

Zeitschrift: Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse
Herausgeber: Schweizerische Botanische Gesellschaft
Band: 76 (1966)

Artikel: Fruchtkörperbildung und Variabilität morphologischer Merkmale bei *Leptosphaerulina australis* McAlpine (Fungi)
Autor: Müller, Emil
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-53570>

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: 16.04.2026

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

Fruchtkörperbildung und Variabilität morphologischer Merkmale bei *Leptosphaerulina australis* McAlpine (Fungi)¹

Von *Emil Müller*

(Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule, Zürich)

Manuskript eingegangen am 7. April 1966

Inhalt	Seite
I. Problemstellung	186
II. Material	187
III. Der Versuchspilz	188
A. Morphologie und Stellung im System	188
B. Die Fruchtkörperentwicklung	190
C. Das Ausschleudern der Ascosporen	192
D. Ernährungsansprüche	193
IV. Einfluss exogener Faktoren auf das Fruchtkörperbildungsvermögen von <i>Leptosphaerulina australis</i> McAlpine	193
A. Allgemeines	193
B. Methodik der Kulturversuche	194
C. Temperatur	196
D. Wasserstoffionenkonzentration	197
E. Licht	200
F. Ernährung	201
1. Einleitung	201
2. Kohlehydrate	201
3. Stickstoff	203
4. Das Kohlehydrat-Stickstoff-Verhältnis	207
5. Mineralsalze	209
V. Einfluss exogener Faktoren auf die Ausgestaltung einzelner morphologischer Merkmale von <i>Leptosphaerulina australis</i> McAlpine	210
A. Allgemeines	210
B. Thallusmerkmale	211
C. Fruchtkörper	213

¹ Die Untersuchungen wurden durch den Schweizerischen Nationalfonds für wissenschaftliche Forschung unterstützt.

D. Ascosporen	214
1. Allgemeines	214
2. Ascosporen unter optimalen Bedingungen	215
3. Einfluss der Temperatur	217
4. Einfluss der Ernährung	218
VI. Diskussion	223
VII. Zusammenfassung, Résumé, Summary	225
VIII. Literatur	227

I. Problemstellung

Wie in den übrigen Pflanzengruppen erfolgt auch bei den Pilzen die morphologische Untersuchung und die darauf aufbauende systematische Einteilung zur Hauptsache an Material, welches in der freien Natur gesammelt wird. Die Beurteilung aufgrund von Reinkulturen auf Laboratoriumsnährböden ist zwar ebenfalls möglich und nimmt an Bedeutung zu, doch sind diese Fälle immer noch verhältnismässig selten. Häufig bleiben Laboratoriumskulturen steril, oder sie bringen nur asexuelle Fruktifikationen hervor. Immerhin gibt es unter den uns interessierenden Ascomyceten (Schlauchpilze) einzelne Gruppen, z.B. die Aspergillales (vgl. Gäumann, 1964), bei denen in Reinkultur relativ häufig neben asexuellen auch sexuelle Fruktifikationen (Hauptfruchtformen) auftreten. Die grosse Mehrheit der Ascomyceten bildet aber, soweit sie sich überhaupt auf Laboratoriumsnährböden kultivieren lassen, nur sporadisch Hauptfruchtformen, und nur in ganz wenigen Fällen kennt man auch die dafür notwendigen Kulturbedingungen.

Für die Abklärung mancher Einteilungsfragen oder des Entwicklungsablaufes einzelner Formen wäre es aber erwünscht, Hauptfruchtformen unter kontrollierten Bedingungen zu erhalten. Auch sind die Ergebnisse morphologischer Untersuchungen oft unsicher, da über die Variabilität mancher morphologischer Eigenschaften nur wenig bekannt ist. Vor allem kennen wir nur in seltenen Fällen den Einfluss äusserer Faktoren (Nährsubstrat, physikalische Bedingungen) auf die Ausgestaltung der Morphologie. Für derartige Untersuchungen sind wir ebenfalls auf unter kontrollierten Bedingungen sich entwickelnde Fruktifikationen angewiesen.

Wir haben uns daher zum Ziel gesetzt,

1. die Bedingungen für die Bildung von sexuellen Fruktifikationen an einem Beispiel abzuklären und

2. die Variabilität einzelner, für die Systematik wichtiger Merkmale unter verschiedenen äussern Bedingungen zu bestimmen.

Versuche über Fruchtkörperbildung sind bis heute an einer ganzen Reihe von Pilzen, darunter auch bei Ascomyceten, durchgeführt worden. Zusammenfassungen über die Ergebnisse derartiger Untersuchungen finden sich bei Hawker (1957) und Cochrane (1958), mehr aus der Sicht des Phytopathologen bei Hawker in Horsfall und Dimond (1960) und bei Müller (1961).

Wie komplex die Pilze auf die ihnen gebotenen Bedingungen ansprechen, geht aus der von Lilly und Barnett (1951) zusammengestellten Liste über die Sporulation anregende Faktoren hervor. In erster Linie erwähnen sie zur Förderung der Fruchtkörperentwicklung Ernährungsfaktoren, so Konzentration und Art der Kohlenstoffquelle, die Art der Stickstoffquelle, das Verhältnis zwischen Stickstoff- und Kohlenstoffquelle, Vitamine, Spurenelemente. In einigen Fällen ist die Zugabe von Pflanzenteilen wie Stengel oder Blätter zu den Nährböden erfolgreich. Aber auch die Wasserstoffionenkonzentration, die Belichtung und die Temperatur, in anderen Fällen Schockwirkungen durch Verletzung, UV-Strahlung oder Austrocknung vermögen die Fruchtkörperbildung zu beeinflussen.

Einige Beispiele von Ascomyceten mögen dies belegen: *Griphosphaeria nivalis* (Schaffn.) Müller et v. Arx, der Schneeschimmel des Getreides, wächst auf den üblichen Laboratoriumsnährböden zwar recht gut, bildet hier aber nur seine Nebenfruchtform (*Fusarium nivale* Fr.). Kultiviert man diesen Pilz auf sterilisiertem, feuchtem Stroh, entwickeln sich leicht die Perithezien der Hauptfruchtform (Schaffnit, 1912, Müller, 1952). Auch *Didymella exitialis* (Mor.) Müller, die Hauptfruchtform von *Ascochyta graminicola* Sacc. (Erreger einer Blattfleckenkrankheit von Gramineen), bildet auf den üblichen Laboratoriumsnährböden nur die Konidienform. Die Hauptfruchtform entwickelt sich erst auf Filterpapierhütchen, welche in Nährlösung gestellt werden (Müller, 1952). Ähnlich verhalten sich einige Formen von *Leucostoma* (Leonian, 1923, Kern, 1957). In diesen Fällen ist wahrscheinlich die gute Belüftung der Thalli an der Anregung der Perithezienentwicklung beteiligt. Die weidenbewohnenden Arten der Gattung *Venturia* entwickeln ihre Hauptfruchtformen leicht in feuchtigkeitsgesättigten Räumen, während die Art des Nährsubstrates eine geringe Rolle spielt (Nüesch, 1960).

II. Material

Als Untersuchungsobjekte wurden einige bitunicate Pyrenomyceten aus der Gattung *Leptosphaerulina* McAlpine gewählt. Mehrere Arten aus

dieser Gattung bilden, wie dies von Müller (1951), Wehmeyer (1955) und Graham und Luttrell (1961) festgehalten worden ist, leicht und verhältnismässig rasch auf allen möglichen Substraten die Fruchtkörper ihrer Hauptfruchtform.

Am leichtesten und raschesten fruktifiziert die Typusart der Gattung, *Leptosphaerulina australis* McAlpine. Dieser Pilz schliesst keine Nebenfruchtform (asexuelle Fruktifikationsform) in seine Entwicklung ein. Er ist homothallisch, d.h. seine sexuellen Fruktifikationen entwickeln sich auch in einem Thallus, der aus einer einzigen Ascospore hervorgegangen ist. Ausserdem stellt er sehr geringe Ansprüche an seine Umgebung.

Zur Untersuchung wurden folgende Kulturstämme herangezogen:

ETH Nr.	Isoliert durch:	Wirt:	Herkunftsland:	Bemerkungen:
M 428	Dr. J. von Arx	Kohlwurzeln	Holland	
M 456	Müller	Unbestimmte Graminee	Schweiz	Beschrieben als <i>Pleospora gaeumannii</i> (Müller, 1951)
M 4615	Dr. R. A. Shoemaker	Berberis	Schweiz	
M 4619	Shoemaker und Müller	Oryza sativa	Indien	Beschrieben als <i>Pleosphaerulina oryzae</i> Miak. (vgl. Karan, 1964)
M 4941	Dr. E. G. Simmons	Agrostis	USA, N. Hamps.	Baarn Nr. 233.53, vgl. Wehmeyer, 1955
M 4942	Dr. J. von Arx	Unbestimmte Graminee	Holland	Baarn 234.58
M 4943	Dr. L. E. Wehmeyer	Agrostis	USA, Mich.	Baarn 298.54
M 4944	Dr. A. Jenkins	Rosa	USA, My.	Baarn 297.54, vgl. Wehmeyer, 1955

Die meisten Versuche wurden mit Stamm M 4615 durchgeführt und die übrigen dann zum Vergleich herangezogen. Für einige weitere Vergleiche kultivierten wir auch Stamm M 572, *Leptosphaerulina trifolii* (Rostr.) Petr., isoliert von Rotklee durch Herrn Dr. R. Corbaz, Lausanne.

III. Der Versuchspilz

A. Morphologie und Stellung im System

Die Gattung *Leptosphaerulina* McAlpine, deren Arten zwar nicht selten sind, bis vor kurzem aber meist als Glieder ganz anderer Verwandtschaftskreise beschrieben und benannt wurden, hat erst in neuerer Zeit eine grössere Beachtung gefunden (Müller, 1958, Wehmeyer, 1958, Petrak,

1959, Graham und Luttrell, 1961). Mit ihr ist *Pseudoplea* v. Höhn. synonym. Sie lässt sich folgendermassen umschreiben:

Die in nekrotischen Flecken lebender Pflanzenteile oder auf abgestorbenen Pflanzen wachsenden Fruchtkörper sind kugelig oder ellipsoidisch, heller oder dunkler braun und meist klein (Durchmesser nicht über 200 μ). Sie bleiben lange geschlossen, öffnen sich aber später im scheidelständigen Mündungskegel mit einem rundlichen Porus. Die relativ dünne Fruchtkörperwand besteht aus ziemlich dickwandigen, isodiametrischen, nach innen etwas abgeplatteten Zellen. Die im Innern an der Basis entspringenden Asci sind ellipsoidisch oder breit keulig, manchmal auch bauchig, ihre doppelte Membran ist dick, und sie sind durch ein faserig-zelliges, paraphysoides Geflecht voneinander getrennt. Die acht mittelgrossen, schmal ellipsoidischen oder keuligen, manchmal keulig-spindelförmigen Ascosporen sind durch mehrere Quer- und oft auch durch Längssepten mehrzellig, häufig von einer Schleimhülle umgeben, und sie färben sich erst ganz spät etwas bräunlich.

Die zur Gattung gestellten Arten lassen sich vor allem aufgrund ihrer Ascosporen unterscheiden; ein Teil dieser Arten, darunter auch der Gattungstypus *Leptosphaerulina australis* McAlpine, wurde durch Graham und Luttrell (1961) ausführlich beschrieben. Die beiden Autoren machten auch auf die engen Beziehungen zur Gattung *Wettsteinina* v. Höhn. aufmerksam (vgl. Müller, 1950, 1951 b, Müller und v. Arx, 1950, 1962, Gäumann, 1964); möglicherweise müssten die beiden Gattungen vereinigt werden.

Leptosphaerulina australis zeichnet sich durch länglich-keulige, etwas über der Mitte stärker eingeschnürte, mit vier Quersepten und in einer oder zwei der mittleren Zellen mit einem Längsseptum versehene, 25–40 μ lange und 10–15 μ breite, zunächst hyaline, später bräunliche, jung von einer Schleimschicht umgebene Ascosporen aus. Sie wächst saprophytisch auf den Resten zahlreicher Pflanzenarten und wurde auch schon aus Bodenproben isoliert oder tritt als Kontaminant in Laborkulturen auf. Sie ist in den gemässigten und subtropischen Gebieten der Erde verbreitet.

Aufgrund von Beobachtungen, besonders bei der auf Reis auftretenden Form (vgl. Karan, 1964), erscheint es wahrscheinlich, dass der Pilz gelegentlich auch als Parasit auftreten kann. Er verursacht dabei Blattflecken, in deren abgestorbenen Geweben er später fruktifiziert. Nach Tehon und Stout (1928) lebt der Pilz z. B. auch auf *Vigna sinensis* (Torner) Savi parasitisch.

Graham und Luttrell (1961) geben auch eine ganze Anzahl von Synonymen an. Sie machen auf die zum Teil erheblichen Abweichungen in

den Sporengrößen zwischen den einzelnen Kulturstämmen aufmerksam, vermögen jedoch keine weitere Unterteilung in Kleinarten durchzuführen. Es ist somit wahrscheinlich, dass die von Rao und Karan (1964) und Karan (1964) beschriebenen neuen Formen und Arten alle ebenfalls zu *Leptosphaerulina australis* gehören.

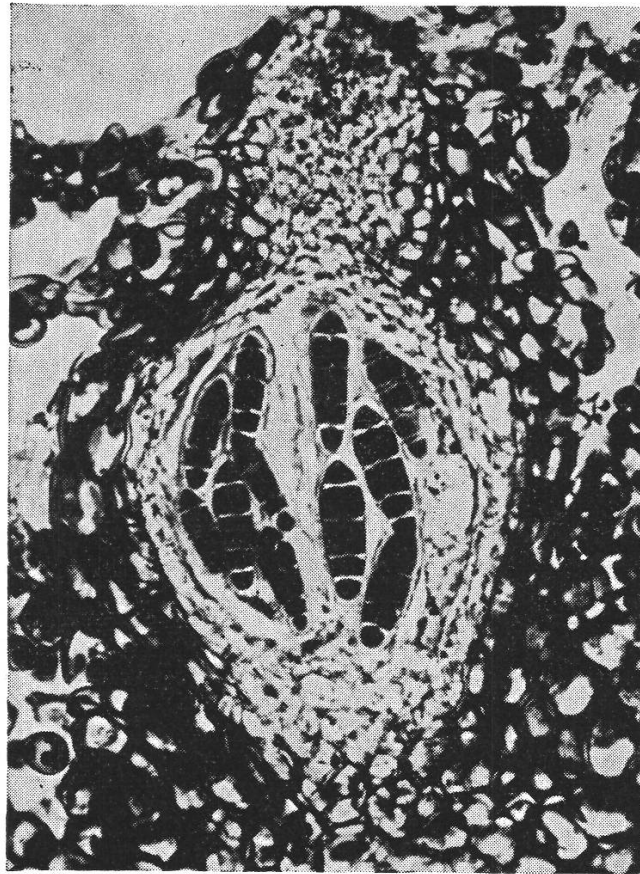


Abbildung 1

Leptosphaerulina australis. Schnitt durch einen in Reinkultur gebildeten Fruchtkörper. Vergrößerung 420mal (aus Müller, 1951 a)

Aus der Verwandtschaft von *Leptosphaerulina* McAlpine mit *Wettsteinina* v. Höhn. geht auch die Stellung der Gattung innerhalb des Ascomycetensystems hervor. Übereinstimmend werden derartige Pilze zu den Bitunicatae sensu Luttrell (1951) gestellt (vgl. auch Gäumann, 1964). Ebenfalls stimmen die Ansichten über ihre Entwicklungshöhe überein; sie verkörpern sowohl in der Art ihrer Entwicklung wie auch in ihrer Morphologie einen primitiven Typ, von dem andere, höher stehende Gruppen abgeleitet werden können. Allerdings gehen bei den verschiedenen Autoren die Ansichten über die aus der *Wettsteinina-Leptosphaerulina*-Gruppe hervorgegangenen Entwicklungsreihen auseinander (Luttrell, 1955, Müller und v. Arx 1950, 1962).

B. Die Fruchtkörperentwicklung

Die Ergebnisse entwicklungsgeschichtlicher Untersuchungen von *Leptosphaerulina australis* durch Müller (1951 a) und Wehmeyer (1955) lassen zwar noch einige Fragen offen, stimmen aber in vielen Punkten gut überein. Sie seien hier kurz zusammengefasst:

Gelangt eine Ascospore in für das Wachstum geeignete Bedingungen, so beginnt sie zu keimen, und zwar werden in der Regel mehrere Keimschläuche gebildet, die nach und nach zu einem dichten Hyphengeflecht auswachsen. Nach Wehmeyer (1955) sind schon die Sporenzellen vielkernig, und auch die Hyphenzellen enthalten, wie bestätigt werden kann, mehrere Zellkerne, die sich meist gleichzeitig teilen. Nach relativ kurzer Zeit (unter optimalen Temperatur- und Ernährungsverhältnissen nach etwa 36 Stunden) beginnen einzelne Hyphenzellen anzuschwellen und sich gleich darauf in allen Richtungen zu teilen. Jedes der aus derartigen Teilungsvorgängen hervorgehende Fruchtkörperprimordium differenziert sich in eine Rindenschicht mit relativ dickwandigen Zellen und in eine Innenschicht mit dünnwandigen, sich stark vergrößernden Zellen, aus denen später die Geschlechtszellen hervorgehen. Nach vorderhand noch nicht völlig geklärten Vorgängen entwickeln sich dikaryontische, relativ dicke Hyphen, aus deren Zellen direkt, d. h. ohne den Umweg über die bei den Ascomyceten meist dazwischen geschalteten Haken (vgl. z. B. Gäumann, 1964), die Asci hervorgehen, in denen sich Karyogamie und Reduktionsteilung abspielen.

Im Gegensatz zu *Leptosphaerulina australis* bildet *Leptosphaerulina trifolii* ihre Asci an Haken.

Kurz nach dem dritten (mitotischen) zum Achtkernstadium führenden Teilungsschritt innerhalb der jungen Asci können die Umrisse der rundlichen Ascosporenprotoplasten beobachtet werden (Abb. 2, Stad. 1). Gleichzeitig mit einer Verlängerung dieser jungen Sporen findet eine Kernteilung statt, die Spore schnürt sich in der Mitte leicht ein und bildet hier eine Querwand (Stad. 2). Durch zwei weitere Kernteilungen werden die beiden Sporenzellen vierkernig (Stad. 3 und 4), und nach einer weiteren Kernteilung bilden sich noch zwei Querwände (Stad. 5); die Spore umfasst nun vier vierkernige Zellen (Stad. 6). Gewöhnlich wird darauf die unterste Zelle nochmals durch eine Querwand unterteilt (Stad. 7), wobei die Kerne simultan wiederum eine Teilung durchmachen, und oft bilden sich in der zweiten oder dritten Zelle (von oben) auch Längswände aus. In der darauffolgenden Reifungsphase werden die Ascosporenzellen vielkernig, und die äussere Sporenmembran verdickt sich stark (Abb. 2, Stad. 8).

Ist die Fruchtkörperentwicklung durch äussere Einflüsse behindert, ergeben sich eine ganze Reihe von Störungen: Unterdrückung der Frucht-

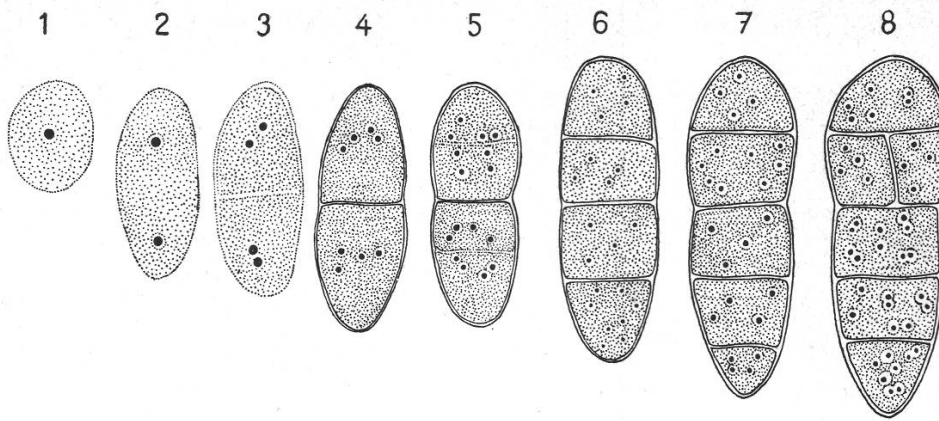


Abbildung 2

Leptosphaerulina australis. Entwicklung der Ascosporen. Erklärung im Text.
Vergrößerung 1000mal

körperbildung, Sterilität der gebildeten Fruchtkörper, Unterdrückung der Ascosporenbildung in den Ascii.

C. Das Ausschleudern der Ascosporen

Reife Ascosporen werden aktiv nach dem Schema der bitunicaten Ascomyceten (vgl. *Sporormiatyp* nach Ingold, 1953, 1965, Gäumann, 1964) ausgeschleudert. Die äussere, nicht dehnbare Membran des Ascus bricht nach dessen Quellen auf; die Sporen werden durch einen apikalen Porus der inneren Membran hinausgepresst und können vermöge des dabei ausgeübten Druckes bis 3 cm hoch geschossen werden, was wir anhand eines einfachen Versuches feststellen konnten. Dies entspricht ungefähr der tausendfachen Sporenlänge.

Die aktive Ausschleuderung aus Agarkulturen benützten wir zur Herstellung von Sporensuspensionen für die Beimpfung unserer Versuchsgefässe. Mit Hilfe dieser Methode konnten wir fremdes Substrat beim Beimpfen unserer Kulturgefässe ausschliessen.

Für die Herstellung unserer Sporensuspensionen mussten wir allerdings den zeitlichen Ablauf der Fruchtkörperentwicklung innerhalb der für die Anzucht des Ascosporenmateri- als benützten Kulturröhrchen beachten. Wir verwendeten dafür einen ungefähr dem in der amerikanischen Literatur erwähnten V-8-Juice-Agar (vgl. Müller, 1955) entsprechenden Gemüsesaftagar, den wir mit sporulierendem Myzel beimpften und zu 24 °C stellten. Nach etwa 56 Stunden begannen die sich entwickelnden Thalli Ascosporen auszuschleudern; dies dauerte bis zum 20.-22. Tag nach dem Beimpfen. Nach unsern Untersuchungen steigt dabei die von einem 1 cm² grossen Thallusstück während 2 Stunden ausgeschleuderte Sporenzahl von 100 zu Beginn des Vorganges auf etwa 2000 am 4. Tag und auf über 5000 am 5. Tag, bleibt dann bis etwa am 11. Tag auf dieser Höhe stehen und sinkt dann langsam wieder ab. Nach drei Wochen hört das Ausschleudern aus derartigen Kulturen vollständig auf. Die beste Ausbeute ergibt sich zwischen dem 4. und 11. Tag. Immerhin können auch während dieser Zeit innerhalb kurzer Intervalle grössere Schwankungen auftreten. Deshalb liessen wir die Thalli 24 Stunden ihre Sporen ausschleudern, um unsere Suspensionen zu gewinnen. Ältere Kulturen haben wir dafür nicht mehr benützt.

D. Ernährungsansprüche

Soweit bekannt, stellen die Vertreter der Gattung *Leptosphaerulina* recht geringe Ansprüche an die Ernährung. Sie vermögen auf einem Substrat, welches einige Mineralsalze (Mg-, K-, Fe-, Mn- und Zn-Sulfate oder -Phosphate), eine geeignete Stickstoffquelle und eine organische Kohlenstoffquelle enthält, ohne weiteres zu wachsen. Für unsere Versuche verwendeten wir als Stickstoffquelle Nitrat- wie Ammonstickstoff, als Kohlenstoffquelle Glukose oder Zellulose in Form von Filterpapier. Darüber hinaus vermag *Leptosphaerulina australis* auf zahlreichen andern Stickstoff- und Kohlenstoffquellen zu wachsen (für Kohlenstoffquellen vgl. S.203).

Leider war es uns nicht möglich, den Bedarf an Vitaminen eindeutig abzuklären. Wir verzichteten darauf, die für die Versuche zusammengestellten Nährlösungen auch mit Vitaminen zu versehen, bemühten uns aber auch nicht, diese auszuschliessen (Verunreinigungen). Lediglich in einem Versuch haben wir festgestellt, dass in Fällen, in denen keine Fruchtkörper sich bilden können, auch eine Vitaminzugabe keine fördernde Wirkung hat. Andererseits zeigen aber unsere Erfahrungen mit Sporenmessungen (S.214ff.) Unterschiede in den Sporengrößen bei Wachstum in synthetischen Nährlösungen gegenüber Wachstum auf Pflanzenextrakten (z. B. auf Malzextraktagar oder Gemüsesaftagar). Aber wir konnten noch nicht feststellen, auf welche Faktoren dies zurückzuführen ist; in Frage kommen z. B. Vitamine, Spurenelemente oder bestimmte Aminosäuren.

IV. Einfluss exogener Faktoren auf das Fruchtkörperbildungsvermögen von *Leptosphaerulina australis* McAlpine

A. Allgemeines

Da *Leptosphaerulina australis* auf zahlreichen Nährböden nicht nur wächst, sondern auch fruktifiziert, müssen wir zur Abklärung der die Fruktifikation begrenzenden Ernährungsfaktoren von einem Substrat mit möglichst einfacher Zusammensetzung ausgehen. Nur dadurch erreichen wir einigermaßen überblickbare Verhältnisse. So ermöglicht ein Nährboden, der z. B. einige Mineralsalze, Glukose (10 g/l) und Kaliumnitrat (1 g/l) enthält, bei Zimmertemperatur neben gutem Wachstum auch eine reichliche Bildung von Fruchtkörpern. Die zur Abklärung unserer Versuchsfragen notwendigen Änderungen in der Zusammensetzung können leicht ebenfalls übersichtlich gestaltet werden.

Neben der Ernährung sind in der Literatur (z. B. Hawker, 1957, Cochrane, 1958) besonders noch die Temperatur, das Licht und die Wasserstoffionenkonzentration als Faktoren erwähnt, welche die Fruktifikation zu beeinflussen vermögen. Auch für diese Faktoren sind experimentelle Arbeiten mit Ascomyceten verhältnismässig selten; in den oben erwähnten Zusammenstellungen finden sich meist nur Beispiele von

Phycomyceten oder Fungi imperfecti, einschliesslich asexueller Sporenformen von Ascomyceten. In der Regel sind der Fruchtkörperbildung aber engere Grenzen gezogen als dem Wachstum, was sich auch in unsern Ergebnissen bestätigt.

B. Methodik der Kulturversuche

Im allgemeinen vermögen Pilze in Nährlösung nicht oder nur schlecht zu sporulieren (vgl. z.B. Leonian, 1924, Cochrane, 1958). Dies bringt Morton (1961) mit den besondern physikalischen Bedingungen der Hyphenoberflächen bei untergetauchten Thalli in Verbindung. Er brachte die sterilen, in Nährlösung kultivierten Thalli einiger *Penicillium*arten in Bedingungen, in welchen sie Luftmyzel hervorbringen konnten; unter den veränderten Bedingungen sporulierten die Thalli nun sehr rasch.

Leptosphaerulina australis macht von dieser allgemeinen Regel keine Ausnahme. Einzig in Standkulturen, die unter sehr günstigen Kulturbedingungen gehalten wurden, bildete sich an der Oberfläche ein dichter Hyphenfilz, worin sporadisch Fruchtkörper auftraten. Für Versuche über die Fruchtkörperbildung ist diese Methode jedoch ungeeignet, da sie zu unsicher ist. Wir verwendeten daher feste Nährböden, und zwar in zwei Formen:

1. *Agarnährböden*. Nährlösungen von gewünschter Zusammensetzung wurden mit 2% Difco-Bacto-Agar zu Nährbodengelees verarbeitet. Es war darauf zu achten, dass das pH der Nährlösung mehr als 5 betrug; in stärker saurem Medium geliert der Nährboden nicht. Ausserdem haben wir bei sehr hohen Zuckerkonzentrationen (z. B. über 20% Glukose) eine schlechte Gelierung in Kauf nehmen müssen.

2. *Nährlösungen mit eingetauchten Faltenfiltern*. Zunächst in Versuchen, die ein schlechtes Gelieren von Agar erwarten liessen, später auch allgemein zur Überprüfung unserer auf Agarnährböden gewonnenen Ergebnisse, brachten wir die Nährlösungen in 100-ml-Erlenmeyerkolben und stellten ein trichterförmig gefaltetes Filterpapier hinein. Dieses ragte weit über die Oberfläche hinaus (vgl. auch Kern, 1957), und der Pilz konnte so unter Bedingungen wachsen, welche denen auf einer Agaroberfläche entsprachen. Wir verwendeten aschenfreies Filtrierpapier (Schleicher und Schuell, 589/2 Weissband), welches uns in Form von Faltenfiltern zugeschnitten wurde. Nach den Angaben der Herstellerfirma («Filtration im chemischen Laboratorium») muss in dieser Qualität noch mit einem Stickstoffanteil in Form von Protoplasmaresten gerechnet werden. Diese sind in einer Menge von 10–15 mg N je 100 g Filterpapier anwesend und ergeben bei saurer Hydrolyse α -Aminosäuren. Daneben müssen auch noch weitere für unsere Versuche unter Umständen wichtige Verunreinigungen angenommen werden.

Eine weitere Besonderheit der Kulturmethode mit Faltenfilter ergibt sich aus der Fähigkeit unseres Pilzes, Zellulose abzubauen und als Kohlenstoffquelle zu benützen. Allerdings ist die Zelluloseaktivität schwach und kann, sobald den Nährlösungen Glukose zugegeben wird, vernachlässigt werden (vgl. auch S. 222). Aber es ist doch möglich, dem Pilz Filtrierpapier als einzige Kohlenstoffquelle zur Verfügung zu stellen. Die im Filtrierpapier vorhandenen geringen Stickstoffquellen ermöglichen Wachstum auch dann, wenn von aussen nur noch eine Lösung mit den wichtigsten Mineralsalzen zugegeben wird.

Wie die Erfahrungen gezeigt haben, stimmen die Versuchsergebnisse mit beiden Verfahren (Agarnährböden und Filterpapier) weitgehend überein. Auf Abweichungen wird gebührend hingewiesen, solche haben uns dann aber zusätzliche Informationen vermittelt.

Die Kultur auf Agarnährböden oder auf Filterpapier erlauben es allerdings nicht, das Wachstum des Pilzes gewichtsmässig zu erfassen. Zur Ergänzung unserer Versuche über die Fruchtkörperbildung kultivierten wir den Pilz deshalb noch in Nährlösungen.

3. *Nährlösungen.* Die beimpften Kulturgefässe (500-ml-Erlenmeyerkolben) mit den gewünschten Nährlösungen wurden auf der Schüttelmaschine (rotierende) bewegt. Die Schüttelmaschine bietet gegenüber Standkulturen den Vorteil grösserer und vor allem auch gleichmässigerer Myzelausbeute. In einem Versuch mit verschiedenen Kohlenstoffquellen erhielten wir z. B. Myzelausbeuten in Standkulturen von durchschnittlich einem Viertel derjenigen in Schüttelkulturen. Ausserdem zeigten die Kulturgefässe erheblich grössere Unterschiede.

Die Myzelgewichte wurden aus den im Ofen bei 60 °C während 12 Stunden getrockneten Myzelien durch Wägung festgestellt. Je nach Versuchsfrage wurden die aus den Gefässen mit gleicher Zusammensetzung der Nährlösung gewonnenen Myzelien einzeln oder gesamt- haft gewogen; die letztere Methode drängte sich dann auf, wenn einzelne Nährstoffzusammensetzungen ein nur sehr geringes Wachstum ermöglichten. In der Regel wurden je Verfahren 10 Kolben beimpft.

Sowohl in den Versuchen mit Faltenfilter wie auch in den Wachstumsversuchen wurden stets pH-Messungen mit einem Beckmann-pH-Meter durchgeführt. Angaben über das Anfangs-pH beziehen sich auf die nach dem Autoklavieren gemessenen Werte, da diese erfahrungsgemäss beim Autoklavieren ändern (vgl. S. 200). Wir verzichteten darauf, die Werte in den Versuchen besonders anzugeben, solange sie sich zwischen pH 6 und pH 7 bewegten (vgl. aber S. 197).

Von Anfang an haben wir eine einfache und überblickbare Zusammensetzung der verwendeten Nährböden angestrebt. Sofern nicht ausdrücklich auf Abänderungen hingewiesen wird, enthalten die verwendeten Nährböden und Nährlösungen folgende Mineralsalze:

KH_2PO_4	1	g/l
Na_2HPO_4	0,4	g/l
MgSO_4	1	g/l
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,01	g/l
$\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	0,01	g/l
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,01	g/l

Es wäre durchaus möglich, die Mengen der drei erstgenannten Mineralsalze wesentlich herabzusetzen. Wir hielten aber an der einmal gewählten Zusammensetzung fest, um alle Versuche unter gleichbleibenden Bedingungen durchzuführen. Auch wachsen die Pilze ohne Beeinträchtigung ohne Natriumsalz; wir erreichten aber mit den beiden Phosphaten noch

eine geringfügige Pufferung unserer Lösungen. Die vollständigen Nährlösungen (unter Einbezug von Glukose und Stickstoffsalzen) hatten denn auch im allgemeinen eine Wasserstoffionenkonzentration zwischen pH 6 und pH 7 mit relativ geringen Änderungen während der Inkubation.

Als Stickstoffquelle verwendeten wir in synthetischen Nährlösungen Ammonphosphat und Kaliumnitrat. Äquivalente Mengen reinen Stickstoffs haben wir dann, wenn sich die Gewichte der beiden Salze wie 1:2 verhalten (genauer $\frac{149}{3}:101$).

Als Kohlenstoffquelle offerierten wir Glukose oder Zellulose in Form von Filterpapier. Vitamine und Spurenelemente wurden keine zugegeben (vgl. aber S. 193).

C. Temperatur

Leptosphaerulina australis wächst im Temperaturbereich von 3–33 °C. Für die Bildung von Fruchtkörpern ist der Bereich nur um wenig enger (3–31 °C). Dies gilt für alle zur Verfügung stehenden Stämme, doch vermögen einzelne, z. B. der von Reispflanzen isolierte M 4619, auch bei 33 °C Fruchtkörper zu bilden. Diese bleiben aber steril, d. h. es kommt nicht zu Entwicklung von Ascis und Ascosporen.

Das Temperaturoptimum für das Wachstum und für die Fruchtkörperbildung liegt zwischen 24 und 27 °C; beide Lebensäußerungen sind auch bei 21 und 30 °C nur um wenig geringer. Für unsere Versuche haben wir in der Regel eine Temperatur von 27 °C eingehalten.

Auch das Ausschleudern der Ascosporen ist zwischen 3 und 33 °C möglich, was sich weitgehend mit den Befunden bei *Leptosphaerulina trifolii* deckt (Elliot, 1959); diese Art schleudert ihre Ascosporen von 4 bis 37 °C.

Leptosphaerulina australis gehört zu den Ascomyceten, deren Temperaturoptima für Wachstum, für Fruchtkörperbildung sowie für das Ausschleudern der Ascosporen zusammenfallen. Dies ist nicht bei allen Pilzen so. Ein von Kobayashi (1957) untersuchter Stamm von *Sclerotinia libertiana* Fuck. z. B., dessen Wachstumsoptimum bei 25 °C liegt, bildet seine Hauptfruchtform am leichtesten bei 15 °C. In unsern Versuchen mit *Leptosphaerulina australis* mussten wir den Temperaturen nicht grosse Beachtung schenken, was natürlich das Arbeiten erleichterte.

Auch Graham und Luttrell (1961) haben mit *Leptosphaerulina australis* einige Temperaturversuche durchgeführt; sie fanden für die Fruchtkörperbildung einen etwas engeren Temperaturbereich als wir. Wahrscheinlich haben sie die Kulturen nicht genügend lange beobachtet, da sowohl bei niedern wie auch bei höhern Temperaturen die Fruchtkörperbildung verzögert ist.

D. Wasserstoffionenkonzentration

Dem Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration auf die Bildung sexueller Fruktifikationen ist bis heute recht wenig Aufmerksamkeit geschenkt worden. Etwas eingehender hat sich Lockwood (1937) mit dieser Frage beschäftigt. Er kultivierte je eine *Penicillium*-, *Aspergillus*- und *Chaetomium*art auf Silikagel mit einer synthetischen Nährlösung, deren pH mit Hilfe von Zitrat und K_2HPO_4 eingestellt und gepuffert waren. Er konnte so den Bereich von pH 2,1 bis pH 8,5 erfassen. In den saureren Nährböden waren die wenigen gebildeten Fruchtkörper steril, im schwach sauren bis schwach alkalischen Bereich dagegen entwickelten sich zahlreiche und fertile Fruchtkörper.

Für *Didymella pinodes* (Berk. et Blox.) Petr. beobachtete Sörgel (1953) eine unterschiedliche Fruktifikation bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen. Er erhielt bei saurer Reaktion des Nährsubstrates vorwiegend asexuelle Pyknidien, bei neutraler Reaktion dagegen die Hauptfruchtform. Aus Pyknidienanlagen entwickelten sich bei plötzlicher Änderung des pH Pseudothecien oder umgekehrt aus Pseudothecienanlagen Pyknidien, je nach der Richtung der Änderung.

Kulturversuche, welche das Verhalten bestimmter Organismen in verschiedenen Konzentrationen von Wasserstoffionen prüfen sollen, gehören sowohl methodisch wie auch vor allem in ihrer Interpretation zu den am wenigsten überblickbaren. Jedenfalls gelten die Ergebnisse, wie dies sowohl Lilly und Barnett (1951) wie auch Cochrane (1958) anhand schöner

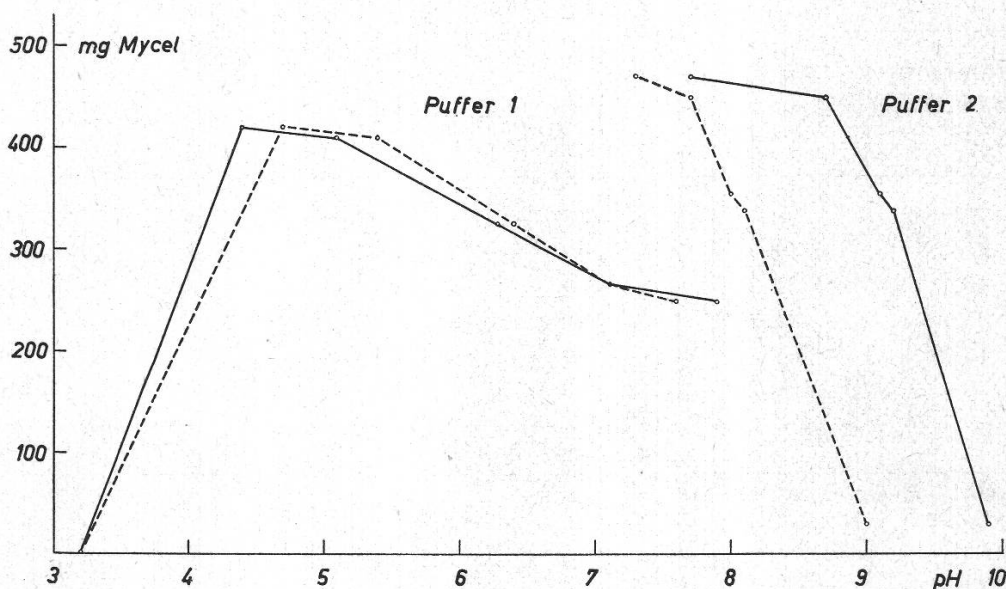


Abbildung 3

Wachstum von *Leptosphaerulina australis* (Stamm M 4615) bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen in gepufferten Nährlösungen mit Malzextrakt. Puffer 1 mit Zitronensäure und K_2HPO_4 ; Puffer 2 mit Glycin und NaOH

Beispiele darlegen, jeweils nur für die besondern Versuchsbedingungen; sie ändern sich z.B. mit der eingehaltenen Temperatur oder mit dem Nährmedium. Vor allem kann die Aufnahme bestimmter Nährstoffkomponenten recht pH-abhängig sein, wie dies Morton und McMillan (1954) für *Scopulariopsis brevicaulis* (Sacc.) Bain. nachgewiesen haben.

Für unsere ersten Versuche wählten wir deshalb nicht unsere synthetische Nährlösung, sondern Malzextrakt (1%) als Substrat, um dem Pilz eine möglichst reichhaltige Nahrung zu offerieren. Die einzelnen pH-Werte wurden mit Hilfe eines Zitronensäure-K₂HPO₄-Puffersystems für den sauren und schwach alkalischen Bereich und mit Hilfe eines Glycin-NaOH-Puffersystems für den alkalischen Bereich eingestellt. Die nach dem Autoklavieren gemessenen pH-Werte wichen etwas von den errechneten ab, was auf das Autoklavieren und auf den Einfluss des Nährsubstrates zurückzuführen ist. Die Werte ändern sich auch während der Inkubation.

In Tabelle 1 sowie in Abbildung 3 haben wir die Ergebnisse eines Wachstumsversuches mit Myzelgewichtsbestimmung dargestellt. Wachstum ist darnach im relativ weiten Bereich von pH 4 bis pH 10 möglich.

Tabelle 1

Einfluss der Wasserstoffionenkonzentrationen einer einprozentigen Malznährlösung auf das Wachstum von *Leptosphaerulina australis* (Stamm M 4615). pH eingestellt mit zwei verschiedenen Puffersystemen. Kulturdauer 12 Tage. Durchschnittliches Myzelgewicht aus je 10 200-ml-Erlenmeyerkolben

1. Zitronensäure-K ₂ HPO ₄ -Puffer nach Lockwood (1937)					
Zitronensäure 0,05 M Vol. - %	K ₂ HPO ₄ 0,1 M Vol. - %	Anfangs- pH	End- pH	Durch- schnittliches Myzelgewicht in mg	Streuung
75	25	3,2	3,2	0	0
58,3	41,7	4,4	4,7	422	33,5
46,7	53,3	5,1	5,4	410	33,6
33,3	66,7	6,3	6,4	325	12,8
13,3	86,7	7,1	7,1	266	10,5
0	100	7,9	7,6	248	14,8
2. Glycin-NaOH-Puffer					
Glycin 0,05 M + NaOH 0,05 M NaCl 0,05 M					
94,8	5,2	7,7	7,3	468	31,8
73,5	26,5	8,7	7,7	448	28,7
53,8	46,2	9,1	8,0	356	20,9
48,8	51,2	9,2	8,1	338	17,5
32,3	67,7	9,9	9,0	28	33,3

Die optimale Wasserstoffionenkonzentration wird nach einem starken Zunehmen der Myzelgewichte zwischen pH 3 und pH 4 bei einem pH knapp über 4 erreicht und sinkt dann langsam ab. Leider verhält sich der Pilz gegenüber den beiden angewendeten Puffersystemen nicht gleich. Bei Anwesenheit von Glycin (Abb. 3, Puffer 2) sind die Myzelgewichte unter sonst gleichen Bedingungen im sich überschneidenden pH-Bereich (mit Puffer 1) höher als mit Zitronensäure. Die für unsere Ernährungsversuche angestrebten Wasserstoffionenkonzentrationen zwischen pH 6 und pH 7 sind zwar nicht optimal, die unvermeidlichen Änderungen im Laufe der Inkubation wirken sich aber nie in einer Unterdrückung des Wachstums aus.

In einem nur um wenig engeren Bereich als das Wachstum ist auch die Fruchtkörperbildung möglich, wie Tabelle 2 zeigt. In diesem Versuch – auf Filterpapier – begann das Wachstum unter pH 4. Aber auch in den Kulturgefäßen mit einem Anfangswert von pH 11,8 zeigte sich noch Wachstum; allerdings erfolgte hier ein rasches Absinken der Werte während der Inkubation (von 11,8 auf 9,5 und von 10,6 auf 9,3). Die Entwicklung von Fruchtkörpern war auch bei einem Anfangs-pH von 9,4 (8,6 End-pH) möglich.

Tabelle 2

Der Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration auf das Wachstum und die Fruchtkörper von *Leptosphaerulina australis*
Versuch mit gepufferter Lösung von 1 % Malzextrakt. Pilz auf Faltenfilter geimpft

1. Zitronensäure-K ₂ HPO ₄ -Puffer nach Lockwood (1937)					
Zitronensäure 0,05 M Vol. - %	K ₂ HPO ₄ 0,1 M Vol. - %	Vor Versuch pH	Nach Versuch pH	Wachs- tum	Frucht- körper- bildung
				Nach 9 Tagen	
100	0	2,4	2,6	—	—
75	25	3,2	3,0	±	—
58,3	41,7	4,3	3,9	+	±
46,7	53,3	5,2	5,2	+	+
33,3	66,7	6,3	6,3	+	+
13,3	86,7	7,1	6,8	+	+
0	100	7,3	7,2	+	+
2. Glycin-NaOH-Puffer					
Glycin 0,05 M + NaOH 0,05 M NaCl 0,05 M					
94,8	5,2	8,4	7,6	+	+
73,5	26,5	9,4	8,6	+	+
53,8	46,2	10,3	9,2	+	—
48,8	51,2	10,6	9,3	+	—
32,3	67,7	11,8	9,5	+	—

Die Verhältnisse gestalteten sich annähernd gleich, wenn wir anstelle von Malzextrakt Ammonphosphat oder Kaliumnitrat als Stickstoffquelle und Filterpapier als Kohlenstoffquelle verwendeten (Tab. 3).

Tabelle 3

Der Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration auf die Entwicklung von Fruchtkörpern bei *Leptosphaerulina australis* (Kulturstamm M 4615) mit synthetischer Nährlösung (Mineralsalze) und Filterpapier als Kohlenstoffquelle

Stickstoffquelle	Wasserstoffionenkonzentration pH				Fruchtkörper mit reifen Sporen	
	Vor dem Auto-klavieren	Nach dem Auto-klavieren	Nach 5 Tagen Inkubation	Nach 9 Tagen Inkubation	Nach 5 Tagen	Nach 9 Tagen
0,5 g/l (NH ₄) ₃ PO ₄	4,0	3,5	3,4	3,5	—	—
	5,0	5,2	5,9	5,9	+	+
	6,0	6,2	6,0	5,9	+	+
	7,0	6,5	6,4	6,4	+	+
	8,0	7,5	7,2	7,1	+	+
1,0 g/l KNO ₃	4,0	3,8	3,7	3,8	—	—
	5,0	5,4	5,4	5,4	+	+
	6,0	6,3	6,4	6,1	+	+
	7,0	6,4	6,4	6,4	+	+
	8,0	7,8	7,8	7,8	—	+

Das pH wurde mit Hilfe von HCl und KOH (ohne Pufferung) eingestellt

E. Licht

Bei einer grösseren Zahl von Pilzen hat das Licht einen erheblichen Einfluss auf die Fähigkeit zur Fruchtkörperbildung. Nach unsern Versuchen trifft dies für *Leptosphaerulina australis* nicht zu. Trotzdem haben wir, um von uns nicht erfasste Einflüsse auszuschliessen, alle unsere Versuche im Dunkeln durchgeführt.

Unser Befund deckt sich mit den Angaben von Graham und Luttrell (1961). Von den sechs von ihnen untersuchten Arten erwiesen sich ausser *Leptosphaerulina australis* noch *Leptosphaerulina americana* (Ell. et Everh.) Graham et Luttrell und *Leptosphaerulina argentinensis* (Speg.) Graham et Luttrell als lichtunabhängig in bezug auf Fruktifikation. Alle drei Arten sind mehr oder weniger Saprophyten. Nur im Licht sporulierten die meisten Stämme der drei parasitischen Arten *Leptosphaerulina briosiana* (Poll.) Graham et Luttrell, *Leptosphaerulina trifolii* (Rostr.) Petr. und *Leptosphaerulina arachidicola* Yen, Chen et Huang. Allerdings gab es auch unter diesen Arten Kulturstämme, die sowohl im Dunkeln wie im Licht sporulierten; unser Stamm M 572 von *Leptosphaerulina*

trifolii jedenfalls gehört dazu. Und ein Stamm von *Leptosphaerulina arachidicola* von Taiwan sporulierte bei Graham und Luttrell (1961) vorzugsweise in Dunkelheit.

F. Ernährung

1. Einleitung

Die Ergebnisse der klassischen Untersuchungen über die Physiologie der Fortpflanzung von Klebs (1898, 1899, 1900) an Saprolegniaceen, aber auch an andern Pilzen lassen sich, soweit sie für unsere Beobachtungen über die Fruchtkörperbildung in Betracht kommen, folgendermassen zusammenfassen:

1. Das Sporulieren erfolgt am leichtesten, wenn ein gut wachsender Thallus aus einem Substrat die wichtigsten Nährstoffe entzogen hat oder auf ein nährstoffarmes Substrat übertragen wird.
2. Fruktifikationen treten demnach in einem engern Konzentrationsbereich der Nährstoffe auf als vegetatives Wachstum.

Cochrane (1958) schränkte diese sehr allgemein gehaltene Regel aufgrund unserer heutigen Kenntnisse allerdings stark ein. Er lässt sie nur gelten für Kohlehydrate und Stickstoffkomponenten, nicht aber für andere notwendige Ernährungsfaktoren. So ist der Vitaminbedarf oder die Aufnahme bestimmter Mineralsalze während der Fruktifikationsphase oft grösser als während des vegetativen Wachstums.

Wir haben deshalb besonders der Kohlenstoff- und Stickstoffernährung die nötige Aufmerksamkeit geschenkt und dabei auch, soweit wie möglich, nach der Forderung Cochranes (1958) den Einfluss auf das Wachstum und auf die Fruktifikation auseinandergehalten.

2. Kohlehydrate

Schon aus unsern ersten Testversuchen konnten wir einen erheblichen Einfluss der Kohlehydratversorgung auf die Fruchtkörperbildung ent-

Tabelle 4

Wachstum und Fruchtkörperbildung von *Leptosphaerulina australis* bei verschiedenen Glukosekonzentrationen. Agarkulturen mit 1 g/l KNO₃ und Mineralsalzen. Stamm M 4615

	Glukose g/l									
	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
Wachstum	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fruchtkörperbildung	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—

nehmen, und in einem ersten Versuch mit steigenden Konzentrationen von Glukose erhielten wir die in Tabelle 4 zusammengestellten Ergebnisse.

Nach diesem Versuch wächst *Leptosphaerulina australis* noch bei hohen Glukosekonzentrationen; die Fruchtkörperbildung ist aber bei den höchsten Glukosegaben unterdrückt. In ganz ähnlicher Weise reagiert auch *Leptosphaerulina trifolii*.

In der Folge zeigte es sich aber, dass der in Tabelle 4 angegebene Versuch nicht erschöpfend Auskunft über die Bedeutung der Kohlehydratversorgung auf die Fruchtkörperbildung gibt; denn auch die Stickstoffversorgung macht sich in ähnlicher Weise auf die Entwicklung reifer Fruchtkörper geltend. Der Einfluss dieser beiden Nährstoffe darf deshalb nicht gesondert betrachtet werden, und wir führten deshalb in der Folge Versuche durch, wie sie in Tabelle 9 dargestellt sind (vgl. S.208). Ausserdem stellten wir eine unterschiedliche Einflussnahme auf die Fruchtkörperbildung durch verschiedenartige Stickstoffquellen fest (vgl. S. 206); der nachfolgend dargestellte Versuch kann deshalb nicht ohne weiteres mit dem in Tabelle 4 dargestellten verglichen werden.

Tabelle 5

Einfluss der Glukosekonzentration auf die Fruchtkörperbildung verschiedener Stämme von *Leptosphaerulina australis* McAlpine. Filterpapierkultur mit 0,5 g/l $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ und Mineralsalzen

Kulturstamm Nr.	Glukosekonzentration g/l					
	10	5	4	3	2,5	0
M 4615	—	—	±	+	+	+
M 456	—	—	—	—	+	+
M 428	—	±	+	+	+	+
M 4943	—	—	±	+	+	+
M 4942	—	—	—	—	+	+
M 4619	—	—	±	+	+	+

Mit Nährlösungen (Mineralsalze vgl. S. 195 und 0,5 g/l Ammonphosphat), in denen verschiedene Glukosemengen gelöst waren, prüften wir auf Faltenfiltern das Verhalten von sechs verschiedenen Kulturstämmen von *Leptosphaerulina australis* (Tab. 5). Die relativ kleinen Intervalle zwischen den einzelnen Glukosekonzentrationen erlaubten eine feinere Differenzierung als durch die in den Tabellen 4 (Seite 201) und 9 (S. 208) zusammengestellten Versuche. Unter Berücksichtigung der stets möglichen kleinen Schwankungen im Verhalten des Pilzes ist die Übereinstimmung der sechs Stämme recht eindrucklich.

Die meisten der von uns geprüften verschiedenartigen Kohlenstoffquellen ermöglichen dem Pilz nicht nur Wachstum, sondern auch Fruchtkörperbildung. Es betrifft dies neben Glukose und Zellulose Mannose, Fruktose, Galactose, Arabinose, Xylose, Ribose, Cellubiose, Maltose, Saccharose, Lactose, Sorbose. Von diesen werden allerdings Ribose und Sorbose schlechter verwertet als die übrigen. Mit Ribose wächst der Pilz schlechter als mit den übrigen Kohlehydraten; alle acht geprüften Kulturstämme fruktifizieren aber trotzdem. Auf Sorbose ist das Wachstum gut, dagegen vermögen die Stämme M 456, M 4615 und M 4619 keine Fruchtkörper zu bilden. Mit Essigsäure und mit Weinsäure ist kein Wachstum möglich, ebenfalls nicht mit Oxalsäure. Eine Ausnahme bildet aber Stamm 456, der darauf ein geringes Wachstum aufweist.

3. Stickstoff

Auch hohe Stickstoffgaben wirken auf die Fruchtkörperbildung von *Leptosphaerulina australis* hindernd ein. Es ist aber ebenso schwierig wie bei den Kohlehydraten, die absolut obere Grenzen festzulegen, um so mehr, als auch der Form, in der der Stickstoff gebunden ist, eine erhebliche Bedeutung zukommt.

Es scheint daher gegeben, zunächst auf das unterschiedliche Verhalten des Pilzes gegenüber Stickstoff in Ammonbindung und in Nitratbindung einzutreten. Bei gegebener Glukosemenge im Nährsubstrat vermag unser Pilz bedeutend mehr Stickstoff in Nitratform als in Ammonform zu ertragen, bis er keine Fruchtkörper mehr bildet. Diese z. B. aus Tabelle 9 (S. 208) ersichtliche Erscheinung war uns anfänglich ganz unerklärlich. Mit Wachstumsversuchen hofften wir der Erklärung nahezukommen.

Zunächst aber mussten wir auch der Frage nachgehen, ob nicht die höheren Phosphatmengen, die wir mit dem Ammonphosphat in die Lösung brachten, für die Behinderung der Fruchtkörperentwicklung verantwortlich sein könnten. Die in unsern Pufferlösungen (vgl. Tab. 1 und 2, S. 198 und 199) verwendeten Phosphatmengen (in Form von K_2HPO_4) waren aber höher als die mit dem Ammonphosphat in Lösung gebrachten. Trotzdem behinderten sie die Fruchtkörperentwicklung nicht.

Die Wachstumsversuche strebten zunächst die Feststellung der für die Ernährung optimalen Mengen Stickstoff an. In Tabelle 6 sowie auf Abbildung 4 ist eine Versuchsserie mit sechs verschiedenen Stämmen von *Leptosphaerulina australis* dargestellt; als Stickstoffquelle diente Ammonphosphat. Trotz erheblichen Unterschieden in der Wachstumsintensität liegt das Optimum der Myzelausbeute übereinstimmend zwischen 1 g/l und 4 g/l Ammonphosphat und sinkt bei Reduktion der Stickstoffgaben rasch ab; der Stickstoff wird schon bei einer Konzentration von 0,25 g/l zu einem Minimalfaktor. Aber auch über das Optimum hinausgehende Mengen Stickstoff wirken sich stark hemmend auf das Wachstum aus.

Bemerkenswert sind auch die Änderungen in den Wasserstoffionenkonzentrationen während der Inkubationszeit. Erwartungsgemäss werden die Nährlösungen saurer, und zwar um so intensiver, je stärker der Pilz wächst. Die einzelnen Stämme unterscheiden sich aber in der Intensität der Säuerung zum Teil recht stark; diese Unterschiede sind nur unwesentlich mit der Wachstumsintensität korreliert.

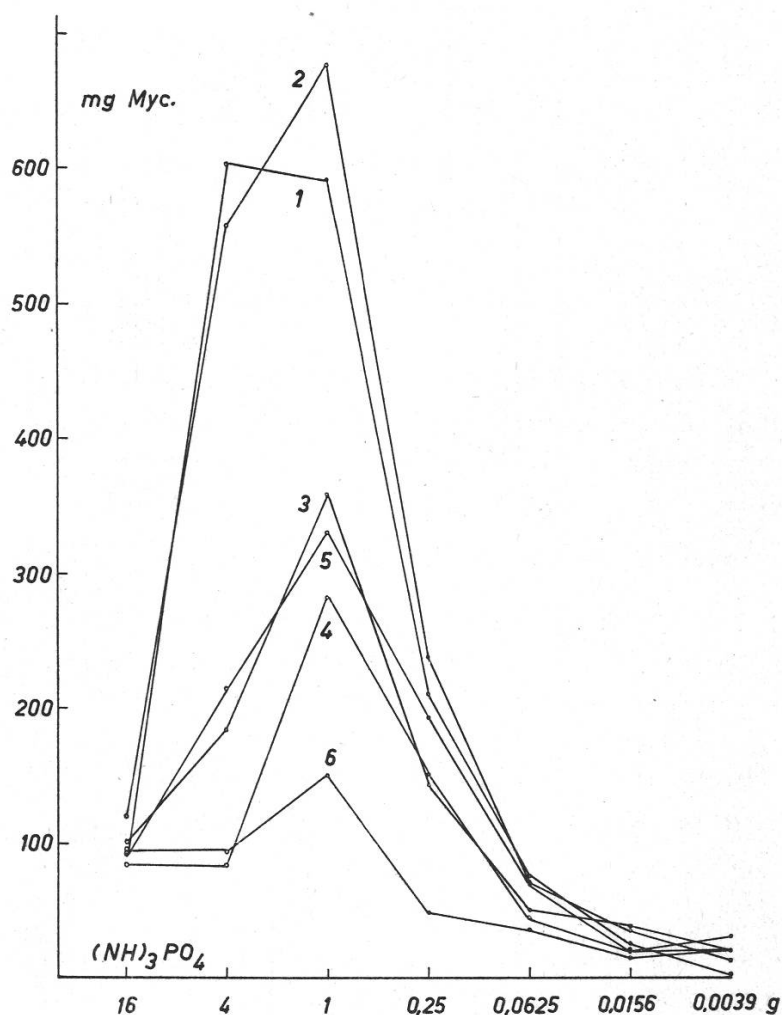


Abbildung 4

Wachstum von sechs Stämmen von *Leptosphaerulina australis* in synthetischer Nährlösung mit verschiedenen Stickstoffkonzentrationen in Form von $(NH_4)_3PO_4$

Ordinate: Myzelgewichte in mg

Abszisse: N-Konzentration

Stämme: Kurve 1 = M 4615; Kurve 2 = M 4619; Kurve 3 = M 428; Kurve 4 = M 4941; Kurve 5 = M 4942; Kurve 6 = M 4943

In Vergleichsversuchen mit 10 g/l Glukose und den üblichen Mineral-salzen sowie entweder 1 g/l Ammonphosphat oder 2 g/l Kaliumnitrat wogen wir nach 12 Tagen Inkubation das getrocknete Myzel jedes einzelnen Kolbens mit 200 ml Nährlösung. In Tabelle 7 ist das Ergebnis

Tabelle 6

Wachstumsversuch mit einigen Kulturstämmen von *Leptosphaerulina australis* bei verschiedenen Konzentrationen von Ammonphosphat, 10 g/l Glukose und Mineralsalzen. Es bedeuten: I = mg Myzeltrockengewicht, Durchschnitt von 10 Kolben mit 200 ml Nährlösung; II = pH der Nährlösung am Ende der zwölf-tägigen Inkubation

(NH ₄) ₃ PO ₄ g/l	pH am Anfang	Pilzstämmе											
		M 4615		M 4619		M 428		M 4941		M 4942		M 4943	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
16	7,1	91	7,2	118	7,1	101	7,2	85	7,1	90	7,1	94	6,8
4	7,1	603	4,1	557	3,6	183	6,8	83	7,0	214	4,3	95	4,5
1	7,3	591	4,7	675	4,4	358	5,7	282	6,0	329	3,2	150	—
0,25	7,5	211	6,0	238	5,8	144	6,0	151	6,1	192	4,1	49	3,6
0,0625	7,5	76	6,2	70	6,2	51	6,1	45	6,2	69	5,6	36	4,0
0,0155	7,7	26	6,3	34	6,3	38	6,2	22	6,3	21	6,1	15	4,8
0,0039	7,7	4	6,3	13	6,3	18	6,3	18	6,3	30	—	18	5,0

zweier derartiger Versuche dargestellt. In beiden Fällen sind die Unterschiede zwischen Wachstum mit Ammonphosphat und mit Kaliumnitrat gut gesichert; denn die Prüfung der beiden Durchschnitte (Linder, 1951) ergibt Werte für das t (t-Verteilung nach «Student»), die weit über den für die Zahl der geprüften Einzelwerte in der Verteilungstabelle für t angegebenen Sicherheitsgrenzen liegen (für n = 30: P = 0,05, t = 2,042; P = 0,01, t = 2,750; P = 0,001, t = 3,646). Das Wachstum mit optimalen Mengen von Ammonphosphat ist demnach fast dreimal so gross wie mit optimalen Mengen von Kaliumnitrat.

Natürlich kann aus den in Tabelle 7 dargestellten zwei Versuchen nicht auf das genaue Zahlenverhältnis des Aufnahmevermögens für die beiden Stickstoffformen geschlossen werden. Stehen im Falle von Ernährung mit Kaliumnitrat im Thallus geringere Stickstoffmengen zur Verfügung, so wächst der Pilz langsamer. Er gerät gegenüber dem mit Ammonstickstoff ernährten Thallus wegen der geringern Oberfläche noch stärker ins Hintertreffen. Eine Begünstigung des Ammonstickstoffes tritt während der Inkubation auch durch die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration ein; die stärkere Säuerung des Substrates bei Ammonphosphaternährung ergibt Werte nahe dem optimalen pH (vgl. Tab. 1).

Ein ähnliches Verhältnis in den Myzelgewichten erhielten wir – wenigstens in den reicher mit Stickstoff versorgten Nährlösungen – auch in einem Versuch mit verschiedenen Konzentrationen der beiden geprüften Stickstoffverbindungen (Tab. 8). In stickstoffarmen Nährlösungen allerdings verwischten sich die Unterschiede; möglicherweise war bei stickstoffarmer Ernährung das Aufnahmevermögen für beide Stickstoffbindungsformen gleich.

Sehen wir von diesem Verhalten des Pilzes bei Hungerernährung ab, so lässt sich eine deutlich bessere Verwertung des Stickstoffes in Ammonform als in Nitratform feststellen. Dies ist bei Pilzen, sofern sie überhaupt Nitratstickstoff verwerten können, schon mehrfach gefunden worden. So ernährt sich nach Morton und McMillan (1954) *Scopulariopsis brevicaulis* (Sacc.) Bainier, ein Konidienpilz aus der Ascomycetenreihe der Microascales, bei gleichzeitiger Fütterung mit Ammon- und Nitratstickstoff zunächst nur mit dem Ammonstickstoff. Erst wenn dieser fast aufgebraucht ist, nimmt er auch Nitratstickstoff auf. Ähnlich verhält sich auch *Neurospora crassa* Shear et Dodge (Strauss, 1951).

Der Einfluss der Stickstoffbindungsformen auf die Fruchtkörperentwicklung kann damit mit dem schlechtern Aufnahmevermögen des Pilzes für Nitratstickstoff erklärt werden. Höhere Stickstoffkonzentrationen in Nitratform wirken – grob ausgedrückt – wie entsprechend niedrige in Ammonform.

Die wenigen bis heute durchgeführten Untersuchungen über den Einfluss der Stickstoffernährung auf die Entwicklung von Hauptfruchtformen bei Ascomyceten lassen ausser der Begrenzung durch hohe Gaben keine allgemein gültige Regel erkennen. Oft wirkt organisch gebundener Stickstoff allgemein besser, so bei *Diaporthe phaseolorum* (Cke. et Ell.) Sacc. (Timnick, Lilly und Barnett, 1951), bei *Ceratocystis*arten (Campbell, 1958) und auch bei *Neurospora crassa* Shear et Dodge (Hirsch, 1954). Nitratstickstoff kann sogar in einzelnen Fällen – auch in relativ niedrigen Konzentrationen – hemmend auf die Bildung von Fruchtkörpern wirken, so bei *Venturia inaequalis* (Cke.) Winter, dem Erreger des Apfelschorfes (Ross, 1959).

Tabelle 7

Wachstum von *Leptosphaerulina australis* bei optimalen Mengen Ammonphosphat (1 g/l) und Kaliumnitrat (2 g/l) in der Nährlösung, enthaltend 10 g/l Glukose und Mineralsalze. Inkubationsdauer 12 Tage

	Ammonphosphat			Kaliumnitrat			t für den Unterschied der Durchschnitte
	Myzelgewicht je 200 ml Nährlösung	pH		Myzelgewicht je 200 ml Nährlösung	pH		
		Anfang	Ende		Anfang	Ende	
1. Versuch	821 ± 45 mg = 100 %	7,1	4,6	318 ± 254 mg = 38,7 %	6,5	6,3	21,01
2. Versuch	641 ± 55 mg = 100 %	7,2	4,8	235 ± 31 mg = 36,7 %	6,8	7,1	27,38

Tabelle 8

Einfluss von verschiedenen Konzentrationen von Ammonphosphat und Kaliumnitrat auf das Myzelwachstum von *Leptosphaerulina australis*. Nährlösung mit 10 g Glukose je Liter

Reiner Stickstoff mg/l	KNO ₃ mg/l	Myzelgewichte mg/200 ml Nährlösung		(NH ₄) ₃ PO ₄ mg/l	Myzelgewichte mg/200 ml Nährlösung	
		Versuche			Versuche	
		1	2		1	2
2240	32 000	73	47	16 000	107	91
560	8 000	131	130	4 000	576	603
140	2 000	260	183	1 000	433	591
35	500	137	117	250	177	211
9	125	112	37	62	16	76
2	31	44	16	15,5	30	20
0,5	7,5	2	12	4	6	4

In andern Fällen allerdings fördert anorganisch gebundener Stickstoff die Fruchtkörperbildung, sofern die richtigen Konzentrationen eingehalten werden, z. B. bei *Talaromyces vermiculatus* (Dang.) Benj. (Das Gupta und Nanda, 1957). Unsere Ergebnisse ordnen sich demnach ohne weiteres in diesen bunten Strauss von Möglichkeiten ein.

4. Das Kohlehydrat-Stickstoff-Verhältnis

Um die Beziehungen zwischen Kohlehydrat- und Stickstoffernährung darstellen zu können, haben wir wiederholt Versuche durchgeführt, wie sie z. B. in Tabelle 9 zusammengefasst sind. Anfänglich stellten wir uns vor, in einem derart weit auseinander gezogenen Konzentrationsbereich sowohl Maxima wie auch Minima erfassen zu können, wie dies in den Versuchen von Das Gupta und Nanda (1957) mit *Talaromyces vermiculatus* möglich war. Für die Minima ist diese Erwartung allerdings nicht eingetroffen. Noch bei einer Glukosegabe von 17 mg und einer Stickstoffgabe von 14 mg (reiner Stickstoff) im Liter Nährlösung reichen die Nährstoffe zur Bildung eines Thallus mit fertilen Fruchtkörpern aus. In ergänzenden Versuchen stellten wir Wachstum und Fruchtkörperbildung in noch ärmeren Nährböden fest. Fruchtkörper entwickeln sich auch auf Filterpapier, das nur in unserer üblichen Mineralsalzlösung (vgl. S. 195) ohne Stickstoffzugabe steht.

Eine eindeutige Begrenzung der Möglichkeiten für die Fruchtkörperbildung fanden wir dagegen bei hohen Gaben von Stickstoff und Glukose.

Bei der Interpretation der Angaben auf Tabelle 9 muss allerdings auch an die Konzentrationsänderungen gedacht werden, welche während des Myzelwachstums auftreten. Der Pilz nimmt während dieser Periode einen Teil der Nährstoffe auf und baut sie in die Zellsubstanz ein oder veratmet sie. Die Nährstoffkonzentration im Substrat nimmt deshalb ab, und unsere angegebenen Grenzwerte sind daher etwas zu hoch. Immerhin gilt dies nur mit Einschränkungen und innerhalb relativ enger Grenzen; denn die in höhern Nährstoffkonzentrationen heranwachsenden Thalli schritten auch bei längerer Kulturdauer nicht mehr zur Fruchtkörperbildung. Ausserdem sind die Fruchtkörper nahe den begrenzenden Nährstoffkonzentrationen ganz oder teilweise steril.

Tabelle 9

Der Einfluss verschiedener Konzentrationen von Stickstoff und Glukose auf die Fruchtkörperentwicklung von *Leptosphaerulina australis* (Kulturstamm M 4615) auf Agarnährböden

+ Entwicklung fertiler Fruchtkörper

± Entwicklung weniger fertiler Fruchtkörper (unter 10 % der gebildeten)

— keine Fruchtkörper oder alle Fruchtkörper steril

Stickstoffkonzentration	Bindungsform	Glukosekonzentration in %								
		30	12,9	6,9	1,7	0,43	0,108	0,027	0,0067	0,0017
1,4 g/l N	(NH ₄) ₃ PO ₄	—	—	—	—	—	—	±	+	+
	KNO ₃	—	—	—	±	+	+	+	+	+
0,14 g/l N	(NH ₄) ₃ PO ₄	—	—	—	—	+	+	+	+	+
	KNO ₃	—	—	±	+	+	+	+	+	+
0,014 g/l N	(NH ₄) ₃ PO ₄	—	+	+	+	+	+	+	+	+
	KNO ₃	—	+	+	+	+	+	+	+	+

Nach den in Tabelle 9 zusammengestellten Versuchen fruktifiziert *Leptosphaerulina australis* bei Anwesenheit grosser Glukosemengen nur, wenn gleichzeitig niedrige Stickstoffmengen gegeben werden oder umgekehrt, wenn bei Anwesenheit relativ grosser Stickstoffmengen wenig Glukose im Substrat zu finden ist.

Leider eignen sich diese Versuche nicht, die gegenseitige Beziehung zwischen N- und C-Konzentration mathematisch zu fassen, weil folgende zwei Punkte ungenügend berücksichtigt werden können:

1. Die in unsern Versuchen verwendeten Mengen unterscheiden sich noch zu stark. Kleinere Intervalle zwischen den verwendeten Konzentrationen lassen aber die immer wieder auftretenden Störungen im Verhalten des verwendeten Organismus stärker hervortreten.
2. Mit der einfachen Feststellung, ob fertile Fruchtkörper gebildet werden oder nicht, erfassen wir die Auswirkungen der äussern Einflüsse nur grob. Aber es fehlt uns vorderhand noch an der Möglichkeit, die

Unterschiede in der Zahl der Fruchtkörper, deren Grössen und die Zahl der gebildeten Sporen zu erfassen.

Einen derartigen Versuch haben wir trotzdem unternommen, indem wir uns auf eine Untersuchung von Westergaard und Mitchell (1947) mit *Neurospora crassa* Shear et Dodge stützten. Diese Autoren haben in ähnlicher Weise, wie oben angegeben, ein Mosaik verschiedener Nitrat- und Glukosemengen mit *Neurospora crassa* beimpft und die Fruchtkörperproduktion mit Hilfe eines gut dokumentierten Bonitierungsschemas dargestellt. Wir haben einen Teil dieses Versuches mit höhern Stickstoffkonzentrationen – methodisch zwar an die Verhältnisse bei *Leptosphaerulina australis* angepasst – auch für unsern Organismus durchgeführt. Die Ergebnisse sind zusammen mit denen für *Neurospora crassa* auf Tabelle 10 dargestellt. Die beiden Pilzarten stimmen in ihrem Verhalten bei verschiedener Stickstoff- und Kohlehydraternährung überraschend gut überein, trotzdem sie sich verwandtschaftlich nicht nahestehen und wir überdies stets auch mit grösseren Schwankungen in ihren Reaktionen rechnen müssen.

5. Mineralsalze

Es existiert eine recht reiche ältere Literatur, zusammengestellt durch Foster (1939), über den Einfluss von Mineralsalzen auf die Reproduktion von Pilzen. Nach Cochrane (1958) gibt es aber bis heute keine Beweise für einen qualitativen Unterschied zwischen den für das Wachstum und den für die Fruktifikation notwendigen Mineralsalzen; es gibt somit keine die Sporenbildung fördernden Mineralsalze, die nicht auch für das Wachstum notwendig wären. Dagegen können ins Gewicht fallende quantitative Unterschiede festgestellt werden. Dabei sind die für die Fruktifikation notwendigen Mengen in der Regel höher als diejenigen für das Myzelwachstum. Nach neuern Versuchen (z. B. Buston, Jabbar und Etheridge, 1954, Buston und Rickard, 1956, Basu, 1951) mit *Chaetomium*arten scheinen besonders Phosphat und Calcium eine Rolle bei der Fruchtkörperbildung zu spielen.

Unsere Versuche wurden durch die geringen in der Grössenordnung von Verunreinigungen liegenden quantitativen Ansprüche für das Wachstum und die Fruktifikation behindert. Immerhin fanden wir bei der Kultur von *Leptosphaerulina australis* auf Filterpapier, welches in Leitungswasser stand, Bedingungen, unter welchen wohl Wachstum, dagegen keine Fruktifikation möglich war (vgl. Abb. 5). Auch eine Zugabe von 1 g/l Natriumphosphat oder 1 g/l Kaliumchlorid ermöglichte die Fruchtkörperbildung nicht. Hingegen erhielten wir mit Kaliumphosphat (in Form von 1 g/l KH_2PO_4) ohne weiteres Fruchtkörper. Dieser Versuch,

den wir in Anbetracht der undefinierten Zusammensetzung von Leitungswasser keineswegs als gesichert betrachten, weist auf einen grössern Bedarf an Kalium und Phosphat hin, wenn Fruchtkörper gebildet werden sollen.

Für Calcium konnten wir dagegen keine Wirkung feststellen.

Tabelle 10

Der Einfluss verschiedener Konzentrationen von Kaliumnitrat und Glukose auf die Fruchtkörperbildung von *Neurospora crassa* Shear et Dodge (nach Westergaard und Mitchell, 1947) und *Leptosphaerulina australis* McAlpine (Stamm M 4615)

Frk. = gebildete Fruchtkörper. Die angewendeten Bonitierungszahlen sind der Arbeit von Westergaard und Mitchell (1947) entnommen, in der die einzelnen Werte durch photographische Aufnahmen belegt sind. Es bedeuten 0 = keine Fruchtkörper, 10 = ganzer Thallus mit Fruchtkörpern bedeckt

Fert. = Fertilität, + Asci und Ascosporen vorhanden, — Asci und Ascosporen fehlen, ± nur einzelne Fruchtkörper mit Ascosporen und Asci

Neur. = *Neurospora crassa* Shear et Dodge

Lept. = *Leptosphaerulina australis* McAlpine

Stickstoffkonzentration gKNO ₃ /l	Pilzart	Glukosekonzentration g/l											
		22		18		16		10		6		2	
		Frk.	Fert.	Frk.	Fert.	Frk.	Fert.	Frk.	Fert.	Frk.	Fert.	Frk.	Fert.
10	Neur.	0	—	2	—	1	—	1	—	1	—	1	+
	Lept.	0	—	0	—	0	—	1	±	1	+	2	+
5	Neur.	2	—	3	—	3	—	3	—	3	+	2	+
	Lept.	0	—	1	±	1	+	2	+	3	+	5	+
1	Neur.	9	+	10	+	9	+	7	+	5	+	3	+
	Lept.	1	±	1	+	2	+	2	+	3	+	6	+

V. Einfluss exogener Faktoren auf die Ausgestaltung einzelner morphologischer Merkmale

A. Allgemeines

Aus Erfahrung muss jeder Mykologe den Einfluss exogener Faktoren auf die Morphologie bei seinen Untersuchungen gebührend berücksichtigen. Beschreibungen von kultivierten Pilzthalli sollten stets auch von Angaben über die äusseren Bedingungen, unter denen sie herangewachsen sind, begleitet sein, wie dies Raper und Fennel (1965) in ihrer Bearbeitung der Aspergillen in mustergültiger Form und konsequent befolgt haben. Ebenfalls aus Erfahrung wird aber nicht für alle morphologischen

Eigenschaften dieselbe Abhängigkeit von äussern Einflüssen angenommen, und tatsächlich erweisen sich bei kritischer Prüfung auch viele Merkmale als relativ unabhängig von den Wachstumsbedingungen. Darauf beruht denn auch die Möglichkeit zur Unterscheidung von Arten, Gattungen und höhern systematischen Einheiten.

Dennoch scheint es verwunderlich, wie wenig experimentelle Arbeiten über die damit zusammenhängenden Fragen unternommen worden sind. Immerhin haben sich doch einige Autoren mit derartigen Fragen auch bei Ascomyceten befasst. So hat Thielke (1958) über experimentell hervorgerufene Änderungen in der Ausgestaltung der asexuellen Fruktifikationen von *Aspergillus*arten berichtet. Es sind dabei Einwirkung erhöhter Luftfeuchtigkeit, erhöhter Temperatur oder geringerer Kohlehydratkonzentration im Nährsubstrat beobachtet worden, wobei jeweils charakteristische Änderungen hervorgerufen wurden. In einzelnen Fällen können sich die Pilze in Reinkultur auch etwas anders verhalten als auf ihrem Wirt. Bachmann (1963) fand bei *Coleroa robertiani* (Fr.) Müller – einem Ascomyceten, der wegen fehlender Fruchtkörperborsten früher oft in eine eigene Gattung gestellt worden war – auf den in Reinkultur gebildeten Fruchtkörpern im Gegensatz zu denjenigen im Freien auf dem Wirt (*Geranium robertianum* L.) gebildeten stets typische dunkle Borsten. Ähnlich verhält sich auch *Venturia massalongii* (Trav.) Bachmann (auf *Erodium*arten), umgekehrt dagegen *Coleroa circinans* (Fr.) Winter (auf *Geranium*arten). Für *Venturia rumicis* (Desm.) Wint. hat Kerr (1961) ebenfalls Beobachtungen über die Fruchtkörperborsten angestellt. In Reinkulturen werden solche stets gebildet, auf dem Wirt nur, wenn die Fruchtkörper dem Wirtsgewebe nicht vollständig eingesenkt sind.

Auch für *Leptosphaerulina australis* liegen einige Beobachtungen vor, welche auf eine Abhängigkeit gewisser Merkmale von äussern Einflüssen schliessen lassen. So hat Wehmeyer (1955) zwei verschiedene Nährmedien verwendet, auf denen der Pilz charakteristische Unterschiede in den Fruchtkörpern aufwies. Graham und Luttrell (1961) verglichen die durchschnittlichen Ascosporendimensionen von auf ihrem Wirt und in Reinkultur gewachsenen Fruchtkörpern und fanden dabei bemerkenswerte Unterschiede. Da wir ähnliche Unterschiede beobachteten, lag es nahe, diesen nachzugehen.

B. Thallusmerkmale

Der Thallus von *Leptosphaerulina australis* zeigt wenig charakteristische Merkmale. Auf den üblichen Agarnährböden breitet er sich relativ rasch mit Substratmyzel aus; Luftmyzel entwickelt sich verhältnismässig wenig. Vom Zentrum aus bilden sich dann die Fruchtkörper; ihre Bildung

schreitet mit dem Wachstum des Thallus nach aussen fort. Sie bilden dabei grössere oder kleinere Gruppen, wodurch der Thallus fein gescheckt erscheint: dunkle Flecken mit dichtstehenden Fruchtkörpern, hellere mit nur wenigen oder gar keinen. In derartigen Kolonien besteht das Myzel aus einem Netz von 2 bis 3 μ dicken, glatten, regelmässig durch Querwände unterteilten Hyphen (Abb. 5, Mitte).

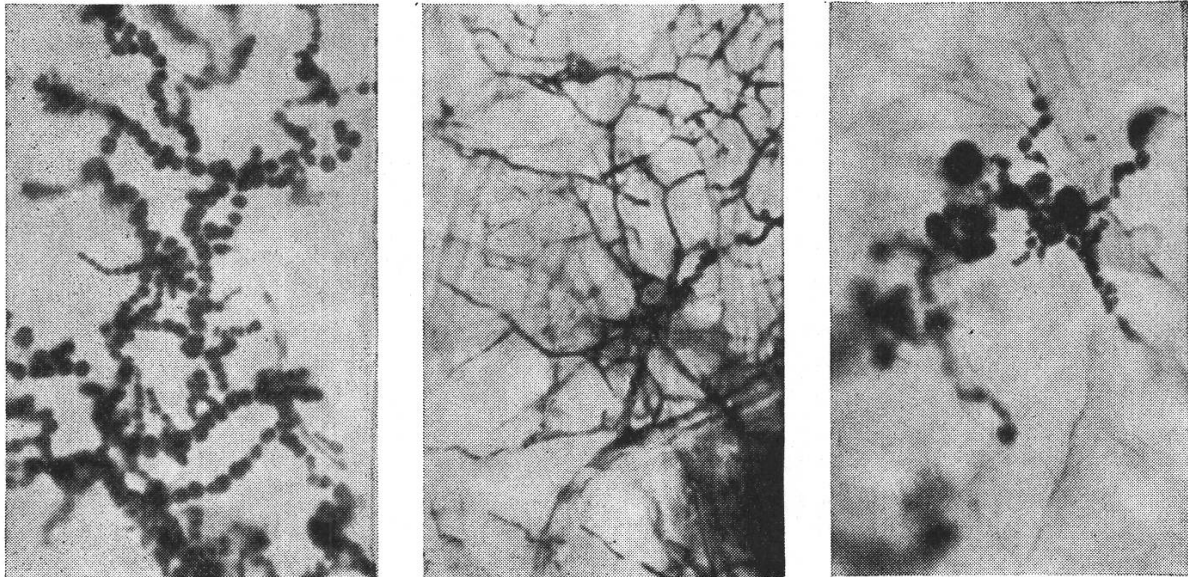


Abbildung 5

Thalli von *Leptosphaerulina australis* bei verschiedener Ernährung. Mitte optimale Ernährung mit Fruchtkörperbildung, links Überernährung, rechts Unterernährung. Vergrösserung 320mal

Auf einigen bestimmten Nährbodentypen scheidet der Pilz, wie dies schon Graham und Luttrell (1961) beobachtet haben, ein rötliches Pigment aus, z.B. auf V-8-Agar, ebenso auf unserm Gemüsesaftagar, und zwar verhalten sich alle acht zur Verfügung stehenden Kulturstämme gleich. Auf andern Nährböden – Graham und Luttrell (1961) erwähnen Kartoffelstärkeagar – fehlt dieses Pigment.

Unter Bedingungen, welche die Fruchtkörperbildung nicht erlauben oder diese zum mindesten behindern, verhält sich auch der Thallus anders als unter optimalen Bedingungen. Die Hyphen sind kurzgliedrig, die einzelnen Zellen angeschwollen und perlschnurartig aneinandergereiht. Eine derartige Myzelausbildung ist typisch für Überernährung mit Stickstoff oder mit leicht aufnehmbaren Kohlehydraten, für zu hohe oder zu niedrige Wasserstoffionenkonzentrationen sowie für zu hohe Temperaturen (z.B. 33 °C). Eine ganz ähnliche Myzelausbildung lässt sich aber auch unter extremen Hungerverhältnissen beobachten, z.B. bei Ernährung auf Filterpapier, welches in Brunnenwasser steht (Abb. 5).

C. Fruchtkörper

Wie schon oben angegeben, hat Wehmeyer (1955) bei den auf Agarnährböden mit unterschiedlicher Zusammensetzung kultivierten Thalli Verschiedenheiten in den Fruchtkörpern festgestellt. Er führte dies auf die Zuckerkonzentrationen in den Kultursubstraten zurück.

In unsern Versuchen haben wir ebenfalls derartige Differenzen festgestellt, vor allem bei der Fruchtkörpergrösse, bei deren Wanddicke und bei der Intensität der Wandpigmentierung. Aus unsern Versuchen ergibt sich aber eine stärkere Beeinflussung der Fruchtkörper durch die Stickstoff- als durch die Kohlenstoffernährung.

Mit dem Stickstoffgehalt im Nährsubstrat nimmt auch die Fruchtkörpergrösse bis zu einem Optimum zu, und zwar fällt das Optimum der Fruchtkörpergrösse mit dem für das Wachstum zusammen. Steigt der Stickstoffgehalt darüber hinaus, so nimmt die Fruchtkörpergrösse nicht ab, und zwar auch dann nicht, wenn sie steril bleiben. Leider sind Messungen sehr schwer durchzuführen, weil innerhalb eines Thallus die Reifung der Fruchtkörper sehr unterschiedlich erfolgt und zudem von aussen nicht abgeschätzt werden kann und weil überdies – besonders unter relativ günstigen Wachstumsbedingungen – zwei oder mehr Fruchtkörper manchmal zusammenwachsen. Trotzdem haben wir versucht, anhand von Handschnitten durch die Thalli die Fruchtkörperdurchmesser zu erfassen (Tab. 11).

Tabelle 11

Fruchtkörperdurchmesser von *Leptosphaerulina australis* (Stamm M 4615) bei Ernährung mit minimalen und optimalen Mengen von Stickstoff (dazu 10 g/l Glukose und Mineralsalze in den Agarnährböden) (je 100 Fruchtkörper)

	Durchschnittlicher Fruchtkörperdurchmesser	Extremwerte
0,015 g/l KNO ₃	78 ± 12,8 μ	56—110 μ
1,000 g/l KNO ₃	146 ± 26,8 μ	94—230 μ

Bei Ernährung mit minimalen Mengen Stickstoff enthalten die Fruchtkörper oft nur einen Ascus. Ihre Zahl wird ebenfalls eingeschränkt, doch erlaubt die unregelmässige Verteilung keine eindeutige Auszählung, um so mehr als sehr viele Fruchtkörper tief im Agarnährboden entstehen. Sie folgen dabei den sich ausbreitenden Hyphen und bilden oberflächlich wie im Substrat radiale Reihen.

D. Ascosporen

1. Allgemeines

Die Unterscheidung von Arten innerhalb der Gattung *Leptosphaerulina* beruht vor allem auf den Merkmalen der Ascosporen, z.B. Art der Septierung und Grössen. Die Sporenmerkmale sind zudem mit dem Parasitismus und der Wirtswahl korreliert (Graham und Luttrell, 1961). Neben den Septierungsverhältnissen betrachteten wir deshalb in erster Linie die Sporendimensionen und fanden bei diesen auch die eindrucklichsten Unterschiede.

Sämtliche Messungen an Ascosporen erfolgten mit Hilfe eines Mikroskopes Wild M 20 mit einem Messokular 6mal und einem Objektiv 100mal (numerische Apertur 1,25), wobei ein Teilstrich $1,54 \mu$ betrug. Festgestellt wurde stets grösste Länge und grösste Breite. Die zu messenden Ascosporen wurden in einer Mischung von Milchsäure und Baumwollblau (Lactophenol + Anilinblau) zunächst kurz aufgeköcht. Der Zellinhalt färbte sich dabei blau an, die Sporenmembranen blieben ungefärbt und hoben sich dadurch deutlich von ihrer bläulichen Umgebung ab. Un genügend entwickelte, meist noch in den Asci eingehüllte Ascosporen färbten sich nur schwach; es war so leicht, sie beim Messen zu übergehen. Ebenso schlossen wir gekeimte oder alte, von einer sehr derben, braunen Wand umschlossene Sporen aus. Und auch Sporen mit schiefer Stellung zur Gesichtsebene wurden nicht gemessen.

Am einfachsten lässt sich ein geeignetes Präparat durch Quetschen der Fruchtkörper herstellen. Dabei können aber die für das Messen nicht geeigneten Ascosporen nicht ausgeschlossen werden. Es schien uns daher richtig, die mit Quetschpräparaten gewonnenen Ergebnisse mit denen an aktiv ausgeschleuderten Sporen zu vergleichen. Dafür liessen wir die Sporen von kleinen Myzelstücken aus auf Objektträger schleudern und schlossen sie ebenfalls in Baumwollblau und Milchsäure ein. Die Ergebnisse sind in Tabelle 12 zusammengestellt.

Tabelle 12

Vergleich zweier Messmethoden für die durchschnittlichen Ascosporenlängen von *Leptosphaerulina australis* (Stamm M 4615) (je 400 Sporen)

Methode	Durchschnittliche Sporenlängen	Extremwerte
Quetschpräparat	$31,45 \pm 3,63 \mu$	18,5—41,5 μ
Geschleuderte Ascosporen	$30,21 \pm 3,20 \mu$	22,5—38,5 μ

Die Prüfung der beiden in Tabelle 12 angeführten Durchschnitte (Linder, 1951) ergibt eine gute Sicherung des Unterschiedes. Dies bedeutet, dass keinesfalls Ergebnisse, welche von geschleuderten Ascosporen stammen, mit solchen aus Quetschpräparaten verglichen werden dürfen.

Geschleuderte Ascosporen haben alle ungefähr denselben Reifegrad; die Messung an solchen ist demnach sicherer. Wir haben diese Methode denn auch soweit wie möglich angewendet. Da aber in grösseren Versuchsserien sich die Messungen über mehrere Tage hinziehen und – wie noch zu zeigen ist – die Sporendimensionen sich mit der Kulturdauer ebenfalls etwas ändern können, waren wir darauf angewiesen, die Thalli zunächst zu trocknen und erst nach und nach auszuwerten. Einmal ausgetrocknete Thalli schleudern aber nachträglich praktisch nicht mehr. In derartigen Fällen blieb uns nur die Herstellung eines Quetschpräparates aus dem nachträglich wieder aufgequollenen Thallus.

In einem weiteren Versuch prüften wir die Sporenlängen nach verschiedenen Inkubationszeiten und erhielten die auf Tabelle 13 zusammengestellten Werte. Auch bei diesen sind die Unterschiede der Durchschnitte gesichert, so dass auch auf die Forderung gehört werden muss, nur Ergebnisse aus gleichzeitig geernteten Thalli miteinander zu vergleichen.

Tabelle 13

Sporenlängen von *Leptosphaerulina australis* (Stamm M 4615), gewachsen auf Gemüsesaftagar, nach verschiedenen Inkubationszeiten (je 400 Sporen)

Nach	4 Tagen	8 Tagen	12 Tagen	16 Tagen
	$30,0 \pm 2,33 \mu$	$31,4 \pm 2,86 \mu$	$32,0 \pm 3,03 \mu$	$32,7 \pm 3,17 \mu$

Unsere Wiederholungen von Versuchen ergaben meist eine schöne Übereinstimmung der gemessenen Werte. Doch mussten wir verschiedentlich auch unerklärliche Abweichungen in Kauf nehmen. Die in unsern Tabellen dargestellten Versuchsbeispiele sollen deshalb in erster Linie die – stets mehrfach gesicherten – Unterschiede belegen; für die einzelnen Zahlen können sich aber von Versuch zu Versuch Verschiebungen ergeben.

2. Ascosporen unter optimalen Bedingungen

Die Entwicklung der Ascosporen (S. 191 und Abb. 2) erfolgt nur in der geschilderten Weise, wenn optimale Bedingungen vorliegen. Normalerweise sind solche auf den natürlichen Wirtssubstraten anzutreffen, doch

können wir sie dem Pilz auch mit bestimmten Agarnährböden im Laboratorium anbieten, z. B. im Gemüsesaftagar, im V-8-Juice-Agar oder auch im Malzagar, sofern dieser nicht zu hoch konzentriert ist. Die Ascosporen weisen dann je vier Quersepten und in einem hohen Anteil auch Längssepten auf, und ihre durchschnittliche Grösse schwankt in der Regel zwischen 30 und 33 μ (vgl. auch Angaben bei Graham und Luttrell, 1961). Immerhin lassen sich kleinere Unterschiede in den Kulturstämmen feststellen (Tab. 14), so zeigt der Kulturstamm M 4942 stets etwas kleinere Ascosporen.

Tabelle 14

Ascosporendimensionen von acht Kulturstämmen von *Leptosphaerulina australis*, gewachsen auf Gemüsesaftagar (optimale Ernährung) und einem synthetischen Nährboden mit Mineralsalzen, 15 mg/l KNO_3 und 100 mg/l Glukose (minimale Ernährung). Kulturdauer 8 Tage (gemessen wurden je 200 geschleuderte Ascosporen)

Stamm	Optimale Ernährung	Minimale Ernährung
M 428	$33,1 \pm 1,96 \times 10,9 \pm 0,67 \mu$	$22,1 \pm 2,90 \times 8,1 \pm 1,00 \mu$
M 456	$30,6 \pm 2,90 \times 10,7 \pm 0,75 \mu$	$25,7 \pm 2,74 \times 9,0 \pm 1,00 \mu$
M 4615	$31,4 \pm 2,86 \times 10,8 \pm 0,78 \mu$	$21,5 \pm 2,81 \times 8,0 \pm 0,90 \mu$
M 4619	$31,1 \pm 1,96 \times 10,9 \pm 0,67 \mu$	$21,5 \pm 1,91 \times 8,1 \pm 0,72 \mu$
M 4941	$31,1 \pm 3,70 \times 10,7 \pm 0,87 \mu$	$25,3 \pm 3,03 \times 8,7 \pm 1,00 \mu$
M 4942	$27,5 \pm 2,65 \times 10,7 \pm 0,89 \mu$	keine Ascosporen
M 4943	$31,8 \pm 3,27 \times 10,5 \pm 0,88 \mu$	$23,7 \pm 2,23 \times 8,4 \pm 0,70 \mu$
M 4944	$31,5 \pm 3,53 \times 10,9 \pm 0,71 \mu$	$23,3 \pm 2,24 \times 8,5 \pm 0,72 \mu$

Für die Beurteilung der Durchschnittswerte muss noch eine Besonderheit der Ascomyceten berücksichtigt werden. Bei der grossen Mehrheit, so auch bei *Leptosphaerulina australis*, entwickeln sich innerhalb eines Ascus je acht Ascosporen. Aus 25 Ascis desselben Thallus haben wir sämtliche Ascosporen gemessen und für die einzelnen Herkünfte je Mittelwert und Streuung in Tabelle 15 zusammengestellt. Wir gewannen die Ascosporen, indem wir kleine Stücke der Kolonie jeweils während 15 Minuten auf einen Objektträger schleudern liessen. Die Sporen eines Ascus lagen in kleinen Haufen relativ dicht beieinander; in der kurzen Zeit hatten nur wenige Ascis geschleudert, und die einzelnen Herkünfte liessen sich gut trennen. Leider ist es nicht möglich, die Ascis eines einzelnen Fruchtkörpers zu berücksichtigen, da sie nacheinander reifen und zu einem bestimmten Zeitpunkt nur jeweils ein oder zwei Ascis so weit entwickelt sind, dass sie ihre Ascosporen ausschleudern.

Aus der Tabelle 15, in der wir die Ergebnisse nach den Mittelwerten der Längen geordnet haben, lässt sich eine in der Regel geringere Streuung

Tabelle 15

Masse der Ascosporen von *Leptosphaerulina australis* (Stamm M 4615), gewachsen auf Gemüsesaftagar (je acht Ascosporen desselben Ascus). Masszahlen in μ

Ascus- nummer	Mittelwerte	Extremwerte
	Länge \times Breite	Länge \times Breite
1	25,1 \pm 1,08 \times 9,0 \pm 0,18	23 — 26 \times 8 — 9,5
2	28,1 \pm 0,70 \times 9,8 \pm 0,18	27 — 29,5 \times 9 — 10
3	28,6 \pm 0,80 \times 10,0 \pm 0,14	27,5 — 30 \times 9 — 10
4	29,1 \pm 1,04 \times 10,0 \pm 0,14	27,5 — 31 \times 9 — 10
5	29,6 \pm 1,10 \times 10,0 \pm 0	27,5 — 31 \times 10
6	29,7 \pm 0,71 \times 9,8 \pm 0,18	29,5 — 31 \times 9 — 10
7	30,0 \pm 0,92 \times 10,3 \pm 0,28	29,5 — 31,5 \times 10 — 10,5
8	30,0 \pm 1,39 \times 10,2 \pm 0,18	27,5 — 32 \times 10 — 11
9	30,3 \pm 1,16 \times 10,1 \pm 0,14	27,5 — 31,5 \times 10 — 11
10	30,3 \pm 1,74 \times 10,3 \pm 0,20	28,5 — 33 \times 10 — 11
11	30,5 \pm 0,73 \times 10,2 \pm 0,14	29,5 — 31,5 \times 10 — 11
12	31,9 \pm 0,71 \times 10,8 \pm 0,21	31 — 33 \times 10 — 11,5
13	32,3 \pm 1,15 \times 10,8 \pm 0	30 — 34 \times 10,8
14	32,6 \pm 1,23 \times 10,7 \pm 0,14	31,5 — 34 \times 10 — 11
15	33,3 \pm 1,56 \times 11,1 \pm 0,20	31 — 35,5 \times 10,5 — 11,5
16	33,3 \pm 2,53 \times 10,9 \pm 0,25	29,5 — 36 \times 10 — 11,5
17	33,4 \pm 0,91 \times 10,8 \pm 0	32,5 — 34,5 \times 10,8
18	33,4 \pm 1,42 \times 10,5 \pm 0,28	31,5 — 35,5 \times 10 — 11
19	33,5 \pm 0,71 \times 11,0 \pm 0,27	31,5 — 35,5 \times 10 — 11,5
20	34,0 \pm 0,65 \times 11,0 \pm 0,18	33 — 34,5 \times 10,5 — 11,5
21	35,0 \pm 1,65 \times 10,5 \pm 0,19	32,5 — 37 \times 10 — 11
22	35,1 \pm 0,40 \times 11,3 \pm 0,20	34,5 — 35,5 \times 10,5 — 11,5
23	35,6 \pm 0,68 \times 11,0 \pm 0,18	34,5 — 37 \times 10,5 — 11,5
24	36,0 \pm 0,87 \times 11,5 \pm 0,25	34,5 — 37,5 \times 10,5 — 12,5
25	37,3 \pm 1,53 \times 11,6 \pm 0,21	34 — 38,5 \times 10,5 — 12,5
Alle 200 Ascosporen	31,9 \pm 2,65 \times 10,7 \pm 0,45	23 — 38,5 \times 8 — 12,5

der Sporenmasse eines Ascus, verglichen mit der Gesamtheit, feststellen. Kleine Besonderheiten in Form oder Septierung lassen sich gewöhnlich bei allen acht Ascosporen eines Ascus beobachten. Zufällige Auslese von 25 Ascosporen, jede aus einem andern Ascus, ergab Mittelwerte, die annähernd gleich waren wie der Mittelwert aus allen 200 Ascosporen (z. B. jede erste Spore unserer Messliste = 31,9 μ , jede vierte Spore 31,4 μ , jede achte Spore 31,8 μ in der Länge).

3. Einfluss der Temperatur auf die Morphologie der Ascosporen

Aus Thalli, welche sich in verschiedenen Temperaturen auf Gemüsesaftagar entwickelt hatten, liessen wir Ascosporen auf Objektträger

schleudern und massen je 200 Sporen. Die Werte sind in Tabelle 16 zusammengestellt. Die Durchschnitte geben allerdings keine gesicherten Unterschiede, woraus wir schliessen, dass die Temperatur keinen erfassbaren Einfluss auf die Ascosporenmorphologie hat.

Tabelle 16

Masse geschleuderter Ascosporen von *Leptosphaerulina australis*, Stamm M 4619, aus Gemüsesaftkulturen bei verschiedenen Temperaturen (je 200 Ascosporen)

Temperatur	Durchschnittliche Sporendimensionen
12 °C	$28,8 \pm 2,64 \times 10,2 \pm 0,78 \mu$
18 °C	$29,5 \pm 2,70 \times 10,0 \pm 0,71 \mu$
24 °C	$29,3 \pm 2,33 \times 10,3 \pm 0,81 \mu$
30 °C	$29,6 \pm 2,65 \times 10,4 \pm 0,70 \mu$

4. Einfluss der Ernährung auf die morphologische Ausgestaltung der Ascosporen

Die tiefgreifendsten Wirkungen auf die Ascosporen fanden wir bei Ernährungsfaktoren. Ein erstes Versuchsbeispiel ist in Tabelle 17 darge-

Tabelle 17

Morphologie der Ascosporen von *Leptosphaerulina australis* (Stamm M 4615) bei Ernährung mit verschiedenen Konzentrationen von KNO_3 und verschiedenen Kohlenstoffquellen (erfasst wurden je 200 Ascosporen)

Grundsubstrat	KNO_3 -Konzentration g/l	Mittelwerte in μ	Extremwerte in μ	Durchschnittliche Zahl der Quersipten	Sporen mit Längssepten %
		Länge \times Breite	Länge \times Breite		
2% Agar	0,015	$21,3 \pm 1,91 \times 8,0 \pm 0,93$	17 — 26 \times 6 — 10	3,0	4
Mineralsalze	0,062	$21,7 \pm 1,78 \times 8,1 \pm 0,93$	17 — 28 \times 6 — 10	3,0	22
10 g/l	0,25	$24,6 \pm 2,48 \times 9,7 \pm 1,11$	20 — 29 \times 7,5 — 11,5	3,5	58
Glukose	1,00	$26,6 \pm 2,89 \times 10,1 \pm 0,82$	20 — 34 \times 7,5 — 11,5	3,8	68
	4,00	$25,4 \pm 2,71 \times 9,7 \pm 0,92$	18 — 32 \times 8 — 11	3,6	70
	16,00	$24,4 \pm 2,56 \times 9,7 \pm 0,85$	18 — 29 \times 7,5 — 11,5	3,2	39
Wasser	0,015	$28,4 \pm 2,09 \times 10,4 \pm 0,65$	24 — 34 \times 9 — 12	4,0	70
Mineralsalze	0,062	$29,8 \pm 3,39 \times 11,1 \pm 1,12$	21,5 — 38,5 \times 7,5 — 12	3,8	83
	0,25	$31,1 \pm 2,56 \times 10,6 \pm 0,85$	24,5 — 38,5 \times 9 — 12	4,0	83
Filterpapier	1,00	$32,6 \pm 2,18 \times 11,3 \pm 0,90$	28 — 38,5 \times 9 — 14	3,9	71
	4,00	$28,9 \pm 2,86 \times 10,6 \pm 1,10$	23 — 35,5 \times 8 — 13	3,9	73
	16,00	$27,5 \pm 2,29 \times 10,1 \pm 0,75$	23 — 32 \times 8,5 — 11,5	3,9	72

stellt. Dabei verwendeten wir Kaliumnitrat als Stickstoffquelle, Glukose bzw. Zellulose in Form von Filterpapier als Kohlenstoffquelle und erfassen sowohl die Sporengrössen wie auch die SporeNSEPTIERUNG.

Die auf Agarnährböden mit Glukose als Kohlenstoffquelle (Tab. 17, oberer Teil) gewachsenen Thalli bilden Ascosporen, deren Grössen eine eindruckliche Abhängigkeit von der Stickstoffkonzentration im Nährsubstrat zeigen. Bei minimalen Stickstoffgaben (z.B. 0,015 g/l KNO_3) bilden sich beim Kulturstamm M 4615 bedeutend kürzere und schmälere Ascosporen. Diese kleinern Ascosporen sind auch nur dreimal septiert, fast nie tritt in einer der mittleren Zellen Längsseptierung auf, und sie werden auch in kleinern Asci gebildet. Ihre Entwicklung bleibt demnach bei dem auf Abbildung 2, Stadium 6, dargestellten Stand stehen (vgl. Abb. 6, links). Derartige Ascosporen werden aber ohne weiteres aktiv ausgeschleudert, und sie wachsen unter geeigneten Bedingungen zu Thalli mit normal grossen Ascosporen aus.

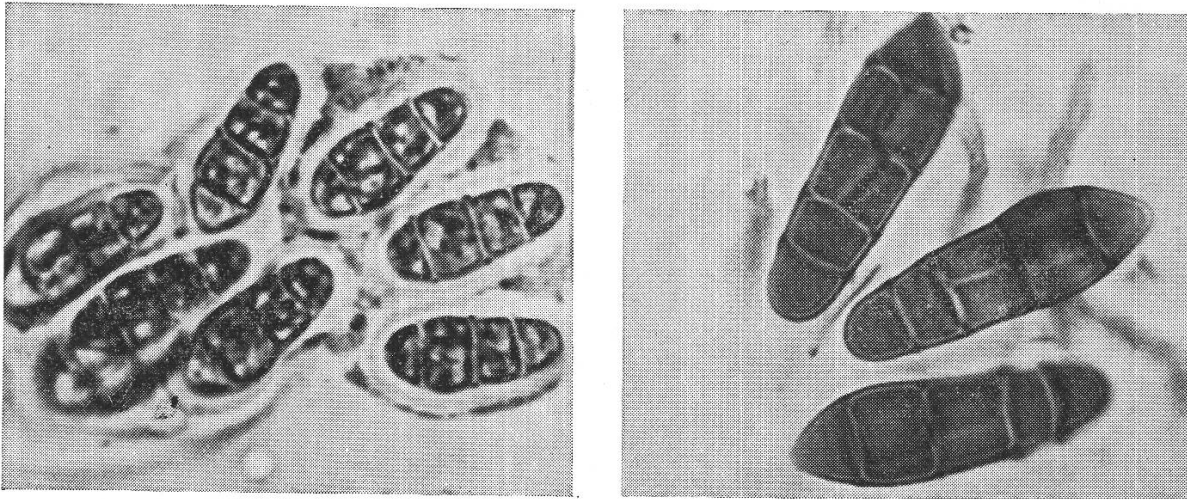


Abbildung 6

Ascosporen von *Leptosphaerulina australis*, Vergrösserung 820mal; links aus einem Thallus, der bei minimaler Stickstoffernährung gewachsen ist; rechts aus einem auf Gemüsesaft-agar gewachsenen Thallus (optimale Ernährung)

Wie aus Tabelle 14 (hintere Kolonne) hervorgeht, reagieren alle geprüften Kulturstämme deutlich auf minimale Ernährung; hingegen unterscheiden sie sich in der Stärke der Reaktion. Die Kulturstämme M 4619 und M 428 verhalten sich gleich wie M 4615; bei ihnen ist der Unterschied in der durchschnittlichen Sporengrösse bei minimaler Ernährung gegenüber optimaler am grössten. Bei M 4941 und M 456 ist die Reduktion gegenüber optimaler Ernährung um die Hälfte geringer, während zwei weitere Stämme (M 4943 und M 4944) in der Reduktion ihrer durchschnittlichen Sporengrössen zwischen diesen beiden Gruppen

liegen. Kulturstamm M 4942 endlich weicht auch hier stärker von den übrigen ab; er vermag unter derart minimalem Nährstoffangebot überhaupt keine Fruchtkörper zu bilden.

Gibt man nun mehr Stickstoff (Tab. 17), so vergrössern sich die Ascosporen bis zu einem Optimum. Dieses wird bei Stickstoffgaben erreicht, welche mit den optimalen Mengen für das Myzelwachstum übereinstimmen (vgl. Tab. 6, S. 205). Parallel mit der Vergrösserung der Ascosporen steigt auch der Anteil stärker septierter Sporen; bei optimalen Stickstoffgaben ist schon der grössere Teil wieder mit vier Querwänden versehen, und zahlreiche Sporen haben auch Längssepten. Bei Stickstoffgaben, welche über das Optimum hinausgehen, vermindern sich die Durchschnittsgrössen der Sporen wiederum; Zahl und Grösse der Fruchtkörper nehmen dabei allerdings nicht ab, sie bleiben nur mehr und mehr steril.

Unterschiede zwischen der Wirkung von Ernährung mit Kaliumnitrat oder mit Ammonphosphat, wie wir sie beim Myzelwachstum und bei der Fruchtkörperbildung beobachtet haben (S. 203 ff.), treten bei der Morphologie der gebildeten Ascosporen nicht hervor. Für beide Stickstoffquellen haben wir ähnliche Schwankungen zwischen den einzelnen Versuchen festgestellt.

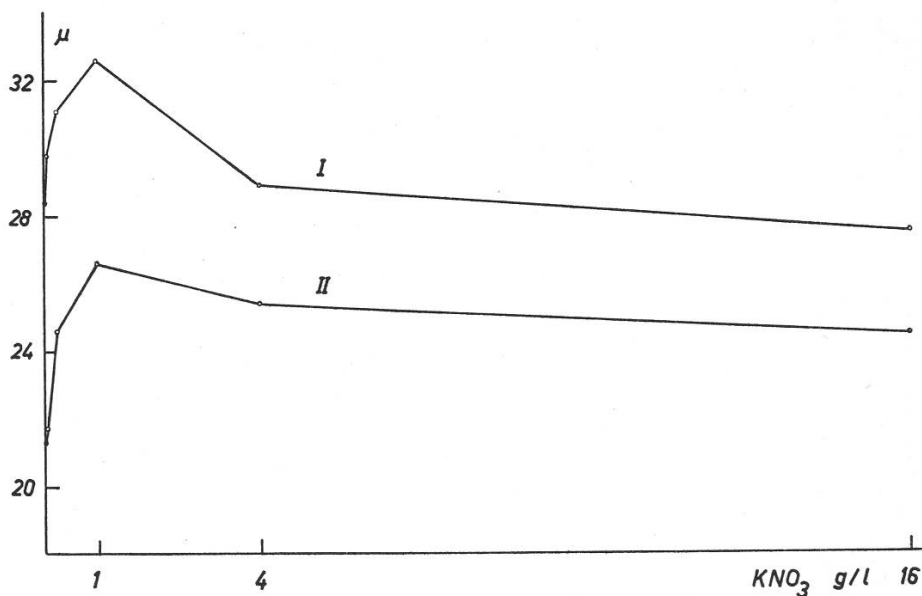


Abbildung 7

Durchschnittliche Länge der Ascosporen von *Leptosphaerulina australis* (Stamm M 4615) bei Ernährung mit verschiedenen Mengen Stickstoff. Kurve I: Wachstum auf Filterpapier ohne Glukose; Kurve II: Wachstum auf Agar mit Glukose

Die Beeinflussung der Ascosporenmorphologie bei *Leptosphaerulina australis* durch die Ernährung ist überraschend; vor allem die Grössen-

reduktion, verbunden mit einem vorzeitigen Abschluss der Sporentwicklung bei minimaler Ernährung, geht sehr weit. Würde ein derartiger Thallus für sich untersucht, könnte er ohne weiteres als eigene Art aufgefasst werden. Das Fehlen von Längssepten würde einen im Saccardo'schen System verhafteten Systematiker sogar veranlassen, für den Pilz eine andere Gattung zu wählen.

In allen unsern Versuchen mit synthetischem Nähragar müssen wir aber in Kauf nehmen, dass die optimalen Sporengrößen die Werte der auf Gemüsesaftagar herangewachsenen Ascosporen nicht erreichen. Ersetzen wir aber die Agarkulturen durch Faltenfilterkulturen ohne Glukose, so lassen sich ebenfalls deutliche Unterschiede in den Ascosporendimensionen erkennen (Tab. 17 unten), doch erreichen die optimalen Werte die in Gemüsesaftagar festgestellten. Die kleinsten, bei minimalen Stickstoffmengen gebildeten Ascosporen sind bedeutend grösser als diejenigen auf Agarnährboden mit Glukose.

Tabelle 18

Sporenmasse von *Leptosphaerulina australis* (Stamm M 4615), gewachsen auf einem Agarnährboden mit Mineralsalzen und verschiedenen Konzentrationen von Ammonphosphat und Glukose (gemessen wurden je 200 Sporen). Masse in μ angegeben

Glukosekonzentration g/l	$(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$		
	0,05 g/l	0,5 g/l	5,0 g/l
0,017	$27,0 \pm 2,11 \times 9,8 \pm 0,63$	$28,3 \pm 1,67 \times 10,2 \pm 0,60$	$25,1 \pm 2,11 \times 8,6 \pm 0,86$
0,069	$27,5 \pm 1,97 \times 10,2 \pm 0,70$	$28,8 \pm 2,63 \times 10,6 \pm 0,72$	$25,6 \pm 2,48 \times 8,8 \pm 0,90$
0,275	$26,6 \pm 2,19 \times 9,9 \pm 0,68$	$27,0 \pm 1,93 \times 10,1 \pm 0,66$	$25,4 \pm 2,22 \times 9,1 \pm 0,99$
1,09	$25,6 \pm 2,16 \times 9,8 \pm 0,81$	$26,6 \pm 2,21 \times 9,9 \pm 0,77$	keine Sporen
4,36	$25,9 \pm 2,10 \times 9,8 \pm 0,67$	$26,0 \pm 2,54 \times 9,7 \pm 0,92$	keine Sporen
17,45	$25,3 \pm 2,21 \times 9,5 \pm 0,90$	keine Sporen	keine Sporen
69,8	$25,5 \pm 1,98 \times 9,8 \pm 1,24$	keine Sporen	keine Sporen
129	$23,6 \pm 1,71 \times 9,2 \pm 0,82$	keine Sporen	keine Sporen
300	keine Sporen	keine Sporen	keine Sporen

Leider war es uns bis jetzt nicht möglich, die Ursache der relativ grossen Unterschiede in den optimalen Sporengrößen auf den beiden verschiedenen Kohlenstoffquellen zu finden. Sie kann, wie Tabelle 18 zeigt, nicht allein in der Konzentration des zur Verfügung stehenden Zuckers liegen. In dem dieser Tabelle zugrunde liegenden Versuch (vgl. auch Tab. 9, S. 208) kombinierten wir verschiedene Stickstoffkonzentra-

tionen mit verschiedenen Kohlenstoffkonzentrationen, und zwar wählten wir drei Konzentrationen von Ammonphosphat: 0,05 g/l (Hungerernährung), 0,5 g/l (optimale Stickstoffgabe), 5 g/l (Überfütterung mit Stickstoff). Auch in diesem Versuch zeigte sich bei gleichbleibender Zuckerkonzentration im Nährsubstrat eine ähnliche Reihe von durchschnittlichen Sporengrößen wie bei dem in Tabelle 17 dargestellten Versuch. Der Einfluss der Glukosekonzentration auf die durchschnittliche Sporengröße ist zwar weniger deutlich, doch zeichnet sich ebenfalls eine Verminderung mit zunehmender Zuckergabe ab. Und tatsächlich fallen die Optima auf sehr niedrige Zuckerkonzentrationen, doch erreichen die Sporengrößen auch bei optimaler Stickstoffernährung die Größe der auf Filterpapier oder Gemüsesaftagar gemessenen nicht.

Eher würde man aufgrund einer weiteren Feststellung einen Einfluss der Glukose direkt annehmen. Fügt man nämlich den Nährlösungen im Versuch mit Faltenfiltern noch Glukose zu (5 g/l), so verkleinern sich die durchschnittlichen Größen der Ascosporen wiederum auf die Werte, die wir in dem auf Tabelle 17 (obere Kolonne) dargestellten Versuch mit Agarkulturen gemessen haben. Die in Tabelle 19 zusammengestellten Zahlen, die wir verschiedenen Versuchen entnommen haben, veranschaulichen diese Reaktion der Ascosporen.

Eine direkte Einflussnahme der Glukose auf die Ascosporendimensionen kann zwar nicht widerlegt werden, scheint aber wenig wahrscheinlich. Die in Tabelle 19 festgehaltenen Reaktionen der Ascosporen auf die Ernährung können auch anders interpretiert werden. Steht dem Pilz als Kohlenstoffquelle nur Zellulose zur Verfügung, so wird er diese abzubauen versuchen. Er stößt dabei auf die schon früher (S. 194) erwähnten Verunreinigungen und nimmt von diesen ebenfalls auf. Die ihm auf Filterpapier gebotene Nahrung ist zwar spärlicher, aber reichhaltiger als auf Glukose-Nitrat-Agar. Bietet man ihm aber neben der Zellulose auch

Tabelle 19

Ascosporenmasse von *Leptosphaerulina australis*, gewachsen auf Filterpapier in Nährlösung mit und ohne Glukose. Stickstoffquelle 1 g/l KNO₃ (gemessen wurden je 200 Ascosporen). Masse angegeben in μ

Nur Filterpapier	Filterpapier + 5 g/l Glukose
$32,6 \pm 2,18 \times 11,3 \pm 0,90$	$26,5 \pm 2,21 \times 9,7 \pm 0,87$
$32,9 \pm 2,77 \times 11,1 \pm 0,94$	$28,3 \pm 2,03 \times 10,0 \pm 0,87$
$31,3 \pm 2,28 \times 11,0 \pm 0,85$	$26,2 \pm 2,66 \times 10,0 \pm 0,82$

Die Daten sind aus verschiedenen Versuchen zusammengestellt.

Glukose an, so wird er dieses leicht aufnehmbare Kohlehydrat zuerst verwerten und die Zellulose nur unwesentlich abbauen. Deshalb sind ihm auch die Verunreinigungen nicht zugänglich.

Nehmen wir nun an, dass irgendeine Komponente der im Filterpapier noch zu findenden Verunreinigungen – in Frage kommen z. B. Vitamine, Spurenelemente, einzelne Aminosäuren – für die Ausbildung optimal grosser Ascosporen notwendig sei, lässt sich auch dieser Versuch verstehen. Leider war es uns bis jetzt nicht möglich, für irgendeine möglicherweise im Filterpapier anwesende Komponente eine derartige Wirkung auf die Ascosporen nachzuweisen.

VI. Diskussion

Die Fruchtkörperbildung von *Leptosphaerulina australis*, so leicht sie auf den üblichen Laboratoriumsnährböden erfolgt, zeigt eine erhebliche Abhängigkeit von äussern Bedingungen. Diese Abhängigkeit ist in manchen Zügen ähnlich wie bei andern Ascomyceten, daneben aber doch für unsern Organismus eigenartig.

Zwar ist der Pilz in seinen Lebensansprüchen recht anpassungsfähig. Wachstum ist innerhalb eines Temperaturbereiches von 3–33 °C und innerhalb eines pH-Bereiches von weniger als 4–10 möglich. Der Pilz lebt, wenn leicht aufnehmbarer Zucker (z. B. Glukose) in wenigen Milligrammen oder in über 30 Gewichtsprozenten vorhanden ist. Stickstoff wird auch in anorganischer Form, und zwar in Ammon- wie in Nitratbindung aufgenommen, wobei allerdings das Wachstum mit Ammonstickstoff besser ist als mit Nitratstickstoff.

Die Anpassungsfähigkeit des Pilzes äussert sich auch in den Ansprüchen des Pilzes für die Fruchtkörperbildung. Diese sind in bezug auf Temperatur wie in bezug auf Wasserstoffionenkonzentration nur um wenig höher als für das Wachstum. Komplizierter dagegen sind die Ansprüche an die Ernährung. Fruchtkörperbildung ist zwar ebenfalls in einem relativ weiten Konzentrationsbereich von Stickstoff wie von Kohlehydrat möglich, doch besteht eine eigenartige Abhängigkeit an das Verhältnis, welches zwischen den Mengen dieser beiden Nährstoffkomponenten besteht. Relativ hohe Konzentrationen beider Nährstoffe verhindern die Fruchtkörperbildung. Bleibt die hohe Konzentration der einen Komponente, während die Konzentration der andern reduziert wird, so wird dem Pilz die Fruchtkörperbildung ermöglicht (Tab. 9, S. 208). Dabei ist es gleichgültig, welcher der beiden Nährstoffe in geringerer Konzentration vorhanden ist. Je höher die eine Komponente konzentriert ist, desto schwächer muss die andere vertreten sein. Dieses eigenartige Verhalten ist auch für *Neurospora crassa* Shear et Dodge nachgewiesen worden

(vgl. Tab. 10, S. 210). Eine Erklärung dafür haben wir allerdings noch nicht gefunden; denn an und für sich würde man eher eine andere Verknüpfung der beiden Nährstoffe erwarten, z. B. ein ungefähr gleich bleibendes Verhältnis der beiden Komponenten oder Grenzkonzentrationen, über die hinaus überhaupt keine Fruchtkörperbildung möglich ist.

Eigenartig ist aber auch das unterschiedliche Verhalten des Pilzes gegenüber Ernährung mit Nitratstickstoff und mit Ammonstickstoff. Unter vergleichbaren Bedingungen erträgt der Pilz höhere Konzentrationen Nitratstickstoff (in Form von KNO_3) als Ammonstickstoff (in Form von Ammonphosphat), bis die Fruchtkörperbildung eingestellt wird. Das bessere Aufnahmevermögen für Ammonstickstoff erklärt diese Erscheinung nur teilweise.

Alle unsere Erklärungsversuche dürfen aber einen Umstand nicht vernachlässigen. Die äussern Bedingungen, unter denen ein Thallus heranwächst, werden zunächst durch Stoffwechselfvorgänge aufgefangen, und erst wenn diese selber Änderungen erfahren, können sich auch die Reaktionen des Pilzes, z. B. seine Fruchtkörperbildung, ändern. Unsere Experimente, wie die meisten ökologischen Versuche, erfassen nur Anfang und Ende einer Kette von vorderhand nicht überblickbaren Vorgängen.

Um so erstaunlicher ist die in der Morphologie der Ascosporen erfassbare Reaktion von *Leptosphaerulina australis* auf die unterschiedliche Ernährung mit Stickstoff. Geringe Stickstoffversorgung verkleinert die Ascosporen, die Zahl der Quersepten wird von 4 auf 3 reduziert, und die Längsseptierung wird fast vollständig unterbunden. Die mit diesen Veränderungen verbundenen Vorgänge zeigen aber deutlich graduelle Unterschiede, welche in direkter Beziehung mit der Stickstoffversorgung stehen.

Die Reduktion in der Grösse der ausgereiften Ascosporen geht aber nur bis zu vorgezeichneten Grenzen, die von Kulturstamm zu Kulturstamm zwar etwas variieren, trotzdem aber charakteristisch sind. So haben wir nie Messdurchschnitte unter $21 \times 8 \mu$ festgestellt, und ebensowenig werden weniger als drei Quersepten ausgebildet. Werden die äussern Bedingungen noch ungünstiger, so unterbleibt die Sporenbildung.

Optimale Versorgung mit Stickstoff, gemessen am Myzelwachstum, ergibt auch optimale Sporengrössen, sofern auch alle andern Bedingungen günstig sind. Dies ist allerdings auf Agarnährböden mit Glukose und anorganisch gebundenem Stickstoff nicht erfüllt; die auf ihnen heranwachsenden Ascosporen erreichen die optimalen Sporengrössen, wie sie z. B. auf Gemüsesaftagar festgestellt werden, nicht.

Die von *Leptosphaerulina australis* gegenüber äussern Einflüssen gezeigten Reaktionen müssen vor allem vom Systematiker gebührend zur

Kenntnis genommen werden. Obschon es sich vorderhand nur um ein einzelnes Beispiel handelt, zeigt es sich, dass auch die Morphologie der sexuell entstehenden Ascosporen in einem gewissen Rahmen variieren kann, und zwar im Extrem so stark, dass sie ein sehr verändertes Aussehen haben.

VII. Zusammenfassung

Leptosphaerulina australis McAlpine, ein homothallischer Ascomycet, bildet in Reinkultur auf den üblichen Laboratoriumsnährböden leicht und rasch seine kugeligen Fruchtkörper mit länglich spindeligen, viermal querseptierten und in einzelnen mittleren Zellen auch mit Längssepten versehenen, hellen Ascosporen. Diese werden unter geeigneten Bedingungen aktiv ausgeschleudert. Aufgrund unserer Versuche sind Myzelwachstum und Fruchtkörperbildung in relativ geringem Masse von der Temperatur und der Wasserstoffionenkonzentration abhängig. Eine stärkere Abhängigkeit besteht gegenüber der Nährstoffzusammensetzung. Der Pilz vermag Stickstoff in Ammonbindung (als Ammonphosphat) und Nitratbindung (als Kaliumnitrat) zu verwerten. Im Wachstumsversuch zeigt sich für beide Bindungsarten ein Optimum bei äquivalenten Mengen, doch ist das Wachstum bei Anwesenheit von Ammonstickstoff bedeutend besser als mit Nitratstickstoff.

Die Fruchtkörperbildung ist von der Nährstoffkonzentration abhängig, und zwar verlangt der Pilz dafür ein bestimmtes N:C-Verhältnis. Relativ hohe Konzentrationen beider Komponenten verhindern die Fruchtkörperbildung. Ist mindestens eine Komponente relativ niedrig konzentriert, so ist Fruchtkörperbildung möglich. Dabei besteht ein bemerkenswerter Unterschied zwischen der Wirkung von Ammonstickstoff und von Nitratstickstoff; der Pilz vermag Fruchtkörper noch bei recht hohen Mengen von Nitratstickstoff zu bilden, während er nur relativ wenig Ammonstickstoff erträgt. Die Entwicklung von Fruchtkörpern erfolgt aber auch bei Hungerernährung, wirksam sind Mengen von wenigen Milligrammen Stickstoff und Zucker im Liter Nährsubstrat.

Äussere Bedingungen können sich auch auf die Ausgestaltung der Morphologie auswirken. Neben den Thalli und den Fruchtkörpern lässt sich dies besonders bei den Ascosporen beobachten. Hungerernährung bewirkt vorzeitigen Abschluss der Ascosporenentwicklung; sie bleiben kleiner und weniger septiert und erhalten so ein ganz anderes Aussehen. Dabei wirkt sich die Stickstoffernährung stärker aus als die Kohlenstoffernährung.

Résumé

Leptosphaerulina australis McAlpine, ascomycète homothallique, forme rapidement ses corps de fructifications sphériques in vitro et libère activement, dans certaines conditions, ses ascospores à quatre cloisons transversales, parfois dictyées.

Nos expériences nous permettent de conclure que la température et le pH ont peu d'influence sur la croissance du mycélium et la formation de périthèces mais que celle-ci dépend de la nourriture et plus spécialement de la forme sous laquelle est donné l'azote. Comme ammonium (phosphate d'ammonium), il permet une croissance plus abondante que comme nitrate (nitrate de potassium). Dans les deux cas, l'optimum de croissance est donné par une quantité équivalente d'azote.

Le développement des périthèces dépend de la concentration de la nourriture et plus particulièrement de N et C. A concentrations élevées, ces deux composants ont une action inhibitrice. L'un d'eux au moins doit être en faible quantité pour permettre la formation de corps de fructification; l'ammonium est moins bien supporté que le nitrate. En cas de famine diététique, quelques milligrammes d'azote et de carbone par litre de solution nutritive suffisent au développement des périthèces.

Les conditions extérieures influent sur la morphologie du thalle, des corps de fructifications et des ascospores. En cas de nourriture insuffisante, le développement des ascospores tourne court; elles demeurent petites, peu septées et leur habitus change profondément. L'azote, par son manque, a plus d'influence que le carbone.

Summary

Leptosphaerulina australis McAlpine, a homothallic ascomycete (Bitunicatae) easily forms its fruit bodies on malt agar and on other common media. The hyaline muriform ascospores may be ejaculated under favorable conditions. Mycelial growth and fructification slightly depend on hydrogen ion concentration; nutrients have much influence. The fungus is able to use ammonium and nitrate nitrogen. For both compounds the growth optimum occurs at the same equivalent amount, but optimal mycelial growth is higher with ammonium than with nitrate.

Fruiting depends on the concentration of nutrients. Comparatively high concentrations of carbon and nitrogen compounds suppress sporulation. Any of the two compounds in low concentration with the other being present in high concentration favors formation of fruit bodies. Considerable differences were found in the effects of nitrogen supplied

as ammonium or as nitrate. Rather high concentrations of nitrate allow fructification whereas the same concentrations of ammonium suppress it. Carbon and nitrogen in extremely low concentrations do not obstruct fructification.

Exogenous factors as temperature and nutrition influence morphology of thalli, fruit bodies and ascospores. Concentrations of nitrogen higher and lower than optimum alter the normal development of ascospores, these remaining smaller with less septa. The carbon source also has some influence on the ascospore development.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden durch den Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung ermöglicht; seinen Behörden sei auch an dieser Stelle der tiefempfundene Dank ausgesprochen.

Ebenso danke ich den beiden Laborantinnen, Frau Claire Bajna-Zbinden und Fräulein Rita Baeriswyl, für ihre treue Unterstützung bei der Durchführung der Versuche.

VIII. Literatur

- Bachmann C. 1963. Untersuchungen an Geraniaceen bewohnenden Venturiaceen. *Phytopath. Z.* 47, 197–206.
- Basu S. N. 1951. Significance of Calcium in the fruiting of *Chaetomium* species, particularly *Chaetomium globosum*. *J. Gen. Microbiology* 5, 231–238.
- Buston H. W. und B. Rickard. 1956. The effect of a physical barrier on sporulation of *Chaetomium globosum*. *J. Gen. Microbiology* 15, 194–197.
- A. Jabbar und D. E. Etheridge. 1954. The influence of Hexose, Phosphates, Calcium and jute extract on the formation of perithecia by *Chaetomium globosum*. *J. Gen. Microbiology* 8, 302–306.
- Campbell R. N. 1958. Nutrient requirements for the production of perithecia by *Ceratocystis variispora* and other species. *Amer. J. Bot.* 45, 263–270.
- Cochrane V. W. 1958. *Physiology of fungi*. J. Wiley and Sons, New York, 524 S.
- Das Gupta A. und P. N. Nanda. 1957. Role of nitrogen concentration on production of perithecia in *Penicillium vermiculatum* Dang. *Nature (London)* 179, 429–430.
- Elliot A. M. 1959. The effects of temperature on ascospore ejection by *Pseudoplea briosiana*. *Phytopathology* 49, 538.
- Foster J. W. 1939. The heavy metal nutrition of fungi. *Bot. Rev.* 5, 207–239.
- Gäumann E. 1964. *Die Pilze*. 2. Aufl. Birkhäuser-Verlag, Basel, 541 S.
- Graham J. H. und E. S. Luttrell. 1961. Species of *Leptosphaerulina* on forage plants. *Phytopathology* 51, 680–693.
- Hawker L. E. 1957. *The physiology of reproduction in fungi*. Cambridge Univ. Press, London, 128 S.
- 1960. Reproduction of bacteria, actinomycetes and fungi. In Horsfall J. G. und A. E. Dimond. *Plant Pathology II. The pathogen*. Academic Press, New York, S. 118–165.
- Hirsch H. M. 1954. Environmental factors influencing the differentiation of protoperithecia and their relation to Tyrosinase and Melanine formation in *Neurospora crassa*. *Physiol. Plant.* 7, 72–97.

- Ingold C.T. 1953. Dispersal in fungi. Oxford Univ. Press, 197 S.
- 1965. Spore liberation. Clarendon Press, Oxford, 210 S.
- Karan D. 1964. Some new hosts to *Leptosphaerulina* McAlp. from India II. Mycopathologia et Mycologia applicata **24**, 85–91.
- Kern H. 1957. Untersuchungen über die Umgrenzung der Arten in der Ascomyceten-gattung *Leucostoma*. Phytopath. Z. **30**, 149–180.
- Kerr J.E. 1961. The life history and taxonomic position of *Venturia rumicis* (Desm.) Wint. Trans. Brit. Mycol. Soc. **44**, 465–486.
- Klebs G. 1898. Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. I. *Sporodinia grandis*. Jahrb. wiss. Bot. **32**, 1–70.
- 1899. II. *Saprolegnia mixta*. l. c. **33**, 513–593.
- 1900. III. Allgemeine Betrachtungen. l. c. **35**, 80–203.
- Kobayashi T. 1957. *Sclerotinia libertiana* Fuck. attacking *Cryptomeria japonica*. J. Jap. Forestry Soc. **38**, 449–452.
- Leonian L.H. 1923. The physiology and perithecial and pycnidial formation in *Valsa leucostoma*. Phytopathology **13**, 257–272.
- 1924. A study of factors promoting pycnidium formation in some Sphaeropsidales. Amer. J. of Bot. **11**, 19–50.
- Lilly V.G. und H.L. Barnett. 1951. Physiology of the fungi. McGraw-Hill Book Co., 464 S.
- Linder A. 1951. Statistische Methoden. 2. Aufl., Verlag Birkhäuser, Basel, 238 S.
- Lockwood L.B. 1937. Hydrogen ion concentration and ascus formation. Mycologia **29**, 289–290.
- Luttrell E.S. 1951. The system of Pyrenomycetes. Univ. Missouri Studies **24**, 1–120.
- 1955. The ascostromatic ascomycetes. Mycologia **47**, 511–532.
- Miller P.M. 1955. V-8-juice agar as general purpose medium for fungi and bacteria. Phytopathology **45**, 461–462.
- Morton A.G. 1961. The induction of sporulation in mould fungi. Proc. Royal Soc. B **153**, 548–569.
- und McMillan A. 1954. The assimilation of nitrogen from ammonium salts and nitrate by fungi. J. Exp. Bot. **5**, 232–252.
- Müller E. 1950. Die schweizerischen Arten der Gattung *Leptosphaeria* und ihrer Verwandten. Sydowia **4**, 185–319.
- 1951 a. Über die Entwicklung von *Pleospora gaeumannii* nov. spec. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **61**, 165–174.
- 1951 b. Die schweizerischen Arten der Gattungen *Clathrospora*, *Pleospora*, *Pseudoplea* und *Pyrenophora*. Sydowia **5**, 248–310.
- 1952. Pilzliche Erreger der Getreideblattdürre. Phytopath. Z. **19**, 402–416.
- 1958. Über einige für die Alpen neue Ascomyceten. Sydowia **12**, 200–209.
- 1961. Mykosen, verursacht durch Ascomyceten und Fungi imperfecti. Fortschr. Bot. **22**, 420–428.
- und J.A. v. Arx. 1950. Einige Aspekte zur Systematik pseudosphärialer Ascomyceten. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **60**, 329–397.
- — 1962. Die Gattungen der didymosporen Ascomyceten. Beitr. Kryptogamenfl. Schweiz **11** (2), 1–922.
- Nüesch J. 1960. Beiträge zur Kenntnis der weidenbewohnenden Venturiaceen. Phytopath. Z. **39**, 329–360.

- Petrak F. 1959. Beiträge zur österreichischen Pilzflora. *Sydowia* **13**, 67–86.
- Rao P.N. und D.Karan. 1964. Some new hosts to *Leptosphaerulina* McAlp. from India I. *Mycopathologia et Mycologia applicata* **22**, 91–95.
- Raper K.B. und D.I.Fennel. 1965. The genus *Aspergillus*. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 686 S.
- Ross R.G. 1959. Effect of certain chemicals on the development of perithecia of *Venturia inaequalis*. *Proc. Canad. Phytopath. Soc.* **26**, 14.
- Schaffnit E. 1912. Der Schneeschimmel und die übrigen durch *Fusarium nivale* hervorgerufenen Krankheitserscheinungen des Getreides. *Landw. Jahrb.* **43**, 526–638.
- Sörgel G. 1953. Über den Entwicklungsgang von *Mycosphaerella pinodes* (Berk. et Blox.) Stone. II. Der Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration auf die Ausbildung der Fortpflanzungsorgane. *Archiv für Microbiol.* **19**, 372–397.
- Strauss B.S. 1951. Studies on the vitamin B₆-requiring, pH-sensitive mutants of *Neurospora crassa*. *Arch. Bioch.* **30**, 292–305.
- Tehon L.R. und G.L.Stout. 1928. The ascomycetous leaf spot of cow pea. *Phytopathology* **18**, 701–704.
- Thielke C. 1958. Studien zur Entwicklungsphysiologie von *Aspergillus*. I. Sterigmenproliferation bei *Aspergillus repens*. *Planta* **51**, 308–320.
- Timnick M.B., V.G.Lilly und H.L.Barnett. 1951. Factors affecting sporulation of *Diaporthe phaseolorum* var. *bataatatis* from soybean. *Phytopathology* **41**, 327–336.
- Wehmeyer L.E. 1955. The development of ascocarp in *Pseudoplea gaeumannii*. *Mycologia* **42**, 163–176.
- 1958. *Leptosphaerulina* McAlp. antedates *Pseudoplea* v. Höhn. *Sydowia* **12**, 490–491.
- Westergaard M. und H.K.Mitchell. 1947. *Neurospora* V. A synthetic medium favoring sexual reproduction. *Amer. J. Bot.* **34**, 573–577.