsten Konzentrationen von 20 bis 40% Zucker dürfte die Zeit von der Impfung bis zur Ernte, welche 17 Tage betrug, nicht ganz bis zur Erzielung des maximalen Erntegewichtes ausgereicht haben, da, wie wir später sehen, der Höhepunkt um so später erreicht wird, je



Kurve 1. *Aspergillus niger*, Ernten in verschiedenen konzentrischen Nährlösungen. Vers. V.

Verlängerung, die punktiert angedeutet ist, den Nullpunkt.

Daß *Aspergillus niger* so hohe Konzentrationen von Zucker auszunutzen versteht, verdankt er neben seiner Unempfindlichkeit gegen die eigenen Stoffwechselprodukte wohl hauptsächlich seiner Anpassungsfähigkeit an hohe osmotische Drucke. Um deren Einfluß auf die Ernten zu erproben, wurde ein besonderer Versuch angestellt, bei dem die Nährlösung neben 5% Zucker und den nötigen Salzen noch Kaliumnitrat in Konzentrationen

größer die Nährstoffmenge ist. Trotzdem zeigt die Kurve I, die aus den obigen

Durchschnittswerten konstruiert wurde, keine beträchtliche Abweichung vom geradlinigen Verlaufe, hinter dem nur die höchsten Werte zurückbleiben. Es ist bemerkenswert, daß auch bei 40% Zucker gegenüber 30% eine noch immer bedeutende Steigerung des Anwachsens zustande kommt. Zwischen 10 und 1,25%

ist die Kurve genau geradlinig und schneidet in ihrer

von 0, 1, 2, 4 und 8% enthielt. Da genug Ammonstickstoff vorhanden war und Nitrat von *Aspergillus niger* nur schlecht ausgenützt wird, war ein ernährungsphysiologischer Einfluß des Salpeters kaum zu befürchten. 1% KNO_3 entwickelt etwa denselben osmotischen Druck wie 5% Rohrzucker, so daß also die höchsten Drucke schon recht beträchtlich waren. Trotzdem waren die Ernten im Durchschnitt von je 4 Kulturen annähernd konstant. Erst bei 5% Rohrzucker und 8% Salpeter machte sich eine schwache Hemmung bemerkbar, so daß nur etwa 850 mg geerntet wurden gegen etwa 950 mg des Durchschnittes der übrigen Ernten. Der osmotische Druck entspricht dann aber schon dem einer 45proz. Zuckerlösung.

VI. Anders ist das Verhalten von *Mucor rhizopodiformis*, der so große Nährstoffmengen nicht auszunutzen versteht. Hier finden wir nur bei niederen Konzentrationen annähernde Proportionalität zwischen Pilzernte und Nährstoffkonzentration. Die Zahl der Versuche reicht nicht aus, um genaue Parallelität zwischen beiden zu erweisen (vgl. Protokolle S. 617). Deutlich bleiben aber bei höheren Konzentrationen, etwa von 2% Zucker ab, die Erntemengen zurück, bis schließlich bei 20% Zucker die Ernte absolut genommen nicht größer ist als bei 10%.

Mucor rhizopodiformis.

1. Versuch, Dauer 6 Tage

Zucker in %	0,05	0,1	0,2	0,4
Durchschnitt der Ernten in mg	13	21	37	82

2. Versuch, Dauer 22 Tage

Zucker in %	0,1	0,2	0,4	1	2
Durchschnitt der Ernten in mg	20	66,5	141,5	247,5	385

3. Versuch, Dauer 8 Tage

Zucker in %	1,25	2,5	5	10	20
Durchschnitt der Ernten in mg	53,5	68	86	118	115

Die Zahlen können, wie gesagt, nur angenähert richtig sein. Man sieht aber doch deutlich, besonders in dem letzten Versuche, daß die höheren Konzentrationen hemmend wirken. Ferner ist wiederum ersichtlich, daß nur in den niedersten Konzentrationen schon nach einer Woche das Endergebnis erreicht

ist. Man vergleiche die Ernte bei 0,1 % Zucker in Versuch 1 und 2. Schon bei 0,2 % aber ist die Ernte nach 22 Tagen fast doppelt so groß als nach 6 Tagen. Hier spielt also der Zeitfaktor hinein, der die Schlüsse so erschwert, daß er eine besondere Untersuchung nötig macht, in die wir sogleich eintreten. Es sei nur noch betont, daß das Ergebnis, hauptsächlich des dritten Versuches, daß *M. rhiz.*, die höheren Zuckermengen nicht voll auszunutzen vermag, keineswegs durch die zu kurze Versuchsdauer allein vorgetäuscht sein kann. Man vergleiche die Ernten in 1,25 und 2,5 % von Versuch 3 mit denen in 1 und 2 % von Versuch 2, woraus sich ergibt, daß auch nach 22 Tagen in einer 2 % Zucker enthaltenden Nährlösung noch nicht annähernd die doppelte Erntemenge erzielt ist als bei 1 % Zucker. Bei diesen Konzentrationen ist nach acht Tagen auf Grund der doppelten Zuckermenge 1,3 mal so viel, nach 22 Tagen 1,5 mal so viel geerntet worden als bei der einfachen Zuckermenge.

Die geschilderten Versuche haben gelehrt, daß vergleichbare Ergebnisse zu erzielen sind, auf die kleinere Verschiedenheiten in der Form der Gefäße ohne Einfluß bleiben müssen. Ferner sehen wir, daß der größeren Nährstoffmenge nicht nur ein höheres Endgewicht der Pilzdecke, sondern von vornherein eine regere Wachstumstätigkeit entspricht, ganz gleich ob die größere Nährstoffmenge in einem größeren oder dem gleichen Flüssigkeitsvolumen geboten wird wie die kleinere.

Eine Proportionalität zwischen Erntegewicht und Nährstoffmenge besteht aber nur unter idealen Umständen, von denen durch zu hohe Konzentration und zu kurze Versuchszeit Abweichungen bedingt werden. Über den letztgenannten Faktor soll uns der nächste Abschnitt unterrichten.

IV. Gang der Vermehrung bei verschiedenen Nährstoffkonzentrationen.

Von den in der Einleitung gekennzeichneten Problemen ist das erste, die Abhängigkeit der erzielten Organismenproduktion von der gebotenen Nährstoffmenge, schon durch die Versuche des vorigen Abschnittes in der Hauptsache gelöst. Wir sahen, daß im idealen Falle jedem Mengenteil der Nahrung eine ge-

wisse Pilzmasse entspricht, die weitgehend unabhängig von der Konzentration sein kann. Dagegen machte sich der Zeitfaktor stark bemerkbar, indem in den höheren Konzentrationen eine längere Versuchsdauer nötig war, um die maximale Ernte zu erzielen als bei den niedrigeren. Nimmt man noch hinzu, daß das Gewicht der Pilzdecke nach Überschreitung des Höhepunktes der Entwicklung durch Abgabe von Stoffen und Atmung wieder abnimmt, so ergibt sich klar die Bedeutung des zweiten Programmpunktes, der Feststellung des Vermehrungsganges bei verschiedener Nährstoffmenge auch für die Klärung der ersten Frage.

Unabhängig davon aber ist es von besonderem Interesse, zu wissen, wie die ersten Stadien der Vermehrung in quantitativer Hinsicht durchlaufen werden, ob z. B. jeder Pilz eine ihm eigentümliche Wachstumsgeschwindigkeit besitzt, so daß er zur Verdoppelung seines Gewichtes immer eine bestimmte Frist braucht und nur mit der Länge der Zeit größere Nährstoffmengen auszunutzen imstande ist oder ob günstigere Bedingungen von vornherein eine beschleunigte Entwicklung gestatten. Für die letztere Möglichkeit sprechen freilich schon die Erfahrungen an höheren Pflanzen, aber eine bestimmte Antwort ist für die ganz anders gearteten Pilze doch bisher kaum zu geben.

Den Gang der Gewichtszunahme eines Pilzes in Nährlösungen haben schon H. Kunstmann¹⁾, A. Richter²⁾ und T. Carlson³⁾ festgestellt. Sie finden übereinstimmend untereinander und mit mir eine erst steile, dann immer weniger steigende Vermehrungskurve, die nach einer gewissen Zeit ihren Höhepunkt erreicht, um wieder abzufallen. Der letztgenannte Autor stellt auch fest, daß durch Verdünnung der Würze die relative Ausbeute erst stark, dann immer weniger steigt, um schließlich konstant zu werden, wodurch also Proportionalität zwischen Ernte und Nährstoffmenge erzielt wäre. Leider ist mir seine

¹⁾ Kunstmann, H., Über das Verhältnis zwischen Pilzernte und verbrauchter Nahrung. Diss. Leipzig. 1895. S. 17.

²⁾ Richter, A., a. a. O. S. 428.

³⁾ Carlson, T., Geschwindigkeit und Größe der Hefevermehrung in Würze. Biochem. Zeitschr. 1913. 57, 322.

Kurve, Fig. 3, aus Mangel an Erklärungen unverständlich geblieben. Jedenfalls hat keiner der genannten Autoren die Hauptaufgabe gelöst, die ich mir in diesem Abschnitte gestellt habe, die Abhängigkeit des zeitlichen Zuwachses von der Nährstoffkonzentration zu klären.

Hier liegen nun aber die Versuche von Rubner¹⁾ vor, der ein Bakterium aus der Proteusgruppe in verschiedenen verdünnten Fleischextraktlösungen kultivierte und die Zunahme der Organismenmenge nach verschiedenen Zeiten an Parallelkulturen feststellte. Die Menge der organismischen Substanz wird dabei aus Bestimmungen des Stickstoff- und Schwefelgehaltes eines die Bakterien mit einschließenden Kupferniederschlags erschlossen. Was zunächst den Höhepunkt der Entwicklung anbelangt, so standen bei ihm »die maximalen Ernten in festem, nicht aber in proportionalem Verhältnis zur Konzentration«²⁾. Wenn die Konzentrationen fielen wie 100:50:25:12,5:6,25, so fielen die Ernten wie 100:41:12:5:2 oder bezogen auf gleiche Nährstoffmenge wie 100:82:48:40:32.

Das heißt: die Ausnutzung ist in den geringsten Konzentrationen am schlechtesten. Bei Carlson und mir war das Umgekehrte der Fall.

Der Gang der Vermehrung war nicht geradlinig ansteigend. »Die größte Lebhaftigkeit des Anwuchses herrscht in den ersten zwei Tagen. In der weiteren Versuchszeit nimmt die Menge der neu gewachsenen Bakterien immer ab.« »Die Konzentration ist ein Einfluß, der vom ersten Moment ab eine bestimmte, fest fixierte Wirkung äußert.« »Die Ernten stehen stets nach gleichen Zeiten des Wachstums in bestimmtem, von der Konzentration der Nährlösung abhängigem, gleichbleibendem Verhältnis«³⁾.

Diese Ergebnisse deuten also auf die Möglichkeit, zahlenmäßig klare Ergebnisse auch für meine Versuchsobjekte zu erzielen, bei denen nicht Pepton wie im Fleischextrakt, sondern Zucker die Energiequelle darstellt, die Art des Wachstums für

¹⁾ Rubner, M., Beziehungen zwischen Bakterienwachstum und Konzentration der Nahrung. Arch. f. Hyg. 1906. 57, 162.

²⁾ a. a. O. S. 186.

³⁾ a. a. O. S. 183.

die an die Oberflächenschichten gebundenen Organismen so ganz anders ist und auch die Methode der Erntebestimmung von der Rubnerschen abweicht. Es schien zudem nicht überflüssig, die allgemeine Gültigkeit der obigen Regeln zu erproben.

Für die in diesem Abschnitt mitzuteilenden Versuche wurde immer die asparaginfreie Nährlösung mit Ammonsulfat als Stickstoffquelle verwendet. Von diesem Salz war der zehnte Teil der Zuckermenge zugegen. Versuchsobjekt war die Hefe, weil bei ihr die Beimpfung und das Anwachsen am gleichmäßigsten zu gestalten war. Es kamen je 100 ccm der verschieden stark verdünnten Lösung in 200 ccm-Erlenmeyerkolben zur Anwendung. Besonders bei den niederen Konzentrationen mußten die Versuche mehrfach wiederholt werden, da die Abweichungen sonst zu groß waren, als daß brauchbare Mittelwerte hätten erzielt werden können. Besser wäre es gewesen, überall noch mehr Zahlen zu sammeln. Das verbot sich aber aus Mangel an Zeit. Die Hauptergebnisse kommen auch so klar heraus. Freilich fehlen noch Daten für die späteren Zeiten bei den höheren Konzentrationen. Doch dürften vor allem die Kurven schon zeigen, daß prinzipiell Neues kaum mehr zu erwarten wäre.

Durchschnitt der Hefeernten in mg Trockengewicht.

Zucker in %	Tage nach der Impfung								
	2	4	6	8	10	13	17	21	25
0,2	11,6	22	22,6	22,7	23		21		
0,4	20	39		47	60	66,7	66,2	67	60
0,8	56	82	103	122	125	124	131	139,5	140
1,2	61	100	101	110	121			144?	
1,6	64	104	120	134	144		184?		
3,2	100,5	170		193	193	342			
4,8	104	186	201	212	212	235			
8	108	180	183	175	171				

Die Tabelle gibt die Durchschnitte der bei verschiedenen Konzentrationen nach kürzerer oder längerer Zeit ermittelten Hefetrockengewichte an. Die Einzelwerte findet man in den Protokollen (S. 619 u. 620). Die Durchschnitte wurden dann in Kurvenform graphisch dargestellt. In die Fig. 2 wurden aber der Übersichtlichkeit wegen nur die Werte für 0,2, 0,4, 0,8, 1,6, und 4,8 %

Rohrzucker eingetragen. Die Kurven für 3,2 und 8% Zucker waren noch weniger glatt als die eingezeichneten und würden sich und die Kurve für 4,8% Zucker mehrfach kreuzen. Besonders bei der höchsten Konzentration ergaben sich Störungen, die nach anfänglich normalem Anstieg zu einem gegenüber den anderen Lösungen vorzeitigen Abfall der Kurve führten. Hierauf näher einzugehen, lag nicht im Plane der Arbeit.

Die Hauptergebnisse der Versuche sind folgende:

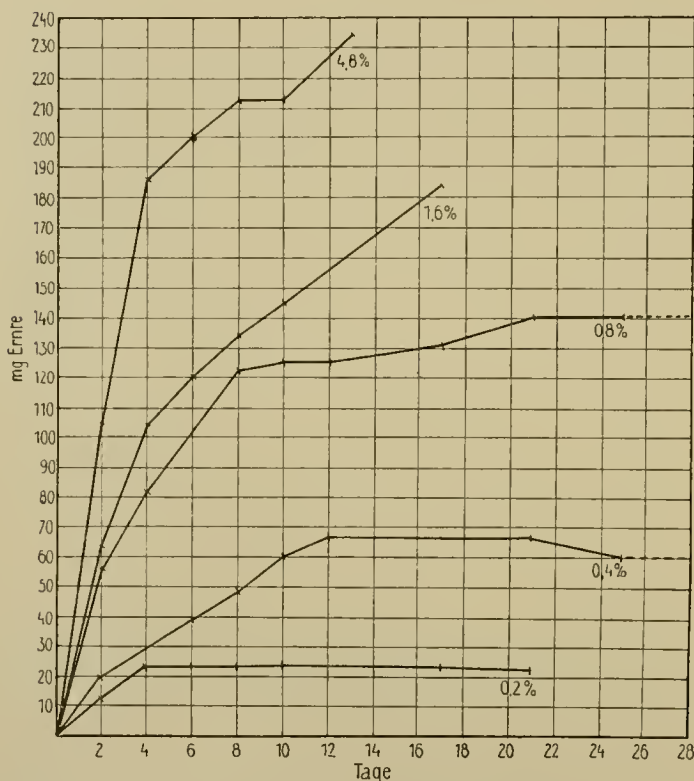


Fig. 2. Hefe, Zuwachs in verschiedenen konzentrierten Nährlösungen mit 0,2 bis 4,8% Zucker.

1. Jeder Nährlösungskonzentration entspricht eine bestimmte Vermehrungsgeschwindigkeit, die sich in sanfterem oder steilerem Anstieg der Kurve bemerkbar macht.

2. Je höher die Konzentration (innerhalb der Grenzen der Versuche), desto schneller ist der Zuwachs, desto steiler also die Kurve.

3. Im Anfang ist der Zuwachs am stärksten, allmählich wird er schwächer,

bis er ganz aufhört, die Kurve sich also der Horizontalen nähert.

4. Je höher die Konzentration, desto länger dauert der Anstieg, desto später wird daher die Konstanz des Erntegewichtes resp. der Höhepunkt der Entwicklung erreicht. Denn von einer wirklichen Konstanz kann nicht gesprochen werden, da sich — offenbar durch Atmung — das Erntegewicht ganz allmählich wieder verringert¹⁾.

¹⁾ Vgl. Richter, A., Zur Frage der chemischen Reizmittel. Centralbl. f. Bakt. II. 1901. 7, 422.

Bei der niedersten Konzentration (0,2 ‰ Zucker) ist der Zuwachs nur gering. Bei der höchsten (8 ‰) ist er anfangs immer noch stärker als bei der nächst niederen (4,8 ‰), so daß die Grenze, von der ab von vornherein Hemmung eintritt, nicht erreicht wurde. Die Hefe ist eben ein an hohe Zuckerkonzentration angepaßter Organismus.

Die für jede Nährstoffkonzentration gefundene erst starke, dann allmählich abnehmende Vermehrung haben schon die im Anfange dieses Abschnittes genannten Autoren festgestellt. Sie dürfte also eine allgemeine Regel darstellen. Nur Carlson¹⁾ fand ganz im Anfang geringere Zuwachsgrößen. Vielleicht mußte sich seine Hefe erst an die veränderten osmotischen Verhältnisse anpassen.

Daß von vornherein eine üppigere Ernährung auch beschleunigten Zuwachs gestattet, fand Rubner ebenso wie ich. Dieses Autors Ergebnis, daß jederzeit das Verhältnis zwischen Nährstoffmenge und Organismenmasse konstant ist, kommt in meinen Zahlen nur angenähert zum Ausdruck, genau aber auch bei ihm nur nach Korrekturen und Abrundungen.

Am bezeichnendsten ist der erste, nahezu geradlinige Anstieg, der bei den höheren Konzentrationen so sehr viel steiler ist als bei den schwächeren. Man sieht daraus, wie stark der Ansatz beschleunigt werden kann. Später sind die im Versuche gebotenen Verhältnisse durch Verbrauch an Nahrung und Abscheidung von Stoffwechselprodukten geändert, und kommen daher die Abhängigkeitsverhältnisse nicht mehr klar zum Ausdruck. Eine schlechtere Ausnutzung der niederen Konzentrationen wie bei Rubner ist bei mir nicht ersichtlich, dagegen ein Zurückbleiben der höheren, indem hier der Anstieg zwar immer steiler vonstatten geht, aber doch nicht in dem Maße, daß Proportionalität zustande käme. Wenn diese also schließlich, wie oben gezeigt, doch annähernd erreicht wird, so liegt das an der länger dauernden Zunahme der Pilzmasse. Natürlich ist es möglich, daß ein Organismus besser an die Ausnutzung schwacher, ein anderer an die stärkeren Lösungen angepaßt ist. Doch berührt das die wichtigsten Ergebnisse nicht, die durch Übereinstimmung mit Rubners Befunden wohl als allgemeingültig erwiesen sind.

¹⁾ Carlson, T., a. a. O. S. 322.

V. Abstufung der Stickstoffmenge.

Während in den bisher geschilderten Versuchen stets die ganze, an sich willkürlich gewählte Nährlösung in ihrer Konzentration abgestuft worden war, wurde nun geprüft, was sich ergibt, wenn nur ein lebenswichtiges Element in verschiedenen, die anderen aber in gleichen Mengen zugegen sind. Solche Versuche sind bisher hauptsächlich von Benecke (a. a. O.) angestellt worden und zwar auch mit Pilzen. Zahlen gibt er hauptsächlich für solche Kulturen, in denen Kalium und Magnesium im Minimum waren. Er betont¹⁾, daß das Erntegewicht viel langsamer sinkt als der K-Gehalt, und fragt sich, woran das wohl liegen könne. Vielleicht ergibt sich aus meinen Zahlen eine Deutung. Benecke sieht den Grund z. T. in der CO₂-Stauung bei kräftigerem Wachstum. Sehr wesentlich kann dieser Einfluß aber nicht sein, denn sonst müßte sich etwas Derartiges in meinen Versuchen erst recht gezeigt haben. Die Versuche von Falck²⁾ können hier kaum eine Bedeutung beanspruchen, da er nur mit zwei Pepton- und zwei Glukosekonzentrationen arbeitete und bei der Abstufung des Peptons N- und C-Menge gleichzeitig verändert wurden.

Dagegen liegen Versuche über den Einfluß der Peptonmenge auf die Vermehrung der Hefe vor³⁾. Es wurden 15% Rohrzucker geboten. Die Ernte wurde durch Auszählen bestimmt.

% Pepton	7,2	3,6	1,8	0,9	0,45	0,22	0,11	0,06
Millionen Hefezellen	145	130	88	56	42	54	34	27

Mit Ausnahme einer Zahl ergibt sich eine gute Abstufung der Ernte, doch ist die Steigerung durch Verdoppelung der Stickstoffmenge gering. Noch weniger entsprach bei Leucin, Asparagin und Ammonsulfat die Ernte der Stickstoffmenge. Es mag das an der großen Wandelbarkeit des Stickstoffgehaltes der Hefe liegen.

In meinen eigenen Versuchen benutzte ich *Aspergillus niger* und wählte die Stickstoffverbindung als Substanz, die abgestuft werden sollte, weil sie in verhältnismäßig großer Menge be-

¹⁾ 1895, a. a. O. S. 506.

²⁾ a. a. O. S. 259.

³⁾ Pringsheim, H., Über die Stickstoffernährung der Hefe. Biochem. Zeitschr. 1907. 3, 192.

nötigt wird. Ich kombinierte also verschiedene Mengen von Ammonsulfat mit Zucker als Kohlenstoffquelle, und zwar wurde hier reinste Saccharose angewandt. Auch wurde das käufliche destillierte Wasser mit einem Jenaer Glaskühler noch einmal destilliert und auch sonst besondere Vorsicht angewandt.

I. In dem ersten Versuch wurden 2 und 4% Saccharose, ferner 0,1 % Mg SO_4 , 0,1 % KH_2PO_4 und 0,05 % kristallisierte Zitronensäure zugesetzt. Je zwei Kolben mit 50 ccm Lösung. Der Versuch dauerte 15 Tage.

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ %	0,01	0,05	0,1	0,5	1	
Saccharose 2 %	81	387	636	810	814	mg Ernte auf 100 ccm Lösung
„ 4 %	112	441	765	1436	1506	

Es ergab sich, daß bei geringen Stickstoffmengen die Ernte durch Erhöhung der Konzentration des Ammonsulfates weit mehr gesteigert wird als bei größeren. Bei 0,5 % $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ war annähernd die maximale Ernte erreicht, unabhängig von der Zuckergabe. Doch war sie bei 4 % Zucker fast doppelt so groß als bei 2 %.

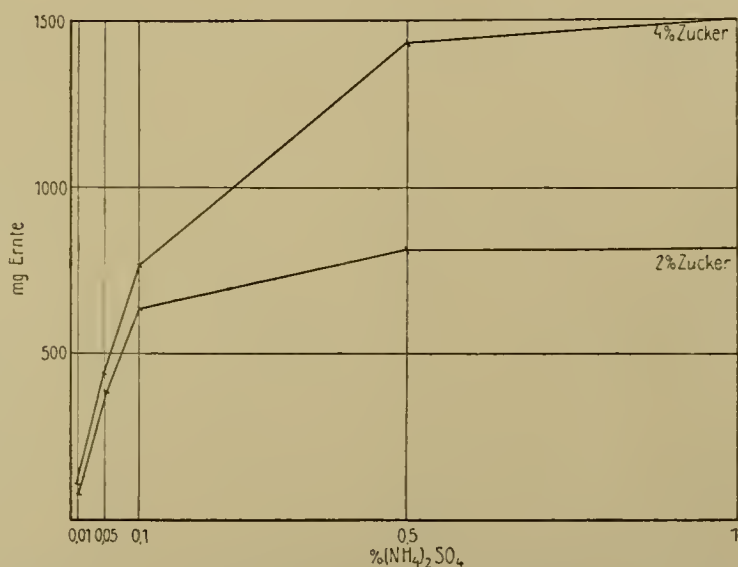


Fig. 3. *Aspergillus niger*, Ernte bei verschiedenen Stickstoffgaben.

Die obigen Erntewerte, die überall die Durchschnitts aus je zwei Bestimmungen darstellen (vgl. Protokolle S. 620), wurden zur Konstruktion der Kurven verwendet, aus denen noch deutlicher hervorgeht, wie der erst steile Anstieg mit der weiteren Zunahme der N-Menge immer flacher wird, bis die Kurven sich der Horizontalen nähern.

Ganz dasselbe Ergebnis zeitigten Versuche mit größeren Zuckermengen.

II. 10- und 20%ige Saccharoselösungen wurden wie im vorigen Versuche mit Nährsalzen versehen und durch Zitronensäure angesäuert. Dazu kamen verschiedene Ammonsulfatmengen, und zwar wurde hier noch eine niedrigere Stufe sowie Kolben ohne Zusatz der N-Quelle hinzugefügt. Je vier Kolben mit 50 ccm Lösung in 300 ccm fassenden Erlenmeyerkolben. Der Versuch dauerte 12 Tage (vgl. Protokolle S. 620).

$(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$	0,0	0,005	0,01	0,05	0,1	0,5	1	
Saccharose 10%	0,045	0,07	0,09	0,28	0,44	1,55	1,57	g Ernte auf 50 cm Lösung
„ 20%	0,04	0,10	0,11	0,29	0,56	2,72	2,74	

Der Versuch zeigt wiederum eine deutliche Abstufung der Ernten mit der Stickstoffgabe bis zu 0,5 % Ammonsulfat, von da ab Konstanz. Die maximalen Pilzgewichte stehen fast im Verhältnis der Zuckerkonzentrationen, aber nur innerhalb dieses Versuches. Im Vergleich zu dem vorigen sind sie zu niedrig, weil das Wachstum früher unterbrochen wurde. Mit Verringerung der Stickstoffgaben sinkt das Erntegewicht immer schneller, wenn auch nicht proportional mit der Abnahme des im Minimum vorhandenen Stickstoffes. Am besten stimmt die Proportionalität noch für 20 % Zucker zwischen 0,01 und 0,5 % $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$. Unterhalb von 0,01 % werden die Ergebnisse unsicher, zumal auch ohne N-Zusatz noch einige Flöckchen wachsen konnten. Ebenso fand Benecke¹⁾: »wenn man den Gehalt an KCl noch weiter sinken läßt (als 0,00003 %) hört ein Unterschied gegen „kaliumfreie“ Kulturen bald auf«.

Bei weniger als 0,1 % Ammonsulfat macht auch die Zuckerkonzentration nicht viel aus, hier ist die Ernte ganz von dem ins Minimum gedrängten Stickstoff, bei höheren N-Mengen dagegen mehr von der Zuckermenge abhängig. Die Kurven in Fig. 4 zeigen das wiederum sehr deutlich.

Die Hauptergebnisse dürften nunmehr klar sein. Demnach ist die Ernte meist nicht proportional der Stickstoffmenge, obgleich diese bei den niederen der angewandten Konzentrationen der begrenzende Faktor ist. Vielmehr steigen die Ernten bei allen geprüften Konzentrationen weniger als die Stickstoffgaben. Auch ergibt jede Stickstoffmenge außer den allergeringsten mit

¹⁾ Benecke, W., 1895, a. a. O. S. 503.

mehr Zucker ein stärkeres Wachstum als mit einer geringeren Menge. Denken wir uns aber die Kurven nach unten zu fortgesetzt, so nähern sie sich sehr dem geradlinigen Anstieg, und zwar bei 4 % Zucker früher als bei 2 %, bei 20 % früher als bei 10 %. Schließlich schneiden sie alle den Nullpunkt. Wären die Zuckermengen noch größer, so würde die Kurve offenbar auf eine immer größere Strecke hin annähernd geradlinig verlaufen.

Ganz ähnlich ist das Ergebnis in Beneckes Versuchen mit abgestufter K- und Mg-Menge, sofern wir die Konzentrationen vergleichen, in

denen der größeren Menge des abgestuften Elementes auch das höhere Erntegewicht entspricht. Wir würden also annähernde Proportionalität auch dort erst bei noch geringeren Gaben erwarten dürfen, wobei aber die zahlenmäßigen Beziehungen wegen

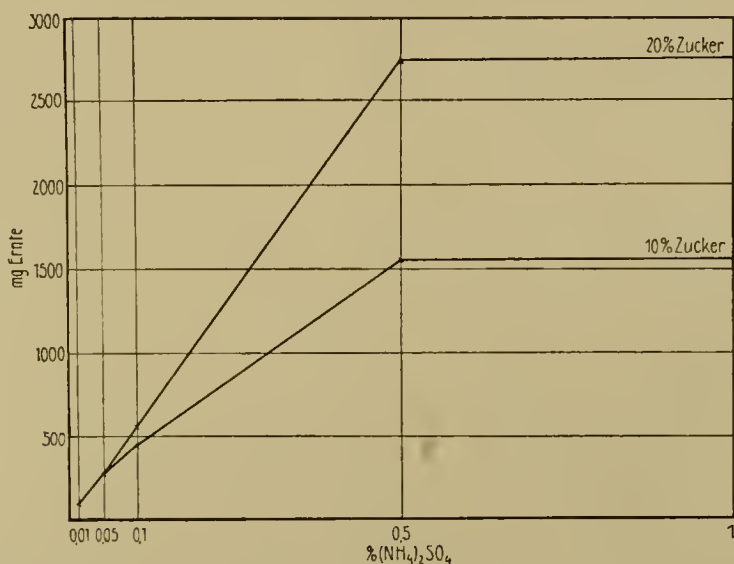


Fig. 4. *Aspergillus niger*, Ernte bei verschiedenen Stickstoffgaben.

der Störungen durch Verunreinigungen kaum klar herauskämen. Die Stickstoffverbindung eignet sich für derartige Versuche wohl besser, weil der Bedarf an ihr größer ist.

Daß die Ernten nicht entsprechend der Menge des im Minimum vorhandenen Nährstoffes ansteigen, hat verschiedene Ursachen. Einmal werden die Wachstumsbedingungen durch die Vermehrung des Pilzes selbst ungünstiger. Die Kohlensäureanhäufung ist nur ein Grund dafür, zu dem noch die Verarmung an Sauerstoff, der Verbrauch der Energiequelle und die Anhäufung sonstiger Stoffwechselprodukte hinzukommen. Dann aber nähern wir uns auch mit steigender Konzentration eines Nährstoffes dem relativen Optimum, von dem ab eine weitere

Erhöhung der Menge dieses Stoffes nicht mehr fördert und unter Umständen selbst das Wachstum hindert. So fand Benecke¹⁾ folgende Ernten für verschiedene Magnesiumsulfatmengen:

% MgSO ₄	5	1,25	0,31	0,078	0,019	0,0049	0,0012	0,0003	0
mg Ernte	0,409	1,035	1,068	1,113	1,166	1,035	0,467	0,185	?

Die ohne Magnesiumzusatz unwägbare Ernte steigt also bis zu einer Gabe von 0,019 % gleichmäßig an, um von da ab langsam wieder abzusinken. Für uns sind hier nur die niedersten Konzentra-

tionen von Bedeutung, und da ergibt sich, wie auch in meinen eigenen Versuchen mit Ammonsulfat, daß die geringeren Mengen eines in Minimum vorhandenen Nährstoffes verhältnismäßig mehr Ernte ergeben als die höheren, oder, wie Benecke¹⁾ es ausdrückt, daß sie besser ausgenutzt werden als diese.

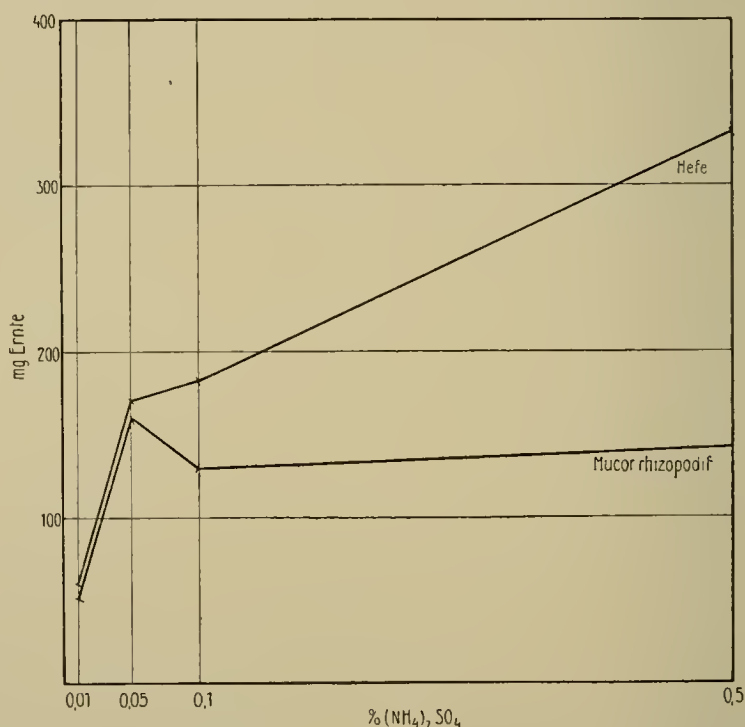


Fig. 5. Ernten bei verschiedenen Stickstoffgaben.

Im ganzen wird man also nicht fehlgehen, wenn man annimmt, daß eine Proportionalität zwischen dem im Minimum vorhandenen Stoffe und der Erntemenge nur dann besteht, wenn das Verhältnis zwischen dem ersteren und den übrigen Ernährungsfaktoren (Nährstoffen, evtl. Licht, Temperatur usw.) stark zugunsten der letzteren verschoben ist. Je weiter die übrigen Faktoren vom Optimum entfernt sind, desto weniger macht sich der Einfluß des einen im Minimum befindlichen bemerkbar.

III. Zur Stütze dieser Sätze habe ich einige weitere Versuche

¹⁾ Benecke, W., 1895, a. a. O. S. 522.

mit Hefe und *Mucor rhizopodiformis* angestellt, von denen hauptsächlich die erstere ganz entsprechende Resultate ergab, während der letztere, wohl wegen der zu geringen Zahl der Kolben (je 2 für eine Konzentration) eine Unregelmäßigkeit zeigte, die aber den gleichsinnigen Verlauf der Kurve nicht ganz verwischte (vgl. Fig. 5 und Protokolle S. 621).

Das Hauptergebnis dieses Abschnittes ist also das, daß die Ernten durch den im Minimum vorhandenen Stoff in ihrer Größe begrenzt sind, so daß jede Steigerung desselben auch einen vermehrten Pilzanwuchs zur Folge hat, daß aber niemals vollkommene Proportionalität zwischen beiden besteht. Nur unter idealen sonstigen Umständen und bei geringer Menge des im Minimum vorhandenen Stoffes nähert man sich dem Grenzfalle einer vollkommenen Ausnutzung dieses Stoffes und damit der Proportionalität zwischen seiner Menge und dem Erntegewicht.

Bei Erhöhung der gebotenen Menge eines Nährstoffes steigt die Ernte nur bis zu einer festen Grenze, die allein durch gleichzeitige Vermehrung auch der anderen Nährstoffe überschritten werden kann. Deshalb ist auch die Produktion an Organismensubstanz nicht schlechthin durch den Vorrat an einem Nährstoffe bedingt, sondern gleichzeitig von allen andern abhängig. Bei Verbesserung der sonstigen Lebensbedingungen oder Verringerung der Menge eines Nährstoffes wird dieser im Minimum vorhandene immer besser ausgenutzt.

Die Auffassung über die zahlenmäßige Bedeutung des Gesetzes vom Minimum, zu der ich durch Versuche an Pilzen gekommen bin, würde eine besondere Bedeutung beanspruchen können, wenn sie auch auf höhere Pflanzen anzuwenden wäre. Ähnliche Fragen beschäftigen aber zurzeit in besonderem Maße die wissenschaftliche Landwirtschaft. Infolgedessen ist die Literatur über das Gesetz vom Minimum stark angeschwollen und für den, der nicht mitten in der Sache steht, schwer zu übersehen. Trotzdem und trotz der Verschiedenheit der Versuchspflanzen möchte ich nicht versäumen, einige Vergleiche zu ziehen, da die Ergebnisse sich teilweise gegenseitig ergänzen.

Auch macht die hauptsächlich von Mitscherlich¹⁾ versuchte mathematische Einkleidung den Anspruch allgemeinsten Gültigkeit, so daß die Natur des Versuchsorganismus ohne Bedeutung sein müßte. Liegen hier aber allgemeine Sätze vor, so könnte man selbst so weit gehen, die Lösung noch schwebender grundlegender Fragen an Pilzkulturen zu versuchen. Sie geben ja die Möglichkeit, die Bedingungen in ganz anderer Weise einheitlich und übersehbar zu gestalten als in Sandkulturen höherer Pflanzen oder gar im freien Felde.

Die nach Adolf Mayer²⁾ klassische Definition Wollnys für das Gesetz vom Minimum lautet: »Der Ertrag der Nutzpflanzen wird . . . von demjenigen Wachstumsfaktor beherrscht, der in geringster . . . Intensität unter den gerade vorliegenden Verhältnissen zur Wirkung gelangt«. Ein zahlenmäßiges Verhältnis ist damit nicht festgelegt. Mayer sagt aber weiter³⁾: »Der Einfluß irgendeines einfachen, im Minimum anwesenden Vegetationsfaktors auf die Größe der Ernte muß vernünftigerweise gedacht werden als direkt proportional seiner in Wirksamkeit tretenden Menge«. Die bei größeren Mengen dieses Faktors auftretende Abschwächung der Wirkung führt er auf Störungen verschiedener Art zurück. Pfeiffer⁴⁾ bezeichnet die einfache Proportionalität als »die frühere Annahme«.

Daß aber diese einfachste Beziehung der Proportionalität zwischen Minimalfaktor und Ernte unter tatsächlichen Verhältnissen nur innerhalb enger Grenzen verwirklicht ist, darüber sind sich alle Autoren einig. »Der untere Teil der Kurve ist meist geradlinig. . . Weiter bewegen sich alle beobachteten Abweichungen in dem Sinne, daß in den höheren Abschnitten der Kurve diese nach der Abszissenachse zu konkav wird«⁵⁾. Bei der Erklärung dieser Abweichungen spielt der Gedanke eine besondere Rolle, daß »bei den höheren Gaben leicht

¹⁾ Mitscherlich, E. A., Das Gesetz des Minimums und das Gesetz des abnehmenden Bodenertrages. Landw. Jahrb. 1909. 38, 537.

²⁾ Mayer, Ad., Das Gesetz des Minimums eine logarithmische Funktion? Landw. Versuchsstationen. 1912. 78, 122.

³⁾ —, Ebenda. S. 120.

⁴⁾ Pfeiffer, Th., Das Gesetz des Minimums eine logarithmische Funktion? Landw. Versuchsstationen. 1912. 78, 132.

⁵⁾ Mayer, Ad., a. a. O. S. 119 u. 120.

irgendein anderer Vegetationsfaktor, so sehr man sich auch bemühte, sie alle im Überschuß zu gewähren, mit ins Minimum gelangen wird«. So nach Mayer¹⁾, dem sich in dieser Beziehung Pfeiffer²⁾ anschließt. Diese Erklärung des Nachlassens der Steigerung des Ertrages bei Erhöhung der Menge des ins Minimum gesetzten Faktors mit Hilfe der Vorstellung, daß er seine begrenzende Funktion nun an einen anderen abgibt, setzt voraus, daß dieser letztere bei einer Steigerung nun wieder eine höhere Produktion zuließe oder: »Die Pflanze kann den im Minimum vorhandenen Produktionsfaktor zu um so größerer Produktion benutzen, je mehr die anderen Produktionsfaktoren sich für sie im Optimum befinden.« Diesen Satz, das »Gesetz des Optimums« von Liebscher, weist aber derselbe Ad. Mayer als unlogisch und unbewiesen ab.

Die gleiche Ursache für das Zurückbleiben der Produktion hinter der Proportionalität mit der zunehmenden Menge des ins Minimum gesetzten Stoffes nimmt im Grunde auch Rodewald³⁾ an. Er betont, daß dann, wenn z. B. die Stickstoffmenge den begrenzenden Faktor darstellt, die der größeren N-Gabe entsprechende höhere Ernte auch den größeren Gehalt an diesem Stoffe besitzt. Daraus darf man aber schließen, daß die niedrigere Ernte, bei der das Verhältnis zugunsten der anderen Faktoren verschoben ist, den Stickstoff besser ausnutzt, und daß die bei höherer Stickstoffzufuhr erzielte Ernte einen niedrigeren Gehalt an diesem Elemente aufwiese, wenn die übrigen Wachstumsfaktoren ein noch reichlicheres Gedeihen ermöglicht hätten. Somit hängt die Wirkung eines Faktors nicht nur von diesem einen, sondern gleichzeitig von allen anderen ab.

Die tatsächlichen Ergebnisse der Versuche an höheren Pflanzen stimmen, soweit sie sich mit ihnen vergleichen lassen, völlig mit denen an Pilzen überein. Auch Benecke und ich fanden eine mit der Zunahme des im Minimum vorhandenen Nährstoffs zunächst annähernd geradlinig, dann immer weniger steigende Produktion. Die verschieden gute Ausnutzung des

¹⁾ Mayer, Ad., a. a. O. S. 119 und 120.

²⁾ Pfeiffer, Th., a. a. O. S. 132.

³⁾ Rodewald, Herm., Das Gesetz vom Minimum. Landw. Versuchsstationen. 1912. 78, 248.

Minimalfaktors, je nach den sonstigen Bedingungen, bewies ich durch die verschieden hohe Ernte bei gleicher, hinter der besten zurückbleibenden Stickstoffgabe, aber verschiedener Zuckermenge. Diesen vergleichbare Versuche fehlen in den von mir daraufhin durchgesehenen Arbeiten der wissenschaftlichen Landwirte. Man kann aber nicht die zahlenmäßige Wirkung eines Nährstoffes ohne Berücksichtigung der übrigen ergründen. Nur für den Einfluß der Wassermenge auf die Stickstoffausnutzung fand ich in einer Arbeit¹⁾ Belege, aus denen hervorgeht, »daß bei überschüssiger, nicht aber bei beschränkter Wassergabe die Erntesteigerung bis zur höchsten N-Gabe leidlich proportional der Düngermenge verlief«.

Die verschieden gute Ausnutzung des im Minimum gebotenen Ernährungsfaktors, je nach den sonstigen Bedingungen, könnte sich theoretisch vom Anfang an zeigen. Nur solange der begrenzende Faktor die nach den sonstigen Verhältnissen zu erwartende optimale Ernte sehr stark herabsetzt, also im ersten Anfang der Kurve, die durch Eintragung der Ernten bei verschiedenen Gaben des Minimalstoffes gewonnen wird, wäre dann ein geradliniger Verlauf zu erwarten. Es gäbe keine scharfe Grenze zwischen der Gültigkeit der proportionalen Beziehung und einer logarithmischen.

Nun muß man aber bedenken, daß beim Fallen der Menge eines Nährstoffes dessen Gehalt im Organismus nicht ständig mit fallen kann, sondern ein Mindestgehalt zum Wachstum nötig ist. Es kann dann also nicht mehr hervorgebracht werden als diesem entspricht, die Proportionalität ist erreicht. Wird die Menge des Nährstoffes erhöht, so steigt über einem gewissen Wert nicht nur die Ernte, sondern auch der Gehalt an dem betreffenden Stoffe, was z. B. bei Kali in höheren Pflanzen weiter gehen wird als bei Stickstoff²⁾. Nun bleibt die Ernte hinter der Proportionalität zurück. Demnach scheint mir der vermittelnde Standpunkt von Pfeiffer berechtigt, nur soll man sich hüten, zu sehr zu verallgemeinern. Zur mathematischen

¹⁾ Pfeiffer, Th., Blanck, E., und Flügel, Alb., Wasser und Licht als Vegetationsfaktoren und ihre Beziehungen zum Gesetze vom Minimum. Landw. Versuchsstationen. 1912. 76, 191.

²⁾ Vgl. Pfeiffer, Th., Blanck, E., und Flügel, M., a. a. O. S. 195.

Formulierung der Gesetzmäßigkeiten wären meiner Meinung nach viel ausgiebigere experimentelle Grundlagen nötig als zurzeit zu Gebote stehen.

VI. Förderung durch kleine Giftmengen.

Je geringer die für die Vermehrung notwendige Menge eines unentbehrlichen Nährstoffes ist, desto schwieriger wird es, seine Unentbehrlichkeit nachzuweisen, da kleinste Spuren der häufigsten Elemente als Verunreinigung kaum auszuschließen sind. Hinzu kommt, daß auch durchaus entbehrliche Substanzen, und zwar besonders solche, die in höherer Konzentration »giftig«, also entwicklungshemmend wirken, in geringster Menge das Wachstum fördern können.

Aus diesem Grunde ist z. B. Raulin¹⁾, der Entdecker der Förderung durch Giftspuren, in den Irrtum verfallen, daß Zink für *Aspergillus* zu den unentbehrlichen Nährelementen gehöre. Auch gilt bis heute z. B. die Frage nicht für entschieden, ob Eisen für Pilze notwendig ist. Aber darüber hinaus ist die Reihe der unentbehrlichen Elemente, so wie sie in den Lehrbüchern angegeben wird, tatsächlich nur für wenige Organismen sicher gestellt und wird für die anderen allein der Einheitlichkeit wegen als gleich angenommen.

In zweifelhaften Fällen ist die Frage schwer zu lösen. Jedenfalls ist das Endergebnis der sogenannten Reizwirkung des Giftstoffes in vielen Fällen eine größere Ernte als ohne Gift mit derselben Nährstoffmenge. Nun haben wir aber gesehen, daß jeder Nährstoffkonzentration ein bestimmtes, für sie charakteristisches Erntegewicht entspricht. Somit gewinnt das Reizstoffproblem Beziehungen zu den hier behandelten Fragen. Vielleicht wäre es selbst möglich, nach genauer Kenntnis der quantitativen Gesetze, nach denen Nährstoffe und Giftstoffe, in verschiedenen Mengen zugesetzt, den Zuwachs fördern, in zweifelhaften Fällen die Entscheidung zwischen beiden zu treffen. Voraussetzung dafür wäre allerdings, daß solche einheitlichen Gesetze aufgefunden würden und daß eine scharfe Grenze zwischen Nährelementen und Reizstoffen besteht. Wie

¹⁾ Raulin, *Études chimiques sur la végétation*. Ann. sc. nat. Bot. Sér. V. 1869. 11, 91.

man sieht, ist das ein weites Feld, so daß nur die Anfänge zur Lösung der vorliegenden Probleme gemacht werden konnten.

Um einen ersten Einblick zu gewinnen, war es notwendig, die Wirkung der Giftförderung auf die Abhängigkeit der Erntemenge von der Nährstoffkonzentration zu untersuchen, also verschiedene Nährstoffmengen mit und ohne Reizstoff zu verwenden. Derartige Versuche liegen bisher nicht vor. Die Experimente von Raulin¹⁾, Richards²⁾, A. Richter³⁾ und Ohno⁴⁾ sind meist mit 5 % Saccharose angestellt worden.

Während ich in den bisher geschilderten Versuchen z. T. noch gewöhnlichen Hutzucker verwendet hatte und nur bei der Abstufung der Stickstoffmenge auf größte Reinheit der Substanzen geachtet worden war, mußte nun mit allen möglichen Vorsichtsmaßregeln gearbeitet werden. Die Kolben wurden mit Chromschwefelsäure gereinigt und besonders sorgfältig gespült, sowie mit reiner Watte verschlossen. Von Salzen sowohl wie von Saccharose kamen die reinsten Merckschen und Kahlbaumschen Präparate in Anwendung. Auch das Wasser wurde aus einem Kühler mit Jenaer Normalglas-Kühlrohr noch besonders destilliert. Die Temperatur im Thermostaten war wie immer 30°. Der *Aspergillus niger*, auf dessen Verwendung ich mich beschränkte, stammte von auf Fließpapier keimenden Samen und wurde auf Pflaumensaft-Zucker-Agar weiter gezüchtet. Als Gift diente das von früheren Autoren schon vielfach verwendete Zinksulfat.

I. Nachdem ein Vorversuch gezeigt hatte, daß eine tausendstel molekulare Zinksulfatlösung deutliche Hemmung bewirkt, wurde nun eine halb so starke Lösung verwendet und je zwei Kolben mit ihr versehen, zwei zum Vergleich ohne Gift gelassen. Die Stamm-Nährlösung enthielt 20 % Saccharose, 2 % $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1 % KH_2PO_4 , 0,1 % $\text{MgSO}_4 + 7\text{H}_2\text{O}$ und 0,05 % kristallisierte Zitronensäure. Sie wurde dann im ganzen auf $\frac{1}{1}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$

¹⁾ a. a. O.

²⁾ Richards, H. M., Die Beeinflussung des Wachstums einiger Pilze durch chemische Reize. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 1897. **30**, 665.

³⁾ Richter, A., Zur Frage der chemischen Reizmittel. *Centralbl. f. Bakt.* II. Abt. 1901. **7**, 417.

⁴⁾ Ohno, N., Zur Frage der chemischen Reizmittel. *Ebenda.* 1902. **9**, 154.

und $\frac{1}{16}$ verdünnt. 50 ccm Lösung in Kolben von 150 ccm Fassungsraum.

Rohrzucker %	20	10	5	2,5	1,25	
ZnSO ₄ $\frac{1}{1000}$ Mol.	4,71	2,22	1,12	0,54	0,27	Ernte
Kein Gift	2,87	1,88	1,01	0,51	0,26	in g

Die Erntegewichte stellen den Durchschnitt je zweier Kulturen nach 10 Tagen dar (vgl. Protokolle S. 621).

Der Versuch zeigt eine Förderung durch das Gift erst bei den höheren Nährstoff-Konzentrationen deutlich, eine Erscheinung, die sich immer wiederholte und die weiter unten besprochen werden soll. Die Abhängigkeit der Ernte von der Nährstoffmenge geht bei den Giftkulturen weiter hinauf proportional als ohne Gift. Denn im letzteren Falle wächst bei 10% und 20% nicht mehr doppelt so viel als bei der halben Konzentration, sondern beträchtlich weniger, während mit Gift die Proportionalität wieder sehr schön ausgeprägt ist. Darauf eben beruht die Überlegenheit der Ernten in den höheren Zuckerstufen mit dem Reizstoff gegen die Kulturen ohne ihn.

Daß in den früheren Versuchen selbst bei hohen Nährstoffkonzentrationen die Ernte noch der Zuckermenge entsprach, lag offenbar an den nicht besonders gereinigten Substanzen, besonders irgendwelchen Beimengungen des Zuckers, so daß ohne besonderen Zusatz die den neuen Giftversuchen entsprechende Ernte erzielt wurde.

II. In dem zweiten Versuche dieser Reihe wurden nur die beiden Zuckerkonzentrationen gewählt, die im ersten Versuche eine Förderung durch Gift ergeben hatten, dagegen wurde nun die Zinksulfatmenge abgestuft. Außerdem wurde der Versuch doppelt so lange, nämlich über 21 Tage ausgedehnt.

Je 50 ccm Lösung in 150 ccm-Kolben.

Zn SO ₄ Mol.	0	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{250}$	
Rohrzucker 20%	0,66	3,09	3,02	2,78	2,12	Ernte
10%	0,61	2,00	2,51	2,51	1,92	in g

Die Erntegewichte stellen den Durchschnitt je zweier Kulturen dar (vgl. Protokolle S. 622).

Hier sind nun die Förderungen durch den Giftreiz noch bedeutend größer. Worauf dieser Unterschied beruht, vermag ich nicht sicher zu sagen. Da die Untersuchungen mehrere Jahre mit Unterbrechungen fortgeführt wurden, liegt zwischen beiden Versuchen ein größerer Zeitraum. Auch sonst fand ich, daß man Vergleiche am besten nur innerhalb eines Experimentes anstellt. Im übrigen sind die Ergebnisse in den hier in Betracht kommenden Punkten dieselben wie in Versuch I, d. h. bei höherer Nährstoffmenge ist die Förderung durch das Gift größer als bei kleinerer. Auch nähert sich bei den Giftkulturen die Beziehung zwischen Nährstoff- und Erntemenge mehr der Proportionalität als in den giftfreien Lösungen, ohne daß sie allerdings auch nur angenähert erreicht würde. Der Grund hierfür liegt vielleicht in Stickstoffmangel, da in diesen Versuchen bei 20% Zucker nur die Hälfte der Ammonsulfatmenge geboten wurde als in den älteren, nämlich überall 1% davon. Es bleiben deshalb die Ernten mit 20% Zucker gegen früher und gegen das Höchstmaß zurück. Warum sich diese Hemmung gerade in den giftfreien Lösungen so stark bemerkbar macht, ist noch unklar. Der nächste Versuch zeigt in der Beziehung nicht dasselbe Ergebnis.

Zum Vergleich mit angesetzte Kulturen mit der alten, nicht besonders gereinigte Substanz enthaltenden, aber ohne Giftzusatz verwendeten Nährlösung ergaben für 20% Zucker 2,08 und für 10% 1,30 g Ernte. Soll man sie zu den Kulturen mit allgeringster oder zu denen mit größerer Reizstoffmenge einordnen? Ich denke zu den ersteren, denn mit steigender Giftkonzentration werden die Unterschiede zwischen 10 und 20% Zucker, wie man sieht, immer kleiner, während sie hier beträchtlich sind. Die Versuche der früheren Kapitel mit abgestufter Gesamtnährstoffmenge und ohne gereinigte Substanzen entsprechen also solchen mit kleinsten Giftspuren.

III. Wiederum auf die Hälfte, also auf 0,5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ reduziert, aber überall dieselbe, war die Stickstoffgabe in dem nächsten Versuche. Hier ist außerdem, des Vergleichs mit den Richardsschen Versuchen wegen, die Zinksulfatkonzentration in Prozenten angegeben, wobei eine molekulare Lösung einer 28,8%igen entspricht. Je 50 ccm Lösung in 300 ccm-Kolben.

Zucker	5 %	20 %	
$\text{Zn SO}_4 + 7 \text{ H}_2\text{O}$ {	0,00 %	0,79	1,89
	0,01 %	0,89	2,49
	0,04 %	0,88	2,23
			Ernte in g nach 16 Tagen

Die Erntegewichte sind Durchschnittswerte aus je 4 Kolben (vgl. Protokolle S. 622).

Hier ist also die Förderung durch den Reizstoff, aber auch die absolute Größe der Ernte gering. Die Stickstoffmenge ist gar zu klein. Immerhin macht sich auch hier die Erntesteigerung bei höherer Zuckerkonzentration stärker bemerkbar als bei niederer.

IV. In diesem Versuche wurde, im Gegensatz zu dem vorigen, die Stickstoffmenge mit dem Zucker abgestuft, so daß auf 20 % Saccharose 0,8 und auf 5 % 0,2 % $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ kam. Da eine 0,04 %ige Zinksulfatlösung ferner in Versuch III zu stark zu sein schien, wurden hier geringere Mengen davon verwendet. Je 50 ccm Lösung in 300 ccm-Kolben.

Ammonsulfat	0,2 %	0,8 %	
Zucker	5 %	20 %	
$\text{Zn SO}_4 + 7 \text{ H}_2\text{O}$ {	0,000 %	0,73	1,98
	0,004 %	0,82	2,91
	0,008 %	0,81	2,70
			Ernte in g nach 16 Tagen

Die Erntegewichte stellen Durchschnittswerte aus je 4 gleichen Kulturen dar (vgl. Protokolle S. 623).

Die Ergebnisse entsprechen recht gut denen aus Versuch III. Die Herabsetzung der Giftmenge ist offenbar günstig, denn bei 20 % Zucker geben 0,004 % ZnSO_4 mehr Ernte als 0,008. Richards¹⁾ fand als Optimum 0,002—0,004 % und bei 0,008 % ZnSO_4 noch keine wesentliche Abnahme der Ernte. Groß ist dieser Einfluß nicht. Dagegen macht sich die Änderung der N-Gaben bemerkbar. Bei 5 % Zucker sind mit 0,2 % Ammonsulfat alle Ernten kleiner geworden als im vorigen Versuche mit 0,5 %, bei 20 % Zucker mit 0,8 % größer als mit 0,5 %. Die stärkere Förderung durch das Gift bei größerer Nährstoffmenge ist wieder deutlich, und gleichzeitig die Annäherung an die Proportionalität der Ernte mit der Zuckergabe, oder, wie man

¹⁾ Richards, a. a. O. S. 672.

hier auch sagen könnte, mit der Stickstoffgabe. Denn die gleichzeitige Abstufung beider bringt in diesem im Gegensatz zu dem vorigen Versuche das Verhältnis dem von 1:4 nahe, während dort der Stickstoffmangel die Nährwirkung der 20 % Zucker nicht zur Entfaltung kommen ließ. Während ohne Gift das Verhältnis der Ernten auf 20 und 5 % Zucker $1,89:0,79 = 2,4:1$ und mit Gift $2,23:0,88 = 2,5:1$ war, ist in dem neuen Versuch bei gleichzeitiger Stickstoffabstufung das Verhältnis ohne Gift: $1,98:0,73 = 2,7:1$ und mit Gift: $2,91:0,82 = 3,6:1$, also schon fast wie 4:1.

Demnach haben die Versuche über den Einfluß von Reizstoffen auf die Erntemenge bei verschiedenen Nährstoffkonzentrationen als Hauptergebnis gezeitigt, daß die Ausnutzung der größeren Nährstoffgaben wesentlich verbessert wird, wenigstens wenn wir das Wachstum nach dem Erntegewicht beurteilen. Die Erniedrigung des »ökonomischen Koeffizienten«, d. h. des Verhältnisses der verbrauchten Nährstoffmenge zum erzielten Erntegewicht erweisen die Versuche mit verschiedenen Nährlösungskonzentrationen noch klarer als die mit gleichbleibender Nahrungsmenge.

Dagegen fiel in allen diesen Experimenten die Zurückdrängung der Konidienbildung durch gleichzeitigen Einfluß von Reizstoff und reichlicher Ernährung auf¹⁾, ein Umstand, den Richards²⁾ auch schon hervorhebt. Bei geringer Gift- und Nährstoffmenge wird die Konidienbildung reichlicher, die Erntesteigerung durch den Reizstoff geringer. Demnach gewinnt es den Anschein, als stünden die Unterdrückung der Konidienfruktifikation und die Förderung des Mycelwachstums in ursächlichem Zusammenhange, etwa in der Weise, daß die Sporenbildung durch den großen Verbrauch an Nährstoffen das Mycel erschöpft und sein weiteres Wachstum hemmt. In der Tat nimmt die Mycelmasse in den Giftkulturen deutlich länger zu als in den giftfreien³⁾, ebenso wie ja, wie oben gezeigt, eine größere Nährstoffmenge einen zeitlich länger andauernden Zu-

¹⁾ Vgl. Protokolle S. 621—623.

²⁾ Richards, H. M., a. a. O. S. 671.

³⁾ Anm. Das Ergebnis von A. Richter (a. a. O. S. 422), daß das Erntegewicht in Giftkulturen schneller ansteigt als ohne Gift, kann ich nicht bestätigen.

wachs bewirkt als eine kleinere. Bei Hefe, die in Flüssigkeiten keine Sporen bildet, konnte ich dementsprechend keine Zunahme des Erntegewichtes durch Giftreize nachweisen. Doch gilt diese Deutung zweifellos nicht für alle Fälle einer Reizwirkung durch Giftspuren, die ja auch z. B. bei der Hefegärung und ferner beim Wachstum höherer Pflanzen lange vor der Blütezeit nachgewiesen worden ist¹⁾. Wir sind also noch weit davon entfernt, die Gründe dieser sogenannten Reizwirkungen, unter die wir sicherlich sehr verschiedene Dinge einordnen, allgemein zu begreifen.

Im Folgenden wollen wir nun versuchen, ob wir aus derartigen Versuchen, in denen ein Stoff seiner Menge nach abgestuft wird, einen Schluß auf seine Bedeutung als Reiz- oder Nährstoff ziehen können, ein Problem, das in den einleitenden Abschnitten dieses Kapitels schon angedeutet wurde. Für Kupfersulfat einerseits und Ammonsulfat andererseits z. B. ist die Entscheidung nicht schwer. Freilich müssen wir hier die Herabsetzung des Erntegewichtes bei Überschreitung des Konzentrationsoptimums, die für den »Giftstoff« viel jäher ist als für den »Nährstoff«, ganz außer acht lassen, denn es kann ja eine chemische Verbindung in geringer Menge unbedingt erforderlich, in größerer aber doch schädlich sein. Dagegen sehen wir, daß die Herabsetzung der Konzentration unter das Optimum beim unentbehrlichen Nährstoff eine Herabsetzung der Ernte bis zu unwägbaren Spuren bewirkt, beim bloßen Reizstoff aber eine solche, die nur bis zu der Ernte ohne Gift geht und hinter der höchsten lange nicht in dem Maße zurücksteht. Bei den suboptimalen Konzentrationen liegt also die Entscheidung. Vergleichen wir z. B. die oben auf Seite 597 ff. mitgeteilten Versuche mit Ammonsulfat als Stickstoffgabe in verschiedenen Konzentrationen bei *Aspergillus* mit dem folgenden, von Ohno²⁾ herrührenden Versuche mit CuSO_4 als Reizstoff bei demselben Pilze:

¹⁾ Vgl. Czapek, F., *Biochemie der Pflanzen*. 2. Aufl. Jena. 1913. 1, 164.

²⁾ Ohno, N., a. a. O. S. 155.

	0	$\frac{1}{32000}$	$\frac{1}{16000}$	$\frac{1}{8000}$	$\frac{1}{4000}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{250}$	Mol. CuSO ₄
I	662	837	957	929	1004	940	922	770	502	mg Ernte
II	595	629	645	692	758	820	844	989	716	

Die Versuche I und II sind bei verschiedenen Temperaturen und verschiedener Dauer angestellt, und ergeben deshalb verschiedene Ernten, zeigen sonst aber beide dasselbe, nämlich eine ganz allmähliche Steigerung der Erntemenge mit der Erhöhung der Giftkonzentration. Bei Verdoppelung der Giftmenge beträgt die Förderung höchstens ein Siebentel. Überhaupt ist die ganze durch Giftreiz erzielte Ernteerhöhung in den günstigsten Fällen bei Richards, den späteren Autoren und mir gewöhnlich nur auf das Doppelte der giftfreien Kulturen, in vereinzeltten Fällen auf das Drei- bis Vierfache gegangen.

Ganz anders bei der Abstufung eines Nährstoffes. Ich setze zum Vergleich noch einmal einen Versuch mit Ammonsulfat her:

(NH ₄) ₂ SO ₄ %	0,01	0,05	0,1	0,5	1	
Rohrzucker 2 %	81	387	636	810	814	mg Ernte
4 %	112	441	765	1436	1506	

Ohne Stickstoff ist die Ernte sehr gering, mit 0,05 % Ammonsulfat immerhin schon bei 2 % Zucker 4,8, bei 4 % 4mal so groß als bei 0,01 %. Bei noch geringeren Konzentrationen der Stickstoffquelle müßten die Steigerungen, wie aus der graphischen Darstellung Fig. 3 auf S. 597 ohne weiteres hervorgeht, noch beträchtlicher sein und sich der Proportionalität immer mehr nähern.

Um sich zu vergewissern, daß das nicht nur für die in größeren Mengen verbrauchten Stickstoffquellen, sondern auch für die übrigen Nährsalze gilt, vergl. man die auf S. 600 abgedruckten, von Benecke gewonnenen Zahlen für Magnesiumsulfat. Auch hier ist bei geringen Konzentrationen die Steigerung der Erntemenge durch Vermehrung des Nährstoffes recht beträchtlich und nähert sich bei abfallender Menge genau wie beim Ammonsulfat der Proportionalität, ohne sie freilich zu erreichen. Praktisch läßt sich dieses theoretisch zu fordernde Ergebnis eben nicht erzielen. Doch beträgt die Steigerung durch Vermehrung des im Minimum vorhandenen Nährstoffes auf das Doppelte gewöhnlich zu mindest ein Drittel bis einhalb. [Vergl. auch

die Versuche von Benecke mit KCl ¹⁾.] Der Unterschied gegen die Reizstoffe ist aber deutlich. Dasselbe ersah man aus den von Maertens²⁾ im Hallischen Botanischen Institute mit Blaualgen angestellten Versuchen, bei denen allerdings die Erntemenge nicht festgestellt wurde. Da aber hier mit reinen Nährsalzlösungen gearbeitet wurde, die weniger Substanz und daher auch weniger fremde Beimengen enthalten konnten als die mit den zudem schwerer zu reinigenden organischen Stoffen, so kam die außerordentliche Förderung der Vermehrung durch Spuren eines Nährsalzes bei reichlichem Vorhandensein der anderen in überraschender Deutlichkeit zum Ausdruck. Würde also das Problem vorliegen für eine Substanz, beispielsweise das Eisen, zu entscheiden, ob sie für Pilze oder Bakterien unentbehrlich oder nur förderlich ist, so wären möglichst eisenfreie Lösungen herzustellen und mit sehr geringen, abfallenden Mengen eines Eisensalzes zu versetzen. Nähert sich dann die Ernte mit Verminderung der Eisenmenge einem Werte, der hinter dem optimalen nicht sehr stark zurücksteht, sondern mindestens $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$ davon beträgt, so liegt wahrscheinlich Reizwirkung vor. Wird die Ernte aber immer geringer bis zu einem sehr kleinen Betrage, so ist das Eisen unentbehrlich.

Schwierig bleibt freilich auch jetzt, wie bekannt, die Entscheidung durch die Gegenwart des betreffenden Stoffes als Verunreinigung und durch die Möglichkeit, daß es Stoffe gibt, die weder der einen noch der anderen Klasse einzuordnen wären, also unentbehrliche Reizstoffe sein könnten. Durch Verfolgung der Tendenz der die Erntegrößen bei abfallender Menge des fraglichen Stoffes wiedergebenden Kurve wird man unter Umständen einen Fingerzeig erhalten. Geht die Kurve bei Extrapolation annähernd durch den Schnittpunkt der Koordinatenachsen, so liegt ein unentbehrlicher Stoff vor, wird sie aber ein beträchtliches Stück oberhalb parallel mit der Abszissenachse, so wird es ein bloßer Reizstoff sein.

In der Praxis wird die Entscheidung also leider nach wie vor von der Möglichkeit abhängen, den fraglichen Stoff ganz

¹⁾ Benecke, W., a. a. O. S. 503.

²⁾ Maertens, H., Das Wachstum von Blaualgen in mineralischen Nährlösungen. Beitr. z. Biol. d. Pflanz. (Cohn), 1914, erscheint in kurzem.

oder fast ganz auszuschließen; doch wird man innerhalb des Gebietes, in dem die Förderung am ausgeprägtesten ist, aus dem Verhältnis der Zunahme der Ernte zur Zunahme des fördernden Stoffes Schlüsse ziehen können. Beträgt die Erntesteigerung bei Zunahme des fraglichen Stoffes auf das Doppelte optimal etwa $\frac{1}{7}$, so darf man auf bloße Reizwirkung schließen. Läßt sich aber eine Förderung um mindestens $\frac{1}{3}$ bei Verdoppelung der Menge des fördernden Stoffes erzielen, so dürfte stets ein Nährstoff vorliegen.

Sehen wir daraufhin die von Molisch¹⁾ über die Bedeutung des Eisens für *Aspergillus* gewonnenen Zahlen durch, so finden wir, daß maximal die Ernte durch Zusatz von Eisensulfat zu möglichst eisenfreien Nährlösungen auf das 4- bis 5-fache steigt. Das sind schon Zahlen, die für bloße Reizstoffe sehr hoch wären. Noch deutlicher ist ein Versuch, in dem die Lösung ohne zugesetztes Eisen nach dem Wachstum und der Entfernung des Pilzes mit Eisensulfat eine sehr gute, ohne dieses eine kaum merkbare zweite Ernte ergab. Aber auch die durch Erhöhung der Eisenmenge erzielten Steigerungen der Ernte sprechen für die Unentbehrlichkeit des Eisens. So wurden im 1. Versuche mit 0,02 % FeSO_4 durchschnittlich 275, mit 0,04 % 346 mg Ernte erzielt, also mit der doppelten Eisenmenge das 1,3fache, im 2. Versuche gar mit 0,004 % durchschnittlich 710, mit 0,001 % 220 mg, also mit der 4fachen Eisenmenge das 3,2fache, und schließlich im 3. Versuche mit 0,0005 % FeSO_4 188, mit 0,001 275, mit 0,003 428 mg. Das sind Steigerungen, wie sie unter entsprechenden Verhältnissen bei bloßen Reizstoffen nicht vorkommen. Es mag immerhin das Eisen in den Versuchen von Molisch nebenher auch als Reizstoff gewirkt haben²⁾. Doch genügt, wie die Zahlen beweisen, diese Funktion des Eisens nicht, die Ergebnisse zu erklären. Für *Aspergillus niger* dürfte demnach auch nach den hier hervorgehobenen Anzeichen ein Zweifel an der Unentbehrlichkeit des Eisens nicht am Platze sein, womit die Frage freilich für andere Pilze noch nicht entschieden ist.

¹⁾ Molisch, H., Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena. 1892. S. 97 ff.

²⁾ Pfeffer, W., Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. 1, 420.

VII. Rückblick.

Die geschilderten Versuche haben gezeigt, daß sich Pilze gut dazu eignen, einen Einblick in die zahlenmäßigen Beziehungen zwischen gebotener Nährstoffmenge und Produktion organischer Substanz zu gewinnen. Am klarsten sind die Verhältnisse bei niederen Konzentrationen, die Störungen durch osmotische und Giftwirkungen von Nährsubstanzen und Stoffwechselprodukten am wenigsten aufkommen lassen. Wird die Ernte zu geeigneter Zeit vorgenommen, so entspricht ihr Trockengewicht mit guter Annäherung der Nährstoffmenge, ist aber innerhalb ziemlich weiter Grenzen unabhängig vom Wasserquantum, also von der Stärke und Menge der Lösung. Der Nahrungsvorrat bewirkt von vornherein ein mehr oder weniger schnelles Ansteigen der Pilzmasse.

Eine Steigerung der Vermehrungsgeschwindigkeit und der Dauer des Wachstums, wodurch die Ernte erhöht wird, kann bis zu sehr hohen Nährstoffkonzentrationen erzielt werden. Freilich zeigt die Steigerung schließlich keine Proportionalität mehr mit der Nahrungsmenge, sondern bleibt mehr und mehr hinter ihr zurück. Durch die Reizwirkung gewisser »Giftstoffe« kann aber höher hinauf eine proportionale Zunahme der Ernte erzielt werden, als sie giftfreie Kulturen zeigen. Die fördernde Wirkung von Giftspuren, die sich hauptsächlich in höheren Nährstoffkonzentrationen zeigt, besteht demnach in einer besseren Ausnutzung der Nahrung, in einer Verminderung des »ökonomischen Koeffizienten«. Die Proportionalität zeigt die höchstmögliche Ausnutzung an. Auf einer Steigerung der Ausnutzung guter Ernährungsverhältnisse beruht offenbar auch der Erfolg der Elektrokultur, sowie der »katalytischen Düngung«, d. h. der Zufuhr von Reizstoffen bei höheren Pflanzen. Alle diese Methoden werden daher nur bei intensivster, womöglich Gartenkultur ihre Wirkung entfalten.

Bleibt dagegen ein einzelner Ernährungsfaktor hinter den anderen zurück, ist er stark im Minimum, so bedingt er ganz und gar die Höhe der Produktion. Er wird restlos ausgenutzt, die Ernte ist seiner Menge proportional und kann nur durch seine Vermehrung gehoben werden. Das gilt aber nur, solange die anderen Wachstumsfaktoren im Verhältnis zu dem einen sehr

bevorzugt sind. Denn dann entspricht der Gehalt des Organismus an diesem dem minimalen, eben noch Vermehrung zulassenden Maße. Wächst aber die Menge des im relativen Minimum gebotenen Stoffes, so nimmt die Pflanze mehr von ihm auf als unbedingt nötig ist, und damit beginnt der Einfluß der anderen Wachstumsfaktoren, die durch ihre Erhöhung die Ausnutzung des einen verbessern, so daß die Produktion weiterhin proportional wächst, soweit das überhaupt möglich ist. Damit aber entsprechen dann die Verhältnisse wiederum denen bei Abstufung aller oder doch der wichtigsten Wachstumsfaktoren, wie sie z. B. durch Veränderung der Konzentration der gesamten Nährlösung gegeben sind.

VIII. Protokolle.

Zu Abschnitt III, Versuchsreihe V, S. 587.

Aspergillus niger in verschiedenen Konzentrationen der folgenden Nährlösung:

Rohrzucker	200 g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	20 g
KH_2PO_4	1 g
$\text{MgSO}_4 + 7 \text{H}_2\text{O}$	1 g
Zitronensäure	0,5 g

mit Wasser auf 500 ccm gebracht.

Verdünnung	Zuckergehalt	Ernten	Durchschnitt
$\frac{1}{1}$	40 %	5,101 g 4,609 g	4,855
$\frac{3}{4}$	30 %	4,109 g 3,950 g	4,029
$\frac{1}{2}$	20 %	2,783 g 2,953 g 3,127 g 2,755 g 2 800 g 2,766 g 2,418 g 2,655 g	2,782
$\frac{1}{4}$	10 %	1,725 g 2,027 g 1,783 g 1,540 g 1,601 g 1,465 g 1,805 g 1,387 g 1,892 g 1,784 g	1,701

Verdünnung	Zuckergehalt	Ernten	Durchschnitt
$\frac{1}{8}$	5%	1,025 0,998 0,813 0,799 0,845 0,850 0,829 0,872 0,913 0,910 0,844 0,819	0,893
$\frac{1}{16}$	2,5%	0,475 0,555 0,384 0,402	0,454
$\frac{1}{32}$	1,25%	0,265 0,251 0,215 0,193	0,231

Zu Abschnitt III, Versuchsreihe VI, S. 589.

Mucor rhizopodiformis in verschiedenen Konzentrationen der folgenden Nährlösung:

Rohrzucker 200 g
 NH_4NO_3 20 g
 Asparagin 0,5 g
 KH_2PO_4 1 g
 MgSO_4 1 g
 Zitronensäure 0,5 g

mit dest. Wasser auf 500 ccm gebracht.

1. Versuch.

Verdünnung	Zuckergehalt	Ernten	Durchschnitt
$\frac{1}{800}$	0,05%	11 15	13
$\frac{1}{400}$	0,1%	22 20	21
$\frac{1}{200}$	0,2%	35 40	37
$\frac{1}{100}$	0,4%	65 89	82

2. Versuch.

$\frac{1}{400}$	0,1%	10 20 16 34	20
-----------------	------	----------------------	----

Verdünnung	Zuckergehalt	Ernten	Durchschnitt
$\frac{1}{200}$	0,2%	74 62 65 65	66,5
$\frac{1}{100}$	0,4%	156 135 138 137	144,5
$\frac{1}{40}$	1%	257 259 226 248	247,5
$\frac{1}{20}$	2%	391 316 373 461	385

3. Versuch.

Verdünnung	Zuckergehalt	Ernten	Durchschnitt
$\frac{1}{32}$	1,25%	60 51 53 50	53,5
$\frac{1}{16}$	2,5%	73 67 63 69	68
$\frac{1}{8}$	5%	82 80 94 88	86
$\frac{1}{4}$	10%	131 100 125 117	118
$\frac{1}{2}$	20%	101 103 109 147	115

Zu Abschnitt IV, S. 593.

Für die Versuche dieses Abschnittes wurde die auf S. 582 angegebene Lösung verwendet und entsprechend verdünnt. Die Impfung geschah stets mit derselben Platinöse aus einer Aufschwemmung, die durch Schütteln einer Kultur der Hefe in derselben Lösung mit 1 % Zucker gewonnen worden war. Die Zellen lagen zunächst zum Teil am Boden, zum Teil hielten sie sich auch an der Oberfläche. Das Wachstum ging anfangs oben und unten vor sich. Bald hatte die Haut sich über die Flüssigkeitsoberfläche ausgebreitet, wenigstens in den stärkeren Lösungen. Sie wurde zunächst glatt, später faltig, dick. In diesem Zustand konnten die Kulturen

längere Zeit sich halten. Oft aber sanken Teile der Haut zu Boden und vermehrten den sonst schwachen Satz. Gärung mit Blasenbildung trat nur in den höchsten Konzentrationen auf. Doch konnte mit der Jodoformprobe stets Alkohol nachgewiesen werden.

Für jeden Versuch wurden so viele Kolben gleicher Art angesetzt, daß von Zeit zu Zeit, gewöhnlich jeden zweiten Tag drei bis vier zum Abfiltrieren genommen werden konnten. Waren die Abweichungen vom Mittelwert zu beträchtlich, so wurde der Versuch wiederholt. Besonders für die niederen Konzentrationen und die ersten Tage mußten größere Zahlenreihen gewonnen werden.

Hefeernten in Milligramm Trockengewicht

Tage nach der Impfung	2	4	6	8	10	13	17	21	25
0,2 % Zucker	13 8 11 10 11 11 11 12 11 13 15 13	23 22 22 28 23 17 24 19 20 20 22 23	26 26 27 25 23 16 21 17 20	26 26 22 23 21 25 17 21 20	24 25 23 24 22 27 24 20		22 19 20 19 25 23		
Durchschnitt	11,6	22	22,6	22,7	23		21		
0,4 % Zucker	20 20 23 19 21 19 20	36 47 33 39 38 40		47 53 44 44 47 48	61 63 60 56 52 69 60 61 69 69 68 69	66 58 58 61 59 65 64 61 69 69 68 69	61 66 67 71	63 74 65 66	51 58 55 59 68 51 68 62
Durchschnitt	20	39		47	60	66,7	66,2	67	60
0,8 % Zucker	58 54 56 55	85 82 75 86	102 101 104 105	117 120 124 122	125 125 124 125	118 122 128 130	132 132 130 131	143 137 138 140	140 138 141
Durchschnitt	56	82	103	122	125	124	131	139,5	140
1,2 % Zucker	59 60 60 64	95 106 95 105	104 95 110 97	105 113 115 109	121 126 120 118			144	
Durchschnitt	61	100	101	110	121			144?	

Hefeernten in Milligramm Trockengewicht.

Tag nach der Impfung	2	4	6	8	10	13	17	21	25
1,6% Zucker	68	93	114	121	145		184		
	63	106	130	129	148				
	61	105	117	146	139				
	62	114	120	141	178				
Durchschnitt	64	104	120	134	144		184?		
3,2% Zucker	100	170		194	200	322			
	99	167		189	196	347			
	99	169		194	183	358			
	104	175		193	191				
Durchschnitt	100,5	170		193	193	342			
4,8% Zucker	102	182	210	203	214	231			
	107	184	200	220	209	246			
	105	190	194	201	219	227			
	103	187	200	214	206	230			
Durchschnitt	104	186	201	212	212	235			
8% Zucker	110	170	183	168	165				
	106	186	178	184	171				
	109	184	198	174	176				
		181	175	176					
Durchschnitt	108	180	183	175	171				

Zu Abschnitt V, Versuchsreihe I, S. 597.

Je 50 ccm Lösung mit 0,1% MgSO_4 , 0,1% KH_2PO_4 , 0,05 % Zitronensäure, in 150 ccm-Kolben.

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ %	0,01	0,05	0,1	0,5	1	
Saccharose 2 %	51	196	308	403	403	mg
	30	191	328	407	411	Ernte
Summe	81	387	636	810	814	
Saccharose 4 %	52	204	381	686	737	mg
	60	237	384	750	769	Ernte
Summe	112	441	765	1436	1506	

Zu Abschnitt V, Versuchsreihe II, S. 598.

Je 50 ccm in 300 ccm-Kolben, mit derselben Lösung wie oben, aber mehr Zucker.

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ %	0,0	0,005	0,01	0,05	0,1	0,5	1	
Saccharose 10 %	5	7	9	29	46	158	158	mg Ernte
	4	8	7	26	43	150	157	
		7	9	30	42	152	163	
		6	11	28	45	159	150	
Durchschnitt	4,5	7	9	28	44	155	157	

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ %	0,0	0,005	0,01	0,05	0,1	0,5	1	
Saccharose 20%	4	11	12	28	53	273	276	mg Ernte
	4	14	8	32	60	271	266	
		7	13	30	52	208	279	
		9	10	27	58	228	277	
Durchschnitt	4	10	11	29	56	272	274	

Zu Abschnitt V, Versuchsreihe III, S. 601.

Je 100 ccm in 200 ccm-Kolben. Lösung wie im vorigen Versuche
mit 2% Saccharose.

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0	0,01	0,05	0,1	0,5	
Mucor rhizopodif.	8	54	162	133	155	mg Ernte
	9	51	167	127	125	
Durchschnitt	8,5	52,5	164,5	130	140	
Hefe	3	59	173	180	324	mg Ernte
	0	—	169	182	340	
Durchschnitt	1,5	59	171	181	332	

Zu Abschnitt VI, Versuchsreihe I, S. 607.

Je 50 ccm in 150 ccm-Kölbchen mit der Lösung wie oben, in verschiedenen Stufen
verdünnt. Je 2 Kolben ohne Gift, je 2 mit $\frac{1}{2000}$ Mol. ZnSO_4 -Lösung.

Verdünnung	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$	
Saccharose %	20	10	5	2,5	1,25	
ohne Gift	2,783	1,725	1,025	0,475	0,265	Ernten in g
	2,953	2,027	0,998	0,555	0,251	
Durchschnitt	2,87	1,88	1,01	0,51	0,26	
mit Gift	4,402	2,103	1,124	0,526	0,270	Ernten in g
	5,018	2,331	1,114	0,551	0,265	
Durchschnitt	4,71	2,22	1,12	0,54	0,27	

Nach zwei Tagen. Überall gutes Wachstum, hauptsächlich am Rande, aber
kein deutlicher Unterschied zwischen gifthaltigen und giftfreien Kulturen.

Nach drei Tagen. Im allgemeinen deutliche Abstufung nach der Konzen-
tration. Das beste Wachstum scheint mit und ohne Gift bei 10% Zucker zu
liegen. Ohne Gift überall Konidien, mit Gift keine. Dem Anschein nach in den
höheren Konzentrationen mit Gift dichtere Mycelmasse.

Nach sechs Tagen. Überall schwarz von Sporen außer mit Gift bei 5 bis 20%
Zucker. In diesen Kulturen Decke stark gewellt und dicht.

Versuchsreihe II, S. 607.

Je 50 ccm in 150 ccm-Kölbchen mit der folgenden Lösung: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1%, MgSO_4 0,1%, KH_2PO_4 0,1%, Zitronensäure 0,05%. Dazu 10 und 20% Saccharose.

ZnSO_4 Mol.	0	$1/2000$	$1/1000$	$1/500$	$1/250$	
Saccharose 20 %	0,682	3,152	2,952	2,666	1,948	Ernten in g
	0,648	3,036	3,094	2,909	2,285	
Durchschnitt	0,66	3,09	3,02	2,78	2,12	
Saccharose 10 %	0,648	2,016	2,047	2,974	1,870	Ernten in g
	0,565	1,995	2,073	2,047	1,974	
Durchschnitt	0,61	2,00	2,51	2,51	1,92	

Nach vier Tagen die Kulturen ohne Gift ganz schwarz von Konidien; die mit 10% Zucker und $1/2000$ Mol. ZnSO_4 zeigen ganz wenig, die anderen Kolben fast gar keine schwarzen Sporen. Die Kulturen mit niedriger Giftkonzentration bis zu $1/500$ Mol. zeigen schon dem bloßen Auge stärkeres Mycelwachstum als die ohne Gift. Bei den giftfreien Kulturen ist das Mycel locker, bei den gifthaltigen knorpelig, weiß, wulstig gefaltet. Zwei Kulturen mit gewöhnlichen Hutzucker ohne Gift sehen aus wie die Giftkulturen, haben aber mehr Konidien.

Versuchsreihe III, S. 609.

Je 50 ccm Lösung mit 0,5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1% KH_2PO_4 und 0,05% MgSO_4 in 300 ccm-Kolben. Ernten in g nach 16 Tagen.

Saccharose	5 %	Durchschnitt	20 %	Durchschnitt
ZnSO_4 0 %	0,73	0,79	1,96	1,89
	0,81		1,765	
	0,80		1,91	
	0,80		1,93	
ZnSO_4 0,01 %	0,90	0,89	2,63	2,49
	0,84		2,34	
	0,91		2,52	
	0,91		2,46	
ZnSO_4 0,04 %	0,90	0,88	2,18	2,23
	0,84		2,07	
	0,89		2,29	
	0,89		2,37	

Nach einem Tage überall Keimung, die höchsten Giftkonzentrationen hemmen aber etwas. Die giftfreien Kulturen auf 10% weisen lockere, die mit 20% muschelartig gekrümmte Mycelinseln auf. Mit 0,04% Keimung gerade mit bloßem Auge erkennbar.

Nach zwei Tagen ohne Gift, blasige Haut, die etwa die Hälfte der Oberfläche bedeckt. Konidien beginnen schwarz zu werden. Mit 0,01% ZnSO_4 stärker blasig, sehr wenig Konidien. Mit 0,04% weißliche dünne Haut, wenig.

Nach drei Tagen ohne Gift, Oberfläche fast bedeckt, teilweise schwarz von Konidien. Mit 0,01% ZnSO_4 ebenso große, aber weiße Decke mit vereinzelt Konidien. Mit 0,04% blasige, rein weiße Häute. Mit 20% Zucker ist mehr gewachsen als mit 5%.

Schließlich werden die Gifthäute dicht, runzelig, schneeweiß, fast ohne Konidien. Die ohne Gift bleiben locker, werden ganz schwarz. Mit 5% Zucker Oberfläche nicht ganz bedeckt. Die Flüssigkeit ist bei 0,01% ZnSO_4 , besonders mit 5% Zucker gelb gefärbt, mit 0,04 ebenso wie ohne Gift farblos.

Versuchsreihe IV, S. 609.

Je 50 ccm Lösung in 300 ccm Kolben.

1. 20% Saccharose, 0,8% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,08% MgSO_4 , 0,1% KH_2PO_4 .
2. 5% Saccharose, 0,2% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,02% MgSO_4 , 0,1% KH_2PO_4 .

Saccharose	5%	Durchschnitt	20%	Durchschnitt
ZnSO_4 0%	0,77 0,73 0,69 0,73	0,73	2,09 1,80 2,03 2,00	1,98
ZnSO_4 0,004%	0,87 0,79 0,81 0,81	0,82	2,98 2,98 2,95 2,74	2,91
ZnSO_4 0,008%	0,77 0,81 0,84 0,81	0,81	2,55 2,65 2,89 —	2,70

Nach zwei Tagen überall gewachsen, keine Unterschiede zu erkennen.

Nach drei Tagen ohne Gift faltige Häute mit ziemlich viel Sporen. Oberfläche nicht ganz bedeckt. Mit 0,004% ZnSO_4 ähnlich, aber mit ganz wenig Konidien. Mit 0,008% ZnSO_4 Haut blasig, ohne Konidien. Mit 20% Zucker mehr gewachsen als mit 5%.

Weiterhin wird mit 20% Zucker die Oberfläche ganz, mit 5% etwa zu $\frac{2}{3}$ bedeckt. Daran macht der Giftzusatz keinen Unterschied. Mit ZnSO_4 aber die Häute wieder knorpelig wulstig, fast oder ganz ohne Konidien. Nirgends Flüssigkeit gelb.

IX. Hauptergebnisse.

1. Bei ein- und derselben Nährlösung entspricht die Pilzernte dem Volumen der Flüssigkeit, bei gleichen Volumen angenähert der Nährstoffmenge.

2. Bei verschiedenen Mengen und Konzentrationen der Lösung bestimmt der Vorrat an Nährstoffen von vornherein die Geschwindigkeit des Zuwachses.

3. Je höher die Nährstoffkonzentration, desto steiler ist der zeitliche Anstieg des Pilzgewichtes und desto länger hält die Vermehrung an.

4. Die Proportionalität zwischen Erntegewicht und Nährstoffmenge gilt nur bis zu einer gewissen Konzentration, die für verschiedene Pilze verschieden hoch liegt.

5. Durch kleine Giftmengen, die eine fördernde Wirkung ausüben, wird weiter hinauf Proportionalität erzielt als ohne solchen Zusatz, so daß die Reizwirkung in einer besseren Ausnutzung größerer Nährstoffmengen besteht.

6. Wird ein einzelner Nährstoff in seiner Menge herabgesetzt und dadurch ins Minimum gebracht, so entspricht jeder Konzentration eine bestimmte Ernte. Seine Ausnutzung und damit die Produktionssteigerung durch seine Vermehrung ist aber von der Menge der anderen Nährstoffe abhängig und wird am höchsten bei im Verhältnis zu diesen geringsten Konzentrationen.

7. Eine bestimmte Vermehrung eines im Minimum vorhandenen Nährstoffes bewirkt eine größere Steigerung der Produktion als die entsprechende eines bloßen Reizstoffes, wodurch unter Umständen die Unterscheidung zwischen beiden möglich sein wird.



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Botanik](#)

Jahr/Year: 1914

Band/Volume: [6](#)

Autor(en)/Author(s): Pringsheim Ernst Georg

Artikel/Article: [Über den Einfluß der Nährstoffmenge auf die Entwicklung der Pilze. 577-624](#)