

(Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Stuttgart.)

Das Wachstum der Schimmelpilze in Abhängigkeit von den Hydraturverhältnissen unter verschiedenen Außenbedingungen¹.

Von
Irene Heintzeler.

Mit 18 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. Januar 1939.)

Schon die einfachen Erfahrungen des täglichen Lebens lehren uns, daß feuchte Luft und wasserhaltige Nährsubstrate das Wachstum von Schimmelpilzen und Bakterien aller Art begünstigen, daß dagegen entsprechende Trockenheit ein Schutzmittel gegen das Aufkommen dieser Organismen darstellt. So hat die Klärung der Frage nach dem Grenzwert der Feuchtigkeit, die noch ein Wachstum ermöglicht, auch praktisches Interesse, und es ist verständlich, daß sie schon lange in Angriff genommen wurde.

Für das Wachstum der Schimmelpilze in Flüssigkeiten gibt uns die Konzentration der Lösung bzw. ihre daraus folgende Dampfdruckerniedrigung, die einem bestimmten osmotischen Wert entspricht, den Maßstab für die dem Organismus zur Verfügung stehende Feuchtigkeit. Angaben über die Grenzwerte des Wachstums in Lösungen finden sich unter anderem bei *Eschenhagen* (1889) und *Raciborsky* (1905). Bei Grenzwertangaben in Lösungen ist allerdings stets zu berücksichtigen, daß dabei nicht nur die Hydraturverhältnisse, sondern auch spezifisch chemische Einflüsse der Lösungen für die Wachstumsgrenze eine Rolle spielen können.

Sollen jene allein berücksichtigt werden, so ist die gegebene Versuchsanordnung die Kultur in feuchter Luft, wie sie *Walderdorff* (1924) nach dem Verfahren *Renner's* mit Pollen und *Schimmelpilzen* durchführte und ebenso in verbesserter Versuchsanordnung *Walter* (1924) mit *Schimmelpilzen* und *Bakterien*: Die gebotenen Nährstoffe bleiben stets dieselben, die Hydraturverhältnisse dagegen können beliebig verändert werden, wenn man genügende Mengen entsprechender Salzlösungen oder Schwefelsäure in bestimmter Verdünnung in einen kleinen, geschlossenen Versuchsraum einführt.

¹ D 93.

Eine Zusammenfassung der auf dieser Methode aufgebauten Untersuchungen über das Wachstum der Mikroorganismen in Abhängigkeit von ihrem Wasserhaushalt gibt *Walter* in seiner Hydratur der Pflanze 1931. Danach lassen diese sich in drei Gruppen unterteilen:

1. Xerophile Arten mit einem Grenzwert zwischen 85 und 90 % r. D.¹
2. Mesophile Arten mit einem Grenzwert zwischen 90 und 95 % r. D.
3. Hygrophile Arten mit einem Grenzwert über 95 % r. D.

Die Grenzwerte für die Konidien- und Sporangienbildung liegen höher als diejenigen für das Wachstum. Während die *Schimmelpilze* fast ausschließlich zu den beiden ersteren Gruppen gehören und sehr verschiedene Grenzwerte besitzen, waren alle untersuchten *Bakterien* Vertreter der letzten Gruppe. Die drei Gruppen unterscheiden sich nicht nur in bezug auf ihre Grenzwerte, sondern auch durch den Verlauf ihrer Wachstumskurven: die xerophilen Arten weisen zwischen 100 und 95 % r. D. eine gewisse Unabhängigkeit von der relativen Dampfspannung auf, erst dann setzt der steile Abfall der Kurve bis zum Grenzwert ein. Je höher der Grenzwert liegt, desto rascher beginnt der Abfall, bis er bei den hygrophilen Arten schon unmittelbar unter 100 % einsetzt.

Die von *Walderdorff* festgestellten Grenzwerte ordnen sich gut in diese Einteilung ein. Die tiefsten von ihr angegebenen Werte liegen bei 4,0 G. Mol NaCl, das entspricht einer relativen Dampfspannung von 83 %, also wenig tiefer als die bei 85 % angegebene untere Grenze für xerophile Arten. *Walter* zieht nun den Schluß: „Das Hydraturminimum von 85 % r. D. scheint das absolute Minimum für alle lebenden Organismen im aktiven Zustand zu sein.“ Offen bleibt die Frage, ob bei Gewöhnung an Elektrolytlösungen dieses Minimum unterboten werden kann, und auf welchen Vorgängen in der Zelle solche spezifischen Salzwirkungen dann beruhen.

Inzwischen sind verschiedene Einzelfragen der bei *Walter* im Zusammenhang besprochenen Ergebnisse weiterbearbeitet worden. *Zeuch* (1934) untersuchte den Wasserhaushalt von *Pleurococcus* und stellte bei dieser Luftalge noch Zellteilungen bei einem Hydraturminimum von rund 50 % r. D. fest, einen Wert, der weit aus den bisher ermittelten Grenzwerten herausfällt, aber durch die anschließenden Untersuchungen von *Winter-Günther* (1936) über die Abhängigkeit dieser Zellteilungen vom Licht bestätigt wird. — Weitere Beachtung hat auch die Frage des Hydraturoptimums gefunden. *W. Schwartz* und *G. Kaess* (1934 und 1935) fanden bei den von ihnen beobachteten *Schimmelpilzen* ein Optimum zwischen 95 und 100 % r. D., das für *Penicillium flavoglaucum* mit 99,35 % r. D. bestimmt wurde. — *Tomkins* (1930) beobachtete im Gegensatz dazu und zu den Versuchen *Walters* stets unter 100 % r. D. eine sofortige Hemmung bei der Keimung der Pilzsporen und in der Wachstumsgeschwindigkeit ihrer Keimschläuche. Er stellte außerdem eine Abhängigkeit von der Temperatur fest in der Richtung, daß bei einer bestimmten

¹ Relative Dampfspannung.

optimalen Temperatur der Feuchtigkeitsbereich, bei dem Keimung möglich ist, am größten ist, daß er um so enger wird, je weiter sich die Temperatur vom Optimum entfernt. — Im Zusammenhang damit ist auch eine Veröffentlichung von *Tammes* (1937) über *Aspergillus Sydowi Sartory* zu nennen, die erst nach Abschluß des experimentellen Teiles der vorliegenden Arbeit erschien und sich mit der Abhängigkeit des Hydraturminimums von der Temperatur befaßt; doch soll auf sie noch später eingegangen werden, da sie enge Beziehungen zu unseren eigenen Versuchen zeigt. — Eine eingehende Untersuchung über die Frage der Anpassung von Mikroorganismen an höhere osmotische Werte liefert die Arbeit von *T. Hof* (1935), der an verschiedenen Bakterien die allmähliche Gewöhnung an hohe Salzkonzentrationen feststellt.

Die vorliegende Arbeit hatte die Aufgabe, die Grenzwerte der Keimung für verschiedene *Schimmelpilze* genauer festzulegen, und nachzuprüfen, inwieweit diese von Außenbedingungen abhängig sind, vor allem von der Temperatur und den bei der Bildung der Sporen herrschenden Hydraturverhältnissen. Schließlich sollten die Grenzwerte der Keimung bei Kulturen in Lösungen mit den nach der *Walter*-schen Methode festgestellten Werten bei Kulturen in einer Luft von bestimmter relativer Dampfspannung verglichen werden.

Method.

Die Versuche auf festem Substrat wurden nach der Anordnung durchgeführt, wie sie von *Walter* (1924, S. 389 und 390) ausführlich beschrieben ist. Zur Verwendung kamen 18 mm hohe Schälchen von 40 mm Durchmesser, die stets bis zu 1 mm unterhalb des Randes mit der zur Herstellung der gewünschten Dampfspannung bestimmten Lösung gefüllt wurden. So konnte auch bei den leider nicht ganz zu vermeidenden Temperaturschwankungen des Versuchsraums ein rascher Ausgleich der Dampfspannung über der Lösung erwartet werden. Bei einer Abkühlung des Raumes trat bisweilen ein Beschlag der Deckgläser bis 98% r. D. auf, doch waren in der Regel nur die Deckgläser über reinem Wasser beschlagen.

Zur Herstellung der gewünschten relativen Dampfspannung wurde Schwefelsäure verwendet, zu deren Verdünnung die bei *Walter* (1931, S. 164) angegebene Tabelle benutzt wurde. Unterhalb von 90% r. D. stimmten jedoch die für das spezifische Gewicht angegebenen Werte nicht mehr mit den tatsächlichen überein, eine Unstimmigkeit, die auf die etwas verschiedene Konzentration der verwendeten konzentrierten Schwefelsäuren zurückzuführen ist. Deshalb wurde das spezifische Gewicht der hergestellten Lösungen mit dem Aräometer festgestellt und dann durch graphische Interpolation auf Grund der erwähnten Tabelle die tatsächliche relative Dampfspannung ermittelt. In Tabelle I sind die zur Anwendung gekommenen Werte zusammengestellt.

Wenn Abstufungen unter 1% r. D. benötigt wurden, so erfolgte die Herstellung in jedem Einzelfall aus den beiden nächstliegenden Lösungen mittels Pipette.

Tabelle I.

g Schwefel- säure auf 100 g Wasser	Spezifisches Gewicht bei 15° C	r. D. in ‰	g Schwefel- säure auf 100 g Wasser	Spezifisches Gewicht bei 15° C	r. D. in ‰
1,95	1,012	99	28,80	1,156	84,6
3,90	1,025	98	30,40	1,163	83,7
5,85	1,037	97	32,00	1,169	82,8
7,80	1,049	96	33,55	1,176	81,8
9,75	1,060	95	35,00	1,184	80,8
11,60	1,070	94	36,45	1,189	79,9
13,40	1,080	93	37,90	1,195	79,0
15,18	1,090	92	39,30	1,201	78,1
16,95	1,100	91	40,68	1,205	77,2
18,72	1,110	90,0	42,02	1,209	76,3
20,47	1,117	89,2	43,38	1,215	75,5
22,15	1,125	88,3	44,70	1,220	74,7
23,90	1,134	87,3	46,00	1,225	73,8
25,60	1,140	86,4	47,30	1,230	72,9
27,20	1,150	85,5	48,60	1,236	71,9
			51,10	1,245	69,8

Als Nährboden für sämtliche Pilze wurde Malzwürzegeatine nach Koch verwendet von der Zusammensetzung: 1 Liter Wasser, 5% Malzextrakt, 15% Gelatine. Nur die Versuche mit *Oidium lactis* sind mit Hefewassergeatine (15% Gelatine) durchgeführt.

Zur Bestimmung des Wachstums wurden zwei senkrecht aufeinanderstehende Durchmesser der Kolonien ausgemessen.

Die Versuche in Lösungen wurden in *Erlenmeyer*-Kolben von 150 ccm Inhalt durchgeführt in 30 ccm der betreffenden Lösung. Die Lösungen sind nach Gewichtsprozenten hergestellt: g Substanz in 100 g Lösung. Für die genaue Bestimmung der relativen Dampfdruckerniedrigung ergaben sich folgende Wege: Zunächst wurde durch Kryoskopieren die Gefrierpunktserniedrigung ermittelt und daraus nach der von Lewis abgeleiteten Formel (Walter 1931, S. 7) der osmotische Wert errechnet. Die entsprechende relative Dampfspannung ist nach Tabelle I, S. 159 bei Walter (1931) bestimmt. Für Werte unterhalb von 10° Gefrierpunktserniedrigung reichte das Thermometer nicht aus; deshalb wurde in diesem Falle die relative Dampfspannung der hergestellten Lösungen aus den vorliegenden Tabellen über die Dampfdruckerniedrigung durch graphische Interpolation ermittelt, und zwar für Kochsalzlösungen nach *Mägdefrau* (Walter 1931, S. 163), für KCl und CaCl₂ nach *Dieterici* (*Landolt-Börnstein* II, S. 1382), für MgCl₂ nach *Länge* (*Landolt-Börnstein* II, S. 1326), für MgSO₄ nach *Tammann* (*Landolt-Börnstein* II, 1386). Die Angaben über die beigefügten osmotischen Werte sind ermittelt aus Tabelle I und II bei Walter (1931, S. 159). Tabelle II gibt die in meinen Versuchen verwendeten Zahlen an. Die osmotischen Werte für die äquilibrierte Lösung sind durch Addition der Einzelwerte der zugefügten Salzmengen erhalten. Sie dürften für höhere Konzentrationen in Wirklichkeit etwas tiefer liegen als errechnet, da durch die Häufung der Cl-Ionen die Dissoziation der Gesamtlösung etwas zurückgehen wird.

Bei Beendigung der Versuche wurden die Pilzdecken auf Filtrierpapier von bekanntem Trockengewicht abfiltriert, ausgewaschen, dann zuerst im Trockenschrank bei 60 bis 80° und schließlich im Exsikkator getrocknet. Die Wägung wurde in Wägegläsern durchgeführt, da die Pilzdecken stark hygroscopisch sind.

Tabelle II.

G. Mol in 1000 g Lösung	g Substanz in 100 g Wasser	r. D. in %	Osm. Wert in Atmo- sphären bei 20° C	G. Mol in 1000 g Lösung	g Substanz in 100 g Wasser	r. D. in %	Osm. Wert in Atmo- sphären bei 20° C
Na Cl 1	6,2	96,8	44	Ca Cl ₂	0,12	99,95	0,7
2	13,2	92,5	104		0,25	99,90	1,3
2,5	17,1	89,7	144		0,32	99,87	1,6
3	21,25	86,9	188		0,4	99,85	2,0
3,5	25,7	83,5	241		0,5	99,82	2,3
K Cl 1	8,03	96,5	47,5	Mg Cl ₂	0,4	99,8	3
2	17,5	92,5	103		0,85	99,6	5
2,5	22,7	90,4	134		1,12	99,4	7,2
3	28,7	88,2	173		1,4	99,3	9,4
Gesättigt	34,8	84,8	220		1,71	99,1	11,4
	0,2	99,85	2	Mg SO ₄	0,25	99,95	0,7
	0,4	99,78	3		0,53	99,90	1,4
	0,5	99,74	3,5		0,69	99,87	1,7
	0,6	99,70	4		0,86	99,85	2,0
	0,7	99,62	5		1,06	99,81	2,4

Die Grenzwerte für das Wachstum auf festem Substrat.

Als Versuchspflanzen dienten folgende Pilze: *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum*, *Rhizopus nigricans*, *Phycomyces nitens*, *Sporodinia grandis*, *Oidium lactis*, *Ustilago avenae*. Die Versuche mit *Phycomyces nitens* sind sämtlich mit einem + Stamm durchgeführt. Ein Kontrollversuch mit einem - Stamm zwischen 100 und 90% r. D. ergab vollkommene Übereinstimmung in bezug auf Keimzeit und Wachstumsgeschwindigkeit, im Gegensatz zu *Orban*, die bei *Phycomyces nitens* -, besonders bei hohem osmotischem Druck, eine Verzögerung der Keimung gegenüber dem + Stamm feststellte. Es wurden immer größere Mengen von Sporen aufgeimpft, um ein möglichst gleichmäßiges Auswachsen der Kolonien zu erreichen und bei den Grenzwerten zuverlässige Zahlen zu bekommen; denn in der Nähe der Keimungsgrenze kommt nur noch ein Teil der Sporen zur Keimung. Viele sterben schon bei 1 bis 2% r. D. über der eigentlichen Grenze ab.

Aus den bisher üblichen Wachstumskurven (*Walter* 1924 und 1931) gehen die absoluten Grenzwerte für das Hydraturminimum noch nicht hervor, da die Sporen nahe der Grenze meist sehr lange zur Keimung brauchen (3 bis 8 Wochen). Daher wurden die Versuchsergebnisse in Keimkurven zusammengestellt, wie sie Abb. 1 bis 3 zeigen. Der Verlauf dieser Kurven ist grundsätzlich bei allen Pilzen der gleiche;

zuerst horizontal, d. h. die Keimzeit ist in diesem Bereich unabhängig von der relativen Luftfeuchtigkeit, dann kommt bei hygrophilen Arten früher und plötzlicher, bei den xerophilen später und langsamer das Umbiegen bis zur Vertikalen, das die Verzögerung der Keimzeit durch die mangelnde Feuchtigkeit anzeigt. Grenzwert für die Keimung ist die Abszisse des Punktes, von dem an die Kurve parallel zur Ordinate

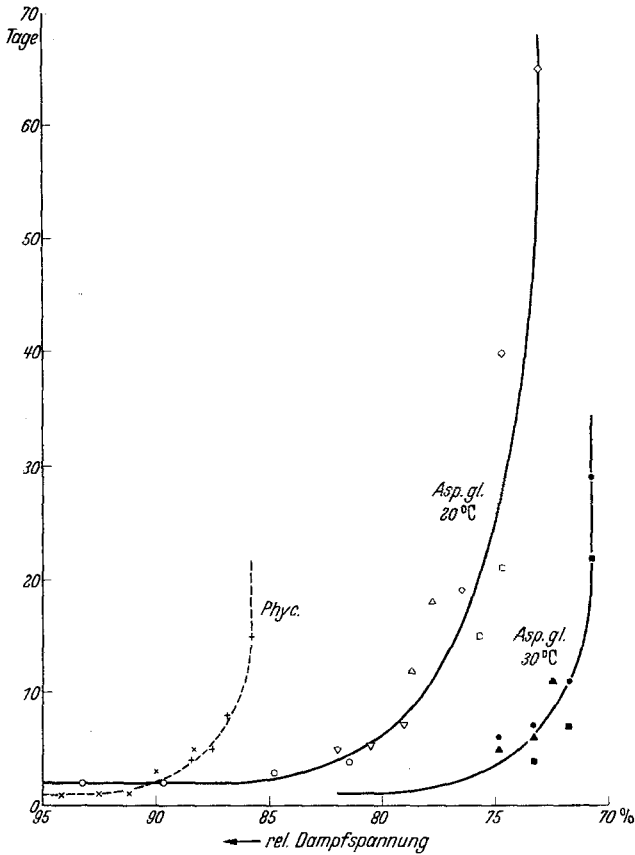


Abb. 1. Keimkurven von *Aspergillus glaucus* bei 20 und 30° — und *Phycomyces nitens* bei 20° ----. Ordinate: Zahl der Tage bis zur beginnenden Keimung.

verläuft. Verschiedene Versuchsreihen bei ein und demselben Pilz sind in den Abbildungen durch verschiedene Zeichen kenntlich gemacht. Bei ein und demselben Versuch lassen sich die Keimzeiten bei verschiedener Feuchtigkeit gut auf einer bestimmten Kurve anordnen (vgl. *Aspergillus niger*); werden aber mehrere Versuchsreihen zusammengestellt, so tritt gerade in der Nähe des Grenzwertes oft eine ziemlich starke Streuung auf (vgl. *Penicillium glaucum*). Diese kann bedingt

sein durch das verschiedene Alter der Sporen; die Keimfähigkeit von Kulturen in *Petri*-Schalen wird in trockener Zimmerluft rasch beeinträchtigt; so war z. B. bei *Penicillium glaucum* schon nach 14 Tagen die Keimung nahe der Wachstumsgrenze um die doppelte Zeit verzögert

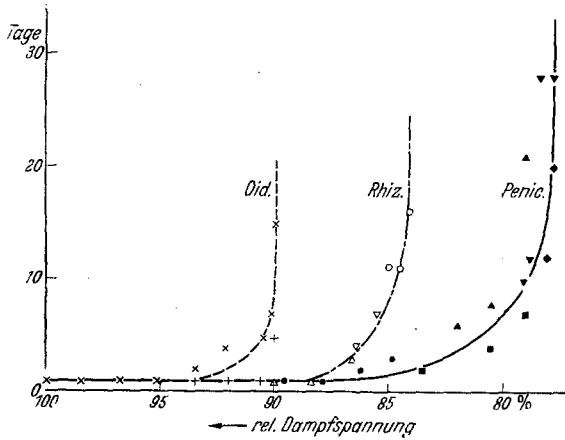


Abb. 2. Keimkurven von *Oidium lactis* ---, *Rhizopus nigricans* ---- und *Penicillium glaucum* — bei 20°; (s. Erläuterungen bei Abb. 1).

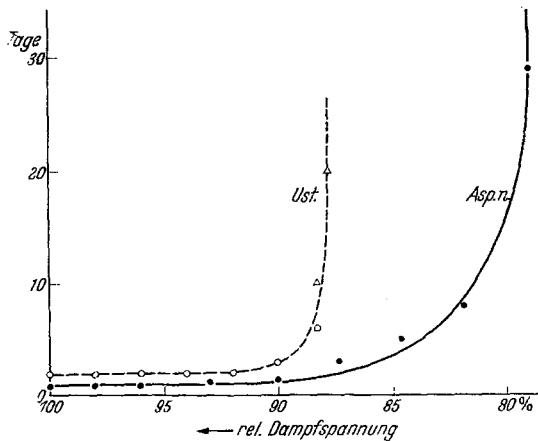


Abb. 3. Keimkurven von *Ustilago avenae* --- und *Aspergillus niger* — bei 20°; (s. Erläuterungen bei Abb. 1).

gegenüber frischen Sporen, und nur noch ein geringer Prozentsatz war überhaupt keimfähig. In späteren Versuchen wurde deshalb stets darauf geachtet, daß die Sporen in möglichst jungem Zustand zu den Versuchen verwendet wurden. Auch können kleinere Temperaturschwankungen des Versuchsraumes eine Veränderung der Keimzeit bedingen.

Wie stark die Keimzeit durch die Temperatur beeinflusst werden kann, zeigt *Aspergillus glaucus* (vgl. Abb. 1). In einem

Feuchtigkeitsbereich zwischen 73 und 75°, r. D., in dem bei Zimmertemperatur die Keimzeit 3 bis 9 Wochen beträgt, tritt bei 30° C Keimung zwischen dem 4. und 10. Tag ein. Daß auch der Grenzwert selbst durch die Temperatur eine Verschiebung erleidet, darauf soll später noch näher eingegangen werden.

Die Feststellung der Grenzwerte erfolgte durch mehrere Versuchsreihen, in denen die Abstände zwischen den verschiedenen Feuchtigkeitsgraden in der Nähe des Grenzwertes immer kleiner gewählt wurden. Als Endergebnis wurden folgende Zahlen festgestellt (die nächst tiefere

Abstufung, bei der schon keine Keimung mehr erfolgte, ist in Klammern beigefügt):

<i>Aspergillus glaucus</i>	73,3 % r. D.	(72,5)
<i>Aspergillus niger</i>	79,0	(77,2)
<i>Penicillium glaucum</i>	77,8	(77,5)
<i>Sporodinia grandis</i>	83,3	(82,8)
<i>Rhizopus nigricans</i>	84,1	(83,7)
<i>Phycomyces nitens</i>	86,0	(85,7)
<i>Ustilago avenae</i>	87,8	(87,3)
<i>Oidium lactis</i>	89,8	(89,5)

Die so ermittelten Grenzwerte liegen tiefer, als nach der eingangs angeführten Einteilung von *Walter* erwartet werden konnte. Sie liegen auch wesentlich tiefer als die von *Walderdorff* angegebenen Werte. Die tiefsten Grenzwerte liegen bei ihr für *Aspergillus sulfureus* und *Penicillium spec.* bei 83 % r. D. Noch stärker weichen ihre Werte für *Rhizopus spec.* und für *Phycomyces nitens* mit 91,3 bzw. 95,8 % ab. *Walter* weist darauf hin, daß die von *Walderdorff* angegebenen Werte um einige Atmosphären zu niedrig sein werden, da sie relativ geringe Mengen von Salzlösung zur Herstellung der entsprechenden Feuchtigkeit benutzte (1 Tropfen Salzlösung in dem hohl geschliffenen Objektträger), so daß bis zum Ausgleich in dem geschlossenen Raum noch eine Konzentrationserhöhung eintreten konnte. Auch wäre es möglich, daß beim Arbeiten im trockenen Versuchsraum bis zum Abdichten der Objektträger schon eine gewisse Verdunstung eintreten konnte. Die von *Walderdorff* für Pollen in derselben Weise ermittelten Werte liegen auch höher als die entsprechenden in der von ihr zitierten Literatur.

Die bei *Walter* (1924) angegebenen Werte bedürfen zum Vergleich einer kleinen Korrektur, weil damals etwas andere Mengen von Schwefelsäure zur Herstellung der Lösungen verwendet wurden (vgl. 1924, S. 391). Die in der Tabelle 1931 angegebenen, hier verwendeten Werte liegen für die relative Dampfspannung um 0,5 bis 1,5 % höher. Dadurch werden die bestehenden Unterschiede etwas vermindert, aber nicht ausgeglichen. Zum Vergleich sind die 1924 angegebenen Zahlen auf die jetzt verwendeten umgerechnet. Die bei *Walter* festgestellten Werte liegen zum Teil schon tiefer als die *Walderdorffs*. So gibt *Walderdorff* z. B. für *Rhizopus* einen Grenzwert von 91,3 % an, während *Walter* noch bei 89,5 % nach 4 Tagen Keimung beobachtet. Der Grenzwert muß demnach noch um einige Procente tiefer gelegen sein; ebenso bei dem *Walderdorffs*chen Grenzwert für *Phycomyces* mit 95,8 %; *Walter* beobachtet noch bei 94,2 % gute Keimung. Daß bei 89,5 % die Sporen nach 5 Tagen unverändert waren, beweist noch nicht, daß damit der absolute Grenzwert schon erreicht ist. Daß die 1924 untersuchten Pilze das Hydraturminimum von 85 % r. D. unterbieten, beweist eine Angabe über *Penicillium glaucum*: nach 1 Monat waren bei 83,7 % (85 % nach den damaligen Werten) einige Konidienträger ausgebildet. Der Grenzwert muß also um einige Procente tiefer gelegen sein. Bei meinen Versuchen wurden bei *Penicillium* nach 6 Wochen bei 82 %, nach 11 Wochen bei 80,5 % Konidien ausgebildet; der Grenzwert lag dann bei 77,8 %.

Daß die Grenzwerte bei *Walter* zunächst höher angenommen sind, wird zum Teil an den weiten Abstufungen (5 % r. D.), vor allem aber an kürzerer Beobachtungszeit liegen. Die sich sehr spät entwickelnden Kümmerformen der Pilze in der Nähe des Grenzwertes sind dann wahrscheinlich nicht mehr beobachtet worden. Auch könnten Unterschiede in der Temperatur des

Versuchsraums von Bedeutung sein, vor allem in bezug auf die Keimzeit. Selbstverständlich werden auch für verschiedene Stämme ein und derselben Sammelart, z. B. *Penicillium glaucum*, Unterschiede in der Keimungsgrenze vorhanden sein; doch dürfen diese zur Erklärung der hier vorliegenden Unterschiede nicht so sehr herangezogen werden, da bei mir sämtliche Grenzwerte tiefer liegen, als nach den vorhergehenden Untersuchungen zu erwarten war.

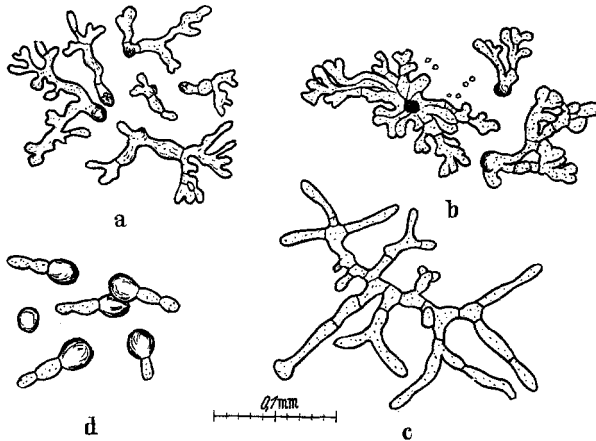


Abb. 4. Kümmerformen; a) *Aspergillus glaucus* bei 72,5 % r. D. und 30° nach 7 Wochen; b) *Aspergillus niger* bei 79 % r. D. und 25° nach 10 Wochen; c) *Oidium lactis* bei 90,6 % r. D. und 20° nach 12 Wochen; d) dasselbe bei 90,0 % r. D.

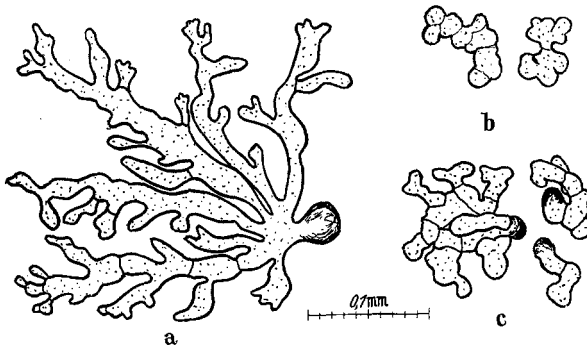


Abb. 5. Kümmerformen; a) *Phycomyces nitens* bei 88,4 % r. D. und 20° nach 15 Tagen; b) dasselbe bei 86,6 % r. D. nach 5 Wochen; c) *Sporodinia grandis* bei 83,3 % r. D. und 20° nach 3 Wochen.

Nach den oben angeführten Grenzwerten für die Keimung müssen wir definieren als

1. xerophile Arten: solche, deren Keimungsgrenze auf festem Substrat unter 80 % r. D. liegt: *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum*.

2. mesophile Arten: solche, deren Keimungsgrenze zwischen 80 und 90 % r. D. liegt: *Sporodinia grandis*, *Rhizopus nigricans*, *Phycomyces nitens*, *Ustilago avenae*.

3. hygrophile Arten: solche, deren Keimungsgrenze über 90% liegt: eine Übergangsform zwischen der 2. und 3. Gruppe ist *Oidium lactis*.

Praktisch wird freilich bei einer Feuchtigkeit, die wenig über der Keimungsgrenze liegt, noch keine eigentliche Schimmelbildung auftreten, da die Entwicklung der Pilze nahe dem Grenzwert, wie schon aus den Keimkurven geschlossen werden kann, sehr langsam vor sich geht und überhaupt nur Kümmerformen ausgebildet werden, die sich auch nach Wochen nicht wesentlich weiter entwickeln. Abb. 4, 5 und 6 (a und b) zeigen solche Formen von verschiedenen Pilzen, die als

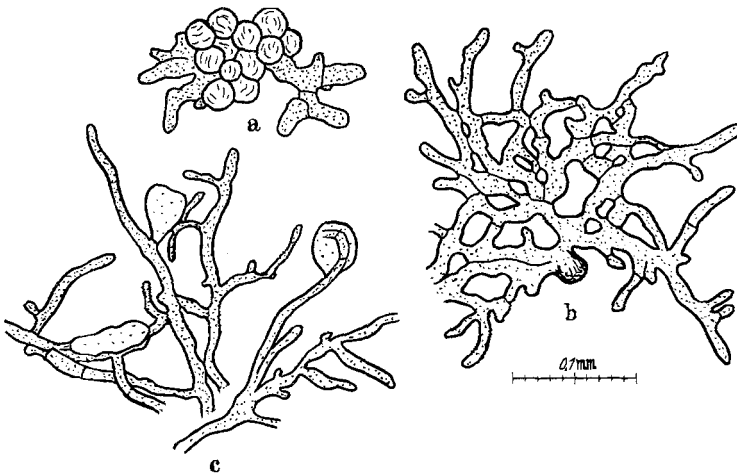


Abb. 6. Wachstumsformen von *Rhizopus nigricans* bei 20°; a) Kümmerform bei 84,1% r. D. nach 6 Wochen; b) dasselbe bei 84,6% r. D.; c) Blasenzellen bei 88,3% r. D. nach 5 Tagen.

Endstadien der Entwicklung anzusprechen sind. Einen Maßstab dafür, ob der Pilz noch Lebensbedingungen vorfindet, die ihm ein einigermaßen normales Wachstum und nennenswerte Ausbreitung ermöglichen, gibt uns wohl am ehesten die Tatsache, daß er noch imstande ist, Fortpflanzungsorgane auszubilden. Die Grenze für die Konidien- und Sporangienbildung liegt aber immer einige Prozent über der Keimungsgrenze. Eine Zusammenstellung der hierfür ermittelten Grenzwerte gibt Tabelle III.

Tabelle III.

	Grenze der Konidien- bzw. Sporangienbildung	Keimungsgrenze
<i>Aspergillus glaucus</i>	78,1 % nach 7 Wochen	73,3 %
„ <i>niger</i>	81,8 % „ 7 „	79,0 %
<i>Penicillium glaucum</i>	80,5 % „ 11 „	77,8 %
<i>Sporodinia grandis</i>	91,0 % „ 6 Tagen	83,3 %
<i>Rhizopus nigricans</i>	89,2 % „ 20 „	84,1 %
<i>Phycomyces nitens</i>	94,2 % „ 10 „	86,0 %

Besonders die Sporangienbildung bei den *Phycomyceten* hört rasch auf, schon 5 bis 8% oberhalb der Keimungsgrenze. Dagegen tritt bei den *Ascomyceten* noch 3 bis 5% über der Keimungsgrenze Konidienbildung auf, allerdings erst nach Wochen.

Schon lange ist bekannt, daß die Kümmerformen der Schimmelpilze in der Nähe des Grenzwertes sich häufig durch besondere morphologische Eigentümlichkeiten auszeichnen. So erwähnen *Eschenhagen* und *Raciborsky* bei zunehmender Konzentration der Nährlösung Verdickung der Membranen, Verkürzung der Zellen und eingezogene Querwände, so daß sproßartiges Wachstum zustande kommt. *Orban* beschreibt koralloide Wachstumsformen mit dichten Verzweigungen und perlschnurartige Struktur der Hyphen bei *Phycomyces nitens*. *Kaess* und *Schwartz* beobachteten stark verzweigte und gedrungene Mycelien und Hyphen von unregelmäßiger Gestalt. *Walderdorff* fand in der Ausbildung des Mycels der *Aspergillaceen* keine Unterschiede; nur die schwache Ausbildung der Konidienträger und Sporenketten fiel aus. Bei vielen Arten der *Phycomyceten* beschreibt sie das Anschwellen der Hyphen und die zunehmenden Verzweigungen, das Auftreten von Querwänden und kugelig abgegliederten Blaszellen.

Die von *Walderdorff* beschriebenen Abweichungen zeigten sich auch in meinen Versuchen. Das Mycel von *Penicillium* und *Aspergillus* hat bei Zimmertemperatur auch bei geringer Feuchtigkeit durchaus normales Aussehen. Die Kulturen im Thermostaten bei 30° C und geringer Feuchtigkeit zeigten jedoch Hyphen von sehr unregelmäßiger Gestalt mit blasigen Ausstülpungen, die ganz an die Blaszellen der *Phycomyceten* erinnerten. Das Wachstum der *Aspergillaceen* schien zwar bei zunehmender Trockenheit aufgelockert, doch zeigten auch die dauernd sehr klein bleibenden Formen in nächster Nähe des Grenzwertes noch lebhaftere Verzweigungen (vgl. Abb. 4a und b). Die Konidienträger waren stets normal gebaut, nur etwas kleiner als bei hoher Feuchtigkeit. Die in nächster Nähe des Grenzwertes gebildeten Konidien zeigten durchweg gute Keimfähigkeit. Stärkere morphologische Abweichungen wiesen auch bei mir die *Phycomyceten* auf; die Abgliederung von Blaszellen, wie sie Abb. 6c zeigt, erfolgt aber nur in dem Feuchtigkeitsbereich, der dem Grenzwert für die Sporangienbildung zunächst liegt. Dagegen zeigen die Mycelien in der Nähe des Grenzwertes für die Keimung alle ein gleichmäßig gedrungenes Bild ohne besondere Unregelmäßigkeiten (vgl. Abb. 5 und 6), an dem als Besonderheit vor allem das schon oben erwähnte Auftreten von Querwänden bemerkenswert ist. Das gedrungene Wachstum ist besonders stark bei *Phycomyces* und *Sporodinia*; bei ersterem geht es so weit, daß in der Nähe des Grenzwertes ein flächenhaftes Wachstum der Kolonien mit einem geschlossenen Rand zustande kommen kann.

Die Entwicklungsverhältnisse bei hoher relativer Dampfspannung.

Die Frage über die Lage des Optimums der Wachstumskurven wurde schon öfters erörtert. Bei Kulturen in Nährlösungen leuchtet es

ohne weiteres ein, daß bei sehr starken Verdünnungen der Nährlösung wieder eine Abnahme des Wachstums erfolgen muß. Anders liegen die Verhältnisse bei der Versuchsanordnung nach *Walter*, wo der osmotische Wert des Substrats auch im wasserdampfgesättigten Raum unter einen bestimmten, allerdings sehr geringen Wert nicht sinken wird. *Walter* beobachtete zwar in einigen Fällen, z. B. bei *Phycomyces nitens*, daß das Wachstum bei 100% r. D. etwas zurückblieb gegenüber dem Wachstum bei 99%; doch waren die Unterschiede sehr gering und bei entsprechenden Kontrollversuchen meist nicht vorhanden, so daß geschlossen werden konnte, daß mit zunehmender Feuchtigkeit bis zur wasserdampfgesättigten Luft keine Hemmung des Wachstums eintritt. In den Versuchen von *Tomkins* war das Wachstum bei 100% stets am meisten gefördert; allerdings sind da die Abstände in der relativen Feuchtigkeit größer gewählt; zwischen 100 und 97,1% sind keine Werte angegeben, so daß ein Wachstumsoptimum, das etwa bei 99% liegen würde, in den mitgeteilten Zahlen nicht zum Ausdruck kommen könnte.

Zu anderen Ergebnissen kommen aber *W. Schwartz* und *G. Kaess*. Sie untersuchten 1934 das Wachstum verschiedener Schimmelpilze: *Penicillium flavo-glaucum*, *Mucor racemosus*, *Cladosporium herbarum*, auf Fleischstücken bei verschiedener Luftfeuchtigkeit und fanden etwa bei 95% r. D. ein Maximum der Wachstumskurven. Die Abnahme des Wachstums bei 100% wird einmal erklärt durch das teilweise Aufkommen von Bakterien, also einen Grund, der auf die Wachstumsverhältnisse der betreffenden Schimmelpilze keine Schlüsse zu ziehen erlaubt, andererseits durch Transpirationsstörungen der Pilze in wasserdampfgesättigter Luft; verschiedene pathologische Erscheinungen wie das Platzen einzelner Hyphen und bisweilen vorkommende Riesenzellen deuteten darauf hin. In diesen Versuchen ist zu berücksichtigen, daß die relative Luftfeuchtigkeit des Versuchsraums nicht als alleiniger Maßstab für die Feuchtigkeitsverhältnisse dienen kann, unter denen der Pilz lebt, da das Nährsubstrat und damit auch die direkt über der Fleischoberfläche lagernden Luftschichten mehr Wasserdampf enthalten als die übrige Luft des Versuchsraums. Die Konzentration des Fleischsaftes entspricht einer relativen Feuchtigkeit von 99,3%; das tatsächliche Optimum des Wachstums wird also zwischen 95 und 99,3% relativer Feuchtigkeit liegen. Die Versuche derselben Verfasser 1935 mit *Penicillium flavo-glaucum* suchen den Mangel im Ausgleich zwischen Luftfeuchtigkeit und Wassergehalt des Substrats zu beseitigen. Die Nährlösung wird zugleich zur Herstellung der relativen Feuchtigkeit verwendet; die Versuche werden in zweierlei Weise durchgeführt, einmal in Lösungen von verschiedener Verdünnung, deren Volumen so gewählt ist, daß dem Pilz stets dieselbe absolute Nährstoffmenge zur Verfügung steht. Die Erntegewichte der Pilzdecken dienen als Maß für die Wachstumsintensität. Außerdem wird in einer anderen Versuchsreihe das Wachstum des Pilzes gemessen auf Filtrierpapier, das dauernd mit der Nährlösung getränkt wird. Beide Versuche ergeben für *Penicillium flavo-glaucum* ein Wachstumsoptimum bei 99,35% r. D. oder etwa 8 Atm. *Schwartz* und *Kaess* weisen darauf hin, daß schon aus theoretischen Erwägungen das Vorhandensein eines solchen Maximums gefordert werden müsse. Ein Nährstoffgemisch, das sich mit einer relativen Feuchtigkeit von 100% im Gleichgewicht befindet, müßte die Nährstoffe in unendlicher Verdünnung enthalten und würde

auf Mikroorganismen nicht anders als destilliertes Wasser wirken. Es muß also in der Nähe des 100 %-Punktes der Abszisse ein steiler Abfall der Kurve erfolgen. Daß dieser Abfall von *Walter* und *Tomkins* nicht beobachtet wurde, liegt nach *Schwartz* und *Kaess* einerseits daran, daß das Optimum sehr nahe an 100 % liegt und andererseits praktisch der vollständige Ausgleich zwischen dem Substrat und der wasserdampfgesättigten Luft nie erreicht wird.

Um diese Frage genauer zu prüfen, wurde eine Reihe von Versuchen angestellt mit Abstufung der relativen Dampfspannung von 2%. Aus Abb. 7 bis 9 und 12 bis 15 sind die Versuchsergebnisse zu ersehen; die eingetragenen Punkte sind die Mittelwerte aus je zwei Parallelversuchsreihen; die Messungsergebnisse an aufeinanderfolgenden Tagen wurden der besseren Übersichtlichkeit wegen mit wechselndem Zeichen eingetragene.

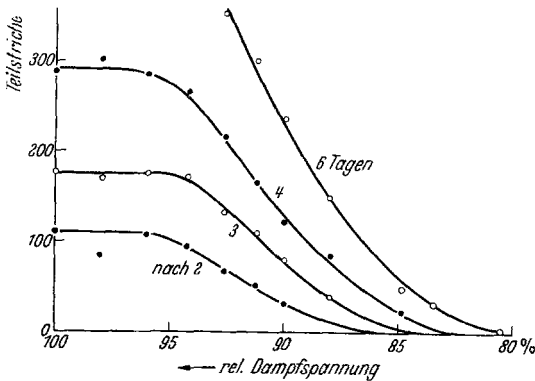


Abb. 7. Wachstumskurven von *Penicillium glaucum* auf festem Substrat bei verschiedener relativer Dampfspannung nach 2, 3, 4 und 6 Tagen. Ordinate: Durchmesser der Kolonie in Teilstrichen des Okularmikrometers (1 Teilstrich = 0,038 mm).

Unter den xerophilen Arten zeigt die Wachstumskurve von *Penicillium glaucum* (Abb. 7) das typische Bild, wie es *Walter* (1924) beschrieben hat: von 100 bis gegen 95% r. D. keine Beeinflussung durch die Feuchtigkeit. Die auftretenden Streuungen liegen innerhalb

der Versuchsfehlergrenzen. Zur Bestätigung sind die Meßergebnisse aus einem dreifachen Kontrollversuch in Tabelle IV wiedergegeben.

Tabelle IV.

r. D.	Durchmesser nach 2 Tagen	Durchmesser nach 3 Tagen	Durchmesser nach 4 Tagen
100 %	$\left. \begin{array}{l} 65 \times 70 \\ 100 \times 105 \\ 85 \times 85 \end{array} \right\}$ Mittel 85	$\left. \begin{array}{l} 150 \times 150 \\ 180 \times 200 \\ 170 \times 170 \end{array} \right\}$ Mittel 170	$\left. \begin{array}{l} 270 \times 280 \\ 290 \times 290 \\ 280 \times 280 \end{array} \right\}$ Mittel 280
98 %	$\left. \begin{array}{l} 85 \times 85 \\ 55 \times 55 \\ 80 \times 85 \end{array} \right\}$ Mittel 74	$\left. \begin{array}{l} 190 \times 180 \\ 130 \times 140 \\ 155 \times 165 \end{array} \right\}$ Mittel 160	$\left. \begin{array}{l} 300 \times 300 \\ 270 \times 270 \\ 290 \times 310 \end{array} \right\}$ Mittel 290
96 %	$\left. \begin{array}{l} 85 \times 115 \\ 110 \times 110 \\ 105 \times 110 \end{array} \right\}$ Mittel 104	$\left. \begin{array}{l} 140 \times 170 \\ 180 \times 170 \\ 160 \times 170 \end{array} \right\}$ Mittel 165	$\left. \begin{array}{l} 280 \times 260 \\ 300 \times 310 \\ 280 \times 280 \end{array} \right\}$ Mittel 285

Diese Versuchsreihe zeigt die verhältnismäßig großen Schwankungen, die besonders bei günstigen Hydraturverhältnissen bei ein und derselben

Feuchtigkeit auftreten können und die durch Versuchsfehler (ungleichmäßiger Aufstrich des Nährbodens und verschieden starke Beimpfung) verursacht sind. Dagegen zeigt sich keine Abhängigkeit zwischen relativer Dampfspannung und der Größe der Kolonien. Nur schien bei 96% der Wuchs aufgelockerter zu sein gegenüber 98 und 100%.

Ganz anders liegen dagegen die Verhältnisse bei *Aspergillus niger* und *Aspergillus glaucus*. Bei *Aspergillus niger* (Abb. 8) bleibt das Wachstum der Kolonien bei 100% deutlich zurück; es entspricht dem Wachstum bei 95%; dazwischen liegt aber bei 98% ein ausgesprochenes Maximum; in der Dichte der Kolonien fielen keine wesentlichen Unterschiede auf. Noch stärker ausgeprägt ist das Maximum von *Aspergillus glaucus* bei etwa 93% (Abb. 9). In den ersten Tagen war kein deutlicher Unterschied sichtbar; vom 5. Tage an blieben die Kolonien bei hoher Feuchtigkeit stark zurück im Wachstum. Die bei Walter (1924) für *Aspergillus glaucus* eingetragenen Kolonien-durchmesser nehmen am 5. Tage ebenfalls von 99 gegen 95% zu; doch sind dort keine Werte für spätere Zeiten angegeben, so daß ein Vergleich mit dem hier untersuchten *Aspergillus glaucus* nicht angestellt werden kann.

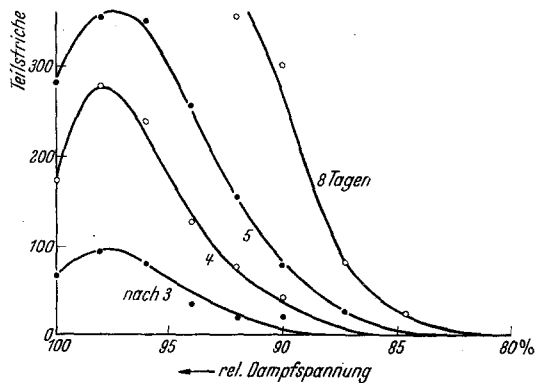


Abb. 8. Wachstumskurven von *Aspergillus niger* auf festem Substrat (s. Erläuterungen bei Abb. 7).

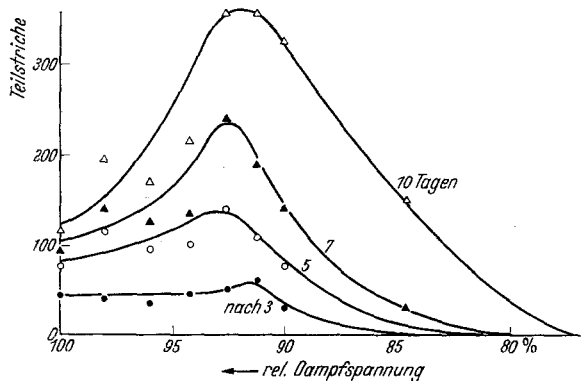


Abb. 9. Wachstumskurven von *Aspergillus glaucus* auf festem Substrat (s. Erläuterungen bei Abb. 7).

Da das Wachstum der Kolonien bei 93% und darunter gleichzeitig sehr viel lockerer ist als bei hoher Feuchtigkeit, kann für *Aspergillus glaucus* aus den in Abb. 9 aufgezeichneten Kurven nicht mit Sicherheit auf ein Wachstumsoptimum geschlossen werden. Zum Vergleich wurden

Kulturen in Malzwürze mit 10 bis 60% Zucker angesetzt, um aus dem Erntegewicht der Pilzdecken Schlüsse auf das tatsächliche Wachstumsoptimum ziehen zu können. Es muß dabei allerdings berücksichtigt werden, daß nun mit den Hydraturverhältnissen gleichzeitig der Nährstoffgehalt des Substrats geändert wird. Die Versuchskölbchen zeigten folgende Ergebnisse: nach 6 Tagen war die Oberfläche der Malzwürze (99,8% r. D.) etwa zu $\frac{1}{8}$ mit kleinen Kolonien bedeckt, die 10%ige Zuckerlösung (99% r. D.) knapp $\frac{1}{3}$ und die 20%ige Zuckerlösung

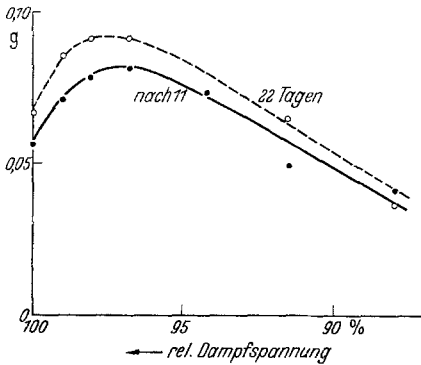


Abb. 10. Wachstumskurven von *Aspergillus glaucus* in Zuckerlösungen mit verschiedener relativer Dampfspannung. Ordinate: Trockengewichte der Pilzdecken in Gramm.

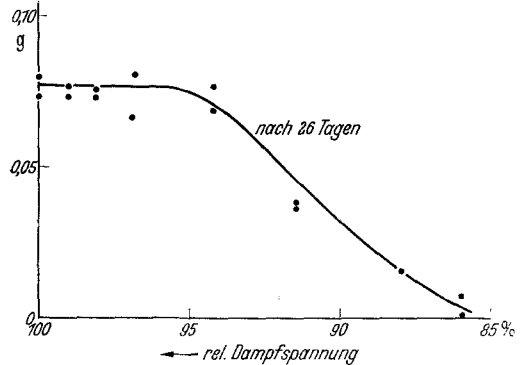


Abb. 11. Wachstumskurve von *Penicillium glaucum* in Zuckerlösungen (s. Erläuterungen bei Abb. 10)

(98,1% r. D.) zu $\frac{2}{3}$. Bei 30 bis 60% Zucker (96,8 bis 88% r. D.) war die ganze Oberfläche von dem Mycel bedeckt. Die Kolonien von 0 bis 20% Zucker waren auch nach 22 Tagen nicht merklich weiter gewachsen, es wurde keine geschlossene Pilzdecke erreicht. Daß aber aus der Oberflächenbedeckung nicht ohne weiteres auf die Wachstumsintensität des Pilzes geschlossen werden darf, zeigt Abb. 10, die die Erntegewichte der Pilzdecken wiedergibt. Sowohl die nach 11 Tagen als auch die nach 22 Tagen abgebrochene Versuchsreihe zeigt das Optimum bei 20 bis 30% Zucker, das entspricht einer relativen Dampfspannung von 98,1 und 96,8%. Das Optimum liegt also wesentlich höher, als nach der Oberflächenbedeckung geschlossen werden müßte.

Es fragt sich nun, ob das hier auftretende Optimum nicht lediglich durch die günstigeren Ernährungsverhältnisse bei 20 und 30% Zucker zustande kommt, während der Wasserhaushalt eine untergeordnete Rolle dabei spielt. Daß dies offenbar nicht der Fall ist, beweisen wohl am besten die Ergebnisse einer entsprechenden Versuchsreihe in Zuckerlösung mit *Penicillium glaucum* (Abb. 11). Die Erntegewichte von 0 bis 40% Zucker bleiben hier vollständig gleich; mit abnehmendem Zuckergehalt ist keinerlei Hemmung der Entwicklung feststellbar. *Peni-*

cillium findet in 5%iger Malzwürze (99,8% r. D.) noch durchaus optimale Entwicklungsbedingungen; die Wachstumskurve in Zuckerlösung entspricht ganz den Kurven, die wir beim Wachstum auf festem Substrat erhielten (vgl. Abb. 7): waagrechter Verlauf zwischen 100 und 95% r. D., dann Abfall der Kurve, d. h. Hemmung durch ungünstige Hydraturverhältnisse. Somit dürfte auch ein Vergleich der Kurven bei *Aspergillus* zulässig sein.

Die Versuche auf festem Substrat wie in Zuckerlösung zeigen den auffallenden Unterschied in der Lage des Optimums zwischen *Penicillium glaucum* einerseits und den beiden *Aspergillus*-Arten andererseits. Bei *Penicillium* tritt der Abfall der Kurve gegen 100% erst so nahe an 100% auf, daß er bei den hier angewendeten Versuchsbedingungen nicht mehr erfaßt werden konnte, während bei *Aspergillus* dieser Abfall sehr deutlich in Erscheinung tritt. Die Wachstumskurven der xerophilen Schimmelpilze zeigen also zwei verschiedene Typen: der 1. Typ, dessen Vertreter hier *Penicillium glaucum* war, ist gekennzeichnet durch eine große Unabhängigkeit von den Hydraturverhältnissen zwischen 95 und 100% r. D. und dadurch, daß er wasserdampfgesättigte Luft genau so gut erträgt wie etwas geringere Feuchtigkeit. Das von Schwartz und Kaess untersuchte *Penicillium flavo-glaucum* mit dem dort festgestellten Wachstumsoptimum von 99,35% r. D. wird entweder unter Berücksichtigung der dort erschwerten Ernährungsverhältnisse noch zu dieser Gruppe zu rechnen sein, oder es stellt einen Übergang zum 2. Typ dar, als dessen Vertreter wir *Aspergillus glaucus* und *Aspergillus niger* kennenlernten; diese Pilze zeigen eine ausgesprochene Wachstumshemmung in wasserdampfgesättigter Luft, so daß ihre Wachstumskurven typische Optimumkurven darstellen. Zu diesem 2. Typ scheinen besonders die verschiedenen Arten der Gattung *Aspergillus* zu gehören.

In Ergänzung zu den hier gemachten Beobachtungen bei *Aspergillus glaucus* und *Aspergillus niger* sei erwähnt, was Klebs (1896) über *Eurotium repens* berichtet: „In 20%iger Rohrzuckerlösung bleibt das Mycel klein, das Längenwachstum der Hyphen beschränkt, während die Verzweigung lebhaft weitergeht; es werden nur wenige Konidienträger gebildet. In 80%iger Rohrzuckerlösung überzieht in wenigen Tagen das lebhaft wachsende Mycel die ganze Oberfläche. Es werden normale Konidienträger in großer Zahl ausgebildet. Der Pilz wächst überhaupt am schnellsten auf Substraten, die nicht zu feucht sind“.

Die Versuchsergebnisse mit den mesophilen Pilzen, mit denen hier auch *Oidium lactis* besprochen werden soll, sind in Abb. 12 bis 15 wiedergegeben. Hier läßt sich nirgends mit Sicherheit eine Abnahme der Wachstumsintensität in wasserdampfgesättigter Luft nachweisen. Wo die Werte bei 100% r. D. etwas niedriger liegen als bei 98%, wie z. B. teilweise bei *Sporodinia*, *Rhizopus* und *Oidium lactis*, da ist dieser

Unterschied so gering, daß er innerhalb der Versuchsfehlergrenze liegt und deshalb keine weiteren Schlüsse erlaubt. Im allgemeinen läßt sich sagen, daß die Unabhängigkeit von den Hydraturverhältnissen in der

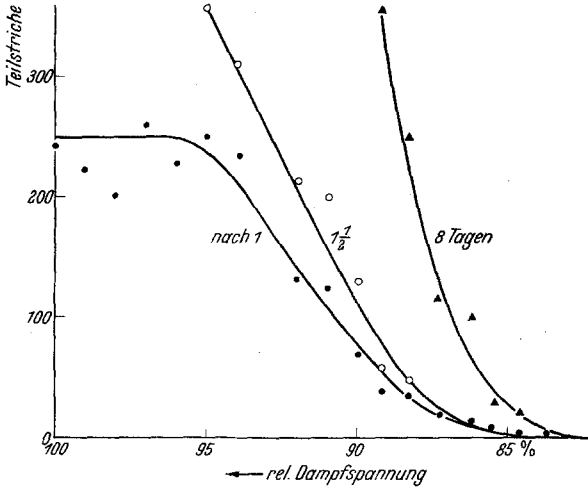


Abb. 12. Wachstumskurven von *Sporodinia grandis* auf festem Substrat (s. Erläuterungen bei Abb. 7).

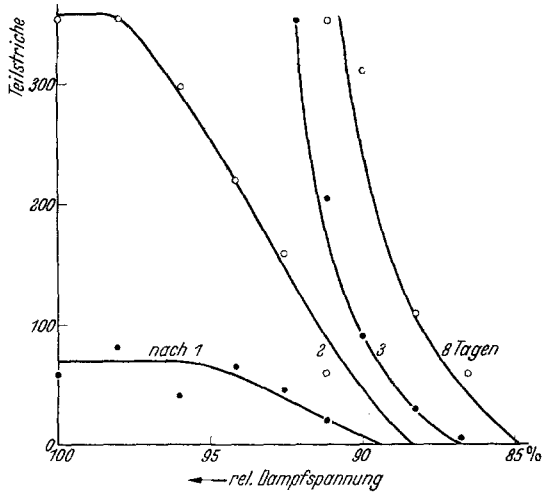


Abb. 13. Wachstumskurven von *Rhizopus nigricans* auf festem Substrat (s. Erläuterungen bei Abb. 7).

Nähe des Sättigungspunktes um so größer ist, je tiefer der Grenzwert der Keimung liegt. Sie ist am meisten ausgeprägt bei *Sporodinia* bis gegen 95% r. D.; *Rhizopus* ist bei 98% noch nicht, bei 96% dagegen schon deutlich gehemmt. Auch der hygrophilste Vertreter dieser Gruppe,

Oidium lactis, zeigt bis gegen 98% r. D. eine gewisse Unabhängigkeit von den Hydraturverhältnissen im Gegensatz zu *Phycomyces*, dessen Grenzwert zwar um fast 4% tiefer liegt als bei *Oidium*, der aber bei 98% schon deutlich gehemmt ist gegenüber 100%¹.

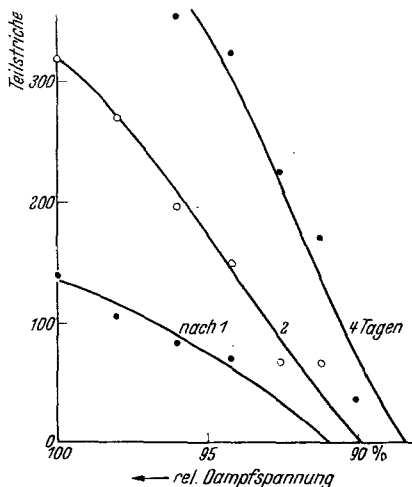


Abb. 14. Wachstumskurven von *Phycomyces nitens* auf festem Substrat (s. Erläuterungen bei Abb. 7).

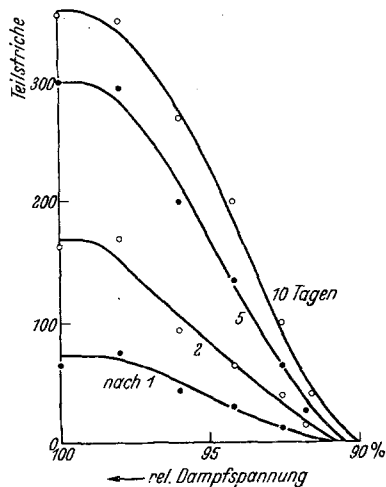


Abb. 15. Wachstumskurven von *Oidium lactis* auf festem Substrat (s. Erläuterungen bei Abb. 7).

Einer der hierher gehörenden Pilze, *Sporodinia*, zeigte nun zwar nicht in bezug auf die Wachstumsintensität des Mycels, aber in bezug auf die Sporangienbildung eine deutliche Hemmung bei hoher Luftfeuchtigkeit. Ob die etwas geringere Größe der Kolonien bei 98 bis 100%¹

¹ *Bavendamm* u. *Reichelt* (1938), deren Arbeit erst nach Abschluß unseres Manuskripts erschien, fanden bei einigen holzerstörenden Pilzen optimales Wachstum unter 100% r. D., und zwar handelt es sich dabei teilweise um solche, die nach unserer Einteilung zur Gruppe der mesophilen Pilze zu rechnen sind. Das unter 100% r. D. gefundene Optimum tritt aber in allen Fällen verhältnismäßig wenig deutlich hervor im Vergleich zu *Aspergillus*. Andererseits ergaben entsprechende Versuche auf Holzklötzchen, daß üppigstes Pilzwachstum auf Malzagar nicht mit stärkster Holzerstörung gleichzusetzen ist. So zeigt z. B. *Fomes fomentarius* auf Agar ein Wachstumsoptimum unter 100% r. D., zerstört aber am meisten bei höchster relativer Dampfspannung. Durch solche Unterschiede bei ein und demselben Pilz erscheint die Abhängigkeit der bei hoher relativer Dampfspannung gefundenen Wachstumshemmungen von der Hydratur noch weniger deutlich. Im ganzen gesehen kann aber trotzdem die Häufigkeit, mit der hier solche geringen Hemmungen gefunden wurden, darauf hinweisen, daß eine Hydraturabhängigkeit vorliegt und daß eine geringe Entwicklungshemmung bei höchster relativer Dampfspannung vielleicht verbreiteter ist, als zunächst anzunehmen war.

als Wachstumshemmung oder als Streuung innerhalb der Versuchsfehlergrenze anzusprechen ist, läßt sich bei der Raschwüchsigkeit und damit verbundenen Unregelmäßigkeit des Wachstums der Kolonien schwer sagen. Die Hemmung der Sporangienbildung bei hoher Luftfeuchtigkeit aber war deutlich zu beobachten. Die Sporangienbildung erfolgte bei 94 bis 97% r. D. nach 3 Tagen sicher; die Sporangienträger waren gut ausgebildet. Bei 93 bis 91% trat sie nach 5 Tagen auf, bei 90% und darunter nicht mehr. Über 97% war die Sporangienbildung erschwert; sie trat erst vom 4. bis 7. Tag ein, und die ausgebildeten Sporangien waren kümmerlich.

Die Bedingungen für die Bildung der Fortpflanzungsorgane bei *Sporodinia* sind ausführlich untersucht worden in den Arbeiten von *Klebs* (1898, 1902) und *Falck* (1902). Aus der Arbeit von *Falck* geht hervor, daß die Konzentration der Nährstoffe maßgebend ist für die Ausbildung der Fortpflanzungsorgane, und zwar entstehen auf verdünntem Substrat Sporangienträger, auf konzentriertem Zygoten. Bei weiterer Steigerung der Konzentration wird aber die Zygotenbildung wieder zuerst gehemmt, so daß schließlich wieder allein Sporangien auftreten. Die Versuche zeigen also die größere Unabhängigkeit bei der Sporangienbildung gegenüber der Konzentration des Substrats als bei der Zygotenbildung. Wichtiger für uns sind die *Klebs*schen Untersuchungen. *Klebs* weist nach, daß die Sporangienbildung gegen ungünstige äußere Einflüsse (Temperatur, Sauerstoffmangel, Zusammensetzung des Nährsubstrats) weniger empfindlich ist als die Zygotenbildung. Ist einer dieser Faktoren also ungünstig, so wird von vornherein die Sporangienbildung im Vorteil sein. Bei sonst günstigen Bedingungen läßt sich jedoch beliebig Zygoten- oder Sporangienbildung hervorrufen durch verschiedene Luftfeuchtigkeit; in feuchter Luft werden dann nur Zygoten ausgebildet, in trockener nur Sporangien und in einer Übergangszone je nachdem beide Fortpflanzungsorgane. Die von *Klebs* für die Luftfeuchtigkeit angegebenen Zahlen — für Zygotenbildung zwischen 90 und 100%, für Sporangienbildung zwischen 70 und 80% r. D. — sind wohl zu niedrig, da dem Pilz aus dem feuchten Substrat Wasser von geringerer Saugkraft zur Verfügung stand als aus der Luft, die *Klebs* in seiner Versuchskammer mit dem Haarhygrometer gemessen hat. *Klebs* erklärt die Unterschiede in der Ausbildung der Zygoten und Sporangien der Luftfeuchtigkeit gegenüber durch die verschiedenen Ansprüche, die die beiden Fortpflanzungsorgane an die Transpiration stellen: Zygoten werden gebildet, wenn die Transpiration möglichst gering ist, also in feucht gesättigter Luft; Sporangienbildung verlangt stärkere Transpiration.

Leider kam bei meinen Versuchen keine Zygotenbildung zustande. Die Gründe dafür sind wohl vor allem Nahrungsmangel, vielleicht auch Sauerstoffmangel. Bei Kulturen in *Petri*-Schalen auf derselben Malzwürzelgelatine wurden zuerst stets reichlich und ausschließlich Zygoten gebildet und erst nach einigen Tagen Sporangien. Das wäre nach *Klebs* darauf zurückzuführen, daß die Luft über der Gelatine zuerst sehr feucht ist und deshalb Zygotenbildung ermöglicht. Nach einiger Zeit tritt dann ein Ausgleich mit der trockenen Zimmerluft ein, und damit sind die Bedingungen für die Sporangienbildung gegeben. Ob aber tatsächlich die mangelnde Transpirationsmöglichkeit der Faktor ist, der die Sporangienbildung bei hoher Feuchtigkeit erschwert, scheint auf Grund unserer Versuche zweifelhaft. In den Versuchsschälchen kann ja nirgends ein Feuchtigkeitsgefälle auf-

treten, da sowohl das Substrat als die Luft sich mit dem Dampfdruck der Schwefelsäure ausgeglichen haben; oder wenn ein solches Gefälle vorübergehend durch Temperaturschwankungen auftritt und damit eine Transpiration des Mycels möglich ist, dann muß sich das bei den verschiedenen Feuchtigkeitsstufen in gleicher Weise auswirken. Trotzdem tritt die Sporangienbildung zwischen 100 und 97 % r. D. erschwert, zwischen 97 und 94 % leicht und regelmäßig ein. Es muß sich hier also um einen anderen Faktor handeln, der diese Hemmung verursacht, die der Hemmung in der Wachstumsintensität von *Aspergillus* bei hoher relativer Dampfspannung entspricht.

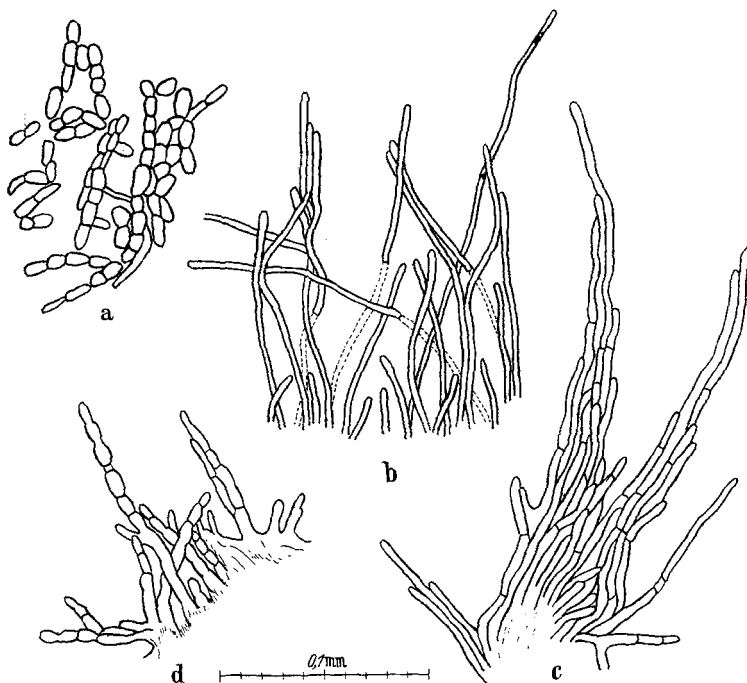


Abb. 16. Wachstumformen von *Ustilago avenae* auf Malzwürzelgelatine: a) Stück aus der Sporekolonie bei 100 % r. D.; b) Hyphen am Rand der Kolonie bei 98 % r. D.; c) dasselbe bei 90 % r. D.; d) dasselbe bei 88,3 % r. D.

Daß nicht nur die Sporangien-, sondern auch die Zygotenbildung bei *Sporodinia* ein Optimum unter 100 % r. D. zeigt, geht aus den Versuchen von Seiler (1935) hervor; er fand bei Kultur von *Sporodinia* auf sterilisierten Pilzstücken, die sich mit der relativen Dampfspannung des Versuchsgefäßes ausgeglichen hatten, Sporangienbildung nur bei 92 und 94 % r. D., Zygotenbildung von 94 bis 100 % r. D., also bei höherer relativer Dampfspannung als die Sporangienbildung, jedoch mit einem deutlichen Optimum bei 98 % r. D.

Für *Ustilago avenae* läßt sich keine Wachstumskurve zeichnen, da sich der Wachstumstyp oberhalb von 96 % r. D. vollkommen ändert, so daß die Durchmesser der Kolonie keinen Maßstab mehr für die Wachstumsintensität des Pilzes geben. Abb. 16 gibt das verschiedene

Aussehen wieder, das *Ustilago* bei verschiedener relativer Dampfspannung bot. Bei 100% erfolgte das Wachstum in Form eines leicht zerfallenden Sproßmycels; die Gelatine wurde verflüssigt und war nach wenigen Tagen durchsetzt von einzelnen oder in Gruppen zusammenhängenden Sporidien (Abb. 16a). Bei 98% wurde die Gelatine nicht mehr verflüssigt; das Wachstum erfolgte nicht mehr durch Sprossung sondern in Hyphen, die eine sehr dichte, kreisförmige Kolonie bildeten. Abb. 16b gibt ein Stück vom Rand dieser Kolonie wieder; die Hyphen waren gleichmäßig ausgebildet und zeigten keine Quer-

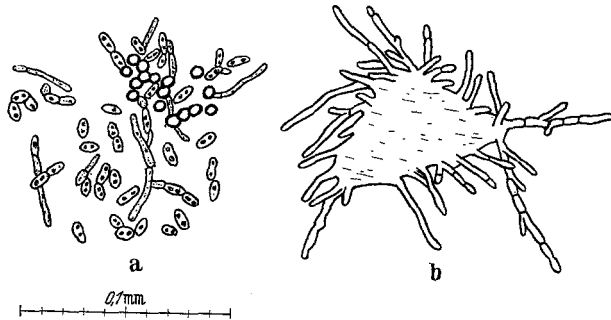


Abb. 17. Wachstumsformen von *Ustilago avenae* in Zuckerlösung: a) Sproßkolonie in 10%iger Zuckerlösung nach 5 Tagen; b) aus Hyphen bestehende Kolonie in 20%iger Zuckerlösung nach 10 Tagen.

wände, außer an den Stellen, wo sich der jüngere äußere Teil gegen den älteren inneren, schon abgestorbenen Teil abgliedert. Von 96% an abwärts legten sich die Hyphen strahlenförmig zusammen, so daß die Kolonien ein sternartiges Aussehen erhielten. Die Zwischenräume zwischen den einzelnen Strahlen füllten sich zwischen 96 und 92% langsam aus, unter 92% blieben die Kolonien dauernd klein und von sternförmigem Aussehen. Bei ihnen fallen nun auch das häufige Auftreten von Querwänden im lebenden Mycel auf (Abb. 16c) und bei niederer relativer Dampfspannung (Abb. 16d) immer mehr die kugeligen Anschwellungen der einzelnen Hyphen.

Da die Sprossung nur in der verflüssigten Gelatine bei 100% r. D. stattfand, tauchte die Frage auf, ob nicht der Unterschied zwischen festem und flüssigem Substrat die verschiedenen Keimungsarten bewirkt hatte. Deshalb wurden Brandsporen in Hängetropfenkulturen auf hohlgeschliffenen Objektträgern in 5%iger Malzwürze mit verschiedenem Zuckerzusatz kultiviert. Es zeigte sich, daß in Malzwürze bis zu 10% Zuckergehalt noch Sprossung auftrat, entsprechend der Kultur in Gelatine bei 100% r. D. (s. Abb. 17a). Von 15% Zucker ab erfolgte das Wachstum in Hyphen (Abb. 17b). Die Nährlösung mit 10% Zucker hatte einen osmotischen Wert von 12,8 Atm. gleich

99,1% r. D.; 15% Zuckerzusatz ergaben 18,6 Atm. gleich 98,6% r. D. Die Änderung des Wachstums geht in Lösungen also in gleicher Weise vor sich wie auf festem Substrat; für die verschiedenen Wachstumstypen ist nicht die Beschaffenheit des Substrats, sondern es sind die Hydraturverhältnisse dafür verantwortlich zu machen. — Dieses Verhalten von *Ustilago avenae* gleicht ganz dem von *Walter* (1924) beobachteten Verhalten eines aus kondensierter Milch isolierten *Hefe*-Stammes.

Über den Einfluß der Hydraturverhältnisse auf den Keimungstyp von *Ustilago avenae* finden sich keine Hinweise in der Literatur. Dagegen liegen zahlreiche Beobachtungen vor, die die Beeinflussung des Keimungsmodus durch andere äußere Einflüsse zeigen. *Brefeld* (1883) beobachtete, daß die Erschöpfung des Substrats das vegetative Auswaschen der Sporidien zu Fäden bewirkt, deren Inhalt sich von Zeit zu Zeit nach hinten durch eine Querwand von inhaltslosen Fadenteilen abgrenzt, ein Verhalten, wie es unsere Kolonie bei 98% r. D. auch zeigt (Abb. 16b). — *Herzberg* stellte fest, daß die Keimhyphye von *Ustilago avenae* vegetativ als steriles Mycel weiterwächst bei entsprechenden Ernährungsbedingungen, z. B. wenn der Stickstoff in Form des schwefelsauren Ammons geboten wird. — *Jones* gibt an, daß die Sporen in der Nährlösung meist in Promycelien keimen, von denen die Sporidien abgeschnürt werden im Gegensatz zur Keimung auf Agar, wo gewöhnlich Hyphen erzeugt wurden an Stelle von Sporidien. *Jones* schreibt: „Die Produktion von Sporidien scheint an gute Keimungsbedingungen geknüpft zu sein.“ — *Hüttig* untersuchte den Einfluß der Temperatur auf die Keimung der Brandpilze und stellte fest, daß sämtliche von *Brefeld* für die systematische Einteilung der Brandpilze in Pro-, Hemi- und Euustilagineen benutzten Keimtypen bei jeder einzelnen Art durch Keimung bei verschiedener Temperatur erreicht werden können. *Ustilago avenae* keimte bei 20° und 25° nach dem Typ von *Ustilago violacea* (Sporidien-sprossung); bei 30° erfolgte die Keimung nach dem Typ von *Ustilago nuda*, d. h. die Promycelzellen wuchsen zu Hyphen weiter. — Auch nach *Shih* begünstigt bei *Sphaelotheca cruenta* hohe Temperatur die Keimung der Brandsporen im Hyphentypus, in Malzlösung werden nur Sporidien gebildet, in dest. Wasser Hyphen. — *Alle diese Beobachtungen zeigen die Tendenz der Brandsporen, je nach den äußeren Bedingungen (Temperatur, Ernährung) den Keimungsmodus zu ändern. Der Einfluß der relativen Feuchtigkeit wirkt in der gleichen Weise.*

Die Beeinflussung der Grenzwerte durch Temperatur und Licht.

Der Einfluß der Temperatur.

Während in den Arbeiten von *Walderdorff* und *Walter* die Grenzwerte der Feuchtigkeit für das Wachstum der Schimmelpilze ohne Berücksichtigung der Temperaturverhältnisse festgestellt wurden, hat *Tomkins* bei der Keimung verschiedener Schimmelpilze die Beziehungen zwischen Temperatur und Feuchtigkeit untersucht. Er kommt zu dem Ergebnis, daß bei konstanter Feuchtigkeit die Keimungsgeschwindigkeit, das ist der Zuwachs der Keimhyphen in der Zeiteinheit, am größten ist bei einer optimalen Temperatur, die für verschiedene Pilze verschieden ist. Je weiter die Temperatur vom Optimum entfernt ist, desto geringer ist die Keimgeschwindigkeit.

keit. Für *Alternaria citri* liegt diese optimale Temperatur bei 30° C, für *Trichoderma lignorum* bei 25°. Die Versuche an diesen beiden Pilzen zeigen aber auch eine Verschiebung des Grenzwertes der Keimung mit der Temperatur: je weiter die Temperatur vom Optimum entfernt ist, desto enger ist der Feuchtigkeitsbereich, der Keimung erlaubt. Die Verschiebungen der Grenzwerte bei verschiedener Temperatur, die Tomkins beobachtete, sind in Tabelle V zusammengestellt. Die Genauigkeit der hier angegebenen Grenzwerte wird aus den verschiedenen Abstufungen ersichtlich, die durchschnittlich 2 bis 3% r. D. betragen. Die beiden Versuchspilze zeigen eine ziemlich starke Verschiebung der Grenzwerte, besonders bei den stark abweichenden Temperaturen.

Tabelle V.

Temperatur ° C	<i>Alternaria citri</i> % r. D.	<i>Trichoderma lignorum</i> % r. D.	Temperatur ° C	<i>Alternaria citri</i> % r. D.	<i>Trichoderma lignorum</i> % r. D.
5	100—94,2	—	25	100—85,8	100—90,8
10	100—90,8	100—95,6	30	100—83,8	100—94,2
18	100—87,6	100—92,6	37	100—87,6	100—95,6

Angaben über den Prozentsatz der Keimung verschiedener Pilzsporen, bei verschiedener relativer Luftfeuchtigkeit und Temperatur finden sich auch bei Rippel (Tabelle VI).

Tabelle VI.

	95 % r. D.		90 % r. D.	
	20° C	5° C	20° C	5° C
<i>Cladosporium fulvum</i>	100	100	60	50
„ <i>herbarum</i>	85	80	—	—
<i>Botrytis cinerea</i>	85	80	—	—
„ <i>spec.</i>	100	100	85	80
<i>Penicillium glaucum</i>	100	100	80	70

Sowohl bei 20° C wie bei 5° beobachtete Rippel bei 100% r. D. immer ausnahmslos, bei 85% nie Keimung. Die Benachteiligung bei tiefer Temperatur kommt in seinen Versuchen lediglich zum Ausdruck durch den teilweise erniedrigten Prozentsatz der keimenden Sporen bei tieferer relativer Dampfspannung und durch die Verlängerung der Keimzeit (die Werte bei 20° sind nach 5 Tagen, diejenigen bei 5° nach 10 Tagen ermittelt). Eine Verschiebung des Grenzwertes selbst ist daraus nicht zu entnehmen. Allerdings lassen sich bei den weiten Abstufungen von 5% r. D. einerseits und bei der willkürlichen Begrenzung der Versuchszeit andererseits keine genauen Schlüsse auf die endgültigen Grenzwerte ziehen, doch müßte eine Verschiebung derselben in der Größenordnung, wie sie Tomkins beobachtete, bei so starken Temperaturunterschieden wie 5° und 20° und einer Abstufung von 5% r. D. schon zum Ausdruck kommen.

Um die Wirkung verschiedener Temperaturen zu untersuchen, wurden dreierlei Parallelkulturen angesetzt: 1. Im ungeheizten Raum bei durchschnittlich 10° C; die Werte schwankten zwischen 7° und 12°;

Tabelle VII. *Oidium lactis*.

r. D. in %	10° C	20° C	30° C
92,6	Keimung nach 4 bis 5 Tagen; Hyphen bleiben klein	Versuch nicht durchgeführt	Keimung nach 2 Tagen; Hyphen bleiben klein
91,8	Versuch nicht durchgeführt	Dasselbe	Kurze Ausstülpungen, wachsen nicht weiter
91,2	0	Kleine dichte Kolonie	0
90,6	0	Alle Sporen mit kurzen Ausstülpungen	0
90,0	0	Vereinzelte kurze Ausstülpungen	0
89,2	0	0	0

Tabelle VIII. *Phycomyces nitens*.

r. D. in %	10° C	20° C	30° C
91,2	Kleine Kolonie	Nicht untersucht	Kleine dichte Kolonie
90,6	Einzelne dünne Hyphen	„ „	„ Ausstülpungen
90,0	Kleine Ausstülpungen	„ „	0
89,2	Einzelne Ausstülpungen	„ „	0
88,4	0	Dichte kleine Kolonie	0
87,5	0	Kleine dicke Hyphen	0
86,6	0	„ Ausstülpungen	0
85,8	0	0	0

Tabelle IX. *Aspergillus glaucus*.

r. D. in %	20° C	30° C
76,5	Kolonie erreicht nach 41 Tagen den Rand der Gelatine; Konidien ausgebildet	Kolonie erreicht nach 10 Tagen den Rand der Gelatine; Konidien ausgebildet
74,8	Nach 28 Tagen Keimung; nach 50 Tagen kleine Kolonie ohne Konidien	Nach 6 Tagen Keimung; nach 20 Tagen Konidien
73,3	Nach 65 Tagen Keimung; kleine Ausstülpungen, wachsen nicht weiter	Nach 7 Tagen Keimung; nach 45 Tagen Rand der Gelatine erreicht; Konidien ausgebildet
71,8	0	Nach 11 Tagen Keimung; Ausstülpungen bleiben klein
70,8	0	Nach 29 Tagen Keimung; Ausstülpungen bleiben klein
69,8	0	0

Tabelle X. *Penicillium glaucum*.

r. D. in °	20° C	30° C
83,7	Versuch nicht durchgeführt	Keimung nach 5 Tagen; Kolonie bleibt klein
80,8	Nach 6 Tagen Keimung; Konidien nach 11 Wochen	0
78,3	Nach 26 Tagen Keimung; Kolonie bleibt klein, ohne Konidien	0
77,8	Nach 26 Tagen Keimung; einzelne kurze Hyphen werden ausgebildet	0
77,5	0	0

Tabelle XI. *Rhizopus nigricans*.

r. D. in %	20° C	30° C
85,5	Nach 7 Tagen Keimung; nach 35 Tagen Kolonie 130 × 85 Teilstriche groß	Nach 7 Tagen kleine Ausstülpungen; nach 20 Tagen nicht weitergewachsen
85,0	Nach 11 Tagen Keimung; nach 35 Tagen Kolonie 30 × 60 Teilstriche groß	0
84,1	Nach 15 Tagen Keimung; nach 35 Tagen Länge der Hyphen 5 × 10 Teilstriche	0
83,7	Sporen gequollen; kein Wachstum	0

hielten sich aber meist bei 9° und 10°. 2. Im geheizten Zimmer bei durchschnittlich 20°. 3. Im Thermostaten bei meist 30°. (Es kamen Abweichungen von 28° bis 32° vor.) Die Versuche bei 10° wurden nur mit *Phycomyces* und *Oidium* durchgeführt, bei 20° und 30° außerdem mit *Aspergillus glaucus*, *Penicillium glaucum* und *Rhizopus nigricans*. Die Versuchsergebnisse sind in den vorstehenden Tabellen VII bis XI wiedergegeben.

Eine Zusammenstellung der Grenzwerte bei verschiedener Temperatur ergibt also:

	10° C %	20° C %	30° C %
<i>Aspergillus glaucus</i>	—	73,3	70,8
<i>Penicillium glaucum</i>	—	77,8	83,7
<i>Rhizopus nigricans</i>	—	84,1	85,5
<i>Phycomyces nitens</i>	89,2	86,6	90,6
<i>Oidium lactis</i>	92,6	90,0	91,8

Diese Zahlen zeigen die deutliche Beeinflussung der Grenzwerte der Keimung durch die Temperatur. Die Abweichungen bei 10⁰ Temperaturunterschied betragen zwischen 1,4 und 5,9% r. D. und lassen eine bestimmte Gesetzmäßigkeit erkennen: die Grenzwerte liegen am tiefsten bei einer optimalen Temperatur, die für die einzelnen Schimmelpilze verschieden ist. Bei *Aspergillus* liegt diese etwa bei 30⁰, bei allen übrigen hier untersuchten Pilzen etwa bei 20⁰. Die in meinen Versuchen ermittelten Abweichungen der Grenzwerte entsprechen denen, die *Tomkins* bei *Alternaria* und *Trichoderma* fand. Sehr gut stimmt damit auch überein, was *Tammes* über die Verschiebung des Grenzwertes der Keimung von *Aspergillus Sydowi Sartory* bei verschiedener Temperatur findet: er bestimmt das tiefste Hydraturminimum mit 77% r. D. bei etwa 30⁰ C. Dieser Pilz ist also etwas feuchtigkeitsliebender als der bei mir untersuchte *Aspergillus*, zeigt aber in bezug auf die Temperatur das gleiche Verhalten, ja die Temperaturabhängigkeit tritt bei ihm noch stärker hervor: *Tammes* findet bei 10⁰ Temperaturabweichung vom Optimum, d. h. bei 20⁰ und 40⁰ C, ein Hydraturminimum von je 85% r. D. statt 77%, also eine Verschiebung des Grenzwertes, die die größte bei mir festgestellte Abweichung bei *Penicillium glaucum* sogar noch etwas übertrifft.

Daß von einer Verschiebung der Grenzwerte bei Änderung der Temperatur in der Arbeit von *Rippel* nichts beobachtet wurde, muß vor allem an den verhältnismäßig großen Abstufungen der relativen Dampfspannung liegen. *Rippel* ging ja in seiner Arbeit auch nicht darauf aus, möglichst genaue Grenzen der Keimung festzustellen. Seine Versuche zeigten, daß für die Keimung der Sporen die Höhe der vorhandenen relativen Luftfeuchtigkeit in erster Linie maßgebend ist, daß dagegen die in der Luft vorhandene absolute Feuchtigkeitsmenge für die Keimung eine untergeordnete Bedeutung hat; denn die absolute Feuchtigkeitsmenge in der Luft bei 100% r. D. und 5⁰ C ist um 53,7% geringer als bei 85% r. D. und 20⁰; trotzdem tritt im 1. Fall 100%ige Keimung ein, im letzteren Fall keine. Daß die absolute Feuchtigkeitsmenge in der Luft aber nicht für die Verschiebung der Grenzwerte bei wechselnder Temperatur verantwortlich gemacht werden darf, geht auch deutlich aus unseren Versuchen hervor. Sonst wäre es unverständlich, daß die Grenzwerte der meisten Pilze bei 30⁰ entschieden ungünstiger liegen als bei 20⁰, während doch die absolute Feuchtigkeit der Luft bei 30⁰ bedeutend größer ist als bei der entsprechenden relativen Dampfspannung und 20⁰. *Es muß sich vielmehr um eine unmittelbare Einwirkung des Temperaturfaktors handeln: bei der für die Entwicklung des Pilzes optimalen Temperatur sind die gesamten Lebensfunktionen des Organismus gefördert und dadurch ist auch seine Widerstandsfähigkeit gegen ungünstige Hydraturverhältnisse erhöht.*

Der Einfluß des Lichts.

Die Versuche wurden im geheizten Zimmer bei etwa 20° C durchgeführt am hellen Nordfenster. Für jede Feuchtigkeitsstufe wurden vier Schälchen angesetzt und davon stets je zwei sofort nach der Impfung unter Pappdeckeln dunkelgestellt. Untersucht wurden *Aspergillus glaucus*, *Phycomyces nitens*, *Sporodinia grandis*, *Rhizopus nigricans*, *Oidium lactis*. — Mit Ausnahme von *Aspergillus glaucus* ließ sich keinerlei Beeinflussung des Wachstums und der Grenzwerte durch das Licht feststellen, die bei *Aspergillus glaucus* aufgetretenen Unterschiede in den Hell- und Dunkelkulturen sind in Tabelle XII zusammengestellt.

Tabelle XII. *Aspergillus glaucus*.

r. D. in %	20° C hell	20° C dunkel
76,5	Nach 60 Tagen Rand der Gelatine noch nicht erreicht; kleine Kolonie ohne Konidien	Nach 41 Tagen hat die Kolonie den Rand der Gelatine erreicht und Konidien ausgebildet
74,8	Keimung nach 40 Tagen; nach 55 Tagen Länge der Hyphen 10 bis 15 Teilstriche	Keimung nach 28 Tagen; nach 55 Tagen Länge der Hyphen 30 bis 90 Teilstriche
73,3	Nach 65 Tagen zeigen wenige Sporen kleine Wachstumsansätze; meiste tot	Nach 65 Tagen: 0
72,5	0	0

Bei den Dunkelkulturen ist eine Förderung des Wachstums festzustellen und gleichzeitig ist die Grenze für die Konidienbildung herabgesetzt; auch ist die Keimzeit bei Dunkelheit verkürzt. Das Licht hat offenbar hemmend auf Keimung und Entwicklung des Pilzes gewirkt, doch sind die Unterschiede zwischen Hell- und Dunkelkulturen im ganzen gesehen nur gering. Ob der Grenzwert ebenfalls eine Verschiebung erleidet, ist nicht mit Sicherheit festzustellen; der bei 73,3% vorhandene Unterschied ist zu unbedeutend, um daraus irgendwelche Rückschlüsse zu ziehen. Wenn eine Beeinflussung des Grenzwertes durch das Licht vorliegt, so kann sie jedenfalls nur äußerst gering sein.

Die Beeinflussung der Grenzwerte durch allmähliche Gewöhnung an niedere relative Dampfspannung.

Die Frage nach der Anpassungsfähigkeit der *Schimmelpilze* und *Bakterien* an stärkere Konzentration des Substrats bei allmählicher Gewöhnung durch mehrere Generationen hat vielfach Beachtung gefunden. Schon bei *Eschenhagen* findet sich die Bemerkung: „Auffallend ist die Beobachtung, daß die Konidien, welche unter gewöhnlichen Verhältnissen in gewissen Konzentrationen nicht mehr keimen, diese Grenzen zu überschreiten vermögen.

wenn die Mutterpflanze selbst an stärkere Lösungen gewöhnt wurde.“ *Eschenhagen* führt allerdings selbst keine Versuche an, die diese Bemerkung bestätigen; dagegen befaßt sich *Errera* eingehend mit der Frage einer solchen Anpassungsfähigkeit an Hand von Versuchen, die *Hunger* mit *Aspergillus niger* durchgeführt hat. Er vergleicht drei Stämme des Pilzes, von denen einer (A) in gewöhnlicher *Raulinscher* Nährlösung, der zweite (B) während einer Generation auf der Nährlösung mit einem Zusatz von 6% NaCl gezüchtet war, der dritte (C) zwei Generationen lang auf der salzhaltigen Nährlösung. Die drei Stämme wurden nun in Nährlösungen mit starkem Salzgehalt (von 18,4% NaCl aufwärts) übergeimpft, und nach 5 Tagen zeigte sich folgendes Ergebnis in Nährlösung mit 18,4% NaCl:

Stamm A: keine Keimung;

Stamm B: schwache Keimung (nur mikroskopisch sichtbar);

Stamm C: deutliches Wachstum mit bloßem Auge sichtbar.

Bei Zusatz von 18,8% NaCl trat in keinem Falle Keimung ein. Die gleichen Ergebnisse wurden erzielt, wenn die Stämme A, B, C eine Generation lang in gewöhnlicher Nährlösung gezüchtet und dann wieder den Versuchsbedingungen des ersten Versuchs unterworfen wurden. *Errera* schließt daraus, daß es sich bei *Aspergillus* um eine „erblich erworbene physiologische Anpassung“ handelt.

Auch *Raciborsky* untersucht die Akkomodation bei einem Stamm von *Aspergillus glaucus*, der in gesättigter Kochsalzlösung wuchs. Verglichen wird das Verhalten der Sporen aus gesättigter Kochsalzlösung mit solchen aus der gleichen Kultur, die aber 3 Wochen vorher auf Kartoffeln übertragen worden waren. Das Ergebnis zeigt Tabelle XIII.

Tabelle XIII. *Aspergillus glaucus*.

	In salzfreier Nährlösung	Nährlösung mit NaCl gesättigt
Sporen aus gesättigter NaCl-Lösung	Keine Sporen gekeimt	Alle Sporen gekeimt; langsames Wachstum
Sporen aus Kartoffelkultur	Alle Sporen gekeimt; rasches Wachstum	Wenig Sporen gekeimt; langsames Wachstum

Raciborsky schließt aus diesen Ergebnissen, daß die Sporen so beeinflusst werden, daß sie zunächst in einer der Mutterlösung isotonischen Konzentration am besten wachsen. Diese Anpassung erlischt aber sehr bald. Da die Sporenbildung ein vegetativer Teilungsprozeß ist, wäre diese Anpassung nicht als Erblichkeitserscheinung, sondern als langsam ausklingende Anpassung der vegetativen Zellen zu deuten.

Bei *Phycomyces nitens* wurde die Anpassungsfähigkeit von *Orban* untersucht. Sie kultivierte einen Stamm durch acht Generationen auf NaCl-haltigem Malzagar, fand aber beim Vergleich dieser Sporen mit den auf salzfreien Nährböden kultivierten keinen nennenswerten Unterschied. — Eine starke Anpassungsfähigkeit an konzentrierte Salzlösungen stellt dagegen *T. Hof* bei verschiedenen Bakterien fest: eine alte Reinkultur von *Bacillus subtilis* ertrug zunächst nur 6% NaCl (43 Atm. = 96,8% r. D.); durch Übertragung war später Wachstum bis 12% NaCl (92 Atm. = 93,3% r. D.) möglich. Noch wesentlich größer war die Akkomodation bei frisch

isolierten Kulturen. - Aus salzfreier Umgebung isolierte *Harnstoffbakterien* ertrugen nur 6 % NaCl. Der aus salzfreier Umgebung isolierte, in 6 % NaCl gezüchtete Stamm wuchs bis zu 24 % NaCl (220 Atm. = 85 % r. D.). Diese letztere Kultur konnte dann aber in salzfreier Umgebung nicht mehr gedeihen.

Das sind im ganzen genommen sehr widersprechende Ergebnisse, vor allem in bezug auf die *Schimmelpilze*. Die Arbeiten von *Errera* und *Raciborsky* mit *Aspergillus* zeigen nur Versuche, die sich über ein oder zwei Generationen erstrecken und führen die Verfasser zu dem Schluß, daß eine merkliche Anpassung an die Salzkonzentration erzielt wird, während *Orban*, die durch acht Generationen *Phycomyces* auf salzhaltigem Nährboden kultiviert, keine wesentliche Änderung in der Entwicklung des Pilzes beobachtet. Außerdem bleibt bei sämtlichen Versuchen die Frage offen, ob sich der Pilz an die veränderten Hydraturverhältnisse angepaßt hat oder an die chemische Wirkung des Salzes.

Bei unseren nach der *Walterschen* Methode durchgeführten Versuchen scheidet das letztere aus, es wird nur die Anpassung an niedere relative Dampfspannung untersucht. Die Versuche erstrecken sich nur auf ein bis drei Generationen; wenn die Abstufung der relativen Dampfspannung aber entsprechend klein gewählt ist, muß sich auch da schon eine beginnende Anpassung nachweisen lassen. Als Versuchspflanzen dienten *Rhizopus nigricans* und *Aspergillus glaucus*.

Rhizopus nigricans.

Es wurden folgende Kulturen verglichen: A. Sporen aus Kultur von 99% r. D., also aus nahezu wasserdampfgesättigtem Raum. B. Sporen aus Kultur von 92% r. D., d. h. nahe der unteren Grenze der Sporangienbildung. Die Entwicklung dieser bei verschiedener relativer Dampfspannung entstandenen Sporen in der Nähe des Grenzwertes für die Keimung von *Rhizopus nigricans* gibt Tabelle XIV wieder. Die Sporen A und B verhalten sich vollkommen gleich; die kleinen Abweichungen liegen innerhalb der Versuchsfehlergrenzen. In der zweiten und dritten Generation wurde die Verschiebung des Grenzwertes der Keimung nicht untersucht, dagegen die Grenze der Sporangienbildung: bei 90 und 89,2% r. D. gebildete Sporen wurden während drei Generationen bei der gleichen Luftfeuchtigkeit kultiviert; bei 89,2% r. D. wurden jedesmal Sporangien ausgebildet, bei 88,3% r. D. nie. Die Entwicklung der Pilze, deren Sporen während mehrerer Generationen an niedere relative Dampfspannung gewöhnt waren, verlief also im wesentlichen gleich wie die der Normalkulturen; *Rhizopus* zeigte keinerlei Anpassungserscheinungen.

Tabelle XIV. *Rhizopus nigricans*.

	86,4 ‰ r. D.	85,5 ‰ r. D.	84,6 ‰ r. D.
Nach 3 Tagen	A: Keimung beginnt B: Sporen gequollen	0	0
Nach 4 Tagen	A: Keimung stark B: Sporen gequollen	0	0
Nach 7 Tagen	A: } Wachstum B: } gleichmäßig	A: Keimung bei einigen Sporen B: Keimung all- gemein	0
Nach 16 Tagen	A: } Wachstum B: } gleichmäßig	A: } Kurze B: } Ausstülpungen	A: } Sporen teils ge- quollen; keine B: } Keimung
Nach 30 Tagen	A: } Größe der B: } 120 × 120 Teil- striche	A: Kurze Ausstül- pungen B: Wie A; an einer Stelle längere Hyphen	A: } Sporen ge- quollen; keine B: } Keimung

Aspergillus glaucus.

Die Versuche wurden in Thermostaten bei 30° durchgeführt. Zum Vergleich dienen: A. Sporen aus normaler Kultur in Petri-Schalen auf Malzwürzegeleatine. B. Sporen aus Schälchen von 75,5‰ r. D. Tabelle XV gibt die Entwicklung dieser verschiedenen Sporen wieder.

Tabelle XV. *Aspergillus glaucus*.

	73,3 ‰ r. D.		71,8 ‰ r. D.	
	A	B	A	B
4 Tage	0	Keimung	0	0
7 „	Keimung	H. 5 bis 7	0	Keimung
11 „	H. bis 10	H. 20 „ 30	Keimung	H. 6
22 „	27 × 30	50 × 52	Kleine Ausstülpungen	H. 25 bis 30
29 „	198 × 234	288 × 288	H. 2 bis 4	H. 30 „ 50
45 „	594 × 612 Konidien	324 × 342	H. 2 „ 4	H. 40 „ 60

	70,8 ‰ r. D.		69,8 ‰ r. D.	
	A	B	A	B
22 Tage	0	Keimung	0	0
29 „	Keimung	Kleine Aus- stülpungen	0	0
45 „	Kleine Ausstülpungen, nicht weiter gewachsen		0	Keimung

H. = Länge der einzelnen Hyphen. — Die Größe der Kolonien ist gemessen mit Stufenokularmikrometer II und Seibert-Objektiv 2¹/₂.

Aspergillus zeigt also zunächst im Gegensatz zu *Rhizopus* Unterschiede in den Kulturen: die bei niederer relativer Dampfspannung gebildeten Sporen zeigen den normalen gegenüber bei der Keimung in sehr trockener Umgebung Vorteile. Die Keimung tritt rascher ein, und dementsprechend sind die Kulturen in der Entwicklung zunächst voraus. Späterhin verwischen sich aber die Unterschiede zum Teil wieder; so hat bei 73,3% nach 45 Tagen Kultur A die Kultur B überflügelt; bei 71,8% bleibt Kultur B im Vorteil, bei 70,8% sehen die Kulturen nach 45 Tagen völlig gleich aus. Ob bei 69,8% bei längerem Zuwarten Kultur A auch noch gekeimt wäre, konnte nicht festgestellt werden. Jedenfalls ist der tatsächliche Unterschied der Sporen A und B noch außerordentlich gering, der Vorteil der B-Sporen gegenüber A macht weniger als 1% r. D. aus. Die festgestellten Unterschiede verlieren noch an Bedeutung, wenn wir das Ergebnis der zweiten, bei geringer relativer Dampfspannung gewachsenen Generation betrachten (die erste Generation wurde bei 75,5% r. D., die zweite bei 73,3% r. D. kultiviert): Die Sporen der zweiten Generation keimten bei 71,8% r. D. nach 8 Tagen, nahmen also eine Mittelstellung zwischen Kultur A und B der ersten Generation ein. Bei 70,8% r. D. und darunter erfolgte überhaupt keine Keimung, die Sporen starben ab. Worauf die Benachteiligung der zweiten Generation bei 70,8% den beiden Kulturen der ersten Generation gegenüber zurückzuführen ist, scheint unsicher; wesentlich ist, daß bei der zweiten Generation keinerlei Vorteile gegenüber der ersten Generation zu beobachten sind. Es kann daraus also geschlossen werden, daß die in der ersten Generation zunächst festgestellten geringen Anpassungen auch bei längerer Gewöhnung nicht wesentlich zunehmen.

Die Ansicht, daß bei den Schimmelpilzen eine wesentliche Anpassung stattfindet, kommt wohl zum Teil daher, daß vielfach nur die erste Entwicklung der Sporen untersucht wurde und weniger die Endstadien der Entwicklung. Vor allem in den von *Errera* zitierten Versuchen fällt dies auf, wo sämtliche Ergebnisse schon nach fünf-tägiger Versuchsdauer festgestellt sind. Der Versuch, in dem ein an Salz gewöhnter Stamm der ersten Generation wieder salzfrei kultiviert war und noch seine Anpassung an Salz beibehalten hatte, bedarf wohl weiterer Bestätigung. Die hier untersuchten Schimmelpilze zeigten, daß die Grenzwerte nicht oder sehr wenig beeinflußt werden durch die relative Feuchtigkeit, bei der die Bildung der Sporen stattgefunden hat. Die Gewöhnung an hohe Salzkonzentrationen darf damit nicht ohne weiteres gleichgesetzt werden, weil dabei gleichzeitig eine Gewöhnung an die Giftwirkung des Salzes vorliegen kann. Die für die Schimmelpilze in der Literatur verzeichneten Beobachtungen erlauben jedoch keine exakten Schlüsse, inwieweit eine solche Anpassung möglich

ist. Die dort erwähnten Unterschiede erscheinen gering gegenüber denen bei Bakterien, wo nach den Untersuchungen von *T. Hof* die Grenzwerte sich sehr weitgehend durch Anpassung an die Salzkonzentration verschieben können.

Die Grenzwerte in Lösungen.

Die in der Literatur verzeichneten Grenzwerte für *Schimmelpilze* in Lösungen gehen stark auseinander. Bei *Eschenhagen* sind folgende Zahlen angegeben:

	% NaCl	In r. D. umgerechnet %	% CaCl ₂	In r. D. umgerechnet %
<i>Penicillium glaucum</i> ..	19	88,4	17	93,8
<i>Aspergillus niger</i>	17	89,8	18	93,4

Errera findet als Grenzwert für *Aspergillus niger* 20% NaCl (Volumprozent), das entspricht 198 Atm. oder 86,2% r. D. — Während diese Zahlen darauf hindeuten, daß das Wachstum in Salzlösungen schon früher aufhört, als es bei rein osmotischer Hemmung der Fall ist, geben die von *Raciborsky* mitgeteilten Tatsachen ein ganz anderes Bild. *Raciborsky* infizierte eine gesättigte Zuckerlösung mit verschiedenen Pilzen. Von den zahlreich wachsenden Mikroorganismen ertrugen zwei das Übertragen in gesättigte NaNO₃- und dann NaCl-Lösung (369 Atm. = 76% r. D.), und bildeten da 1½ Jahre nach Beginn der Versuche die ersten Sporen. Es war ein *Aspergillus glaucus* und eine *Torula*-Art. Bei der Übertragung in gesättigte LiCl-Lösung starb *Aspergillus* ab, dagegen wuchs *Torula* weiter, „nicht in Hyphen, sondern in kleinen, losen oder zu wenigen zusammenhängenden Zellen.“ Für den osmotischen Wert einer gesättigten LiCl-Lösung finden sich keine Angaben; doch beträgt nach *Dieterici* der osmotische Wert einer Lösung von 42,5 g LiCl in 100 g Wasser 1060 Atm. Eine bei 20° gesättigte Lösung enthält aber 80,8 g LiCl auf 100 g Wasser. Durch Extrapolation aus den Angaben *Dieterici*s erhält man dafür einen Wert von etwa 2700 Atm. oder 11% r. D., also eine Zahl, die vollkommen aus allen bisher festgestellten Grenzwerten herausfällt und die Annahme nahelegt, daß die Grenzwerte in Lösungen bedeutend tiefer liegen müssen als auf festem Substrat.

Zur Klärung dieser Frage wurden Versuche mit *Penicillium glaucum* in Zucker- und Salzlösungen angestellt.

Die Entwicklung in Zuckerlösungen.

Bei der Besprechung der Frage des Wachstumsoptimums wurde schon gezeigt, daß die Wachstumskurve von *Penicillium glaucum* auf festem Substrat durchaus ähnlich verläuft wie diejenige in Zuckerlösung. Von etwa 95% r. D. an setzt der Abfall der Kurven ein. Vergleicht man die beiden Kurven nun in der Nähe des Grenzwertes (Abb. 7 und 11), so könnte man zunächst annehmen, daß dieser in Zuckerlösung bei höherer relativer Dampfspannung liegt als auf festem Substrat: denn

die Wachstumskurve, die aus der Versuchsreihe in Zuckerlösungen nach 26 Tagen ermittelt ist, endigt schon bei 85% r. D., während diejenige des Pilzes auf festem Substrat nach 6 Tagen bis gegen 80% r. D. hinreicht. Diese Unterschiede erklären sich aber aus der verschiedenen Art und Weise, wie die Versuchsergebnisse verwertet sind: im 1. Falle Kontrolle der Keimung mit bloßem Auge und Angabe der Pilzgewichte, wozu immerhin ein beträchtliches Wachstum des Pilzes erforderlich ist, verglichen mit der Beobachtung und Messung unter dem Mikroskop, die im 2. Falle angewendet wurde.

Eine bei 20⁰ gesättigte Zuckerlösung enthält 67 g Zucker in 100 g Lösung und besitzt einen osmotischen Wert von 220 Atm. oder 85% r. D. In ihr war das Wachstum von *Penicillium* nach 13 Tagen mit bloßem Auge schwach sichtbar, die Konidienbildung nach 5 Wochen; die nach 9 Wochen festgestellten Erntegewichte ergaben zwischen 0,03 und 0,05 g, entsprachen also etwa der Entwicklung des Pilzes nach 26 Tagen zwischen 90 und 92% r. D. Genaue Vergleiche der Grenzwerte lassen sich nicht ziehen, da in gesättigter Zuckerlösung der Grenzwert für *Penicillium* noch nicht erreicht ist. Immerhin deutet schon die Entwicklungszeit des Mycels und der Konidien in gesättigter Zuckerlösung und der Grad, in dem die Erntegewichte von der steigenden Zuckerkonzentration abhängig sind, darauf hin, daß hier grundsätzlich ähnliche Verhältnisse wie in den Versuchen auf festem Substrat vorliegen: bei 85% r. D. ist in beiden Fällen die Entwicklung schon stark verzögert und gehemmt; bei längerer Versuchsdauer vermag der Pilz aber noch ansehnliche Kolonien mit zahlreichen Konidienträgern zu bilden.

Die Entwicklung in Salzlösungen.

Wie schon aus den Angaben *Eschenhagens* und anderer hervorgeht, ist zu erwarten, daß bei den Grenzwerten in verschiedenen Salzlösungen Unterschiede auftreten, die durch die spezifisch chemische Wirkung des betreffenden Salzes auf die Organismen bedingt sind. Es wurden daher Versuche in verschiedenen Lösungen angesetzt, und zwar in NaCl-, KCl-, CaCl₂- und äquilibrierter Lösung. Der letzteren ist die Zusammensetzung nach *van 't Hoff* zugrunde gelegt (*Kostytschew*, 1. Bd., S. 256); sie enthält auf 1 G. Mol = 58,4 g NaCl: 3,7 g MgCl₂, 2,3 g MgSO₄, 1,64 g KCl und 1,1 g CaCl₂. Die Zusammensetzung der äquilibrierten Lösungen beruht auf Erfahrungen, die unter anderem *Loeb* an *Fundulus*-Eiern, *Ostwald* an *Gammarus pulex* und *Osterhout* an *Algen*, *Lebermoosen* und *Gramineensamen* gemacht haben; während reine Salzlösungen von den Organismen sehr schlecht ertragen werden, kann durch Zusatz kleiner Mengen anderer Salze im bestimmten Verhältnis die Giftwirkung der Salzlösung weithin kompensiert werden. Es sollte

festgestellt werden, inwieweit solche Ausgleichswirkungen auch bei *Schimmelpilzen* zu beobachten sind.

Die in den Salzlösungen nach 4 Wochen ermittelten Erntegewichte sind in Abb. 18 wiedergegeben. Die *Erlenmeyer*-Kolben, in denen mit bloßem Auge kein Wachstum wahrzunehmen war, wurden 4 Wochen nach der Impfung mikroskopisch untersucht; nach 9 Wochen hatte sich an diesem Ergebnis nichts mehr geändert. Tabelle XVI gibt einen Überblick über die für *Penicillium glaucum* ermittelten Grenzwerte.

Tabelle XVI. *Penicillium glaucum*.

	Osm. Wert in Atmosphären	r. D. in %	
NaCl	188	86,9	Teil der Sporen zu kleiner steriler Kolonie ausgewachsen; andere nicht gekeimt 0
	241	83,5	
Äquilibrierte Lösung	205	85,6	Oberfläche zur Hälfte mit Mycel bedeckt; Konidien ausgebildet 0
	262	81,9	
KCl	173	88,2	Oberfläche $\frac{3}{4}$ mit Mycel bedeckt; Konidien ausgebildet Einige kleine Kolonien, steril, untergetaucht
	220	84,8	
CaCl ₂	89	93,5	Auf Oberfläche einige kleine sehr dichte Kolonien, steril, teilweise untergetaucht Kleine sterile Kolonien von wenigen Zellen, in der Lösung schwimmend 0
	123	91,1	
	160	88,6	

Die gewählten Abstufungen sind zwar zu groß, als daß genaue Grenzwerte hätten festgestellt werden können; doch gibt die Tabelle zusammen mit den in Abb. 18 verzeichneten Erntegewichten trotzdem ein Bild von der Wirkung der einzelnen Salze. Die Grenzwerte in sämtlichen Salzlösungen liegen bei wesentlich höherer relativer Dampfspannung als der für festes Substrat ermittelte Wert von 77,8% r. D. Am günstigsten sind die Verhältnisse noch bei der äquilibrierten und der KCl-Lösung. Die Erntegewichte der Pilzdecken sind hier am höchsten, bei der äquilibrierten Lösung eher noch etwas höher als bei KCl. Die Grenzwerte dürften zwischen 82 und 84% r. D. liegen. Die Erntegewichte in reiner Kochsalzlösung bleiben dagegen deutlich zurück, auch der Grenzwert wird etwa um 2% r. D. höher liegen. Der Vorsprung der Kulturen in äquilibrierter Lösung gegenüber reiner Kochsalzlösung fällt schon bei äußerlicher Betrachtung auf: in der Kochsalzlösung von 86,8% r. D. sind z. B. nur einige kleine, mit bloßem Auge

kaum wahrzunehmende, sterile Kolonien ausgebildet, während in der entsprechenden äquilibrierten Lösung bei 85,6% r. D. noch die Hälfte der Oberfläche von dem Pilz bedeckt ist, der zahlreiche Konidien ausgebildet hat. Daß auch Kaliumchlorid besser ertragen wird als Kochsalz, stimmt überein mit Versuchen von *Kroemer* und *Krumbholz* an osmophilen *Sproßpilzen*, die sich gegen Kaliumsalze durchweg weniger empfindlich zeigten als gegen Natriumsalze. Noch bedeutend stärker als die Hemmung durch Kochsalz ist diejenige durch CaCl_2 , wo auch besonders das frühe Ausbleiben der Konidienbildung auffällt. Der Grenzwert liegt hier bei etwa 91% r. D.

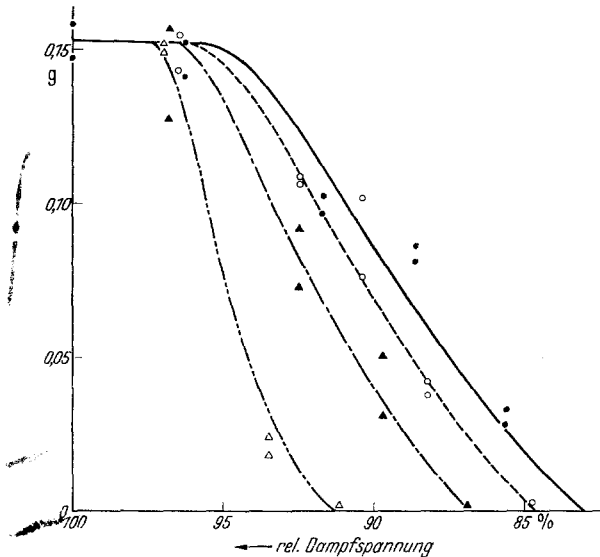


Abb. 18. Wachstumskurven von *Penicillium glaucum* in verschiedenen Salzlösungen: äquilibrierte Lösung —●—, KCl-Lösung —○—, NaCl-Lösung —△—, CaCl_2 -Lösung —△—. Ordinate: Trockengewichte der Pilzdecken in Gramm.

Zu entsprechenden Ergebnissen über die Wirkung der einzelnen Salze führte auch eine mit *Rhizopus nigricans* durchgeführte Versuchsreihe, deren Ergebnisse Tabelle XVII wiedergibt. Zwischen NaCl, KCl und äquilibrierter Lösung sind hier zwar keine Unterschiede wahrzunehmen. Der Grenzwert liegt bei allen drei Lösungen etwa bei 90% r. D., also wieder bedeutend höher als der Grenzwert in feuchter Luft mit 84,1% r. D. Besonders deutlich ist wie bei *Penicillium* die Hemmung durch CaCl_2 , wo sich schon bei 97% r. D. nur noch ein äußerst kümmerliches, steriles Mycel ausbilden kann. Der Grenzwert für CaCl_2 wird wenig unterhalb von 97% r. D. liegen.

Tabelle XVII. *Rhizopus nigricans*.

	Osm. Wert in Atmosphären	r. D. in ‰	
NaCl	104	92,5	Einige kleine sterile Kolonien, untergetaucht; an einer Stelle der Oberfläche wenige Sporangienträger
	144	89,7	Manche Sporen stark kugelig angeschwollen; kein weiteres Wachstum
	188	86,9	0
Äquilibrierte Lösung	115	91,7	Einige dichte kleine Kolonien; steril, untergetaucht
	158	88,6	Etliche Sporen stark kugelig angeschwollen mit Wachstumsansatz; nicht weiter gewachsen
	205	85,6	0
KCl	103	92,5	Einige dichte kleine Kolonien, steril, untergetaucht
	134	90,4	Etliche Sporen stark kugelig angeschwollen, nicht gewachsen
	173	88,2	0
CaCl ₂	40	97,0	Kleine sehr dichte untergetauchte Mycelflöckchen, steril, mit blasigen Ausstülpungen
	89	93,5	0

Für beide Pilze gilt also, daß der Grenzwert in CaCl₂-Lösung etwa um 12‰ höher liegt als bei den Kulturen in feuchter Luft auf festem Substrat, in NaCl-, KCl- und äquilibrierter Lösung etwa um 6‰ r. D. bzw. bei *Penicillium* in der Kochsalzlösung um 7 bis 8‰ r. D. höher. Die Giftwirkung der Salze ist bei CaCl₂ besonders deutlich: ein Vergleich der Versuche mit *Penicillium* in NaCl und äquilibrierter Lösung zeigt, daß sie z. B. bei NaCl vermindert werden kann, aber nicht so stark, daß der Grenzwert dem bei rein osmotischer Hemmung gefundenen gleichkäme.

Wie stimmen nun diese Versuchsergebnisse mit den Angaben *Raciborskys* überein? Daß *Aspergillus glaucus* in gesättigter Kochsalzlösung wuchs und fruktifizierte, läßt sich mit dem oben ermittelten Grenzwert auf festem Substrat von 73,3‰ r. D. bei 20° und 70,8‰ r. D. bei 30° gut vereinigen. Ein zur Kontrolle mit *Aspergillus glaucus* angestellter Versuch in Schälchen über gesättigter Kochsalzlösung bei Zimmertemperatur im Dunkeln ergab Keimung nach 20 Tagen und Konidien nach 2 Monaten. Der zunächst hemmende chemische Einfluß des Salzes kann in *Raciborskys* Kulturen durch allmähliche Gewöhnung während der langen Versuchsdauer vermindert sein. Vollkommen rätselhaft bleibt aber die Angabe über die in gesättigter LiCl-Lösung

wachsende *Torula*, die um so unverständlicher ist, als *Raciborsky* selbst angibt, daß die Pilze in LiCl-Lösungen langsamer und kümmerlicher wuchsen als in isotonischen Kochsalzlösungen.

Unsere Versuche zeigen, daß wir das absolute Hydraturminimum eher durch Versuche in feuchter Luft als durch solche in Salzlösungen finden werden. Sind wir nun mit dem tiefsten hier festgestellten Grenzwert für *Aspergillus glaucus* bei 30° in feuchter Luft von 70,8% in der Nähe der absoluten unteren Feuchtigkeitsgrenze für die Organismen angelangt? Außer dem Ergebnis von *Raciborsky* bei *Torula*, das wohl weiterer Bestätigung bedarf, findet sich nur eine Angabe in der Literatur, die dagegen spricht: Der Grenzwert von etwa 50% r. D., den *Zeuch* (1934) und *Winter-Günther* (1936) für die xerophile Luftalge *Pleurococcus vulgaris* feststellen. *Zeuch* untersuchte *Pleurococcus*-Zellen in feuchter Luft über CaCl₂-Lösungen und beobachtete noch bei 50% r. D. Zellteilungen. Als Maßstab für die Wachstumsintensität wählte er die Teilungsrate, d. h.:
$$\frac{\text{Summe der Zellteilungen}}{\text{Anzahl der Versuchszellen}}$$
. Tabelle XVIII gibt das Ergebnis eines Versuchs über CaCl₂-Lösung von 50% r. D. wieder.

Tabelle XVIII. *Pleurococcus vulgaris*.

Zeit	Zellen	Teilungen	Teilungsrate	Zeit	Zellen	Teilungen	Teilungsrate
3 Std.	324	43	0,13	5 Tage	199	52	0,26
1 Tag	234	37	0,16	7 „	360	105	0,29
3 Tage	155	36	0,23				

Die Teilungsrate ist zwar gering, nimmt aber stetig zu, je länger der Versuch dauert, so daß sie auf eine wenn auch stark gehemmte Lebenstätigkeit der Alge bei dieser geringen Feuchtigkeit hinweist. Da sich sämtliche Versuche aber nur über wenige Stunden oder Tage erstrecken und meist nur eine einmalige, selten und bei niedriger relativer Dampfspannung nie eine zwei- und dreimalige Teilung der Zellen festgestellt werden konnte, bleibt die Frage offen, ob die beobachteten Teilungen bei dieser geringen Feuchtigkeit nicht nur als ein Ausklingen der Lebenstätigkeit zu deuten sind, das durch irgendwelche Reservestoffe in der Zelle möglich ist. *Winter-Günther*, die die Arbeiten über *Pleurococcus* fortsetzte, kommt zu dem Ergebnis, daß es sich wirklich um eine aktive Lebenstätigkeit, auch bei dieser geringen Feuchtigkeit, handelt; denn die Zahl der Zellteilungen ist abhängig von der Belichtungsstärke, der die Versuchszellen ausgesetzt sind, muß also mit der Assimilation der Zellen zusammenhängen. Es ergeben sich ausgesprochene Optimumkurven, und zwar bis herunter zu einer relativen Dampfspannung von 50%. *Pleurococcus* kann also offenbar noch

wesentlich größere Trockenheit in aktivem Lebenszustand aushalten als die Schimmelpilze. Da auch die Versuche von *Winter-Günther* sich nur über 7 Tage erstrecken und mit Ausnahme von wenigen Fällen in wasserdampfgesättigter Luft immer nur je eine Teilung der Zellen als Versuchsergebnis vorliegt, bleibt die Frage bestehen, ob *Pleurococcus* tatsächlich *auf die Dauer* bei dieser geringen Feuchtigkeit gedeihen kann. Entspricht die Entwicklung der Alge bei dieser Feuchtigkeit dem Stadium unserer Schimmelpilze, das noch ein dauerndes Wachstum und die Entwicklung von normalen Fortpflanzungsorganen gewährleistet, wie es z. B. bei *Aspergillus glaucus* bei 30° und 73,3° r. D. noch der Fall ist, oder ist sie nicht eher den kümmerformen unserer Schimmelpilze in der Nähe des Grenzwertes der Keimung zu vergleichen, die nach einiger Zeit ihr Wachstum einstellen und praktisch keine Entwicklungsmöglichkeit des Pilzes mehr bedeuten? Daß die letztere Annahme wohl zutreffend ist, beweisen zwei Dauerbeobachtungen von *Zeuch*: *Pleurococcus*-Zellen wurden auf Deckgläsern längere Zeit im Zimmer bei einer relativen Dampfspannung von 55 bis 73% liegengelassen; bis zu 8 Wochen ertrugen sie Lufttrockenheit ohne Schaden; dann begannen die Zellen abzusterben. — Auch nach den Versuchsergebnissen von *Edlich* mit *Apatococcus minor* — derselben Luftalge, die *Zeuch* als *Pleurococcus vulgaris* bezeichnet — liegt der Schluß nahe, daß die xerophilsten *Luftalgen* mit ihrem Hydraturminimum die xerophilen *Schimmelpilze* nicht wesentlich unterbieten, sondern daß ihre Ansprüche in bezug auf das Hydraturminimum, das dauernde Entwicklung gestattet, etwa entsprechend sind. *Edlich* gibt an, daß *Apatococcus* zwar eine relative Dampfspannung von 50 bis 80% sehr gut ertrug, sogar entschieden besser als dauernd höhere Feuchtigkeit, die ihn zum Absterben brachte, daß aber (an Hand von Versuchen, die sich über 5 Wochen erstreckten) unterhalb von etwa 70% r. D. keinerlei merkbares Lagerwachstum mehr festgestellt werden konnte.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Ausgehend von den auf festem Substrat nach der Versuchsanordnung von *Walter* (1924) ermittelten Grenzwerten wird für die *Schimmelpilze* und *Bakterien* folgende Einteilung vorgeschlagen auf Grund ihrer verschiedenen Empfindlichkeit den Hydraturverhältnissen gegenüber: I. Xerophile Arten mit einem Grenzwert der Keimung unter 80% r. D. II. Mesophile Arten, deren Keimungsgrenze zwischen 80 und 90% r. D. liegt. III. Hygrophile Arten, deren Keimungsgrenze über 90% r. D. liegt.

Von den hier untersuchten Pilzen gehörten zur ersten Gruppe: *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum*; zur

zweiten Gruppe: *Sporodinia grandis*, *Rhizopus nigricans*, *Phycomyces nitens*, *Ustilago avenae*; eine Mittelstellung zwischen der zweiten und dritten Gruppe nahm *Oidium lactis* ein.

2. Die Grenze der Konidienbildung bei den *Ascomyceten* liegt wenig über der Keimungsgrenze; bei den untersuchten Arten betrug der Unterschied etwa 3% r. D., die Sporangienbildung der *Phycomyceten* wird schon 5 bis 8% oberhalb der Keimungsgrenze gehemmt.

3. Bei der hier angewendeten Versuchsmethode konnte für die Schimmelpilze keine Hemmung des Wachstums in wasserdampfgesättigter Luft wahrgenommen werden, mit Ausnahme von *Aspergillus glaucus* und *A. niger*. Das Optimum des Wachstums für *Aspergillus niger* lag bei 98% r. D. *Aspergillus glaucus* zeigte ein Optimum für die Zunahme des Durchmessers der Kolonien bei 93% r. D. Da gleichzeitig mit dem optimalen Längenzuwachs eine deutliche Auflockerung der Kolonien erfolgt, kann hier die größte Ausdehnung nicht als Maß für die optimalen Entwicklungsbedingungen gelten. Versuche in Zuckerlösung zeigen ein Optimum der Pilzernten bei 98 bis 96% r. D.

4. Bei *Sporodinia grandis* ist die Sporangienbildung zwischen 97 und 100% r. D. gehemmt; sie tritt nur verspätet und kümmerlich auf. Die Zygotenbildung, die nach Klebs statt der Sporangienbildung in feuchter Luft stattfinden soll, kommt in unseren Versuchen wahrscheinlich aus Nahrungsmangel nicht zustande.

5. Bei *Ustilago avenae* ist der normale Keimungsmodus der Brandsporen, die Abschnürung von Sporidien durch das Promycel, nur bei sehr hoher relativer Dampfspannung möglich. Bei 99,1% r. D. tritt noch Sprossung auf; von 98,6% an vollzieht sich das Wachstum in Form von Hyphen.

6. Die Temperatur beeinflusst die Grenzwerte in der Weise, daß bei einer für die einzelnen Pilze verschiedenen optimalen Temperatur das Hydraturminimum am tiefsten liegt. Je weiter die Temperatur vom Optimum entfernt ist, desto ungünstiger liegen die Grenzwerte der betreffenden Pilze. Das Optimum für *Aspergillus glaucus* liegt ungefähr bei 30°; *Penicillium glaucum*, *Rhizopus nigricans*, *Phycomyces nitens* und *Oidium lactis* haben ein Optimum des Grenzwertes bei etwa 20°.

Das Licht übt keinen merklichen Einfluß auf die Grenzwerte des Wachstums aus.

7. Mit *Rhizopus nigricans* und *Aspergillus glaucus* durchgeführte Versuche über die Anpassungsfähigkeit an ungünstige Hydraturverhältnisse führen zu dem Ergebnis, daß der Grenzwert der Schimmelpilze nicht oder sehr wenig dadurch beeinflusst wird, wenn der Pilz eine oder zwei Generationen bei besonders niedriger relativer Dampfspannung kultiviert wird. Bei *Rhizopus* waren überhaupt keine Unterschiede der

verschiedenen Kulturen festzustellen. Bei *Aspergillus* waren die bei geringer relativer Dampfspannung gebildeten Sporen gegenüber den normalen im Vorteil in bezug auf die Keimzeit in der Nähe des Grenzwertes. In der späteren Entwicklung glichen sich die Unterschiede der Kulturen aber wieder aus.

8. Die Grenzwerte in Salzlösungen liegen bei höherer relativer Dampfspannung als die für festes Substrat ermittelten Werte, und zwar in CaCl_2 -Lösungen um etwa 12% r. D., in NaCl, KCl und äquilibrierter Lösung durchschnittlich um 6% r. D. über dem Grenzwert auf festem Substrat in feuchter Luft. *Penicillium* gedieh am besten in der äquilibrierten Lösung, ertrug KCl-Lösung fast ebenso gut wie diese und unterschieden besser als NaCl-Lösung. Bei *Rhizopus* waren keine Unterschiede in bezug auf die drei letzteren Lösungen festzustellen.

9. Das absolute Hydraturminimum, bei dem sich ein Organismus noch normal entwickeln und dauernd fortpflanzen kann, liegt nach den bisherigen Erfahrungen bei etwa 73% relativer Dampfspannung (Kondienbildung bei *Aspergillus glaucus*). — Die von Walter angesetzte Grenze bei 85% r. D. wird wohl im allgemeinen für die Praxis genügen, da bei geringerer Feuchtigkeit das Wachstum der Schimmelpilze schon so stark gehemmt ist, daß die Schimmelbildung sich kaum schädlich auswirken kann.

Die Versuche zu vorliegender Arbeit sind in den Jahren 1934/35 im botanischen Institut der Technischen Hochschule Stuttgart unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Walter durchgeführt worden; die Veröffentlichung konnte besonderer Umstände halber erst jetzt erfolgen.

Literatur.

Bavendamm, W. u. H. Reichelt, diese Zeitschr. 9, 486, 1938. — Brefeld, O., Bot. Untersuchungen über Hefepilze, Unters. a. d. Gesamtgebiete der Mykologie, Heft 5, 1883. — Derselbe, ebenda, Heft 12, 1895.

Edlich, F., diese Zeitschr. 7, 62, 1936. — Errera, L., Bull. Acad. Roy. de Belgique, p. 81, 1899. — Eschenhagen, F., Über den Einfluß von Lösungen verschiedener Konzentration auf das Wachstum von Schimmelpilzen. Diss. Leipzig 1889.

Falck, R., Beitr. z. Biol. d. Pflanzen 8, 213, 1902.

Gäumann, E., Vergl. Morphologie d. Pilze. Jena, G. Fischer, 1926.

Herzberg, P., Zopf's Beitr. z. Phys. u. Morph. niederer Organismen 5, 1, 1895. — Höber, R., Physikal. Chemie d. Zelle u. d. Gewebe. Leipzig, W. Engelmann, 1922. — Hof, T., Recueil des trav. bot. néerl. 32, 92, 1935. — Hüttig, W., Zeitschr. f. Bot. 24, 529, 1930.

Jones, E. S., J. agric. Research 24, 577, 1923.

Klebs, G., Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena, G. Fischer, 1928. — Derselbe, Jahrb. f. wiss. Bot. 32, 1, 1898. — Derselbe, Zur Physiologie d. Fortpfl. einiger Pilze. Ebenda 35, 80, 1900. — Derselbe, Bot. Zeitg. 60, 176, 1902. — Koch, A., Mikrobiol. Praktikum. Berlin, Julius Springer, 1923. — Kostytschew, S., Lehrbuch. d. Pflanzen-

- physiologie. Berlin, Julius Springer, 1926. — *Kroemer, K.*, u. *G. Krumbholz*, diese Zeitschr. **3**, 384, 1932. — *Krumbholz, G.*, ebenda **2**, 601, 1931.
- Lafar, F.*, Handb. d. techn. Mykologie. Jena, G. Fischer, 1904—1914.
- *Landolt-Börnstein*, Phys.-Chem. Tabellen. Berlin 1923.
- Orban, G.*, Beih. z. bot. Zentralbl. **36**, 1. Abt., 1, 1919.
- Raciborsky, M.*, Bull. de l'Acad. d. Sc. de Cracovie; Cl. d. Sciences math. et natur. p. 668, 1905. — *Rippel, K.*, diese Zeitschr. **4**, 530, 1933.
- Schwartz, W.*, u. *G. Kaess*, ebenda **5**, 157, 1934. — *Dieselben*, ebenda **6**, 208, 1935. — *Seiler, Fr.*, Beih. z. bot. Zentralblatt **54**, Abt. A, 235, 1935.
- *Shih, L.*, diese Zeitschr. **9**, 167, 1938.
- Tammes, P. M. L.*, Recueil des trav. bot. néerl. **34**, 610, 1937. — *Tomkins, R. G.*, Proc. Roy. Soc. London **105**, 375, 1930.
- Walderdorff, M.*, Botan. Arch. **6**, 84, 1924. — *Walter, H.*, Zeitschr. f. Bot. **13**, 673, 1921. — *Derselbe*, Jahrb. f. wiss. Bot. **62**, 145, 1923. — *Derselbe*, Zeitschr. f. Bot. **16**, 353, 1924. — *Derselbe*, Zeitschr. f. Pflanzenernährung u. Düngung **6**, 65, 1926. — *Derselbe*, Die Hydratur der Pflanze. Jena, G. Fischer, 1931. — *Winter-Günther, L.*, Jahrb. f. Bot. **83**, 240, 1936.
- Zeuch, L.*, Planta, Arch. f. wiss. Bot. **22**, 614, 1934.
-