

Zur Physiologie von *Mucor Ramannianus*

Autor(en): **Müller, W.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **47 (1937)**

PDF erstellt am: **24.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-31815>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Zur Physiologie von *Mucor Ramannianus*.

Von *W. Müller*.

Vorläufige Mitteilung.

*(Aus dem Botanischen Institut und Botanischen Garten der Universität Bern.)

Eingegangen am 20. März 1937.

Nachdem gezeigt worden ist, dass auf synthetischen Nährböden u. a. auch der fast ausschliesslich nur in Gemeinschaft mit Waldbäumen vorkommende *Mucor Ramannianus* durch das B₁-Vitamin zum Wachsen gebracht werden kann (1), habe ich nun die Aufgabe übernommen, die Physiologie dieses Pilzes zu untersuchen. Das Hauptziel meiner Untersuchungen ist dabei, die schon in der Benötigung eines Wuchsstoffes und im spezifischen Vorkommen sich andeutenden engen Wechselwirkungen zwischen dem Pilz und seiner natürlichen Umgebung zu ergründen. Aus meinen bisherigen Arbeiten, die noch in keinem Teil vollständig sind, seien im folgenden einige Ergebnisse mitgeteilt.

I. Allgemeine Wachstumsbedingungen.

Die Versuche werden im allgemeinen in Erlenmeyerkolben mit je 20 ccm folgender Nährlösung durchgeführt :

Glukose . . .	5 ‰
Asparagin . . .	1 ‰
MgSO ₄ . . .	0,5 ‰
KH ₂ PO ₄ . . .	1,5 ‰

Dazu kommt auf 1 Liter Nährlösung 60 γ kristallisiertes B₁-Vitamin. Diese Kulturlösung entspricht ziemlich optimalen Bedingungen und gibt Myzel-Trockengewichte von durchschnittlich 100 mg in 14 Tagen. Es erfolgt dann noch weiterhin eine langsame Gewichtszunahme bis zu 150 bis 200 mg. Das Pilzmyzel, das Mühe hat, sich an der Oberfläche der Nährlösung zu halten, bildet bei gutem Wachstum bald eine blassrote Decke, deren Farbe von den auf sehr kurzen Trägern sitzenden Sporangien herrührt. Im Alter geht die Rosafarbe in Gelb über; unter schlechten Kulturbedingungen erscheint sie überhaupt nicht.

II. Nahrungsquellen. Wachstumsbeeinflussung durch nicht vitaminische Faktoren.

Kohlenstoffquellen.

Die Versuche haben ergeben, dass *Mucor Ramannianus* eine grosse Zahl von Kohlenstoffverbindungen ausnützen kann, die in seiner natür-

lichen Umgebung vorkommen können. Die höhern Alkohole (Hexite) und alle Kohlehydrate von den Monosacchariden (Pentosen, Hexosen) bis zu den Polysacchariden werden leicht verwertet. Eine Ausnahme macht einzig Cellulose (Filtrierpapier); sie wird absolut nicht angegriffen. Der Pilz scheint also in der Natur nicht imstande zu sein, pflanzliche Zellen anzugreifen. Die Beobachtung, dass *Piceasamen* in *Knopscher* Lösung auch in dichtem Pilzrasen keimen können, bildet eine Bestätigung dafür. Die Glukoside ergaben kein eindeutiges Resultat; es muss hier aber berücksichtigt werden, dass diejenigen, die beim Abbau Gifte liefern, ohnehin als Nährquellen nicht in Frage kommen. Salze der Weinsäure, der Zitronensäure, der Milchsäure usw. lieferten keine Pilzkulturen.

Die optimal wirkende Konzentration liegt für Glukose zwischen 1 % und 8 %. Doch geben auch höhere Konzentrationen bis zu 30 % noch ein Wachstum. Bei ältern Kulturen ist das Optimum überhaupt scheinbar gegen die höhern Konzentrationen hin verschoben, weil natürlich während des Wachstums Zucker verbraucht wird. Disaccharide (Maltose und Saccharose) zeigten gegenüber Glukose ein ungefähr ihrem höhern Molekulargewicht entsprechend verschobenes Konzentrationsoptimum. In der Natur wird wohl eher das Zuckermilieu, das noch ein Wachstum erzeugt, wichtig sein: 0,125 ‰ Glukose in der Nährlösung verursachte gegenüber zuckerfreien Kontrollen einen noch deutlich feststellbaren Wachstumsunterschied.

Das rascheste Wachstum ergab Glukose; dann folgten Maltose, Saccharose und Fructose. Hier kann vielleicht die Gewöhnung eine Rolle spielen.

Stickstoffquellen.

Die für die Nährlösungen allgemein verwendete Asparaginkonzentration von 1 ‰ liegt bedeutend unterhalb des Optimums von 2 ‰. Der Mehrertrag an Trockengewicht bei der optimalen Konzentration ist aber verhältnismässig gering; er muss hingegen in Versuchen berücksichtigt werden, wo gleichzeitig noch andere Stickstoffquellen zur Verfügung stehen.

Gute Stickstofflieferanten sind im allgemeinen die Aminosäuren. Besonders günstig wirkten Glykokoll und Arginin, währenddem auf Leucin, Tyrosin, Cystin, Tryptophan und Nukleinsäure Trockengewichte unter dem Mittel hervorgingen. Auf Aminen zeigte sich, soweit ich sie benützen konnte, kein Wachstum. Dagegen ergaben Kulturen auf Fibrin und kristallisiertem Hühnereiweiss gutes Wachstum. Dann bildeten Harnstoff, Ammoniumverbindungen (z. B. Ammoniumkarbonat, -nitrat usw.), Kaliumnitrat und Ammoniak gute bis sehr gute Stickstoffquellen.

Mucor Ramannianus ist somit imstande, in gleicher Weise organische wie anorganische Stickstoffquellen auszunützen. Der Stickstoff-

bedarf kann für ihn in der Natur somit keinen die allgemeine Verbreitung hemmenden Faktor darstellen.

Abbauprodukte.

Mit der Nesslerischen Probe (hängender Tropfen) konnte in benutzten Nährlösungen mit Eiweiss und Fibrin als Stickstoffquellen Ammoniak nachgewiesen werden. Kommende Versuche sollen zeigen, ob *Mucor Ramannianus* durch den Abbau höherer organischer Verbindungen für die höhern Pflanzen als Stickstofflieferant in Frage kommen könnte (2).

Enzyme.

Zum Abbau der höhern organischen Stoffe müssen dem Pilz naturgemäss eine grosse Zahl von Enzymen zur Verfügung stehen. In ersten Versuchen konnten bisher eine Amylase, Inulinase und Saccharase festgestellt werden. Ferner ist eine Asparaginase bekannt.

H-Ionenkonzentration.

In gepufferten Nährlösungen liegt ein flaches Wachstumsoptimum bei pH 5,4; ein Wachstum ist aber noch möglich bei den Werten pH 3,5 und pH 7,5. Im allgemeinen nimmt der Säuregrad während des Wachstums zu. Ob der Säurewert des Bodens auf die Ausbreitung des Pilzes von Einfluss ist, ist bisher noch nicht geprüft worden.

Gerbstoffeinfluss.

Eine Zugabe von 0,1 ‰ Gerbstoff zur Nährlösung hebt das Wachstum fast vollständig auf. Durch eine vermehrte Vitaminzugabe kann die Gerbstoffwirkung abgeschwächt werden. Diese Beobachtung ist von Wichtigkeit, weil der Pilz im Waldboden wohl häufig Gerbstoff vorfindet. So ergab z. B. ein zur Nährlösung gegebener Absud von *Arvensamenschalen*, der entgerbt worden war, ein bedeutend besseres Wachstum als die nicht entgerbte Kontrolle.

III. Die Wachstumsfaktoren vitaminischer Natur.

Alle bisher erwähnten Versuche sind mit Zugabe von kristallisiertem B₁-Vitamin zur Nährlösung gemacht worden. Fehlt in einer Kulturlösung das B₁ vollständig, so ergeben sich Myzeltrockengewichte von im allgemeinen 0 bis 2 mg. Aber schon Zugaben von 0,5 γ B₁ auf 1 Liter Nährlösung zeigt eine feststellbare Wachstumsförderung. Die optimale Förderung wird bei 60 bis 80 γ B₁ pro Liter (1,2—1,68 pro Kultur) erzielt. Die B₁-Vitamine der verschiedenen Hersteller ergaben ziemlich übereinstimmende Resultate.

Für die weitem Versuche sind nun an Stelle des reinen, kristallisierten B₁-Vitamins pflanzliche Produkte beigegeben worden. Eine Wirkung derselben konnte vermutet werden, da das B₁-Vitamin im Pflan-

zenreich ja allgemein verbreitet ist. Hier schneidet sich meine Arbeit mit Melins Untersuchungen (3). Hingegen beschränkte ich mich nicht auf bestimmte Samen, sondern verwendete Blätter, Wurzeln, Samen und Samentteile ganz verschiedener Pflanzen.

A. Vorkommen der wuchsfördernden Stoffe.

S a m e n d i a l y s a t e.

Bei den folgenden Untersuchungen hielt ich mich im allgemeinen an Melins Methode. In Wasserstoffperoxyd desinfizierte Samen von *Picea excelsa*, *Pinus strobus*, *Pinus cembra*, *Triticum vulgare* und *Pisum* wurden in steigender Zahl in die Erlenmyerkolben mit steriler Nährlösung gegeben und 8 Tage stengelassen. Serie A : bei 20° C; Serie B : bei 29° C.

1. Gruppe : Vor dem Impfen mit *Mucor* Samen nicht entfernt.
2. » » » » » » Samen entfernt.
3. » » » » » » Samen entfernt und 15 Min. auf 120° erhitzt.

Bei allen benützten Samenarten war ein Wachstum vorhanden. Die einzelnen Gruppen jeder Samenart zeigten ungefähr gleiche Entwicklung. Daraus ergibt sich, dass bei 20° und 29° gleichviel wirksame Stoffe diffundieren und dass diese die zum Sterilisieren notwendige Hitzebeständigkeit aufweisen. Die Mittelgewichte jeder Samenart waren für *Pisum* und *Triticum* ungefähr 100 mg bei 16 Samen; *Pinus strobus* überschritt dieses Gewicht und erreichte das Maximum schon bei 6 Samen. *Pinus cembra*- und *Picea excelsa*-Kulturen blieben unterhalb des Wertes von 100 mg.

Damit ist gezeigt, dass auch Samen von Pflanzen, die natürlicherweise mit *Mucor Ramannianus* nicht in Kontakt kommen, Stoffe abgeben, die auf ihn wachstumsfördernd wirken. Da nun einerseits die Samen allgemein reich an B₁-Vitamin sind, das ebenso wie die Phosphatide in Wasser diffundieren kann, und andererseits das Wachstum von *Mucor Ramannianus* durch kristallisiertes B₁-Vitamin ausgelöst wird, scheint mir — im Gegensatz zu Melin — die Anwesenheit von Phosphatiden, obschon vielleicht nicht wirkungslos, doch für die Wachstumsauslösung nicht unentbehrlich zu sein.

A b s u d e u n d a l k o h o l i s c h e A u s z ü g e.

Die Wirkung der Absude und alkoholischen Auszüge war die gleiche. Die alkoholischen Extrakte wurden für die Versuche in die leeren Erlenmyerkolben gegeben und der Alkohol bei 100° abgedampft; dann kam die Nährlösung dazu.

Absude von Samen ergaben dieselben Resultate wie die Dialysate. Nur waren bei gleicher Samenzahl die Pilzgewichte grösser. Das wird

davon herrühren, dass entweder mehr Wuchsstoffe oder aber Nährstoffe (Stickstoffverbindungen und Zucker) diffundieren.

Absude von Blattstücken erzeugten eine geringere aber ebenfalls deutliche Wachstumsförderung. Geprüft wurden Blätter von über 30 verschiedenen, beliebig ausgewählten Pflanzen.

Absude von Würzelchen von jungen Nadelbäumen zeitigten dieselbe Wachsförderung.

Absude von Samenteilern, Embryonen aus *Arven*, embryonenfreie *Arvenkerne* und *Arvensamenschalen* ergaben einzeln eine starke Förderung des Wachstums. Wie schon erwähnt, war die Wirkung von gerbstoff-freien Schalenabsuden bedeutend höher. Weizenkeimlinge und Reiskleie wirkten analog.

Absude von Hefe lösten das Wachstum ebenfalls aus.

Die alkoholischen Auszüge aus den gleichen Substanzen hatten dieselbe Wirkung. Es scheint, dass die auf *Mucor Ramannianus* wuchsfördernd wirkenden Stoffe in den höhern Pflanzen und in den einzelnen Teilen derselben sehr weit verbreitet sein müssen.

Harnauszüge. Auch Harn wurde auf seine Wuchswirkung hin geprüft. Der Harn wurde zur Trockne eingedickt und der wasserfreie Rückstand im Soxhlet-Apparat mit Alkohol extrahiert. Die Wachsförderung des alkoholischen Extraktes war deutlich; doch hinderten grössere Mengen das Wachstum von *Mucor Ramannianus* vollständig. Es schien, dass hier noch ein hemmender Faktor mitwirkte.

Absude von Erde, der gewöhnlichen Nährlösung zugesetzt, ergaben bei starker Konzentration ebenfalls ein deutliches Wachstum.

B. Eigenschaften der wuchsfördernden Stoffe.

L ö s l i c h k e i t s v e r s u c h e.

Die alkoholischen Extrakte der verschiedenen Stoffe wurden zur Trockne eingedampft und mit verschiedenen Lösungsmitteln wieder aufgenommen. Es wurden benützt: Aceton, Chloroform, Aethylalkohol, Methanol, Aether sulf., Benzol, Benzin, Petroläther, Wasser. Einzig in Petroläther und in Benzin war das Wachstum gering. Bei Harn ergab sich das überraschende Resultat, dass Chloroform, ein schlechtes Lösungsmittel für B₁-Vitamin, den Wuchsstoff ausgezeichnet aufnahm; ihm folgten Aether sulf. und Benzol. Wurden diese Auszüge nun wieder zur Trockne eingeengt und mit Alkohol, Wasser und andern Lösungsmitteln aufgenommen und zu Kulturen verwendet, so erzeugten sie alle ebenfalls eine starke Wachsförderung. Es muss also im Harn ein Hemmungsstoff vorhanden sein, der in Chloroform, Aether sulf. und Benzol besonders schlecht löslich ist. Der wuchsfördernde Harnfaktor zeigte eine geringe Löslichkeit einzig in Petroläther und Benzin. Wurde ein Chloroformauszug aus Reiskleie mit Wasser durchgeschüttelt und die

Lösungsmittel getrennt zu Kulturen gegeben, so zeigten die Chloroform- und die Wasserkulturen gutes Wachstum. Das bedeutet, dass der in Frage stehende Wuchsstoff in Chloroform und Wasser gut löslich ist.

A d s o r p t i o n a n T i e r k o h l e .

Das Filtrat, der mit Tierkohle behandelten Pflanzenextrakte, erzeugte bei *Mucor Ramannianus* kein Wachstum. Das Eluat mit salzsaurem Alkohol ergab volle Wirksamkeit.

H i t z e v e r s u c h e .

Achtstündiges Autoclavieren bei 135° C zerstörte die Wirksamkeit des reinen B₁-Vitamins auf *Mucor Ramannianus* vollständig. Hingegen blieb die Wirksamkeit der Harn- und Pflanzenextrakte fast voll erhalten. Dadurch scheint dargetan zu sein, dass es sich in den Pflanzenprodukten und im Harn nicht um das B₁-Vitamin als wachstumsfördernden Faktor handelt. Es bestünde immerhin noch die Möglichkeit, dass die Hitze in unreinen Extrakten auf das B₁ nicht gleich einwirkt wie in seiner gereinigten Form. Hervorzuheben ist aber doch auch die Tatsache der guten Chloroformlöslichkeit, die gegen eine Wirkung durch das B₁-Vitamin spricht. Es scheint sich eher um mehrere wachstumsfördernde Faktoren zu handeln. Ob in den verschiedenen Extrakten und bei der verschiedenen Behandlungsweise immer der gleiche oder verschiedene Faktoren wirksam sind, kann heute noch nicht entschieden werden.

T r o c k e n g e w i c h t e .

Die Reinigung der wuchsfördernden Extrakte wurde bis jetzt nicht speziell versucht. Die Trockenrückstände der Extraktmengen, die in ein gutes Wachstum von *Mucor Ramannianus* verursachten, entsprechen im Minimum ungefähr der tausendfachen Vitaminmenge.

IV. Zusammenfassung.

Die bisherigen Versuche haben folgendes ergeben :

1. *Mucor Ramannianus* kann als Kohlenstoffquellen alle Kohlehydrate mit Ausnahme der Cellulose und die sechswertigen Alkohole ausnützen.
2. Als Stickstoffquellen kommen organische und anorganische Verbindungen in Frage. Aminosäuren und Eiweisse sind gut, Amine wahrscheinlich nicht ausnützbar.
3. Das pH-Optimum liegt unterhalb pH 7.
4. Gerbstoff wirkt hemmend.
5. Ohne Wuchsstoff gedeiht *Mucor Ramannianus* nicht. Das B₁-Vitamin wirkt wachstumsauslösend.

6. Extrakte aus pflanzlichen Stoffen wirken ebenfalls wachstumsfördernd. Es scheint sich hier nicht nur um das B₁-Vitamin zu handeln.
7. Harn enthält einen chloroformlöslichen, sehr stark hitzebeständigen, an Tierkohle adsorbierbaren Wuchsstoff, der auf *Mucor Ramannianus* stark fördernd wirkt.
8. Auch Reiskleie enthält einen chloroformlöslichen, auf *Mucor Ramannianus* wirkenden Faktor.
9. Es scheint sich in meinen Untersuchungen nicht um einen einzigen Faktor, sondern um eine Faktorenkonstellation zu handeln, die das Wachstum von *Mucor Ramannianus* beeinflusst.

Die Versuche in dieser und in ökologischer Richtung werden weitergeführt.

Literatur.

1. Schopfer: Ber. Schweiz. Bot. Ges. 1931, Bd. 40, S. 87; 1932, Bd. 41, S. 73. Zeitschr. f. Vitaminforsch. 1935, Bd. 40, S. 187.
 2. Mollard: Nutrition de la plante — Cycle de l'Azote. Encycl. Scient. Doin, Paris 1925.
 3. Melin: Untersuchungen über die Bedeutung der Baummykorrhiza. Fischer, Jena 1925.
-