

Zeitschrift: Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse

Herausgeber: Schweizerische Botanische Gesellschaft

Band: 56 (1946)

Artikel: Über die Wirkung des Oxychinolins auf Botrytis cinerea Pers.

Autor: Blumer, S. / Gondek, J.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-39765>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 24.02.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Über die Wirkung des Oxychinolins auf *Botrytis cinerea* Pers.

Von *S. Blumer* und *J. Gondek*.

Eidgenössische Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, Wädenswil¹.

Eingegangen am 12. Juli 1946.

Einleitung.

Wenn wir durch Anwendung von Fungiziden den Ertrag unserer Kulturpflanzen sichern wollen, so haben unsere Maßnahmen in den meisten Fällen das Ziel, die Pflanze vor dem Angriff des Parasiten zu schützen. Die Wirkung dieser Fungizide muß deshalb in erster Linie protektiv oder prophylaktisch sein. Als Prototyp für diese Gruppe von Pflanzenschutzmitteln betrachten wir die Bordeauxbrühe. Sie bildet auf den Blättern einen Belag, aus dem die wirksamen Kupferverbindungen durch die Niederschläge in Lösung gebracht werden. Dadurch erzielen wir eine Verhinderung der Sporenkeimung oder eine Hemmung in der Entwicklung der Keimschläuche. Eine Abtötung des Pilzes, also eine eigentliche fungizide Wirkung, kann ebenfalls eintreten, doch ist sie hier nicht Grundbedingung, die fungistatische Wirkung ist in diesem Falle ausreichend. Der Hauptzweck der Bespritzung ist erreicht, wenn die Infektion verhindert wird. Diese heute dominierende Richtung des Pflanzenschutzes müßte nach *Gäumann* (2) als Pflanzenhygiene bezeichnet werden. Pflanzenschutzmittel dieser Art brauchen deshalb nur auf ein Entwicklungsstadium des Pilzes, nämlich auf die Sporenkeimung, zu wirken. Für die Laborprüfung solcher Mittel genügt der Sporenkeimungstest, der besonders in Amerika und in England ausgearbeitet und technisch vervollkommen worden ist. Selbstverständlich sind neben der einem Präparat innewohnenden Toxizität noch eine Reihe weiterer Faktoren wie Netzfähigkeit, Haftbarkeit und Regenbeständigkeit für die praktische Anwendung eines Pflanzenschutzmittels von ausschlaggebender Bedeutung (vgl. *Horschfall*, 4, 5).

Eine weitere protektive Maßnahme ist die Bodendesinfektion. Sie bezweckt, die der Pflanze schädlichen Pilze im Boden abzutöten, bevor sie die Wurzeln oder den Stengelgrund infiziert haben. Hier ist eine fungizide Wirkung auf alle Fälle sicherer, obschon der Fall denkbar ist, daß auch durch eine bloße Hemmung der schädlichen Bodenpilze, also

¹ Den Herren *A. Harder* und *J. Kundert* danken wir für ihre Mithilfe an den Versuchen bestens, ebenso Herrn *R. Isler* für die Ausführung der Abbildungen.

durch eine fungistatische Wirkung, der Zweck der Behandlung erreicht werden kann. Was aber die Bodendesinfektion von einer Bespritzung unterscheidet, ist die Tatsache, daß hier das Mittel nicht nur auf die Sporen und auf die Keimschläuche, sondern auf alle vorhandenen Entwicklungsstadien des Pilzes (Mycelien, Sklerotien und andere Dauerformen) wirken muß. Die Prüfung eines solchen Präparates kann also nicht nur mit dem Sporenkeimungstest durchgeführt werden.

Die therapeutische Behandlung, die in der Humanmedizin eine so überragende Rolle spielt, hat in der praktischen Phytopathologie bis jetzt noch keine große Bedeutung erlangt (vgl. G a u m a n n , 2). Immerhin eröffnen die neuesten Arbeiten auf diesem Gebiete vielversprechende Aussichten. Die Samenbeizung, die von verschiedenen Autoren als eine chemotherapeutische Maßnahme betrachtet wird, weil hier der Pilz schon in oder auf der Pflanze ist, möchten wir lieber als protektive Behandlung bezeichnen. Allerdings erfolgt die Bekämpfung erst nach der Infektion, doch handelt es sich hier um Ruhestadien der Pflanze, auf denen die Parasiten mit Präparaten und Konzentrationen bekämpft werden können, die für eine wachsende Pflanze toxisch wirken müßten.

Das Oxychinolin als Pflanzenschutzmittel.

Das Oxychinolin wurde als Chinosol, $C_9H_7ON \cdot KHSO_4$, oder als Sulfat des o-Oxychinolins, $(C_9H_7ON)_2 \cdot H_2SO_4$, seit mehr als dreißig Jahren auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes verwendet. Es ist ein gelbes, kristallinisches Pulver mit schwachem Geruch und brennendem Geschmack. In der Medizin findet es als Antipyreticum und Antisepticum gelegentlich Verwendung.

Nach Hollrung (3) empfahl Schaffnit schon 1912 die Beizung von Getreidesamen mit 1 % Chinosol (oxychinolinsaures Kalium) zur Bekämpfung der Fusariose. Er berechnet, daß mit 100 g Chinosol in 100 l Wasser 5000 kg Getreide behandelt werden können. Hiltner dagegen bezweifelte die Eignung des Chinosols als Beizmittel.

Zehn Jahre später wandte der Mediziner P. Hutinel auf Anraten von L. Martin vom Institut Pasteur das Oxychinolin als Schutzmittel für das Lagerobst gegen verschiedene Fäulnispilze an. Er tauchte Birnen 18 Stunden in eine Lösung von 3 ‰ Chinosol und stellte fest, daß die schon vorhandenen Infektionen nicht mehr weiter griffen und daß sich das Obst ausgezeichnet konservieren ließ. Die Früchte erlangten ihre Reife etwas später, waren aber im Geschmack vorzüglich. Da diese Behandlung vom medizinischen Standpunkte aus sicher verantwortet werden kann, sollten die Versuche zur Konservierung des Lagerobstes mit Oxychinolin wieder aufgenommen werden.

Gegenwärtig hat das Oxychinolin bei uns im Pflanzenschutz nur eine untergeordnete Bedeutung. Es wird für gewisse Spezialzwecke,

besonders für Boden- und Samendesinfektion verwendet. Besonders bewährt hat es sich für die Bekämpfung der Weißfäule der Reben, verursacht durch *Coniothyrium Diplodiella*. Neuerdings werden im Ausland Oxychinolinpräparate als Spritzmittel hergestellt, doch scheinen sich diese nur gegen bestimmte Pilze bewährt zu haben¹.

Neben dieser Anwendung als protektives Pflanzenschutzmittel wurde auch die therapeutische Applikation mit Erfolg versucht. Nachdem schon F r o n 1936 mit der Anwendung von Oxychinolinsulfat zur Behandlung von Tracheomykosen bei Ulmen und Nelken gute Erfahrungen gemacht hatte, wurden diese Versuche von H o r s f a l l und Z e n t m y e r weitergeführt. Es zeigte sich dabei, daß bei der therapeutischen Behandlung kranker Ulmen eine Inaktivierung des durch *Ceratostomella ulmi* gebildeten Toxins stattfindet, während die eigentliche fungizide Wirkung hier mehr in den Hintergrund tritt (H o r s f a l l, 4). Allerdings stehen wir hier in Theorie und Praxis erst am Anfang einer neuen Entwicklung.

Der Anwendungsbereich des Oxychinolins auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes ist noch lange nicht fest umrissen. Immerhin kann kaum bezweifelt werden, daß wir im Oxychinolin ein Fungizid von ausgezeichneter Wirkung besitzen. Ein Vorteil dieser Substanz besteht darin, daß sie in den angewendeten Konzentrationen für Mensch und Tier praktisch ungiftig ist.

Wir stellten uns nun die Aufgabe, das Oxychinolin auf die verschiedenen Entwicklungsstadien eines Pilzes einwirken zu lassen. Dabei sollte einmal die Frage untersucht werden, in welchem Ausmaße die Giftempfindlichkeit eines Pilzes im Laufe seiner Entwicklung variiert. Zugleich hofften wir, aus diesen Untersuchungen einige Anhaltspunkte über die Dosierung zu erhalten.

Als Versuchspilz wählten wir aus verschiedenen Gründen *Botrytis cinerea*. Der Graufäulepilz ist besonders in Gewächshäusern für die Praxis von größter Bedeutung. Auch im Weinbau richtet er besonders in feuchten Jahren als Erreger der Graufäule an Trauben großen Schaden an. Zudem ist der Pilz leicht zu kultivieren und bildet auch auf künstlichen Nährböden verschiedene Entwicklungsstadien (Konidien, Mycel, Sklerotien).

Es ist bekannt, daß *Botrytis cinerea* in einer großen Zahl von Stämmen vorkommt, die sich durch morphologische und physiologische Eigenschaften und teilweise auch durch das Vorherrschen gewisser Entwicklungsstadien, wie Konidien oder Sklerotien, voneinander unterscheiden (P a u l , 7). Unsere Versuche wurden alle mit einem Stämme durchgeführt, der im Herbst 1944 von Trauben isoliert worden war (als Einzell-

¹ Weitere Literaturangaben über die Verwendung des Oxychinolins auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes enthält die Arbeit von Baldacci und Ciferri (1).

kultur). Gegen den Schluß der Versuche, nach $1\frac{1}{2}$ jähriger Kultur im Laboratorium, traten gewisse unerwünschte Degenerationserscheinungen auf. Zuerst blieb die Bildung von Sklerotien aus, und später nahm auch die Produktion von Konidien ab, wobei das Mycel schon nach kurzer Zeit eine grauweiße Färbung annahm, die vorher nur auftrat, wenn eine Kultur längere Zeit nicht auf frische Nährböden übergeimpft wurde.

I. Die Kulturbedingungen.

Botrytis cinerea wurde unter möglichst optimalen Bedingungen gezüchtet. Obschon der Pilz in bezug auf sein Substrat nicht sehr wählerisch ist, wächst er doch in synthetischen Nährösungen nicht gut, viel besser ist dagegen die Entwicklung auf verdünntem Traubensaft. Die höchsten Trockengewichte wurden in einer Kombination einer synthetischen Nährösung mit Zugabe von Traubensaft erzielt.

Mit verschiedenen Stickstoffquellen (0,1 %) erhielten wir die folgenden Mycelgewichte: Asparagin (323,5 mg), NH_4Cl (298,3 mg), Pepton Merck (292,3 mg), NH_4 -Tartrat (270,7 mg), NH_4NO_3 (265,5 mg), KNO_3 (262,9 mg), NH_4 -Zitrat (248,7 mg), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (243,8 mg), Harnstoff (232,4 mg), Glykokoll (103,3 mg). Als Kohlenstoffquelle wurde nur Glukose verwendet. Vorversuche zeigten ein bedeutend geringeres Wachstum mit Stärke oder Pektin.

Unsere Nährösung hatte folgende Zusammensetzung: 0,15 % KH_2PO_4 , 0,05 % MgSO_4 , 0,05 % Asparagin, 0,05 % KNO_3 , 2 % Glukose, 10 % Traubensaft, Spur FeCl_3 . Mit dieser Nährösung erhielten wir schon nach 6—7 Tagen Trockengewichte von 300—350 mg. Es wurden Erlenmeyerkolben von 200 cm^3 verwendet, die 30 cm^3 Nährösung enthielten.

Nach Wilhelm (8) liegt das Optimum für die Keimung bei pH 4—4,5. Orientierende Versuche mit Pufferlösungen nach McIlvaine ergaben, daß das Wachstum von pH 3—6 gut ist. Ein undeutliches Optimum liegt bei pH 4,2—4,5. Oberhalb pH 7 und unterhalb pH 2,5 zeigten sich deutliche Hemmungen. In unseren Versuchen wurde das pH der Nährösung vor der Sterilisation mit Natronlauge auf 4,3—4,5 eingestellt.

Die Nährösung wurde 20 Minuten bei 118—120° sterilisiert. Das Oxychinolin wurde erst nach der Sterilisation beigefügt. Das Impfmateriel wurde wenn immer möglich aus 6—8 Tage alten Kulturen entnommen, wobei darauf geachtet wurde, daß die Dichte der Sporensuspension einigermaßen konstant war (mikroskopische Kontrolle). Dagegen wurden keine Zählungen vorgenommen. Die Hauptversuche wurden bei einer optimalen Temperatur von 21—23° durchgeführt. Auch für die Keimungsversuche auf Objektträgern wurde die gleiche Nährösung verwendet.

II. Einwirkung des Oxychinolinsulfats auf die ruhende Konidie.

Unter günstigen Bedingungen bildet *Botrytis cinerea* schon nach wenigen Tagen reichlich Konidien, die für die Erhaltung des Pilzes im Boden von großer Bedeutung sind. Bekanntlich verläuft die Entwicklung der Bodenpilze am natürlichen Standort nicht kontinuierlich. Durch ungünstige Umweltsbedingungen in bezug auf Temperatur, Feuchtigkeit und Ernährung werden den Pilzen im Boden Ruhezeiten aufgezwungen, die sie nur durch Bildung von Dauerzuständen überstehen können. Gerade diese sollten deshalb durch ein gut wirkendes Bodendesinfektionsmittel in erster Linie abgetötet werden, obschon a priori anzunehmen ist, daß Konidien und Sklerotien nicht nur gegenüber Austrocknung und extremen Temperaturen, sondern auch gegenüber toxischen Substanzen widerstandsfähiger sind als das wachsende Mycel.

Um die Wirkung des Oxychinolins auf die ruhende Konidie zu untersuchen, mußte die Keimung während der Dauer der Gifteinwirkung verhindert werden. Dies wurde durch eine Vorbehandlung der Konidien bei hohen oder tiefen Temperaturen erreicht. Wilhelm (8) stellte fest, daß die optimale Keimungstemperatur für *Botrytis* ungefähr bei 20° liegt. Auch bei 32° beobachtete er in Rohrzuckerlösungen noch 100 % Keimungen. Der thermale Tötungspunkt liegt nach seinen Erfahrungen bei 44° (20 Minuten im Wasserbad). Unser Stamm verhielt sich ähnlich. Wurde eine Konidiensuspension 3 Stunden in einem Thermo- staten von 42° gehalten, so konnten wir während dieser Zeit in giftfreier Nährlösung keine Keimungen mehr feststellen. Nach dieser Vorbehandlung kamen diese Konidien bei der optimalen Keimungstemperatur von 22° in die feuchte Kammer. Nach 2 Stunden Vorbehandlung bei 42° betrug die Keimung 65,5 %, nach 6 Stunden Vorbehandlung noch 11,3 %, und nach 12 Stunden erfolgte überhaupt keine Keimung mehr. Auch ohne Zusatz von Oxychinolin war also eine relativ rasche Abtötung der Konidien festzustellen. Dies äußerte sich darin, daß die bei 42° vorbehandelten Konidien viel langsamer keimten. Während wir unter normalen Bedingungen schon nach 8—12 Stunden eine Keimung von 100 % beobachteten, konnten die Auszählungen an den bei 42° vorbehandelten Konidien erst nach 30 Stunden vorgenommen werden. Bei Zusatz von 50 γ Oxychinolinsulfat auf 30 cm³ Nährlösung war schon bei einer dreistündigen Vorbehandlung bei 42° keine Keimung mehr festzustellen.

Diese Vorversuche zeigten eindeutig, daß eine Vorbehandlung bei hohen Temperaturen zur Feststellung der toxischen Wirkung des Oxychinolins auf die ruhende Konidie nicht zum Ziele führen konnte, und zwar aus folgenden Gründen :

1. Die hohen Temperaturen wirken an sich schon schädigend auf die Keimkraft der Konidien.

2. Es ist sehr wahrscheinlich, daß durch hohe Temperaturen auch die Giftwirkung erhöht wird.

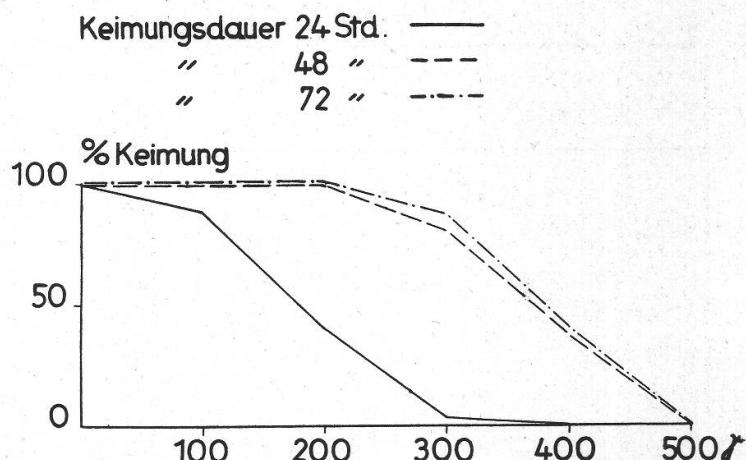
Diese beiden störenden Faktoren überlagern sich in einem uns unbekannten Verhältnis, so daß es nicht möglich ist, die Keimfähigkeit der Konidien mit der Konzentration des Giftes in Zusammenhang zu bringen. Es wären dafür ausgedehnte Versuche mit zahlreichen Temperaturstufen zwischen dem Optimum und dem Maximum der Keimung erforderlich. Wir versuchten deshalb, die Frage nach der Einwirkung des Oxychinolins auf die ruhende Konidie durch Anwendung tiefer Temperaturen abzuklären. Dabei darf allerdings nicht vergessen werden, daß auch hier der zweite der oben erwähnten Störungsfaktoren bestehen bleibt, indem hier die Giftwirkung an sich durch die tiefen Temperaturen herabgesetzt wird.

Wilhelm (8) beobachtete in früheren Versuchen mit einer von Äpfeln isolierten *Botrytis*-Rasse noch bei — 2,5 bis — 3° Mycelwachstum und Fruktifikation. Der von Reben isolierte Stamm ergab nach 2 Tagen keine Keimung, wenn die Konidien in Wasser bei 3—4° gehalten wurden. Nach 3 Tagen beobachtete er unter diesen Bedingungen 5 % und nach 5 Tagen sogar 20 % Keimungen. Dagegen keimten bei der gleichen Temperatur in einprozentiger Rohrzuckerlösung nach zwei Tagen über 50 % der Konidien. Vorversuche mit unserem *Botrytis*-Stamm ergaben, daß die Konidien bei 0° in Nährlösung nicht mehr keimten. Wir konnten auch nach einer Vorbehandlung von 3 Tagen höchstens einzelne Auswölbungen der Membran, nie aber die Bildung eines Keimschlafes feststellen. Eine Vorbehandlung der Konidien von 1—72 Stunden bei 0° hatte dagegen nicht den geringsten Einfluß auf die Keimfähigkeit. Die Keimung erfolgte nachher bei 22° normal und 100 %ig. Eine Schädigung der Konidien durch die Vorbehandlung bei niedriger Temperatur war also nicht festzustellen.

Eine ziemlich dichte Konidiensuspension wurde in der gewöhnlichen Nährlösung mit abgestuften Mengen von Oxychinolinsulfat in einem Reagenzglas bei 0° aufbewahrt. In bestimmten Zeitabständen wurde eine Öse dieser Suspension in 0,1 cm³ giftfreie Nährlösung auf einen Objektträger gebracht und in die feuchte Kammer gelegt. Für die Ermittlung der Keimungsprozente wurden in 6 Tropfen je 50 Konidien ausgezählt. Die Ergebnisse dieser Versuche können folgendermaßen zusammengefaßt werden :

1. Die Letaldosis des Oxychinolins auf ruhende Konidien liegt zwischen 400 und 500 γ pro 30 cm³, also bei zirka 16 mg/Liter. Schon bei 400 γ war der Zellinhalt bei einem Teil der Konidien körnig, Vakuolen und Öltropfen waren verschwunden. Bei 500 γ zeigten alle Konidien dieses Aussehen. Bei dieser Konzentration wurden keine Keimungen mehr beobachtet (Abbildung 1).

2. Durch die Vorbehandlung mit Oxychinolin wird der Keimungsvorgang verzögert. Konidien, die in giftfreier Nährösung vorbehandelt worden waren, keimten meistens schon nach 12 Stunden 100 %ig aus. Auf alle Fälle hatte nach 24 Stunden jede Konidie, die überhaupt keimfähig war, ausgekeimt. Aus Abbildung 1 geht aber deutlich hervor, daß sich besonders bei den mittleren Oxychinolin-Konzentrationen erhebliche Unterschiede zeigen, je nachdem, ob die Keimungszeit auf 24, 48 oder 72 Stunden bemessen wird. Würde man die Giftwirkung des Oxychinolins nach 24 Stunden endgültig bestimmen, so käme man zum Ergebnis, daß die Letaldosis um 300 γ (3,3 % Keimungen) liegt. Werden aber die gleichen Tropfen nach 48 Stunden erneut ausgezählt, so haben wir mit



300 γ Oxychinolin noch eine Keimung von 80,8 % und nach 72 Stunden sogar 87,5 %. Bei 400 γ ist nach 24 Stunden überhaupt keine Keimung mehr festzustellen, nach 48, resp. 72 Stunden dagegen finden wir auch hier noch 38,8 und 40 % Keimungen. Die Unterschiede zwischen 48 und 72 Stunden Keimungszeit sind allerdings gering und liegen wohl innerhalb der Fehlergrenzen. Ein Teil der Konidien kann sich also während des Aufenthaltes in giftfreier Nährösung von den durch die Gifteinwirkung bedingten Schädigungen erholen und keimt — allerdings verspätet — noch aus. Mit andern Worten: Bis zu einer Konzentration von 300 γ (10 mg/l oder 0,001 %) ist die toxische Wirkung des Oxychinolins für rund 80 % der Konidien reversibel; wenn die Konidien nachher in giftfreie Nährösung übertragen werden, so verschwindet sie nach und nach. Bei 400 γ zeigen noch 40 % der Konidien eine reversible Giftwirkung. Wir haben also hier eine fungistatische Wirkung, die bei Oxychinolin-Konzentrationen von 200—400 γ in abnehmendem Maße reversibel ist. Die absolute fungizide Wirkung wird mit der Letaldosis von 500 γ erreicht.

Ebensogut wie mit den Keimungsprozenten ließen sich diese Erscheinungen auch durch Messungen der Keimschlüche feststellen, doch

müßten solche Untersuchungen naturgemäß viel mehr Zeit beanspruchen.

3. Es mußte nun noch untersucht werden, welchen Einfluß die Dauer der Vorbehandlung mit Oxychinolin bei 0° auf die Keimfähigkeit der Konidien ausübt. Es wäre zu erwarten, daß die Keimfähigkeit bei längerer Vorbehandlung der Konidien mit Oxychinolin abnimmt. Zu unserer großen Überraschung waren die Ergebnisse direkt entgegengesetzt. Es handelt sich allerdings vorläufig nur um einen Versuch, der in Tabelle 1 zusammengestellt ist.

Tabelle 1.
Keimungsprozente nach Vorbehandlung der Konidien bei 0°
(Auszählung nach 48 Stunden Keimdauer).

Vorbehandlung bei 0° Stunden	Oxychinolin, in 30 cm ³					
	0 γ	100 γ	150 γ	200 γ	375 γ	500 γ
3	100	89	67,6	31	0	0
6	100	93	52,6	16	0	0
12	100	83	58	19,6	0	0
24	100	100	96,3	43,3	0	0
48	100	93,6	90	60	0	0
60	100	100	95	56,6	26	0

Die erste Auszählung nach 24 Stunden lieferte bedeutend niedrigere Werte, aber auch hier zeigte sich ein starker Anstieg der Keimungsprozente bei längerer Vorbehandlung. Es liegt nahe, hier an eine Inaktivierung der Oxychinolins durch Ausscheidungen der Konidien zu denken. Auffällig war, daß sich bei längerer Vorbehandlung bei 0° Klumpen von Konidien bildeten, die nur durch heftiges Schütteln beseitigt werden konnten. In diesen Klumpen waren nicht nur höhere Keimprozente festzustellen, sondern die Keimschlüche waren hier auch bedeutend länger. Es scheint, daß bei *Botrytis* schon die Konidien Schleim ausscheiden können, durch den sie in Klumpen zusammengeballt werden. Dieser Schleim kann die Konidie als schützender Mantel umgeben, so daß das Gift nicht zur vollen Auswirkung kommt. Die Bildung von Sporenkumpen ist übrigens allen, die mit irgendwelchen Pilzen Keimungsversuche durchführten, als störendes Moment für die Auswertung der Versuche bekannt, weil allgemein in diesen Ansammlungen von Konidien viel höhere Keimungsprozente beobachtet werden.

III. Wirkung des Oxychinolinsulfats auf den Keimungsvorgang.

Bei den gewöhnlichen Testmethoden der Laborprüfung von Fungiziden benützt man sich im allgemeinen mit der Feststellung der Wir-

kung auf den Keimungsvorgang. Durch die grundlegenden Arbeiten von McCallan und seinen Mitarbeitern (6), Horsfall (5) und andern Autoren kennen wir die Fehlerquellen dieser Methoden. Sie reichen für den Vergleich der Wirkung verschiedener Fungizide aus, aber man darf von ihnen nicht Unmögliches verlangen. Vor allem liefern sie keine absoluten Daten, keine Schwellenwerte, die für eine Art oder einen Stamm typisch und fest sind. Es handelte sich für uns im wesentlichen darum, ob der Keimungsvorgang durch Oxychinolin relativ stärker beeinflußt wird als die ruhende Konidie. Dies konnte auch sicher festgestellt werden, obwohl die verschiedenen Wiederholungen des Keimungsversuches zum Teil stark abweichende Resultate ergaben. In Tabelle 2 sind die Durchschnittswerte aus zwei Versuchen mit je 400 Auszählungen für jede Konzentration zusammengestellt. In andern Versuchen erhielten wir schon mit 100 γ keine Keimungen mehr.

Tabelle 2.
Einwirkung des Oxychinolinsulfates auf den Keimungsvorgang
(Auszählung nach 16—18 Stunden).

Oxychinolin in 30 cm ³ Nährlösung	Keimungsprozente
0	100
100	91
120	63,25
140	42,25
160	16,0
180	3,25
200	0

Es mag sein, daß die Dichte der Konidienaussaat in unsren Versuchen etwas zu stark variierte. Um den Einfluß dieser Fehlerquelle festzustellen, wurde eine ziemlich dichte Aussaat durch Zusatz von Nährlösung auf $1/_{10}$ und $1/_{100}$ verdünnt. Tabelle 3 zeigt, daß die bedeutenden Unterschiede, die wir in verschiedenen Versuchen beobachteten, nicht auf die Dichte der Sporenaussaat zurückzuführen sind. Nur bei sehr starken Verdünnungen, die praktisch nie zur Anwendung kamen, wirkte sich dieser Fehler aus. Die Ursache der bedeutenden Unterschiede der Keimungsprozente in verschiedenen Versuchen (vgl. Tabellen 2 und 3) bleibt vorläufig unbekannt. Das Impfmateriel stammte in den Hauptversuchen immer aus 8—10 Tage alten Kulturen auf der gewöhnlichen Nährlösung. Im Keimungsversuch wurden die Bedingungen nach Möglichkeit konstant gehalten. Die Keimungszeit spielt natürlich auch hier eine große Rolle. Je später die Auszählung erfolgt, um so höher sind

die Keimungsprozente auch bei den mit Oxychinolin behandelten Keimproben. Damit wird natürlich der « Schwellenwert » der Giftwirkung nach aufwärts verschoben.

Tabelle 3.
Einfluß der Dichte der Konidiensuspension auf die Keimung
(Auszählung nach 14 Stunden).

Oxychinolin in 30 cm ³ Nährösung	Verdünnung der Konidiensuspension		
	unverdünnt	1/10	1/100
0	100	100	100
20	98	98	100
30	99,5	89	95,4
40	79,2	86,4	71,4
60	73	77,7	63
80	35,5	29	14
100	4,5	0	0

Es kann immerhin festgestellt werden, daß die Grenze der Toxizität für den Keimungsvorgang wesentlich tiefer liegt als für die ruhende Konidie (100—200 γ = 3—7 mg/l).

IV. Wirkung des Oxychinolins auf die Keimschläüche.

Es mußte nun weiterhin die Giftempfindlichkeit der ersten Keimungsstadien bestimmt werden. Zu diesem Zwecke ließen wir die Konidien auf einem Objektträger in genau 0,1 cm³ giftfreier Nährösung auskeimen. Nach 6 Stunden betrug die Keimung 73—77 %, und die Länge der Keimschläüche war im Mittel 15—20 μ. Nun wurde diesen keimenden Konidien 0,1 cm³ Nährösung mit abgestuften Mengen von Oxychinolinsulfat beigefügt. Damit wurde natürlich die Konzentration des Giftes auf die Hälfte herabgesetzt. Die Tropfen wurden auf dem Objektträger gut gemischt, flach verstrichen und wieder in die feuchte Kammer bei 22° gebracht. 24 und 48 Stunden später wurden die Keimprozente erneut bestimmt und für jede Konzentration 100 Keimschläüche gemessen. Bei ungehemmter Entwicklung erreichten diese schon bei der nächsten Messung eine Länge von 0,25—1 mm, so daß eine Messung in diesem Gewirr von Hyphen unmöglich wurde. In diesen Fällen wird in Tabelle 4 einfach angegeben « über 250 μ ».

Bestimmen wir die Länge der Keimschläüche nach 30 Stunden, also 24 Stunden nachdem das Oxychinolin beigefügt wurde, so finden wir bei einer Konzentration von 70 γ in 30 cm³ Nährösung kein weiteres Wachstum der Keimschläüche mehr. Wird jedoch die Messung 24 Stunden

später durchgeführt, so liegt der «Schwellenwert» der Giftwirkung bei 90γ (3 mg im Liter). Auf alle Fälle wirkt das Oxychinolin auf die Keimschläuche bedeutend stärker als auf die ruhende Konidie und auf den Keimungsvorgang.

Tabelle 4.
Keimungsprozente und Länge der Keimschläuche bei verschiedenen Konzentrationen von Oxychinolinsulfat.

Konzentration 30 cm ³	Keimungsprozente			Länge der Keimschläuche			Zuwachs	
	6 Std.	30 Std.	54 Std.	6 Std.	30 Std.	54 Std.	30 Std.	54 Std.
0	73	100	100	$15,4 \pm 0,6$	über 250	über 250	—	—
50	—	100	100	—	$76,6 \pm 2,0$	über 250	61,8	über 250
60	—	79	92	—	$41,9 \pm 1,6$	$134,8 \pm 1,0$	26,5	119,4
70	—	74	84	—	$16,4 \pm 0,8$	$66,0 \pm 1,0$	1,0	50,6
80	—	71	74	—	$16,2 \pm 0,7$	$23,0 \pm 0,9$	0,8	7,6
90	—	75	72	—	$16,9 \pm 0,8$	$18,0 \pm 0,7$	1,5	2,6
100	—	71	68	—	$16,5 \pm 0,8$	$16,3 \pm 0,7$	1,1	0,9

V. Einwirkung des Oxychinolins auf das Mycelwachstum.

Das Oxychinolin und besonders sein Sulfat haben vor den meisten gebräuchlichen Fungiziden für den Experimentator den Vorteil, daß sie mehr oder weniger wasserlöslich sind. Diese Substanzen können also in verschiedenen Konzentrationen den Nährösungen beigefügt werden, und ihre Wirkung kann durch das Trockengewicht des Pilzes ausgedrückt werden. Fügt man die toxische Substanz gleichzeitig mit dem Impfmaterial bei, so wirkt sie auf verschiedene Entwicklungsstadien des Pilzes ein, nämlich auf das Impfmaterial selbst, also auf die ruhende Konidie, auf den Keimungsvorgang und auf die Keimschläuche. Die letale Giftkonzentration für das Wachstum in der Nährösung muß daher sicher geringer sein als die für diese Entwicklungsstadien ermittelten Werte, also unter $100\gamma/30\text{ cm}^3$. Es besteht sogar die Möglichkeit, daß sich die Schädigungen der Giftwirkung durch den andauernden Kontakt mit dem Toxikum, teilweise unter Luftabschluß, hier noch summieren, was sich in einer weitern Herabsetzung der toxischen Grenzkonzentration äußern müßte. Wir haben ferner die Möglichkeit, das Oxychinolin einer wachsenden Kultur von bestimmtem Alter beizufügen, oder schließlich können wir auch Mycelstücke von bestimmtem Alter und Gewicht in eine Nährösung mit Oxychinolin überimpfen. Diese drei Versuchsanordnungen sollen hier getrennt besprochen werden.

1. Wirkung des Oxychinolins auf die ersten Stadien der Mycelentwicklung.

Unter optimalen Temperaturbedingungen wächst *Botrytis cinerea* in unserer Nährlösung sehr rasch. Schon nach 7—8 Tagen ist die Kulmination der Wachstumskurve bei zirka 300 mg Trockengewicht erreicht. Später sinkt die Gewichtskurve wieder ab. Die hemmende Wirkung des Oxychinolins tritt gerade zu diesem Zeitpunkte am auffälligsten zu Tage, weil die Vergleichskulturen in giftfreier Nährlösung hier ihre höchsten Werte erreichen. Durch mehrfach wiederholte Versuche konnte ermittelt werden, daß eine Zugabe von 30—40 γ Oxychinolinsulfat auf 30 cm³ Nährösung (1—1,3 mg/l) ausreicht, um das Wachstum vollständig zu unterdrücken. Im Gegensatz zu den Keimungsversuchen lieferten die Wiederholungen dieser Versuche sehr gut übereinstimmende Werte. Wie Abbildung 2 zeigt, sinkt die Gewichtskurve bei Zugabe von

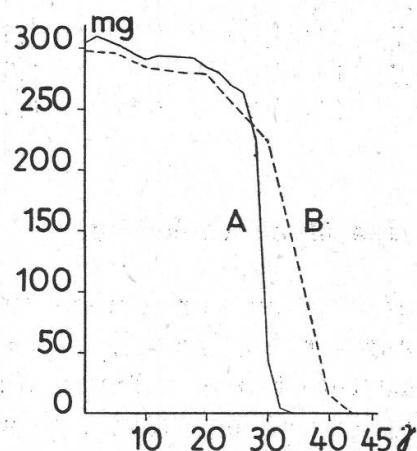


Abbildung 2.
Wirkung des Oxychinolinsulfats (A) und des
8-Oxychinolins (B) auf das Mycelwachstum
(Trockengewicht).

0—26 γ Oxychinolinsulfat langsam von 300 auf 260 mg, bei 30 γ auf 44 mg, bei 32 γ auf 4 mg und erreicht bei 34 γ den Nullpunkt.

Ähnlich wirkt das 8-Oxychinolin, mit dem allerdings nur zwei Versuchsreihen durchgeführt wurden. Auch hier haben wir einen steilen Abfall des Trockengewichtes zwischen 30 und 40 γ . Die Giftwirkung dieser Substanz scheint etwas geringer zu sein als die des Sulfates, das in gleichen Gewichtsteilen weniger wirksame Substanz enthält als das 8-Oxychinolin. Vielleicht steht diese Erscheinung mit der geringeren Wasserlöslichkeit im Zusammenhang.

Es wäre aber verfehlt, wenn man den Kurven von Abbildung 2 zuviel Bedeutung beimesse. Diese Art der Darstellung kann den Tatsachen niemals gerecht werden, denn sie stellt nur einen mehr oder weniger willkürlich herausgegriffenen Querschnitt aus der Entwicklung des Pilzes unter Einwirkung des Giftes dar. Es ist eine rein statische Darstellung eines Vorganges, der nur dynamisch erfaßt werden kann. Der Zeitfaktor muß hier unbedingt berücksichtigt werden. Es gibt

nämlich in der Entwicklung des Pilzes nicht nur einen solchen Querschnitt, sondern unzählige, und jeder von ihnen sieht anders aus.

Abbildung 3 zeigt fünf solcher zeitlicher Querschnitte. Um die Giftwirkung zu verschiedenen Zeiten vergleichbar zu machen, bezeichnen wir für irgendeinen Tag, an dem eine Wägung erfolgt, das Trockengewicht der giftfreien Kontrolle als 100 %. Die übrigen an diesem Tage bestimmten Gewichte werden auf diese Kontrolle bezogen. Bei dieser Darstellung offenbart sich die ganze Problematik der sogenannten Schwellenwerte. Bei der ersten Wägung nach $2\frac{1}{2}$ Tagen hört bei einer

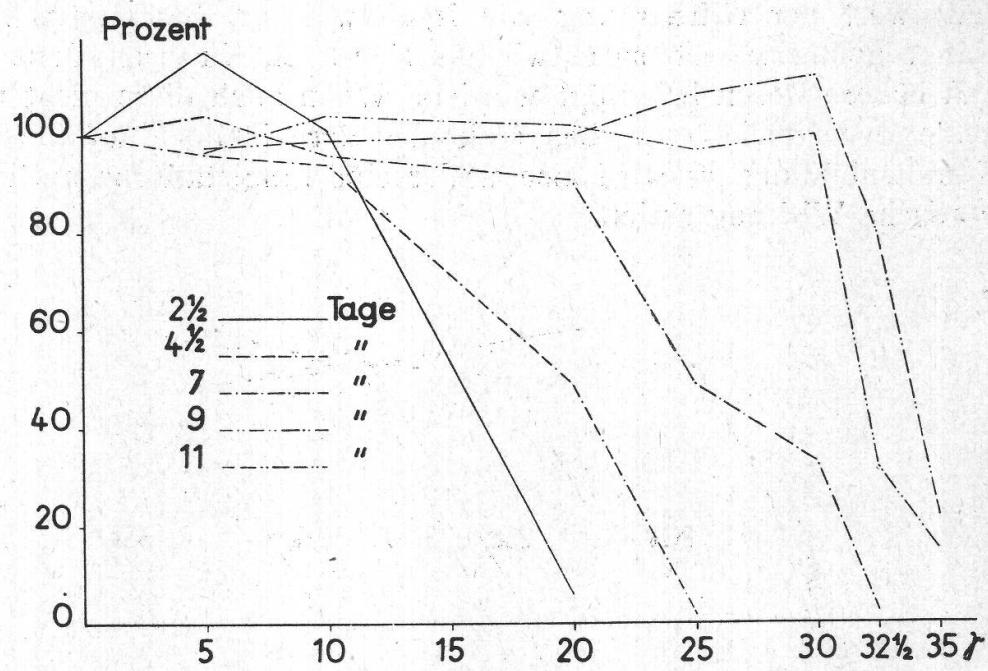


Abbildung 3.

Wirkung verschiedener Konzentrationen von Oxychinolinsulfat. Für jeden Tag wird das Trockengewicht der giftfreien Kontrolle als 100 % angenommen.

Dosis von über 20γ Oxychinolinsulfat das Wachstum schon auf. Nach $4\frac{1}{2}$ Tagen wird die totale Wachstumshemmung mit 25γ erreicht, nach 7 Tagen bei $32,5 \gamma$ (vgl. Abbildung 2). Nach 9 und 11 Tagen erhalten wir auch mit 35γ noch Trockengewichte von rund 20 % der unbehandelten Kontrolle. Wahrscheinlich könnten später auch noch mit bedeutend höheren Konzentrationen von Oxychinolin beträchtliche Mycelgewichte erzielt werden. Der «Schwellenwert» der Giftwirkung verschiebt sich also mit der Zeit nach oben.

Man kann diese Beziehungen auch anders ausdrücken: Mit 20γ Oxychinolinsulfat erzielen wir nach $2\frac{1}{2}$ Tagen ein Trockengewicht, das nur 5 % der unbehandelten Kontrolle ausmacht. Nach $4\frac{1}{2}$ Tagen aber ergibt die gleiche Dosis ein Mycelgewicht von 50 %, nach 7 Tagen 90 %

und nach 9 Tagen 100 %, d. h. 20 γ Oxychinolin beeinflussen das Trockengewicht nach 9 Tagen überhaupt nicht mehr. In gleicher Weise steigen die Werte für 30 γ Oxychinolin an. Vor dem 6. Tage zeigt sich mit dieser Dosis überhaupt kein Wachstum, am 6. Tage beträgt das Trocken gewicht 2,5 % der Kontrolle, am 7. Tage 32,5 % und am 9. und 11. Tage 100 % und darüber. Endlich erhielten wir für die Dosis von 35 γ in den ersten 7 Tagen überhaupt kein Wachstum; die Entwicklung des Pilzes wurde stark verzögert, und erst am 9. und 11. Tage erhielten wir hier Werte von zirka 20 % der Kontrolle. Eine Kontrolle der Giftwirkung zur Zeit, wo die Wachstumskurve den Gipfel erreicht, ergibt also keinen Schwellenwert der Giftwirkung von irgendwelcher Bedeutung. Wenn man lange genug wartet, so entwickeln sich auch Kulturen, denen bedeutend höhere Dosen beigelegt wurden. Wenn auch diese nicht mehr maximale Mycelgewichte ergeben, so kommt der Pilz doch auf alle Fälle zur Konidienbildung, es wird also weder eine fungistatische noch eine genestatische Wirkung erzielt.

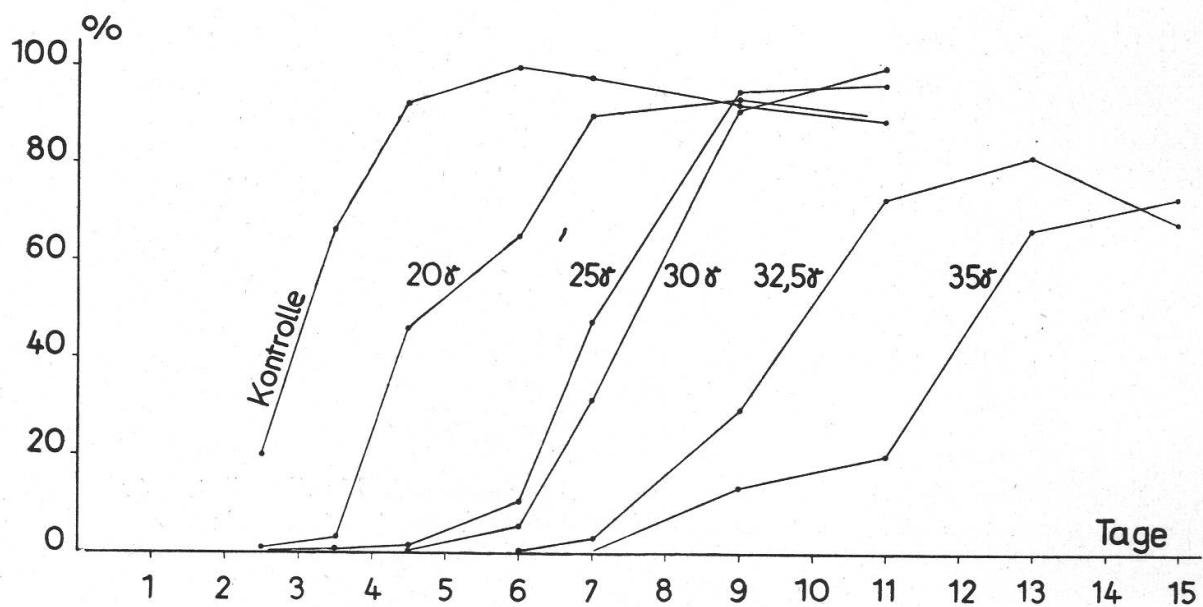


Abbildung 4.

Wachstum bei verschiedenen Konzentrationen von Oxychinolinsulfat. Das nach 6 Tagen erzielte maximale Trockengewicht der giftfreien Kontrolle wird als 100 % angenommen.

In Abbildung 4 kommt diese Verzögerung der Entwicklung durch steigende Dosen von Oxychinolinsulfat noch besser zum Ausdruck, weil sich dieser Versuch über eine längere Zeit erstreckt. Mit Dosen von 20 bis 30 γ zeigt sich nur eine starke Verzögerung der Entwicklung, doch erreichen diese Kulturen, wenn auch um 3—6 Tage verspätet, noch dieselben Mycelgewichte (300 mg) wie die unbehandelten Kontrollen. Mit den höhern Dosen von 32,5 und 35 γ setzt die sichtbare Entwicklung

erst am 6. und 7. Tage ein, also zu einem Zeitpunkte, wo die unbehandelten Kontrollen schon ihr maximales Wachstum erreicht haben. Die Entwicklung wird auch weiterhin stark verzögert, und im Gegensatz zu den niedrigeren Konzentrationen erreichen wir hier die maximalen Mycelgewichte der Kontrolle überhaupt nicht mehr. Es zeigte sich, daß gelegentlich auch noch in Kulturen mit 50—80 γ Oxychinolinsulfat ein langsames Wachstum einsetzt. Der Pilz entwickelt sich in diesen Fällen gewöhnlich vom Rande des Kolbens aus, wo offenbar spezielle Bedingungen vorhanden sind (genügende Versorgung mit Sauerstoff ?). Auffällig war ferner eine starke Schleimbildung in den mit Oxychinolin versehenen Kulturen. Bei hohen Konzentrationen nahm dieser Schleim eine tiefbraune Farbe an.

Es konnte erwartet werden, daß in Nährösungen das Wachstum von *Botrytis* schon bei tiefen Konzentrationen des Oxychinolins verhindert wird. Das hat sich in unsren Versuchen auch bestätigt. Während die Keimschlüche auf Objekträgern erst bei einer Dosis von 80—100 γ pro 30 cm³ im Wachstum vollständig gehemmt werden, finden wir in Nährösungen über 40 bis 60 γ nur noch selten eine schwache Entwicklung. In diesen Fällen darf wohl angenommen werden, daß eine oder wenige Konidien zufälligerweise am Rande der Nährösung an der Wand des Kolbens hafteten und dort dem Einfluß des Oxychinolins weniger ausgesetzt waren. Als obere Grenze des Wachstums in Nährösungen können wir 30—60 γ/30 cm³ oder 1—2 mg pro Liter annehmen.

2. Wirkung des Oxychinolins auf die späteren Stadien des Mycelwachstums.

In der Toxikologie kann die Letalwirkung vieler Gifte auf das Körpergewicht des Versuchstieres bezogen werden, was voraussetzt, daß hier die Giftwirkung ungefähr proportional dem Körpergewicht verläuft. Wir vermuteten, daß auch zwischen dem Mycelgewicht des Pilzes und der fungistatischen oder fungiziden Wirkung des Oxychinolins eine positive Korrelation bestehen könnte. Zur Abklärung dieser Verhältnisse wurden entweder verschiedene Mengen von Oxychinolinsulfat zu wachsenden Kulturen verschiedenen Alters beigefügt, oder es wurden Mycelstücke von bestimmtem Alter und Gewicht in Nährösungen mit Oxychinolin übergeimpft.

a) Zugabe von Oxychinolinsulfat zu wachsenden Kulturen.

In Tabelle 5 sind die Ergebnisse eines Versuches zusammengefaßt, in dem Konzentrationen des Oxychinolinsulfats angewendet wurden, die das Wachstum des Pilzes gerade noch zu unterdrücken vermögen, wenn das Gift gleichzeitig mit der Impfung beigefügt wird. Hier wurden 62

Tabelle 5.

Trockengewichte bei Zugabe von steigenden Mengen von Oxychinolinsulfat zu einer 62 Stunden alten Kultur.

Zugabe Oxychinolin	Alter Tage	3	4	5	7	10	13
		mg	mg	mg	mg	mg	mg
0		19,0	108,7	245,5	297,8	309,2	285,1
10 γ			118,3	235,4	291,1	294,4	284,0
			+ 8,8 %	- 4,1 %	- 2,2 %	- 4,8 %	- 1,1 %
20 γ			113,9	215,1	288,9	288,6	280,4
			+ 4,8 %	- 12,4 %	- 2,9 %	- 6,6 %	- 1,6 %
25 γ			83,4	208,8	287,7	287,5	281,6
			- 23,3 %	- 14,9 %	- 3,3 %	- 7,0 %	- 1,2 %
30 γ			77,8	186,9	269,5	274,5	275,4
			- 28,4 %	- 23,8 %	- 9,5 %	- 11,2 %	- 3,4 %
35 γ			78,1	179,8	267,8	274,2	262,3
			- 28,1 %	- 26,7 %	- 10,7 %	- 11,3 %	- 8,0 %
40 γ			57,5	172,4	253,1	273,2	259,5
			- 47,1 %	- 29,8 %	- 15,0 %	- 11,6 %	- 9,0 %
50 γ			57,5	170,3	241,8	267,5	260,7
			- 47,1 %	- 30,6 %	- 18,8 %	- 13,5 %	- 8,5 %

Stunden nach der Impfung, als die jungen Mycelien ein Trockengewicht von 19 mg erreicht hatten, Dosen von 10—50 γ beigelegt. Es hatte sich in andern Versuchen gezeigt, daß das Oxychinolin nicht einfach auf die Myceldecke gebracht werden darf, da es sonst mangelhaft diffundiert und nur lokale Absterbeerscheinungen verursachen würde. Die dünne Myceldecke wurde deshalb mit der Pipette durchstoßen, damit das Oxychinolin in die Nährlösung gelangte. Hierauf wurden die Kolben leicht bewegt, ohne jedoch die Myceldecke zu zerstören. Wie Tabelle 5 zeigt, ergab sich nach 24 Stunden für die schwächsten Konzentrationen von 10 und 20 γ eine undeutliche Stimulation des Wachstums. Da wir eine solche sonst nirgends mit Sicherheit nachweisen konnten, dürften diese positiven Abweichungen als zufällig betrachtet werden. Die höhern Dosen ergaben nach 24 Stunden eine deutliche Hemmung, wobei das Trockengewicht für 40 und 50 γ fast auf die Hälfte reduziert wurde. In den folgenden Tagen wurde aber diese Hemmung nach und nach wieder ausgeglichen und beim Abschluß des Versuches, nach 13 Tagen (10 Tage nachdem das Oxychinolin beigelegt wurde), waren die Unterschiede nur noch unbedeutend. Es müssen also zur Hemmung oder gar zur Abtötung eines wachsenden Mycels viel höhere Konzentrationen zur Anwendung kommen.

In weiteren Versuchen wurde die Oxychinolin-Dosis zuerst auf 150, dann auf 500 γ erhöht. Auch hier wurden nur temporäre Hemmungen beobachtet, die sich im Laufe der Entwicklung vollständig ausglichen. Es wurde höchstens eine momentane fungistatische Wirkung erzielt, doch gelang es auch mit diesen Konzentrationen nicht, das Wachstum des Pilzes endgültig abzustoppen. In einem letzten Versuche, der in Tabelle 6 dargestellt ist, wurde die Konzentration des Oxychinolins auf 1 mg erhöht (33 mg/l).

Tabelle 6.

Trockengewicht (mg) bei Zugabe von steigenden Mengen Oxychinolinsulfat zu einer 3 Tage alten Kultur.

Oxychinolin	Alter Tage	3	6	8	10	12	17
		mg	mg	mg	mg	mg	mg
0	48,7	351,2	368,2	339,3	291,9	270,6	
30 γ		350,9	345,2	314,7	295,1	277,2	
		— 0,1 %	— 6,2 %	— 7,2 %	+ 1,1 %	+ 2,4 %	
60 γ		328,6	343,0	314,8	293,5	264,2	
		— 6,4 %	— 6,8 %	— 7,3 %	+ 0,6 %	— 2,4 %	
100 γ		328,3	343,3	316,6	259,5	263,6	
		— 6,4 %	— 6,8 %	— 6,7 %	— 7,6 %	— 2,6 %	
300 γ		308,6	344,9	313,0	302,2	276,7	
		— 12,1 %	— 6,3 %	— 7,8 %	+ 3,5 %	+ 2,3 %	
600 γ		234,0	281,4	280,6	271,0	242,0	
		— 33,7 %	— 23,6 %	— 17,3 %	— 7,2 %	— 10,6 %	
1000 γ		151,4	142,6	215,5	—	215,0	
		— 56,0 %	— 68,8 %	— 36,5 %		— 20,5 %	

Im Gegensatz zu dem in Tabelle 5 dargestellten Versuch wirkten hier 30—100 γ nicht merklich auf das Wachstum des Pilzes. Eine deutliche Hemmung, die bis zum Abschluß des Versuches erhalten blieb, zeigte sich nur bei 600 und 1000 γ . Allerdings läßt sich hier die prozentuale Abnahme der Hemmung damit erklären, daß die Kulturen ohne Oxychinolin vom 8. Tage an eine sehr starke Abnahme des Mycelgewichtes zeigten, während die mit 1000 γ behandelten Kulturen noch am 17. Tage auf dem Höhepunkt ihrer Entwicklung standen. Die Giftwirkung äußerte sich also auch hier vor allem in einer zeitlichen Verschiebung der Entwicklung. Es muß bei einem Vergleich der Tabellen 5 und 6 auffallen, daß im zweiten Versuch eine Zugabe von 600 γ Oxychinolinsulfat kaum eine stärkere Hemmung bewirkte als 40 γ im ersten Versuch. Dies scheint gegen eine quantitative Wirkung des Oxychinolins

zu sprechen. Die Tatsache, daß das Mycelgewicht zur Zeit, als das Gift beigelegt wurde, nur 19 mg betrug, gegenüber 48,7 mg im zweiten Versuch, kann unseres Erachtens die großen Unterschiede in der Wirksamkeit auch nicht erklären. Es ergaben sich in andern Versuchen ähnliche Unterschiede, auch wenn das Trockengewicht im Zeitpunkte, wo das Oxychinolin beigelegt wurde, annähernd gleich war. Wir glauben vielmehr, daß hier die Stärke der Reaktion des Pilzes auf die Vergiftung, d. h. die Intensität der Schleimbildung ausschlaggebend ist. Dieser störende Faktor ist bei unserer Versuchsanordnung leider nicht zu eliminieren. Ebensowenig kann das Ausmaß der Schleimbildung zahlen-

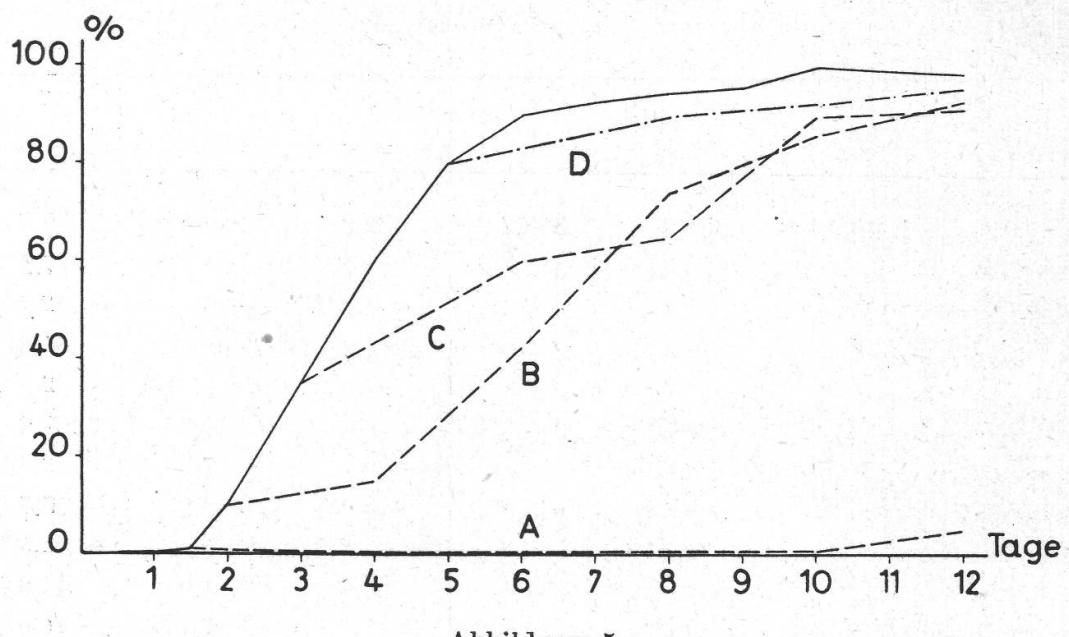


Abbildung 5.

Hemmung der Entwicklung durch Zugabe von 500 γ Oxychinolinsulfat, beigelegt nach 36 Stunden (A), 2 Tagen (B), 3 Tagen (C) und 5 Tagen (D). Maximales Trockengewicht der giftfreien Kontrolle als 100 % angenommen.

mäßig erfaßt werden. Sicher ist nur, daß bei Zusatz von Oxychinolin viel mehr Schleim gebildet wird. Dadurch kommen große Teile des Thallus überhaupt nicht direkt mit dem Gift in Kontakt. Es sei hier noch bemerkt, daß Konidien, die in den mit 1000 γ Oxychinolin behandelten Kulturen gebildet wurden, vollständig normal auskeimten. Es läßt sich also bei dieser hohen Giftkonzentration auch keine genestatische Wirkung feststellen.

In Abbildung 5 sind die Ergebnisse von zwei Versuchen dargestellt, in denen dieselbe Dosis Oxychinolinsulfat, nämlich 500 γ, zu verschiedenen Zeiten beigelegt wurde. Diese Konzentration ist natürlich für die Konidien und die Keimschläuche viel zu hoch, und es ist deshalb klar, daß kein Wachstum eintreten kann, wenn das Gift zu Beginn der Entwicklung, nach 24 oder 36 Stunden nach der Impfung beigelegt

wird (Kurve A). Aber schon nach 2 Tagen (B), bei einem Mycelgewicht von 30 mg, bewirkt diese Giftkonzentration nur bis zum 4. Tage eine deutliche Hemmung. Wird das Oxychinolin erst nach 3 Tagen beigefügt (C), wenn der Pilz ein Mycelgewicht von 100 mg erreicht hat, so ist die Hemmung schon bedeutend weniger ausgeprägt. Am 5. Tage (D), bei einem Mycelgewicht von 240 mg, bewirkt der Zusatz von 500 γ Oxychinolin nur noch eine unbedeutende Hemmung.

Diese hohe Konzentration ist also nur während der ersten 36 Stunden der Entwicklung fungizid. Schon nach 2 Tagen haben wir nur noch eine temporäre fungistatische Wirkung, die um so schwächer wird, je später das Oxychinolin beigefügt wird. Eine Korrelation zwischen Letaldosis und Trockengewicht scheint aber nicht zu bestehen.

b) Versuche mit Impfung von Mycelstücken.

Die etwas unklaren Ergebnisse der Versuche, in denen nachträglich Oxychinolin zu wachsenden Kulturen beigefügt wurde, müssen also wahrscheinlich auf die Schleimbildung des Pilzes zurückgeführt werden. Dadurch wird einerseits ein gewisser Schutz der Hyphen erreicht, und anderseits scheint die Diffusion des Oxychinolins unregelmäßig zu werden. In einer weiteren Serie von Versuchen wurde nun versucht, Mycelstücke in eine Nährlösung mit einer bestimmten Oxychinolin-Konzentration zu übertragen. Der Pilz wurde zunächst in Petrischalen in 10 cm³ Nährlösung kultiviert. Sobald sich eine zusammenhängende Myceldecke gebildet hatte, wurden mit Korkbohrern von verschiedenem Kaliber, die in der Flamme sterilisiert worden waren, Stücke des Mycels ausgestochen und in Erlenmeyerkolben übertragen. In den meisten Versuchen wurden Stücke von 1 cm Durchmesser übergeimpft. Das Trockengewicht des Impfstückes betrug je nach dem Alter der Kultur 2,2—5 mg. Es zeigte sich in verschiedenen Versuchen, daß das Gewicht des Impfstückes innerhalb dieser Grenzen nicht von Bedeutung war. Wichtig war dagegen, daß die ausgestochenen Mycelstücke auf der Oberfläche der neuen Nährlösung schwammen.

Tabelle 7 zeigt, daß auch mit dieser Methode bei 600 γ Oxychinolinsulfat noch eine schwache Entwicklung des Impfstückes festzustellen war. Bei 1000 γ dagegen konnten wir in keinem Falle ein Wachstum beobachten. Die Letaldosis liegt also bei dieser Methode etwas tiefer, als wenn das Oxychinolin zu wachsenden Kulturen beigefügt wird (vgl. Tabelle 6). Im übrigen zeigt sich auch hier wieder das gleiche Bild wie bei den früheren Versuchen. Wir haben bei höhern Oxychinolin-Konzentrationen nicht einen scharf begrenzten Schwellenwert der Giftwirkung, sondern eine zeitliche Hemmung der Entwicklung, die bis zu einer Konzentration von 600 γ immer ausgeprägter erscheint. Je höher die Konzentration des Giftes, um so länger dauert es, bis der Pilz die Hemmung

überwunden hat. Nach 3 Tagen müßte man die Letaldosis auf 300 bis 400 γ ansetzen, nach 7 Tagen auf mindestens 500 γ , und nach 9 Tagen liegt sie sicher über 600 γ . Zur Bildung von 20—30 mg Trockensubstanz sind bei 200 γ Oxychinolin 3 Tage notwendig, bei 300 γ dagegen 7 Tage und bei 600 γ endlich 9 Tage.

Tabelle 7.

Entwicklung von ausgestochenen Mycelstücken von 2,5 mg Trockengewicht in Nährösungen mit verschiedenen Konzentrationen von Oxychinolinsulfat.

Konzentration γ	Trockengewicht		
	3 Tage mg	7 Tage mg	9 Tage mg
0	188,7	290,3	283,2
100	92,2	132,2	156,7
200	28,4	61,6	154,7
300	15,6	29,7	92,2
400	3,0	7,1	39,6
500	2,5	3,8	43,7
600	2,5	3,7	23,5
1000	2,3	ca. 2,0	ca. 2,0

Mit dem Mycelstück werden bei dieser Methode natürlich auch Konidien übergeimpft. Diese konnten jedoch bei dem in Tabelle 7 zusammengestellten Versuche nur in der giftfreien Kontrolle auskeimen. Wurden nach 9 Tagen Konidien der Konzentrationen 500, 600 und 1000 γ mit der Öse auf Agar übertragen, so ergab sich in allen Fällen eine normale Entwicklung. Wir haben also auch bei 1000 γ Oxychinolin nur eine fungistatische, aber keine eigentliche genestatische oder toxische Wirkung. Immerhin wäre es interessant, die prozentuale Keimfähigkeit dieser bei hohen Konzentrationen gebildeten Konidien näher zu untersuchen.

Die Entwicklung der Kulturen zeigte bei dieser Impfmethode ein ganz abweichendes Bild. Nur bei den giftfreien Kontrollen bildete sich die normale, einheitliche Myceldecke, in der das Impfstück schon nach drei Tagen kaum mehr erkennbar ist. Schon mit 100 γ Oxychinolin bildete sich keine geschlossene Decke mehr. Hier und noch mehr bei 200 und 300 γ entwickelte sich der Pilz hauptsächlich auf dem Impfstück selbst. Das Wachstum geht mehr in die Höhe als in die Breite. Bei 300 γ fängt das Mycel an, weiß zu werden, was unter normalen Umständen bei unserm Stamm nur bei alten Kulturen vorkommt und wohl als Degeneration zu bezeichnen ist. Auch das mikroskopische Bild ändert sich mit der zunehmenden Konzentration des Oxychinolins. Schon bei 100 γ werden die Fettkugelchen in den Hyphen kleiner. Bei 300 γ finden wir sie

überhaupt nicht mehr. Das Plasma erscheint leicht vakuolisiert, und die Hyphen sind vielfach zu Strängen verklebt. Die Verzweigungen sind dicht gehäuft, doch bleiben die Seitenzweige kurz. Bei 600γ Oxychinolin finden wir viele abgestorbene Hyphen. Bei andern ist eine starke Plasmolyse zu beobachten. Die Zellwände sind oft wellig verbogen. Die Hyphen sind mit Jod stärker färbbar, dagegen gelang ein Nachweis des Oxychinolins in den Hyphen mit Eisenchlorid nicht.

Ein ganz anderes Bild ergab sich, wenn Mycelstücke aus ganz jungen Kulturen übergeimpft wurden. Hier hatte sich noch kein eigentliches Luftmycel gebildet, das Mycelstück war vollständig von der Nährösung durchtränkt und sank nach der Übertragung in die Erlenmeyerkolben sofort unter. Die giftfreien Kontrollen entwickelten sich normal, wenn auch etwas langsam (Mycelgewicht nach 7 Tagen 225,1 mg, nach 9 Tagen 258,2 mg). In den Kolben mit Oxychinolin trat dagegen nur noch bei 100γ eine schwache Entwicklung ein (25 mg nach 7 Tagen). Schon von 200γ an zeigte sich in diesen Kulturen überhaupt kein Wachstum mehr. Nach 9 Tagen wurden Mycelstücke der Konzentrationen von 200 — 1000γ auf Agar übertragen. Es wurde in keinem Falle ein Wachstum beobachtet. Für diese untergetaucht wachsenden Mycelien übten also schon 200γ eine toxische Wirkung aus. Dies ist wohl dadurch bedingt, daß sich der Pilz nicht unter optimalen Bedingungen befand (Sauerstoffmangel). Zudem befand sich hier jede einzelne Zelle des Mycels in unmittelbarem Kontakt mit dem Gift.

VI. Wirkung des Oxychinolins auf die Sklerotien.

Da unser *Botrytis*-Stamm im Laufe der Zeit immer weniger Sklerotien bildete, konnten diese Versuche nicht in dem Umfange durchgeführt werden, wie ursprünglich vorgesehen war. Ganze oder halbierte Sklerotien kamen für eine bestimmte Zeit in eine Lösung von Oxychinolinsulfat. Dann wurden sie in Petrischalen auf Agar ausgelegt. Wurden die Sklerotien 1—24 Stunden in einer 0,1 %igen Lösung von Oxychinolinsulfat vorbehandelt, so wuchsen sie auf dem Agar ausnahmslos aus. Es mußten deshalb höhere Konzentrationen angewendet werden. Bei einer Vorbehandlung von 2 Tagen in einer 1 %igen Lösung von Oxychinolinsulfat war noch Wachstum festzustellen, dagegen schien eine Vorbehandlung von 3 Tagen letal zu wirken. Genau gleich wirkte 1 % Kupfersulfat. Halbierte Sklerotien wuchsen in diesem Versuche nach einer eintägigen Vorbehandlung mit 1 % Oxychinolinsulfat oder 1 % CuSO_4 noch aus, nach zweitägiger Vorbehandlung dagegen nicht mehr. Halbierte Sklerotien erwiesen sich also empfindlicher, was auch vorauszusehen war.

Bedeutend stärker als Oxychinolinsulfat oder Kupfersulfat wirkte eine einprozentige Formalinlösung. Schon nach einer Vorbehandlung von

8 Stunden wachsen die Sklerotien nicht mehr aus. Die zur Abtötung nötige Zeit kann unter Umständen noch wesentlich kürzer sein, da mit dieser Substanz keine systematischen Versuche durchgeführt wurden.

Man sollte von einem Bodendesinfektionsmittel erwarten dürfen, daß es auch Dauerzustände von Pilzen abzutöten vermag. Sklerotien werden an verfaulenden Pflanzenteilen im Boden sehr häufig gebildet. Sowohl Oxychinolin als Kupfersulfat genügen in dieser Beziehung für die praktische Anwendung nicht, dagegen wirkt Formalin viel besser.

Bei den Sklerotien kann natürlich die Widerstandsfähigkeit des Pilzes nicht auf eine Schleimbildung zurückgeführt werden. Hier wird die Aufnahme des Giftes wohl durch die Wand der Sklerotien sowie durch die dicken Wände des Pseudoparenchysms verzögert.

VII. Die Wirkungsweise des Oxychinolins.

Schon Schaffnit (nach Hollrung, 3) glaubte, daß die fungizide Wirkung des Oxychinolins auf einer Ausfällung von Metallen in den Zellen des Pilzes beruhe. Dies erscheint naheliegend, da ja das 8-Oxychinolin zur Ausfällung von Metallen bei der quantitativen Analyse angewendet wird. Neuerdings hat Zentmeyer (9) diese Annahme weitgehend bestätigt. Er konnte nachweisen, daß der Pilz *Fusarium oxysporum f. lycopersici* für seine Entwicklung eine Zugabe von Zink benötigt. Durch Oxychinolin kann eine starke Hemmung bewirkt werden. Gibt man jedoch gleichzeitig Zink im Überschuß zur Nährösung, so wächst der Pilz weiter. Man könnte sich hier allerdings fragen, ob sich der Zusatz von Oxychinolin außerhalb der Zelle in der Nährösung oder in der Zelle selber auswirkt. Im ersten Falle würde das Wachstum abgestoppt, weil der Pilz gewisse als Katalysatoren notwendige Spurenelemente nicht mehr erhält, da sie durch das Oxychinolin ausgefällt werden. Im zweiten Fall dagegen würde das Oxychinolin durch Fällung von Metallen in der Zelle den Ablauf von enzymatischen Vorgängen stören, dabei müßte allerdings noch abgeklärt werden, ob das Oxychinolin-Molekül überhaupt als Ganzes in die lebende Zelle eindringen kann, was vorläufig noch nicht bewiesen ist.

Botrytis cinerea scheint für die Klärung dieser Fragen nicht ein besonders geeignetes Objekt zu sein. Wir wissen vorläufig über den Bedarf dieses Pilzes an Spurenelementen noch nichts. Nach unsrern Versuchen ist *Botrytis* nicht auf die Zugabe von Zink zur Nährösung angewiesen.

Es wurden zahlreiche Versuche ausgeführt, in denen der Nährösung gleichzeitig abgestufte Mengen von Oxychinolinsulfat (resp. o-Oxychinolin) und Zinksulfat beigefügt wurde. Die Ergebnisse waren nicht eindeutig. Immerhin zeigten die meisten Versuche, daß mit der gleichen Konzentration von Oxychinolin etwas höhere Trockengewichte

erzielt werden, wenn die Nährlösung auch Zinksulfat enthält. In Tabelle 8 sind die Ergebnisse eines solchen Versuches zusammengestellt.

Tabelle 8.
Wirkung von Zinksulfat bei steigenden Konzentrationen von Oxychinolinsulfat.

Oxychinolin-Konzentration γ	Trockengewicht nach 7 Tagen		Unterschied %
	ohne $ZnSO_4$	mit 0,1 mg $ZnSO_4$	
	mg	mg	
0	276,0	285,7	+ 3,7
30	167,9	208,6	+ 24
40	49,0	96,0	+ 96
50	1,0	7,4	+ 740
70	0	0	

Hier wirkt ein Zusatz von Zinksulfat bei den Kontrollen ohne Oxychinolin nicht. Je mehr aber die Oxychinolin-Konzentration ansteigt, um so stärker äußert sich die Wirkung des Zinks, doch gelang es weder hier noch in andern Versuchen, die Grenze der Toxizität durch Zusatz von Zink nach oben zu verschieben. Wir möchten allerdings diese Ergebnisse nur als vorläufige betrachten, denn wir sind uns wohl bewußt, daß in unsren Versuchen nicht alle Voraussetzungen, die man an Versuche mit Spurenelementen stellen muß, erfüllt waren. Deshalb sind auch die teilweise widersprechenden Ergebnisse verständlich.

Auf alle Fälle sind die Verhältnisse bei *Botrytis* nicht so klar wie bei *Fusarium oxysporum f. lycopersici* in den Versuchen von Zentmeyer. Es besteht allerdings auch die Möglichkeit, daß hier andere Spurenelemente den Ausschlag geben können.

Wir versuchten zunächst einmal festzustellen, ob das Oxychinolin während der Entwicklung des Pilzes teilweise aus der Nährlösung verschwindet. Ist dies der Fall, so muß man annehmen, daß es in irgendeiner Form durch den Pilz aufgenommen worden ist. Da aber eine chemische Bestimmung des Oxychinolins in so geringen Mengen und in einer sehr komplexen Nährlösung mit Schwierigkeiten verbunden sein dürfte, versuchten wir diesen Nachweis auf biologischem Wege zu erbringen. Das Prinzip dieser Versuche bestand darin, daß wir den Pilz zuerst bei einer bestimmten Giftkonzentration wachsen ließen, ihn dann entfernen, das Trockengewicht bestimmten und die gebrauchte Nährösung neuerdings beimpften. Ist dann in diesen Sekundärkulturen das Wachstum geringer als in den Primärkulturen, so müßte man in erster Linie an eine Erschöpfung des Substrates oder an die Bildung von Hemmungsstoffen denken. Fällt aber die Ernte in den Sekundärkulturen höher aus, so muß angenommen werden, daß der Gehalt an Oxychinolin in der Sekundärkultur geringer ist als in der Primärkultur.

In den ersten Versuchsreihen wurden Kulturen, denen das Oxychinolinsulfat mit der Impfung des Pilzes beigefügt worden war, nach $4\frac{1}{2}$ resp. nach 6 Tagen abfiltriert und das Trockengewicht der Primärkulturen ermittelt. Die gebrauchte Nährösung wurde nun 15 Minuten bei 75° pasteurisiert und neuerdings mit Konidien beimpft. Nach weiteren 7 Tagen wurde das Mycelgewicht der Sekundärkulturen bestimmt.

Tabelle 9.
Mycelgewichte von Primär- und Sekundärkulturen

Konzentration γ	Primärkulturen			Sekundärkultur (7 Tage)	
	A ($4\frac{1}{2}$ Tage)	B (6 Tage)	C (7 Tage)	aus A	aus B
	mg	mg	mg	mg	mg
0	277,5	295,5	305,2	280,8	269,7
25	4,3	16,8	143,0	190,4	219,9
27,5	2,7	9,2	79,3	235,9	199,4
30	2,5	9,3	75,8	237,1	197,3
32,5	0	2,2	8,3	—	136,5

In Tabelle 9 müssen die Werte für die Sekundärkulturen mit den gleichaltrigen Kulturen der ersten Ernte (C) verglichen werden. Ein Vergleich zeigt deutlich, daß die Sekundärkulturen bedeutend höhere Mycelgewichte aufweisen als die entsprechenden Primärkulturen. Besonders auffällig ist dies für die Mycelien, die in einer Nährösung gewachsen waren, in der die Primärkultur nach $4\frac{1}{2}$ Tagen entfernt worden war. Für die Konzentrationen von 27,5 und 30 γ sind hier die Trockengewichte ungefähr dreimal höher als in der gleich alten Primärkultur. Läßt man die Primärkultur 6 Tage lang wachsen, so sind die Gewichte der Sekundärkulturen etwas kleiner. Immerhin sind die Unterschiede auch hier weit außerhalb der Fehlergrenzen. Es ist möglich, daß durch die längere Dauer der Primärkultur Hemmungsstoffe gebildet wurden.

Man könnte nun gegenüber diesen Versuchen den Einwand erheben, daß das Oxychinolin durch die zweite, allerdings schonende Sterilisation der Nährösung zum Teil inaktiviert worden sei. Dies wäre tatsächlich möglich. Um diesen Fehler auszuschalten, wurden weitere Versuche in dieser Richtung durchgeführt, und zwar mit ausgestochenen Mycelstücken. Es wurde früher ausgeführt, daß hier erst bedeutend höhere Oxychinolin-Konzentrationen wirksam sind. Damit ist auch die Gefahr von Fremdinfektionen beim Herausnehmen der Mycelien und bei der zweiten Impfung bedeutend geringer, da in Lösungen mit 200 γ und mehr Oxychinolin nur selten Fremdinfektionen (*Penicillium*) auftreten. Es wurde schon früher erwähnt, daß der Pilz bei Verwendung von Mycelstücken als Impfmaterial nicht die ganze Oberfläche der Nährösung

bedeckt. Die Mycelien können also mit Leichtigkeit aus der Nährösung herausgenommen werden. Dies gilt allerdings nur für höhere Oxychinolin-Konzentrationen.

Die Sekundärkulturen wurden in diesem Versuche überall nach 7 Tagen geerntet. In Tabelle 10 müssen also diese Gewichte immer mit den Erträgen der gleich alten Primärkulturen (Kolonne A) verglichen werden.

Tabelle 10.
Mycelgewichte von Primär- und Sekundärkulturen bei Verwendung von Mycelstücken als Impfmaterial.

Konzentration γ	Primärkultur				Sekundärkultur (7 Tage)			
	A (7 Tage)	B (9 Tage)	C (12 Tage)	D (14 Tage)	aus A	aus B	aus C	aus D
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
0	290,3	283,2	266,4	257,4				
100	132,2	156,9	180,1	169,4				
200	61,6	154,4	172,6	170,4	168,8			
300	29,7	92,5	136,1	124,5	101,1			61,9
400	7,1	39,6	89,8	107,7	17,6	32,4	98,0	25,8
500	3,8	43,7	60,9	38,9	1,8	103,4	72,9	34,0
600	3,7	23,5	21,1	69,3	1,7	23,5	42,0	23,6

Trotz verschiedener Unregelmäßigkeiten, die hier vor allem durch die zu geringe Zahl von Kolben bedingt ist, zeigt die Tabelle doch einwandfrei, daß in den Sekundärkulturen durchwegs höhere Mycelgewichte erzielt wurden. Auch scheint sich das Auftreten von Hemmungsstoffen bemerkbar zu machen, da die aus den ältesten Primärkulturen erhaltenen Werte fast überall niedriger sind. Wesentlich für unsere Auffassung ist aber, daß bei den Konzentrationen von 400—600 γ auch die jüngsten Primärkulturen nur schwach entwickelte Sekundärkulturen ergaben. Dies weist darauf hin, daß bei schwachem Wachstum der ersten Kultur nur ein geringer Teil des Oxychinolins aus der Nährösung verschwindet.

Es wurde früher (Seite 487) erwähnt, daß die Überimpfung von Mycelstücken nur dann auch bei höheren Konzentrationen ein gutes Wachstum ergibt, wenn die Impfstücke auf der neuen Nährösung schwimmen. In einem Versuche, bei dem das übergeimpfte Mycel zu jung war, so daß die Impfstücke untersanken, hörte das Wachstum schon bei 200 γ auf. Auch in diesen Kolben wurden nun Sekundärkulturen angelegt. In Abbildung 6 sind die Ergebnisse dieses Versuches zusammengestellt. Kurve A₁ entspricht den Werten von Kolonne A in Tabelle 10 und stellt also die Entwicklung einer normalen, durch Impfung mit Mycelstücken erhaltenen Kultur nach 7 Tagen dar. A₂ ist die entspre-

chende Sekundärkultur. Bei B_1 handelt es sich um Kulturen, bei denen die Impfstücke untergetaucht waren und die sich aus diesem Grunde schon bei relativ niedrigen Oxychinolin-Konzentrationen nicht mehr entwickelten. Die entsprechende Sekundärkultur B_2 zeigt allerdings etwas höhere Mycelgewichte, doch lassen sich diese höchstens mit der normal wachsenden Primärkultur A_1 , nicht aber mit A_2 vergleichen.

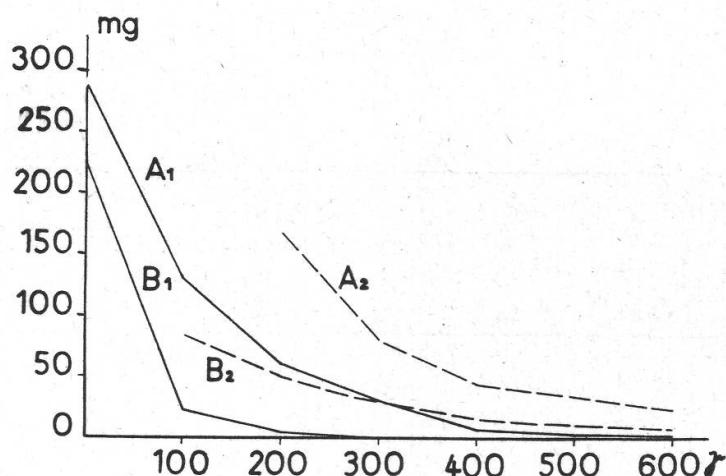


Abbildung 6.
Trockengewichte von Primär- und Sekundärkulturen. A Impfstücke der Primärkulturen auf der Oberfläche schwimmend.
B Impfstücke untergetaucht.

Diese Versuche zeigen eindeutig, daß sich die Sekundärkulturen trotz Abnahme des Vorrates an Nährstoffen und trotz der möglichen Bildung von Hemmungsstoffen bedeutend besser entwickeln als die Primärkulturen. Man kann diese Erscheinung kaum anders erklären als mit der Annahme, daß durch die Primärkultur ein Teil des Oxychinolins entweder durch den Pilz aufgenommen oder inaktiviert wurde. Da mit steigenden Oxychinolin-Konzentrationen eine stärkere Schleimbildung des Pilzes einsetzt, kann vermutet werden, daß das Oxychinolin auf irgend eine Art im Pilzschleim festgehalten wird. Es könnte sich dabei um eine Adsorption handeln. Nach einem Diskussionsvotum von Prof. H. Pallmann wäre aber auch eine chemische Verbindung des Oxychinolins mit den Pektinsubstanzen der Schleimhülle möglich. In beiden Fällen bewirkt der Schleim, daß nur ein Teil des Oxychinolins direkt auf die lebenden Zellen einwirkt. Er bildet also eine Art Filter und übt damit eine deutliche Schutzwirkung aus.

VIII. Allgemeine Ergebnisse.

1. Die Giftempfindlichkeit verschiedener Entwicklungsstadien.

Es war zu erwarten, daß die Oxychinolin-Konzentration, die zur Hemmung oder zur Abtötung eines Pilzes notwendig ist, je nach dem Entwicklungsstadium sehr verschieden ist. Fassen wir die Ergebnisse unserer Versuche zusammen, so ergibt sich folgendes Bild für die fungizide Wirkung des Oxychinolinsulfates :

	Letale Konzentration	
	in 30 cm ³	in 1 Liter
Ruhende Konidien	400—500 γ	13—17 mg
Keimungsvorgang	180—200 γ	6—7 mg
Keimschlüche	90—100 γ	3—4 mg
Junge Mycelien (im Erlenmeyer- kolben)	30—60 γ	1—2 mg
Ältere Mycelien	600—über 1000 γ	20—über 35 mg
Sklerotien		über 10 g

Die Empfindlichkeit des Pilzes in verschiedenen Entwicklungsstadien variiert also innerhalb sehr weiter Grenzen. Zur Abtötung der Sklerotien sind Konzentrationen nötig, die mindestens 10 000mal höher sind als für junge Mycelien. Dabei ist es uns allerdings klar, daß diese Zahlen keine absoluten Schwellenwerte darstellen. Sie gelten nur für unsren Stamm, und zwar nur bei möglichst optimalen Lebensbedingungen. Die Wirkung des Zeitfaktors läßt sich in einer so einfachen Darstellung nicht zum Ausdruck bringen. Wird ein Pilz genügend lange Zeit einer fungistatischen Dosis ausgesetzt, so muß diese schließlich letal, also fungizid wirken. Diese Zahlen dürfen deshalb nur als ungefähre Vergleichswerte aufgefaßt werden.

Die stärkste toxische Wirkung übt das Oxychinolin auf die jungen Mycelien aus. Dies läßt sich ohne weiteres damit erklären, daß in diesem Lebensabschnitt das intensivste Wachstum und damit die stärkste Stoffaufnahme stattfindet. Zudem ist in diesem Zeitpunkte die Schleimbildung noch sehr gering. Zur Abtötung der Keimschlüche selbst sind schon doppelt so hohe Konzentrationen notwendig. Dies mag auf den ersten Blick etwas befremden, doch kann diese Erscheinung damit erklärt werden, daß dem Keimschlauch immerhin noch gewisse Reserven aus der Konidie zur Verfügung stehen. Im weitern ist dieser Unterschied wahrscheinlich zum Teil durch die verschiedenen angewendeten Methoden bedingt. Die Giftempfindlichkeit der Keimschlüche wurde in Tropfen auf Objektträgern bestimmt. Die Keimschlüche hatten hier jedenfalls genügend Sauerstoff zur Verfügung, was bei den im Erlenmeyer wachsenden jungen Mycelien höchstens an der Oberfläche der Nährlösung der Fall war.

Die Werte für den Keimungsvorgang sind wiederum doppelt so hoch. Hier handelt es sich um eine ausgesprochen fungistatische Wirkung, denn es wird nur die Keimung verhindert oder verzögert, die Konidien selbst werden während der relativ kurzen Beobachtungszeit nicht abgetötet. Diese Bestimmung der Giftfestigkeit entspricht dem von McCullan und seinen Mitarbeitern angewendeten Sporenkeimungstest, der gegenwärtig für die Laborprüfung von Fungiziden allgemein

mit Erfolg angewendet wird. Es unterliegt keinem Zweifel, daß dieser Test die einfachste und schnellste Methode ist. Sie liefert bei Verwendung verschiedener Konzentrationen sicher gute Vergleichswerte, und da für die Phytopathologie die Prophylaxe das Hauptziel ist, wird sie auch den praktischen Anforderungen gerecht. Immerhin muß man sich bewußt sein, daß der Sporenkeimungstest nur einen Spezialfall aller möglichen Prüfungsmethoden darstellt. Für leicht wasserlösliche Gifte und besonders für die Prüfung von Bodendesinfektionsmitteln erscheint uns die Kultur in Nährösungen als ebenso gut brauchbare Methode der Laborprüfung von Fungiziden.

Die für die fungizide Wirkung auf die ruhenden Konidien ermittelten Grenzwerte liegen zwar doppelt so hoch als die für die Keimung fungistatisch wirkenden Werte, doch ist auffällig, daß die Konidien gegenüber Oxychinolin lange nicht so widerstandsfähig sind wie ältere Mycelien.

2. Die Reaktion des Pilzes auf die Vergiftung.

Botrytis cinerea bildet in Nährösungen auch unter unsren optimalen Kulturbedingungen immer etwas Schleim. Die Schleimbildung wird bedeutend stärker, wenn das pH der Nährösung für den Pilz nicht mehr optimal ist oder wenn man dem Pilz eine nicht zusagende Stickstoffquelle, zum Beispiel Glykokoll, bietet. Für andere Pilze wurde nachgewiesen, daß besonders bei hohen Zuckerkonzentrationen viel Schleim gebildet wird. Die verschiedenen Rußtaupilze, die hohe Zuckerkonzentrationen ertragen, sind zum größten Teil starke Schleimbildner. Bildung von Schleim ist bei den Pilzen wohl allgemein die Folge eines pathologischen Stoffwechsels. Es ist deshalb nicht weiter verwunderlich, daß sich bei *Botrytis* ein Zusatz von Oxychinolin zur Nährösung in erster Linie in einer erhöhten Schleimbildung auswirkt.

Der Schleimmantel, der die Hyphen umgibt, bewirkt eine Art Abkapselung der lebenden Zelle gegenüber den ungünstigen Umweltfaktoren. Diese Tatsache könnte leicht zu teleologischen Spekulationen verführen. Die verschiedene Widerstandsfähigkeit der einzelnen Entwicklungsstadien von *Botrytis* geht parallel mit der Fähigkeit zur Schleimbildung. Diese ist gering bei Keimschlüpfen und jungen Mycelien und dürfte wohl auch beim Keimungsvorgang selber keine große Rolle spielen. Dagegen kann schon die ruhende Konidie bedeutende Mengen von Schleim bilden, was sich besonders dadurch äußert, daß Konidien, die bei 0° in höhern Oxychinolin-Konzentrationen gehalten werden, stark verklumpen, so daß man sie nur durch heftiges Schütteln voneinander trennen kann.

Durch die Schleimbildung wird es unmöglich, die Wirkung des Oxychinolins auf die lebende Zelle quantitativ zu erfassen. Wir wissen

nicht, in welchem Maße die Giftkonzentration innerhalb des Schleimmantels reduziert wird. Daß der Schleim eine Art Filterwirkung ausübt, erscheint nach unsern Erfahrungen mit Sekundärkulturen sehr wahrscheinlich, dagegen ist es uns nicht möglich, die Schleimbildung zu unterdrücken oder auch nur konstant zu halten. Wir haben damit eine Fehlerquelle mehr in unsern Versuchen, die Grenzwerte für die Abtötung werden noch problematischer, als sie ohnehin sind, und der Mechanismus der Vergiftung scheint noch undurchsichtiger. So wird zum Beispiel die an sich wahrscheinliche Korrelation zwischen Letaldosis und Trocken gewicht des Pilzes durch das verschiedene Ausmaß der Schleimbildung weitgehend maskiert.

Es spielt also bei der Giftwirkung des Oxychinolins auf *Botrytis* nicht nur die Konzentration des Giftes und die Einwirkungszeit eine Rolle. Neben diesen Faktoren hat die Möglichkeit der Schleimbildung und ihr Ausmaß eine große Bedeutung. Auch für die Schleimbildung muß der Zeitfaktor berücksichtigt werden. Die Vergiftung des Pilzes ist ein Hemmungsvorgang, der durch die Schleimbildung als Reaktion des Pilzes zum Teil kompensiert wird. Das Bild der Vergiftung kann deshalb nur mit Berücksichtigung des Zeitfaktors erfaßt werden, es ändert sich von Tag zu Tag; oft sogar von Stunde zu Stunde.

Wir sind im allgemeinen gerne geneigt, die Ergebnisse der Toxikologie auf die Phytopathologie anzuwenden. Dabei sollte aber nie vergessen werden, daß die Giftwirkung gegenüber einem hochdifferenzierten Organismus nicht ohne weiteres mit der Wirkung auf einen undifferenzierten Pilz verglichen werden kann. Beim Tier wirken die Gifte spezifisch auf bestimmte Organe (Haut-, Atem-, Nerven-, Magengifte). Erfolgt an der Hauptangriffsstelle eine starke Schädigung, so bedeutet dies den Tod des ganzen Organismus, weil bei der starken Differenzierung des Körpers die Funktionen des geschädigten Organs nicht von andern Organen übernommen werden können. Bei den undifferenzierten Pilzen dagegen haben wir keine organspezifische Giftwirkung. Wirksam sind hier nur Zell- und Plasmagifte. Zudem genügt es hier nicht, wenn nur ein Teil der Zellen abgetötet wird. Der Pilz ist erst tot, wenn die Gesamtheit seiner Zellen mit dem Gift in Berührung gekommen ist. Dabei spielt hier die Leitung des Giftes keine bedeutende Rolle, weil besondere Leitungsbahnen fehlen. Jede Zelle, die nicht direkt mit dem Gift in Berührung kommt, vermag den Thallus zu regenerieren. Werden Mycelstücke in Nährösungen mit letalen Oxychinolin-Konzentrationen übergeimpft, so wächst der Pilz einfach in die Höhe und benutzt die abgetöteten Zellen als Substrat. Er bildet dabei normale und keimfähige Konidien. Dieser Vorgang spielt sich sicher nicht nur im Erlenmeyerkolben, sondern auch im Boden ab.

3. Die Anwendungsmöglichkeiten des Oxychinolins in der Praxis des Pflanzenschutzes.

Als Wirksubstanz eines Pflanzenschutzmittels hat das Oxychinolin zwei große Vorteile: Es wirkt in geringen Konzentrationen auf *Botrytis* und ist für den Menschen in diesen Konzentrationen praktisch ungiftig. Für die Bekämpfung der Graufäule an Reben haben bisher kupferhaltige Mittel versagt, und zwar nach Wilhelm (8) nicht deshalb, weil das Kupfer nicht auf *Botrytis* wirken würde, sondern weil die Kupferwirkung durch entgiftende Faktoren (zum Beispiel zuckerhaltige Pflanzensaft) herabgesetzt wird, so daß *Botrytis* schließlich noch in zweiprozentigen Kupfervitriollösungen zu keimen vermag. Andere Metallsalze haben gegenüber *Botrytis* eine noch geringere fungizide Wirkung. Wilhelm nimmt deshalb wohl mit Recht an, daß für die *Botrytis*-Bekämpfung nach organischen Präparaten gesucht werden müsse.

Wir haben in den letzten zwei Jahren in Labor- und Feldversuchen Oxychinolin-Präparate zur Bekämpfung der *Botrytis* angewendet. Der Erfolg war nicht überzeugend. Wir führen dies in erster Linie auf den Umstand zurück, daß die Wirkung des Oxychinolins wegen der ziemlich starken Wasserlöslichkeit zu wenig nachhaltig ist. Es müßte auf der Basis von Oxychinolin zuerst ein eigentliches Spritzmittel von geringer Löslichkeit, guter Haftbarkeit und Regenbeständigkeit entwickelt werden.

Das Oxychinolin hat als Pflanzenschutzmittel den Nachteil, daß es nur auf eine geringe Zahl von Pilzen wirkt. Wir führten einige Versuche mit einem von Ribes isolierten Stamm von *Verticillium alboatrum* durch. Versuche in Nährösung zeigten eine gute Wirkung des Oxychinolinsulfats. Allerdings liegen die Grenzkonzentrationen etwas höher als für *Botrytis*. Auf einen von Trauben isolierten *Penicillium*-Stamm dagegen bewirkte das Oxychinolin erst in viel höheren Konzentrationen eine deutliche Hemmung. Die Konsequenzen dieser Erscheinung traten in einem Feldversuch in recht unliebsamer Weise zutage. Es gelang uns, in den Versuchen von 1944 durch eine Behandlung der Trauben mit einem Oxychinolin-Präparat die Graufäule weitgehend zu unterdrücken. Dafür trat in dieser Parzelle eine durch *Penicillium* verursachte Grünfäule sehr stark auf, so daß die Ausfälle bedeutend größer waren als auf den unbehandelten Parzellen. Nach Angaben von Lafon (vgl. Ref. in Ann. des Epiphyties n. s. 9: 76, 1943) soll Oxychinolin auch gegen *Plasmopara viticola* unwirksam sein. Diese Feststellung steht allerdings im Widerspruch zu den Ergebnissen von Baldacci und Ciferrini (1), die nachwiesen, daß mit 0,004 % Oxychinolin eine deutliche Hemmung der Keimung bewirkt wird. Mit 0,008 % erfolgt keine Keimung mehr. In unsren Versuchen (Tabelle 2) konnte die Keimung von *Botrytis* mit 180 γ Oxychinolinsulfat in 30 cm³ Nährösung praktisch unterdrückt werden. Dies entspricht etwa 6 mg im Liter oder 0,0006 %. *Botrytis* scheint also

gegenüber Oxychinolin bedeutend empfindlicher zu reagieren als *Plasmodiophora viticola* oder *Alternaria tenuis*. Der Anwendungsbereich des Oxychinolins muß noch genauer bestimmt werden.

Nach Baldacci und Ciferrini (1) wurden während des Krieges in Italien vielfach Oxychinolin-Präparate den schwachen Kupferbrühen zugesetzt, um ihre Wirkung zu erhöhen. Die beiden Autoren konnten mit Keimungsversuchen tatsächlich den Nachweis erbringen, daß Kombinationen von Kupfer- oder Zinksulfat mit Oxychinolin eine bessere fungizide Wirkung besitzen als jede Komponente allein. Auf den ersten Blick scheint diese Feststellung mit den Ergebnissen unserer Versuche (Tabelle 8) in Widerspruch zu stehen, doch muß erwähnt werden, daß die von uns angewendete Konzentration von $ZnSO_4$ ($0,1 \text{ mg}/30 \text{ cm}^3 = 0,00033 \%$) um die Hälfte geringer ist, als die kleinste der von Baldacci und Ciferrini angewendeten Konzentrationen. Eine Giftwirkung des Zinks war bei unsren Konzentrationen überhaupt nicht anzunehmen und auch nicht beabsichtigt. Es handelte sich in unsren Versuchen nur darum, nachzuweisen, ob durch einen Zusatz von Zink die Giftwirkung des Oxychinolins herabgesetzt werden kann. Die Frage, ob durch Zusatz von Oxychinolin zu den gebräuchlichen Spritzmitteln eine Potenzierung der Wirkung erreicht werden kann, verdient weitere Beachtung.

Für die Bodendesinfektion hat das Oxychinolin den Vorteil, daß es bei sehr vorsichtiger Dosierung für die höhere Pflanze unschädlich ist. In vielen Fällen konnte sogar eine deutliche Stimulation des Wachstums festgestellt werden. Wurden dagegen Konzentrationen angewandt, wie sie zur Abtötung von resistenten Pilzen im Boden notwendig wären, so traten an jungen Pflanzen zum Teil schwere Schädigungen auf. Daß das Oxychinolin zur Abtötung von Sklerotien im Boden nicht ausreicht, scheint nach unsren Versuchen sicher zu sein. Hier wirkt eine Behandlung mit Formalin bedeutend besser. Für die Bodendesinfektion von größeren Parzellen kann das Oxychinolin nicht in Betracht kommen, weil diese Präparate zu teuer sind. Dagegen besteht die Möglichkeit, den Boden in Treibhäusern und Anzuchtkästen mit Oxychinolin zu desinfizieren, sofern die Verseuchung noch nicht zu weit fortgeschritten ist.

Zusammenfassung.

1. Ein von Trauben isolierter Stamm von *Botrytis cinerea* zeigte je nach dem Entwicklungsstadium eine verschiedene Empfindlichkeit gegenüber Oxychinolin. Am stärksten ist die fungizide Wirkung auf junge wachsende Mycelien im Erlenmeyerkolben. Es folgen mit steigender Giftresistenz: Keimschläuche, Keimungsvorgang, ruhende Konidien, ältere Mycelien und schließlich die Sklerotien.
2. Es gelang nicht, eine Korrelation zwischen Giftkonzentration und Mycelgewicht nachzuweisen. Die quantitative Wirkung des Oxy-

- chinolins wird durch die Schleimbildung des Pilzes verdeckt. Überall, wo Schleimbildung auftritt, werden die Grenzwerte für die toxische Wirkung stark erhöht. Durch die Bildung von Schleim werden Teile des Mycels vor der Einwirkung des Giftes geschützt.
3. Subletal Oxychinolin-Konzentrationen bewirken eine Verzögerung der Entwicklung, die im Laufe der Zeit wieder verschwindet. Der Vergiftungsvorgang kann deshalb nur mit Berücksichtigung des Zeitfaktors erfaßt werden.
 4. Die praktische Anwendung des Oxychinolins für die Bodendesinfektion wird dadurch beeinträchtigt, daß es kaum möglich ist, ältere Mycelien oder Sklerotien im Boden durch Oxychinolin abzutöten. Formalin zeigt hier eine bedeutend bessere Wirkung.

Summary.

1. A strain of *Botrytis cinerea* isolated from grapes shows a different reaction to hydroxyquinoline according to the stage of development of the fungus. The fungicidal action is most pronounced in young growing mycelium in Erlenmeyer flasks. The germ tubes, the process of germination, resting spores and specially the elder mycelium and sclerotia are more poison-resistant.
2. It was not possible to establish a correlation between the toxic concentration of hydroxyquinoline and the dry-weight of the mycelium. The quantitative action of hydroxyquinoline cannot be proved because the slime-formation of the fungus, which is intensified as a result of the intoxication. Everywhere where slime-formation occurred the "thresholds" of the toxic action are strongly elevated. Through the slime parts of the mycelium are protected from the action of the poison.
3. Subletal, fungistatic concentrations of hydroxyquinoline produce a delay of development which disappears with the time. The process of poisoning can only be considered in relation to the time.
4. The practical use of hydroxyquinoline for soil desinfection is very limited because it is hardly possible to kill mycelia and sclerotia in the soil. Formaldehyde shows much better results.

Literatur.

1. Baldacci, E. e Ciferrri, R.: Azione germinativa, anticerittogamica e potenzializzante dei derivati ossichinolinici. — Atti Istituto Botanico della Università Pavia, Serie 5, 5: 81-92, 1944.
 2. Gäumann, E.: Pflanzliche Infektionslehre. Birkhäuser, Basel, 1945.
 3. Hollitung, M.: Die Mittel zur Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten. 3. Auflage, Berlin, 1923.
 4. Horsfall, J. G.: Fungicides and their action. Waltham, Mass. 1945 (Chronica Botanica Company).
 5. Horsfall, J. G.: Quantitative bioassay of fungicides in the laboratory. — Bot. Rev. 11: 357-397, 1945.
 6. Mc Callan, S. E., and Wellman, R. H.: Fungicidal versus fungistatic. — Contr. Boyce Thompson Inst. 12: 451—463, 1943.
 7. Paul, W. R. C.: A comparative morphological and physiological study of a number of strains of *Botrytis cinerea* with special reference to their virulence. — Transact. British Mycol. Soc. 14: 118—135, 1929.
 8. Wilhelm, A. F.: Untersuchungen zur Frage einer chemischen Bekämpfung der Traubenfäule (*Botrytis cinerea*). — Wein und Rebe 26: 29-49, 67-76, 1944.
 9. Zentmyer, G. A.: Inhibition of metal catalysis as a fungistatic mechanism. — Science 100: 294-295, 1944.
-