



# **Studien über Armillaria mellea (Vahl) Qué.**

<https://hdl.handle.net/1874/309512>



Studien über  
*Armillaria mellea* (Vahl) Quél.

Diss.  
Utrecht

1932















STUDIEN ÜBER  
ARMILLARIA MELLEA (VAHL) QUÉL.







# Studien über *Armillaria mellea* (Vahl) Quél.

## PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE WIS- EN NATUURKUNDE AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS DR. L. S. ORNSTEIN, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUURKUNDE VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT TE VERDEDIGEN TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUURKUNDE OP MAANDAG 20 JUNI 1932 DES NAMIDDAGS TE 4 UUR DOOR

JACOB REITSMA

GEBOREN TE LIEVE-VROUWE-PAROCHIE.

□ □ □

ANHALTISCHE BUCHDRUCKEREI GUTENBERG GUSTAV ZICHÄUS  
G. M. B. H., DESSAU

BIBLIOTHEEK DER  
RIJKSUNIVERSITEIT  
UTRECHT.







AAN MIJN OUDERS







## VOORWOORD

Het voltooien van dit proefschrift, biedt mij een welkome gelegenheid U, Hooggeleerden der Philosophische Faculteit, te danken voor al, wat Gij tot mijn vorming hebt bijgedragen.

In het bijzonder U, Hooggeleerde Westerdijk, Hooggeachte Promotor, dank ik voor de groote welwillendheid, waarmede U mij steeds tegemoet getreden zijt, voor de leiding, steun en voorlichting, welke ik steeds van U mocht ontvangen, als voor Uw hartelijken omgang.

U, Hooggeleerde Went, ben ik zeer erkentelijk voor het vele, dat ik van U heb mogen leeren. Het was Uw invloed, die op de richting van mijn phytopathologische onderzoekingen van groote beteekenis is geweest.

Niet minder dank ik U voor het welwillend afstaan van benodigheden voor mijn proefnemingen.

Hooggeleerde Pulle, aan Uw excursies, welke zoozeer hebben bijgedragen tot mijn kennis der Nederlandsche Flora denk ik steeds met groot genoegen terug.

Hooggeleerde Jordan, met dankbaarheid zal ik mij steeds den tijd herinneren, dat ik in Uw laboratorium mocht werken.

Hooggeleerde Nierstrasz, Uw behandeling der vergelijkende Anatomie heeft diepen indruk op mij gemaakt.

Aan U, Zeergeleerde Hissink, Directeur van het Bodemkundig Proefstation te Groningen ben ik zeer veel dank verschuldigd voor de vele analyses, welke ten mijnen gunste op Uw laboratorium verricht werden.

U, Zeergeachte van Luijk, betuig ik mijn welgemeenden dank voor Uw groote bereidwilligheid tot steun bij en Uw belangstelling in mijn werk, evenals voor het vele dat ik de laatste jaren op onze excursies van U heb geleerd.

Waarde du Buy, zeer verplicht ben ik U voor Uw hulp, waarop ik steeds kon rekenen. Zoowel bij de bespreking van mijn werk als bij de vertaling van dit proefschrift hebt Ge mij groote vriendendiensten bewezen.

Niet minder dank ik U, waarde Annie Helsloot, voor het vele tijdroovende werk, wat Gij voor mij verrichtte.

U, Zeergeleerde Nuernbergk, betuig ik mijn dank voor de hulp, bij het corrigeren der vertaling van mijn proefschrift, van U ondervonden.

U, Waarde de Bouter, dank ik zeer voor de teekeningen welke U voor mij vervaardigde.

Aan de Heeren van Luijk, van Dijk. Dr. Brouwer en Ir. van der Kroft, welke mij op de verschillende excursies behulpzaam waren, mijn welgemeenden dank.

Een woord van veel dank tot U, Waarde Kiljan en Veenendaal, voor Uw hulpvaardigheid.

Het Bestuur van de Stichting „Willie Commelin Scholten“ ben ik zeer erkentelijk voor de gastvrijheid in haar laboratorium genoten.

Aan het Curatorium van het „Heere Godfrieds en St. Jans Leen“ betuig ik mijn dank voor de medewerking van hun ondervonden.

Tenslotte een woord van dank aan Allen die ik niet afzonderlijk heb kunnen noemen en mij met raad en daad terzijde hebben gestaan.

---



Mitteilung aus dem Phytopathologischen Laboratorium  
„Willie Commelin Scholten“, Baarn.  
Direktorin: Prof. Dr. Joh<sup>a</sup> Westerdijk.

Studien über *Armillaria mellea* (Vahl) Quél.

Von

J. Reitsma.

Mit 11 Textabbildungen.

Inhalt: Teil I: Morphologie: A. Einführung. B. Nomenklatur. C. Historisches über die Rhizomorphen. D. Beschreibung der verschiedenen isolierten Myzel- und Rhizomorphenformen, sowie der Isolationsmethode. 1. Isolationsmethode. 2. Beschreibung der verschiedenen isolierten Myzel- und Rhizomorphenformen in Abhängigkeit von verschiedenen Nährböden. 3. Beschreibung der in den Kulturen entstehenden Fruktifikationen. — Teil II: Physiologie: 1. Literaturbesprechung. 2. Material und Methodik: Fehlerbestimmung. 3. Das Wachstum von *Armillaria mellea* in Reinkulturen unter verschiedenen Außenbedingungen. A. Einfluß der Temperatur. B. Einfluß verschiedener N-Quellen bei variierten H-Ionen-Konzentrationen. a) Literaturübersicht. b) Versuche. C. Einfluß verschiedener Konzentrationen der Stickstoffquelle Ammoniumsulfat. D. Einfluß verschiedener Kohlenstoffquellen bei verschiedenen H-Ionen-Konzentrationen. E. Einfluß verschiedener Konzentrationen einiger Kohlenstoffquellen. F. Einfluß verschiedener Konzentrationen der Phosphatquelle. G. Einfluß der H-Ionen-Konzentrationen auf den Habitus des Myzels. 4. Untersuchungen über die toxische Wirkung einiger Stoffe in verschiedenen Konzentrationen auf das Myzel von *Armillaria mellea* und anderen Pilzen. A. Versuche mit *Armillaria mellea* (Stamm Reitsma). 1. Ammoniumsulfat als N-Quelle. 2. Pepton als N-Quelle. B. Versuche mit anderen *Armillaria*-Stämmen. C. Der Einfluß von verschiedenen Konzentrationen einiger Phenolderivate auf das Wachstum von vier *Armillaria*-Stämmen. D. Versuche mit *Pythium mammillatum* und *Verticillium Dahliae*. 5. Infektionsversuche. A. Allgemeines. Literaturübersicht. B. Versuche. 6. Bekämpfung. A. Literaturübersicht. B. Versuche. 7. Bodenuntersuchungen. A. Allgemeines. B. Analysemethoden. C. Ergebnisse der Bodenuntersuchungen. 8. Über das Leuchten von Myzel und Rhizomorphen bei *Armillaria mellea*. A. Allgemeines. B. Versuche. 9. Anaerobiose. A. Allgemeines. B. Versuche. I. Kulturversuche in einer Stickstoff-Atmosphäre. II. Der Sauerstofftransport in den Rhizomorphen. 10. Parasitismus oder Saprophytismus von *Armillaria mellea*. A. Faktoren, die das Auftreten von *Armillaria mellea* begünstigen. I. Klimatologische Verhältnisse. II. Bodenverhältnisse. III. Biologische Verhältnisse. IV. Biologische Rassen von *Armillaria mellea*. V. Definitionen. Zusammenfassung. Literatur.

Erster Teil.

Morphologie.

A. Einführung.

Die nachfolgende Studie über *Armillaria mellea* (Vahl) Quél. findet in folgenden Überlegungen ihre Begründung: *Armillaria mellea* ist über die ganze Welt verbreitet und die von ihm verursachten Schäden an Nutz-



und Ziersträuchern sind überall sehr beträchtlich. Er wird daher, zumal in Beständen auf schlechten Böden als einer der gefährlichsten Baumschädlinge betrachtet. Trotzdem man erwarten könnte, daß die Literatur ein erschöpfendes Bild von der Biologie eines solchen Schädlings gibt, sind tatsächlich speziell in phytopathologischer Hinsicht noch manche wichtigen Probleme ungelöst.

In seiner Eigenschaft als Baumschmarotzer läßt sich nämlich mit *Armillaria* nur schwierig experimentieren. *Armillaria* unterscheidet sich als Wurzelpilz von den meisten anderen Baumpilzen. Außerdem besitzt er Rhizomorphen, welche die Baumwurzeln angreifen können, indem sie zwischen Kambium und Holz eindringen und zum Austrocknen der Bäume führen. Dabei kann der Pilz saprophytisch auf totem Holz leben. Dazu kommt, daß die Krankheiten sich meistens sehr langsam entwickeln, wenn ein holziges Gewächs die Wirtspflanze ist. Auch sind viele Baumparasiten schwer zu züchten und wenn die Kultur überhaupt gelingt, wachsen die Pilze meistens langsam. Alle diese Tatsachen machen eine Untersuchung und Bekämpfung unseres Pilzes sehr schwierig.

Nachdem ich mir über die Nomenklatur des Pilzes klar geworden war, waren vor allem die folgenden Fragen zu lösen. Zunächst mußte festgestellt werden, mit welchen Isolationsmethoden gute Erfolge erzielt werden und welche Nährböden die günstigsten Bedingungen für das Pilzwachstum bieten; dabei waren die verschiedenen Pilzformen, welche in Abhängigkeit von den äußeren Umständen (z. B. Temperatur und pH-Werte) auftreten, zu berücksichtigen. Man konnte erwarten, daß besonders die Stickstoff- und Kohlenstoffquellen einen großen Einfluß auf das Wachstum des Pilzes ausüben.

In bezug auf die Wahl einer Bekämpfungsmethode war zu untersuchen, wie sich der Pilz toxischen Stoffen gegenüber verhält, wie und auf welchen Böden er in der Natur vorkommt und in welcher Weise er einen Baum befallen kann. Die letzte Frage kann nur der Infektionsversuch entscheiden.

Als Fragen von mehr allgemeinem Interesse bleiben dann noch die Art und Weise des Sauerstofftransports und das Leuchtphänomen. Macht es doch die Tatsache, daß der Pilz im Inneren der Bäume wachsen kann, wahrscheinlich, daß die Sauerstoffversorgung auf irgendeine Weise organisiert sein muß. Die beiden letzten Fragen sind auch für einen Einblick in das physiologische Verhalten des Pilzes von Bedeutung.

### B. Nomenklatur.

Fries ordnete die hier untersuchte Species *Agaricus melleus* Fl. Dan. ex. Fr. unter einem Subgenus (Tribus) mit dem Namen *Armillaria*, ein. Dieses Subgenus wurde 1872 von Quélet zum Genus erhoben. P. A. Karsten (1879) entfernte die Spezies *Armillaria mellea* aus dem Genus *Armillaria* und fügte sie mit einzelnen Spezies *Pleurotus* im Sinne Fries unter dem Namen *Armillariella* zusammen. (S. Patouillard 1900.) Maublanc



(1926) ist der Ansicht, daß diese kleine Gruppe noch nicht homogen ist und reserviert den von Karsten eingeführten Namen *Armillariella* allein für die Spezies „mellea“.

Obwohl also der Name *Armillariella* auch Eingang gefunden hat, möchte ich doch aus praktischen Überlegungen heraus den in der Phytopathologie so sehr eingebürgerten Namen *Armillaria* beibehalten. Auch von Clements and Shear (1931) wird der Pilz als *Armillaria mellea* bezeichnet und geradezu als Typus der Gattung *Armillaria* betrachtet.

Petch (1907) beschreibt eine neue *Armillaria*-Spezies: *Armillaria fuscipes*, die in einigen Merkmalen von *Armillaria mellea* verschieden ist. Ich konnte auch in physiologischer Beziehung Differenzen konstatieren (S. 487, 490 und 491).

### C. Historisches über die Rhizomorphen.

Die Verletzungen der Bäume durch Rhizomorphen gehören zu den palaeobotanisch „alten“ Krankheiten. So gibt Hartig (1894) an, daß Myzelstränge in fossilem Holz von *Cupressinoxylon* gefunden worden sind. Ferner hat Conwentz Abbildungen von tertiärem Holz von Karlsdorf mit Myzelsträngen gegeben. Auch andere Untersucher, z. B. Seward (1898, S. 111) erwähnen diese Krankheit. Linnaeus hat die Myzelstränge beschrieben als *Lichen radiciformis*. Roth (1797) brachte das Myzel bei dem Genus *Rhizomorpha* unter und beschrieb es als *Rhizomorpha fragilis*. Die *Rhizomorpha fragilis* ist dann von Persoon (1801) in zwei Arten untergeteilt worden: *Rhizomorpha subterranea* und *Rhizomorpha subcorticalis*. Auch Schmitz (1843), der die Rhizomorphen eingehend untersucht hat, bezeichnet beide als Formen von *Rhizomorpha fragilis* Roth.

Die Frage nach der zu den Rhizomorphen gehörigen Pilzspezies aber blieb sehr lange ungelöst. (Siehe dazu die Literaturübersicht von de Bary (1866) und die diesbezügliche Zusammenfassung von Mead-Wilcox [1901]). Hartig ist der Erste, der den Zusammenhang zwischen *Rhizomorpha fragilis* und *Armillaria mellea* erwähnt.

### D. Beschreibung der verschiedenen isolierten Myzel- und Rhizomorphenformen, sowie der Isolationsmethode.

Hartig hat 1874 versucht, die Sporen von *Armillaria mellea* in Wasser zur Entwicklung zu bringen. Er kam zum Schluß, daß die Sporen nur unmittelbar nach der Loslösung vom Hutrande keimfähig sind. Dann hat Brefeld (1877) experimentell bewiesen, daß der von Hartig behauptete Zusammenhang zwischen *Rhizomorpha fragilis* und *Armillaria mellea* wirklich besteht. Sein Ausgangsmaterial war eine Reinkultur von *Armillaria mellea*, deren Sporen sich auf Pflaumendekokt entwickelten. So konnte er das Entstehen von Rhizomorphen genau verfolgen. Er gebrauchte dabei die von ihm 1875 beschriebene, allgemein für Pilze zutreffende Kulturmethode, bekam aber keine Fruchtkörper. Molisch (1904) erhielt Fruchtkörper auf sterilem Brot. Kniep (1911, 1928) hat die Einsporkultur auch bei *Armillaria mellea* eingeführt: nach Verlauf von 2—4 Wochen traten Luftmyzelien auf, welche Basidien mit Basidiosporen bildeten, ohne jedoch zur Fruchtkörperbildung überzugehen. Damit war bewiesen, daß das Entstehen von Basidien jedenfalls bei *Armillaria mellea* nicht an die Fruchtkörperbildung gebunden ist.

#### 1. Die Isolationsmethode.

In der Literatur findet man im allgemeinen zwei Methoden angegeben, um Reinkulturen von Hutpilzen herzustellen: die Gewebemethode und die Sporenmethode. Beide Methoden wurden von Brefeld in die Praxis eingeführt.

#### Gewebemethode.

Man macht in einen jungen Fruchtkörper einen Einschnitt mit einem sterilen Messer. An der angeschnittenen Stelle können sich im feuchten Milieu Hyphen entwickeln, die schließlich ein Myzel bilden, das auf einen Nährboden übergeimpft wird. Auch kann man



die Fruchtkörper äußerlich mit einer schwachen Formalinlösung sterilisieren, aus ihrem Inneren mit einem sterilen Messer ein Gewebestück ausschneiden und in eine Nährlösung überführen (Duggar 1905).

### Sporenmethode.

Die Sporenmethode wird am meisten benutzt und in sehr verschiedener Art und Weise zur Anwendung gebracht.

Brefeld (1875) fing die aus reifen Fruchtkörpern fallenden Sporen auf einem Deckglas auf, verteilte sie in Wasser und brachte sie mit einer Öse auf ein Deckgläschen.

Münch (1909) bringt die von der Oberhaut und Rändern befreiten frischen Hüte mit nach unten gekehrten Lamellen einige Augenblicke über einen mit Nährböden gefüllten Kolben. Auch beim Gebrauch dieser Methode traten öfters Verunreinigungen auf (Cool [1912]).

Für die Gewinnung von Einzelsporen wird von Kniep (1911) angegeben, daß man die Sporen eines reifen Hutes auf eine Gelatinplatte oder auf sterilem Papier auffängt und dann auf Platten Impfstiche macht. Obwohl es möglich ist, mit der Kniepschen Methode Einsporenkulturen zu bekommen, ist nicht leicht festzustellen, ob man wirklich von einer einzigen Spore ausgegangen ist.

Die Gebrauchsmöglichkeit der beiden Methoden wird verschieden beurteilt. (Brefeld, 1875, Cath. Cool, 1912, Zeller, 1916, Duggar, 1905, Wolpert, 1924).

In unserem Falle kam für die Herstellung von *Armillaria mellea*-Reinkulturen nur die Sporenmethode in Betracht. Im Wesentlichen wurde die Methode von Cool (1912) befolgt: Man legt auf eine Petrischale ein Stückchen Karton und bedeckt es mit Watte. Nachdem in der Mitte der Pappe und der Watte ein Loch angebracht ist, durch das die Sporen auf einen unter der Öffnung liegenden Objektträger fallen können, wird die Schale geschlossen und 2 Stunden lang bei 160° C. sterilisiert.

Als Material gebraucht man am besten große Fruchtkörper. Wenn das Velum im Begriff ist, sich vom Hut loszulösen, fängt die Entleerung der Sporen an. (A. H. Reginald Buller, 1924.) Mit einem sterilen Messer wird nun die Epidermis des Hutes fortgenommen und das Velum vollends weggeschnitten. Der so behandelte Hut wird in die Petrischale gebracht, wobei der Rand des Hutes auf der Watte liegt. Die Sporen fallen nun durch die Öffnung auf den Objektträger. Alsdann wird der Hut fortgenommen und an Hand von makroskopischen Querschnitten untersucht, ob das Fruchtkörpergewebe nicht von Würmern angegriffen worden war. War das der Fall, so werden die vielleicht infizierten Sporen nicht benutzt. Andernfalls werden die Sporen in Reagenzgläser mit 2 ccm sterilem Wasser und 5 Tropfen Kirschextrakt gebracht. Nach zwei Tagen sind die Sporen gekeimt und können mit dem Inhalt eines Reagenzglases auf verschiedene Nährböden verteilt werden. Die nach dieser Methode gewonnenen Kulturen zeigen nur sehr selten eine Verunreinigung.

## 2. Beschreibung der verschiedenen isolierten Myzel- und Rhizomorphenformen in Abhängigkeit von verschiedenen Nährböden.

Bezüglich der Bildung von Myzel und Rhizomorphen aus Sporen kann ich mich sehr kurz fassen, weil diese Frage ausführlich von Brefeld behandelt worden ist. Hier mögen nur wenige Bemerkungen folgen:



Ein oder mehrere in Kirschdekokt gekeimte Sporen werden in einen hängenden Tropfen (Wasser + Kirschdekokt) gebracht, der sich in einer feuchten Kammer nach van Luyk (1927) befindet. Diese Sporen bilden ein Myzel, das nach sieben bis acht Tagen kleine, durch Myzelverdichtung entstandene gelbe Flecken aufweist. Wird dieses Myzel auf Agar-Nährboden übergeimpft, so wachsen die gelben Flecken zu Rhizomorphen aus, die in den Nährboden eindringen und sich verzweigen.

Die Farbe der untergetauchten Rhizomorphen ist weiß. Kommen die Rhizomorphen jedoch mit der Luft in Berührung, so werden sie braun. Bevor sie aber ihre Farbe ändern, treten an der Grenze „Nährboden-Luft“

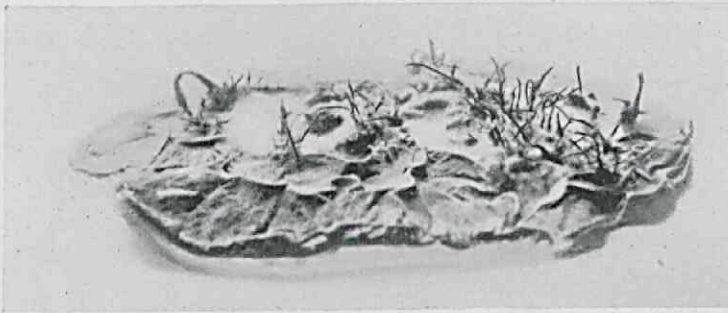


Abb. 1.

Substrat: Kirschagar.

Aus dem Substrat wachsende runde Rhizomorphen.

Hyphen auf, die schleimig werden. Der Schleim wird später fest, und zum Schluß liegen die Rhizomorphen in einer krustigen Masse eingebettet. In diesem Zustand sind sie sehr widerstandsfähig gegen Austrocknen. Bringt man kleine Stücke der krustigen Masse auf frischen Nährböden, so bilden sich von neuem Myzel und Rhizomorphen. Letztere krümmen sich öfters nach aufwärts um und ragen dann aus dem Substrat hervor. Meistens sind die Spitzen der Rhizomorphen abgeflacht. Manchmal aber sieht man (besonders auf Kirschagarböden), daß aus den flachen, im Nährboden wachsenden Rhizomorphen neue Rhizomorphen entstehen. Diese wachsen aus dem Substrat gerade empor und runden sich ab (siehe Abb. 1).

Brefeld (1877) nennt diese flache Form auch *Rhizomorpha subcorticalis*, die runde Form *Rhizomorpha subterranea*. Die letztere ist nur eine sekundäre Bildung der ersten Form.

Die Bildung von Myzel und Rhizomorphen auf verschiedenen Agar-Nährböden ist sehr unterschiedlich. Als geeignetstes Substrat darf man Brot ansehen (Molisch, 1904, Kniep, 1911, Bothe, 1928, Falck, 1930, u. a.), weil es nach Bothe eine gute Nährstoffquelle darstellt, aber auch zugleich porös ist, so daß die Rhizomorphen, welche ins Substrat eindringen, stets genügend Sauerstoff zur Verfügung haben. Da Gelatin- und Agarböden viel weniger porös sind, kann der Sauerstoffmangel hemmend auf das Wachstum einwirken (siehe S. 510).



Es stellte sich heraus, daß als gute Agar-Nährböden, auf denen zugleich Rhizomorphen und reichlich Luftmyzel gebildet werden, zu betrachten sind: Pepton-Glukose-Saccharose-Agar, Bierwürze-Salep-Agar, Bierwürze-Agar, X-Agar, Sabouraud-Agar.

#### Zusammensetzung der wichtigsten Agar-Nährböden.

1. Pepton-Glukose-Saccharose-Agar.		3. Sabouraud-Agar.	
Pepton . . . . .	10 g	Maltose brute . . . . .	40 g
Glukose . . . . .	30 g	Pepton . . . . .	10 g
Saccharose . . . . .	20 g	Wasser . . . . .	1 l
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> . . . . .	1 g	Agar . . . . .	20 g
MgSO <sub>4</sub> . . . . .	0,5 g		
2. Bierwürze-Agar.		4. X-Agar.	
Bierwürze-Extrakt . . . . .	250 g	1 Teil Kirschagar	
Wasser . . . . .	750 ccm	1 Teil Pepton-Glukose-Saccharose-Agar	
Agar . . . . .	20 g	1 Teil Hafermalzagar	
Dazu Wasser bis zu 1 l Gesamtvolumen		5. Bierwürze-Salep-Agar.	
		Bierwürze-Extrakt . . . . .	250 ccm
		Tubera-Salep . . . . .	2 g
		Wasser . . . . .	750 ccm
		Agar . . . . .	20 g

Auf Kirschagar bildeten sich reichlich Rhizomorphen, aber wenig Myzel. Auf Maismehl-, Hafermalz- und Erdnuß- (*Arachis hypogaea*)-Agar unterblieb die Rhizomorphenbildung ganz oder war nur sehr gering; dagegen formte sich hierauf ein gutes Myzel. Auf reinem Agarboden bildete sich nur eine äußerst dünne Myzelschicht.

Die braune Verfärbung von Myzel und Rhizomorphen, welche in Berührung mit Sauerstoff kommen, wird einem Chromogen zugeschrieben, das bei Zutritt von Sauerstoff eine braune Farbe annimmt. Dieses Chromogen tritt auch aus den Hyphen aus, denn auf Agarböden sieht man, wie sich der Agar rings um das Myzel braun färbt. Es kann auch vorkommen, daß ein Stückchen des Myzels, wenn man es auf einen Nährboden gebracht hat, nicht wächst, sondern den ganzen Nährboden braun färbt.

In älteren Kulturen von *Armillaria mellea* werden oft braune Tropfen einer unbekannten Flüssigkeit ausgeschieden (Molisch, 1904, Bothe, 1928). Derartige Ausscheidungen habe ich bei allen älteren Kulturen feststellen können (Agarböden, flüssigen Nährböden und Zweigkulturen).

### 3. Beschreibung der in den Kulturen entstehenden Fruktifikationen.

#### a) Feste Nährböden.

In Petrischalen bildeten sich Fruchtkörper auf: I. Pepton-Glukose-Saccharose-Agar, II. Bierwürze-Salep-Agar, III. X-Agar- (siehe S. 466). Auf I und II wurden Fruchtkörper mit einem Stiel von 2 bis 3 cm Länge gebildet. Der Durchmesser der Hüte betrug etwa 1 cm. Die auf III entstandenen Fruchtkörper waren nur klein (1½ cm lang).



### b) Flüssige Nährböden.

Es stellte sich heraus, daß sich die Fruchtkörper besonders gut auf Fließpapier entwickelten, das sich in einer peptonhaltigen Nährlösung befand. Diese Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung: Pepton 10 g, Glukose 30 g, Saccharose 20 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g,  $\text{MgSO}_4$  0,15 g,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  0,25 g, dest. Wasser 1 Liter. Verwendet wurden Erlenmeyerkolben von 300 ccm Inhalt; hierin kamen 50 ccm Nährlösung und eine Scheibe Filtrierpapier. Nach drei bis vier Monaten erschienen die Fruchtkörper. Der Stiel war (wie auch auf Agarsubstrat) meistens sehr dünn und knickte um, so daß die anormal großen Lamellen des Hutes nach oben gekehrt waren.

Cath. Cool (1912) sagt hierzu: „... für eine normale Entwicklung der Fruchtkörper mußte ich die Kulturen direkt an die Sonne stellen.“ (Vgl. auch S. R. Bose (1930). Nach Kniep (1911) spielen auch Luftfeuchtigkeit und Temperatur bei der Fruchtkörperbildung eine große Rolle. Erniedrigung der Temperatur wirkt fördernd auf die Fruchtkörperbildung ein.

Meine Kulturen standen bei einer Temperatur von 18 bis 22 °C in diffusem Tageslicht. Meistens bildeten sich trotz der nach den eben erwähnten Autoren als ungünstig zu bezeichnenden äußeren Umstände nach drei bis vier Monaten Hüte, die sehr abnorm geformt waren. Einer gab aber doch Sporen ab, die keimten und ein Myzel mit Rhizomorphen bildeten.

Auf Zweigkulturen bildeten sich normale Fruchtkörper.

Diese Kulturen wurden folgendermaßen hergestellt: In je ein 100-ccm-Erlenmeyerkölbchen wurde ein Stückchen Ulmenholz von 2 cm Länge und außerdem 25 ccm Wasser gebracht. Bei Verwendung von 300-ccm-Erlenmeyerkolben wurden diese mit 2 cm langen Zweigstückchen halb gefüllt und 100 ccm Wasser zugefügt. Dann wurde zwei Stunden bei einer Atmosphäre Überdruck sterilisiert. Nach dieser Vorbehandlung wurde in jeden Kolben ein Stück Myzel übergeimpft. Alle Kulturen wurden die ersten Monate bei 20 °C gehalten. In den folgenden Monaten standen sie bei Zimmertemperatur, die stark schwankte und im September dann und wann nur 10 °C betrug. Im September, als auch Fruchtkörper von *Armillaria* im Freien gefunden wurden, entstanden in meinen Kulturen sehr viele Fruchtkörper.

Der Fruchtkörper von Abb. 2 hat einen langen dünnen Stiel und der Hut ist klein. Vielleicht ist das dem Umstande zuzuschreiben, daß die Nährstoffmenge aus dem einen Ulmenzweigstückchen für die Bildung eines kräftigen Fruchtkörpers zu gering ist. Ist aber der Nährstoffvorrat ausreichend, dann bilden sich auch ganz normale Fruchtkörper (Abb. 3).

Aus diesen Versuchen möchte ich folgern, daß sich von allen benutzten Nährböden die Holzsubstrate für eine normale Fruchtkörperbildung am besten eignen.

## Zweiter Teil.

### Physiologie.

#### 1. Literaturbesprechung.

Im Vergleich zu dem, was heute über die Ernährungsphysiologie von *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Mucor* sp., *Botrytis* sp., und ähnlichen Pilzen bekannt ist, sind wir über die Ernährungsverhältnisse bei den Baumpilzen



noch sehr wenig unterrichtet. Erst in den letzten Jahren hat man sich eingehender mit der Physiologie dieser Pilze beschäftigt.

So hat zunächst M. C. Ferguson (1901) Keimungsversuche mit Sporen von *Agaricus campestris* und anderen Basidiomyceten angestellt, aber die von ihr erhaltenen Resultate variieren so stark, daß hieraus keine Schlußfolgerungen gezogen werden konnten. Buller (1906) fand bei Sporen von *Polyporus squamosus* hohe Keimprozentage im sauren Gebiet. Rumbold (1908) konstatierte, daß die Sporen verschiedener Holzpilze im alkalischen Milieu zwar auskeimen, daß aber ein Myzelwachstum nicht stattfindet. Weiterhin stellte Falek (1912) fest, daß die Sporen von *Merulius lacrymans* und *Coniophora cerebella* nur im sauren Milieu keimfähig sind. Webb (1919) beobachtete dasselbe bei *Aspergillus niger*, *Penicillium cyclopium*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.* und *Lenzites sepiaria*. Aus seinen

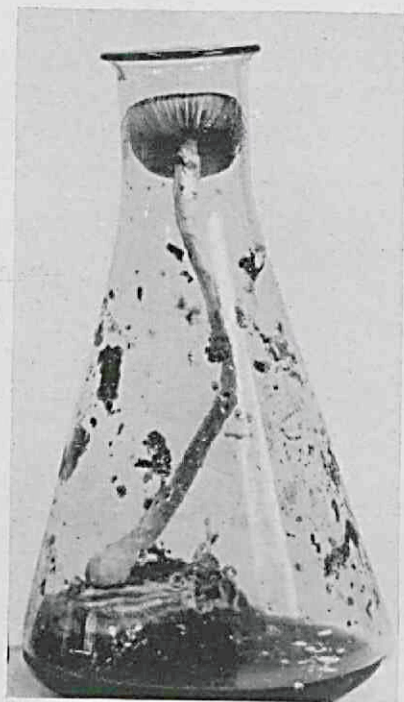


Abb. 2.

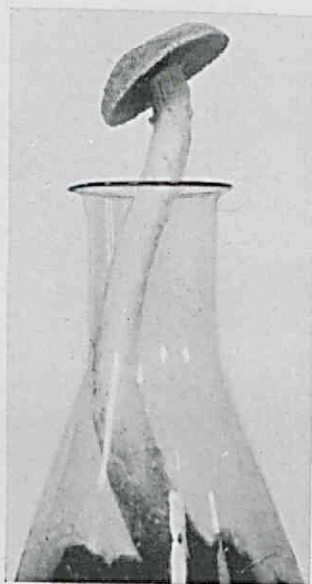


Abb. 3.

Versuchen über die Sporenkeimung von *Lenzites sepiaria* folgerte Zeller (1916), daß die verschiedenen Kohlenstoffquellen die Sporenkeimung ebenso wie die Reaktion des Nährbodens mehr oder weniger stark beeinflussen.

Über das Myzelwachstum von 15 Arten von *Polyporaceae*, *Thelephoraceae* und *Agaricaceae* hat Frl. Rumbold (1908) Versuche angestellt. Sie benutzte Gelatinnährböden mit verschiedenen Wasserstoffionen-Konzentrationen. Die Pilze wuchsen am schnellsten bei pH 5 und 6, dagegen schlecht im schwach alkalischen Gebiete. Bei pH 8 fand kein Wachstum mehr statt. Durch die Untersuchungen von Tubeuf (1903), Spaulding (1911), Zeller (1916), Meacham (1918), Zeller, Schmitz and Duggar (1919), Wolpert (1924), Nutman (1929) und andere ist für die von ihnen untersuchten Arten (*Lenzites sepiaria*, *Merulius lacrymans*, *Coniophora cerebella*, *Fomes pinicola*, *Polystictus versicolor*, *Armillaria mellea*, *Polyporus hispidus* und andere Holzpilze) festgestellt worden, daß das Myzel dieser Pilze am besten auf sauren Nährböden wächst. Zeller, Schmitz und Duggar (1919) haben das Wachstum von 12 verschiedenen Holzpilzen auf festen und flüssigen Nährböden bei verschiedenen pH geprüft, und beobachtet, daß sich diese Holzpilze in Bezug auf das pH sehr verschieden



verhalten. So geben sie an, daß die meisten der von ihnen untersuchten Pilze schlecht in einer Czapekschen Lösung mit  $\text{pH} = 7$  wachsen. Hiervon machen aber *Merulius pinastri* und *Polystictus versicolor* eine Ausnahme. Auch Wolpert (1924), der mehrere Holzpilze auf künstlichen Nährböden mit verschiedener Wasserstoffionen-Konzentration und bei verschiedener Temperatur untersuchte, stellt fest, daß sich die verschiedenen Pilze sehr verschieden verhalten, und daß die durch sie in den gleichen Nährböden verursachten pH-Änderungen stark variieren. Auch ist der pH-Bereich, in dem die Pilze wachsen können, von vielen Außenfaktoren, wie z. B. Temperatur, Beschaffenheit der Nährlösungen usw., abhängig.

In Bezug auf das Verhalten von *Armillaria mellea* sind hieraus aber keine sicheren Schlüsse zu ziehen. Im folgenden wird vielen dieser Faktoren Rechnung getragen. Die einzelnen diesbezüglichen Beobachtungen sollen bei den betreffenden Kapiteln erwähnt werden.

## 2. Material und Methodik.

Eine Untersuchung über das physiologische Verhalten des Pilzes verschiedenen Nährböden gegenüber setzt voraus, daß man von einheitlichem Material ausgeht, besonders weil man mit dem Vorkommen verschiedener physiologischer Rassen von *Armillaria mellea* rechnen muß.

Material: Die im ersten Teil dieser Arbeit beschriebenen Versuche wurden mit einem Myzel angestellt, das nach der Sporenmethode (S. 464) isoliert worden war. Dieser von mir selbst isolierte Stamm rührt von den Sporen eines *Armillaria-mellea*-Fruchtkörpers her, der auf einer Eichenwurzel gewachsen war. Außerdem werden damit drei andere *Armillaria*-Stämme aus dem „Centraal Bureau voor Schimmelcultures in Baarn“ verglichen: 1. *Armillaria mellea* (Stamm Rant), 2. *Armillaria mellea* (Stamm Cool), 3. *Armillaria fuscipes* (Stamm Petch).

Kulturlösungen: Diejenige Kulturlösung, die dem Pilze die besten Wachstumsbedingungen bietet und die ich als Grundlösung bezeichnen will, hat folgende Zusammensetzung:

25 ccm Pepton Chassaing . . . . .	2 ‰
1 Tropfen $\text{FeCl}_3$ . . . . .	2 ‰
2 ccm $\text{MgSO}_4$ . . . . .	6 ‰
25 ccm Glukose . . . . .	$\frac{n}{2}$
19 ccm Saccharose . . . . .	$\frac{n}{2}$
20 ccm $\left\{ \begin{array}{l} \text{H}_2\text{PO}_4 \\ \text{KH}_2\text{PO}_4 \\ \text{K}_2\text{HPO}_4 \\ \text{K}_3\text{PO}_4 \end{array} \right\}$ . . . . .	$\frac{n}{2}$ <sup>1)</sup>
5 ccm aqua destillata	
100 ccm Lösung	

1) Vier Phosphatformen, in verschiedenen Quantitäten zu verwenden. Hierdurch kann man jedes beliebige pH zwischen  $\text{pH} = 2$  und  $\text{pH} = 9$  bekommen, während die Quantität des Phosphats immer die gleiche ist, d. h. stets einer 20 ccm  $\frac{n}{2}$  Phosphatlösung entspricht.



Alle Kulturlösungen wurden in Kölbchen (Jenaglas) von 100 ccm zubereitet. Da in den Lösungen mit Zucker bei Sterilisation öfters braune Verfärbungen auftreten (besonders, wenn Glukose in der Lösung anwesend ist), welche an Intensität zunehmen, sobald die Lösungen alkalisch werden, wurde zur Vermeidung dieses Übelstandes das  $\text{H}_3\text{PO}_4$  oder  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  vor dem Sterilisieren zugefügt und das einzeln sterilisierte  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  und  $\text{K}_3\text{PO}_4$  dagegen aseptisch in die Gesamtlösung zugegeben. Die Sterilisation der Lösungen fand bei einer halben Atmosphäre Überdruck während einer Stunde statt.

**Impfmateri al:** Das Impfmateri al wurde in Erlenmeyerkolben in 25 ccm Grundlösung kultiviert. In der Grundlösung war die Kombination der Phosphate 18,5 ccm  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  und 1,5 ccm  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ . Das endgültige pH war 5,2. Zunächst wurde ein Stückchen Myzel in diese Lösung gebracht und nach vierwöchigem Wachstum mit einem sterilen Spatel in Stückchen von etwa 5 mm zerteilt. Stets wurde eines dieser Stückchen übergeimpft in einen Erlenmeyerkolben mit synthetischer Lösung von einer Zusammensetzung, die auf die hernach zu beschreibende Weise variiert wurde.

**Kulturmethode:** In jeden Kolben wurde zunächst mit einer sterilen Pipette 10 ccm der Nährflüssigkeit gebracht und ein Stückchen Myzel übergeimpft. Nachdem der Pilz hierin zwei Wochen gewachsen war, wurde das pH bestimmt. War das pH unverändert geblieben, so wurden 5 ccm Nährlösung mit demselben pH zugesetzt; war es dagegen verschoben, so wurden 5 ccm einer Nährlösung mit einem derartigen pH zugefügt, daß das pH der Kulturflüssigkeit wieder den ursprünglichen Wert erreichte. Diese Korrektur wurde während des Versuches jede Woche wiederholt. Für jede Reihe mit ein- und demselben pH wurden mindestens 12 Erlenmeyerkolben genommen, weil die Infektionsmöglichkeit erhöht wird, wenn man zur Bestimmung und Regulierung des pH die Kolben einige Male öffnen muß. Die Verwendung einer nur geringen Menge von Nährlösung bietet den Vorteil, daß das Myzel an der Oberfläche der Flüssigkeit bleibt und genügend Sauerstoff zur Verfügung hat. Es beginnt daher bald mit dem Wachstum, was bei weniger gutem Sauerstoffzutritt nicht der Fall wäre.

Als Index des Wachstums wurde das Trockengewicht des Myzels genommen, das bei den ersten Versuchsreihen nach sechs Wochen und bei den folgenden nach vier Wochen bestimmt wurde. Die Dauer der Versuche wird bei jeder Tabelle erwähnt werden. Als Trockengewicht wird jeweils das Mittelgewicht des getrockneten Myzels derjenigen Erlenmeyerkolben angegeben, die zu Teilbestimmungen aus der Versuchsreihe herausgenommen wurden (stets mindestens der Mittelwert aus sechs Erlenmeyerkolben). Das pH wurde nach W. Mansfield-Clark kolorimetrisch bestimmt.

#### Fehlerbestimmung.

Wie auf Seite 470 erwähnt, wurde das Impfmyzel mit einem sterilen Spatel in Stückchen von zirka 5 mm verteilt. Dadurch, daß diese Stückchen nach Form und Größe nicht alle gleich sind, entsteht ein Versuchsfehler.

Um die Größe dieses Fehlers zu bestimmen, wurden die Trockengewichte von 50 solchen Stückchen festgestellt. Sie variieren zwischen 5 und 7 mg. Nimmt man bei den Versuchen das Mittelgewicht aus mindestens sechs Trockengewichten, so darf man annehmen, daß der entstandene Fehler nicht von großer Bedeutung ist.

Bei der Beurteilung der Tabellen ist zu beachten, wie stark die Trockengewichte der Kulturen, die bei demselben pH und unter sonst



gleichen Verhältnissen gewachsen sind, variieren. Als Beispiel dafür nehme ich die Trockengewichte solcher Kulturen, die in drei verschiedenen Nährlösungen mit einem pH 5,2 bei einer Temperatur von 25 °C kultiviert und nach vier Wochen abfiltriert worden waren. Die drei Nährlösungen unterscheiden sich in der Stickstoffquelle:

1. Die Grundlösung war eine Pepton-Nährlösung,
2. Die  $\text{KNO}_3$ -Nährlösung enthält statt 25 ccm Pepton (2%) 25 ccm einer  $\frac{n}{5}$ -Kaliumnitrat-Lösung,
3. Die Ammonsulfat-Nährlösung enthält statt 25 ccm Pepton (2%) 25 ccm einer  $\frac{n}{10}$ -Ammonsulfat-Lösung.

In der Tabelle 1 sind für diese drei verschiedenen Nährlösungen die Pilztrockengewichte, der Mittelwert ( $\pm$  mittlerer Fehler), die Standard-Abweichung und der Variations-Koeffizient ( $\pm$  seinem mittleren Fehler) angegeben. (Vgl. Johannsen, 1909, S. 508 und 509 und G. Udny Yule, 1911, S. 347.

Tabelle 1.

Pepton als N-Quelle. pH = 5,2.

Trockengewicht: 197, 200, 208, 219, 224 und 236 mg. Mittelwert  $\pm$  mittlerer Fehler =  $214 \pm 6,14$  mg. Standard-Abweichung: 13,7 mg. Variations-Koeffizient  $\pm$  mittlerer Fehler =  $6,57 \pm 2,07$  mg.

$\text{KNO}_3$  als N-Quelle. pH = 5,2.

Trockengewicht: 26, 27, 27, 30, 37 und 38 mg. Mittelwert  $\pm$  mittlerer Fehler =  $31 \pm 2,2$  mg. Standard-Abweichung: 4,9 mg. Variations-Koeffizient  $\pm$  mittlerer Fehler =  $15,8 \pm 5$  mg.

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  als N-Quelle. pH = 5,2.

Trockengewicht: 54, 59, 61, 67, 69 und 71 mg. Mittelwert  $\pm$  mittlerer Fehler =  $64 \pm 2,76$  mg. Standard-Abweichung: 6,16 mg. Variations-Koeffizient  $\pm$  mittlerer Fehler =  $9,65 \pm 3,04$  mg.

Wie die Tabelle zeigt, variieren die Pilztrockengewichte bei den verschiedenen Stickstoffquellen sehr stark.

a) Der Mittelwert aus 6 Pilztrockengewichten ist, mit Pepton als N-Quelle, 214 mg,

" " " 6 " " "  $\text{KNO}_3$  " " 31 mg,

" " " 6 " " "  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  " " 64 mg.

Hieraus geht hervor, daß Pepton als Stickstoffquelle am günstigsten wirkt, dann folgt Ammoniumsulfat und am schlechtesten ist Kaliumnitrat.

b) Aus der Berechnung der Standardabweichung bei den variierten Reihen der verschiedenen Stickstoffquellen ist zu ersehen, daß die gefundenen Pilztrockengewichte innerhalb des durch das Dreifache der Standardabweichung begrenzten Gebietes liegen.

c) Vergleicht man den Wachstumseinfluß der N-Quellen, dann geht aus der Berechnung hervor, daß Kaliumnitrat und Ammonsulfat verschieden wirken, denn der gefundene Unterschied (das 9,4fache ihres mittleren Fehlers) ist größer als der dreifache Betrag des mittleren Fehlers, der allgemein als kritische Grenzzahl betrachtet wird<sup>1)</sup>. Berechnet man diese Zahl für die Pepton- und Ammonsulfat-Nährlösung, so errechnet sich der Wert 22,4, was auf eine große Differenz in der Wirkungsweise dieser beiden N-Quellen hindeutet. Der entsprechende Wert für Pepton und  $\text{KNO}_3$  ist 28,2.

d) Zur Beurteilung von möglichenfalls eintretenden Verschiedenheiten der Variabilität der verschiedenen Reihen kann man den Variationskoeffizienten mit seinem mittleren Fehler

<sup>1)</sup> Vgl. Johannsen, S. 89.



als Maßstab nehmen. Wie bei Differenzen des Mittelwertes gilt auch hier die Zahl 3 als kritische Grenzzahl. Für Ammoniumsulfat und Kaliumnitrat ist diese Zahl 1,06; für Pepton und Kaliumnitrat 1,7 und für Pepton und Ammonsulfat 0,84.

Alle hier berechneten Werte sind kleiner als 3, woraus man schließen kann, daß eine Differenz in der Variabilität nicht deutlich hervortritt.

### 3. Das Wachstum von *Armillaria mellea* in Reinkulturen unter verschiedenen Außenbedingungen.

Um bei einer Untersuchung über den Einfluß verschiedener Hauptnährquellen die Anzahl der notwendigen Versuche möglichst beschränken zu können, stellte ich zuvor die optimalen Wachstumsbedingungen in bezug auf Temperatur und pH fest. Da der Stickstoff für das Wachstum von großer Bedeutung ist, wurden gleichzeitig verschiedene Stickstoff-Quellen angewandt und außerdem das sich während der Versuche ändernde pH in Abhängigkeit von den benutzten Stickstoffquellen beobachtet.

#### A. Einfluß der Temperatur.

Der Einfluß der Temperatur auf das Wachstum des Myzels bei verschiedenem pH und bei Kultur in Richard'scher Nährlösung<sup>1)</sup> und Peptonnährlösung<sup>2)</sup> ist von Wolpert (1924) für acht Holzschmarotzer, darunter auch *Armillaria mellea*, untersucht worden. Seine Versuche stellte er bei 15°, 25° und 35° C an. Aus ihnen geht hervor, daß 25° C als günstigste Wachstumstemperatur zu betrachten ist.

Ich selbst habe noch einige Versuche in dieser Richtung angestellt, doch ist die von mir gebrauchte Methode von der Wolperts verschieden. Wolpert bestimmt wohl das End-pH, aber in seinen Kurven gibt er als Pilzwachstum das Trockengewicht der Pilze bei dem Ausgangs-pH an. Da sich nun das pH während der Versuche ändert, entsteht auf diese Weise ein ganz unrichtiges Bild von dem wirklichen Pilzwachstum bei einem bestimmten pH.

Aus der von ihm (auf S. 60 [l. c.]) angegebenen pH-Verschiebung bei Peptonnährlösung sieht man, daß sich bei 15° C der pH-Wert nach der alkalischen Seite verschiebt, während die pH-Änderung bei Temperaturen von 25° C und 35° C nach der sauren Seite hin stattfindet.

Eigene Untersuchungen. Die Versuche über den Temperatureinfluß wurden bei 10, 15 bis 19 und 25° C ausgeführt. Die Dauer des Versuches betrug sechs Wochen. Es wurde die optimale Wachstumstemperatur bei Variation des pH-Wertes und die Größe der pH-Verschiebung bei verschiedenen Temperaturen festgestellt. Als Nährlösung kam nur die Grundlösung in Betracht.

<sup>1)</sup> Richard'sche E-Nährlösung:  $MgSO_4$  0,5 g,  $KNO_3$  5 g,  $NH_4NO_3$  10 g, Spur  $FeSO_4$ , verschiedene Mengen  $H_3PO_4$ ,  $KH_2PO_4$  und  $K_2HPO_4$ . Total 10,4 g Phosphat. Wasser bis zu 1 Liter Gesamtvolumen.

<sup>2)</sup> Pepton-Nährlösung: Bactopepton 25 g, Zucker 30 g,  $MgSO_4$  0,5 g, Spur  $FeSO_4$ , verschiedene Mengen  $H_3PO_4$ ,  $KH_2PO_4$ ,  $K_2HPO_4$ , Total 9,65 g Phosphat. Dazu zweimal destilliertes Wasser bis zu 1 Liter Gesamtvolumen.



Tabelle 2.

10 ° C			15—19 ° C			25 ° C		
Anfangs-pH	Größte pH-Änderung	Gewichte mg	Anfangs-pH	Größte pH-Änderung	Gewichte mg	Anfangs-pH	Größte pH-Änderung	Gewichte mg
2,9	2,9	21	2,9	2,9	33	2,9	2,9	41
3,4	3,3	52	3,4	3,3	87	3,4	3,3	112
4,0	3,8	74	4,0	3,8	134	4,0	3,7	223
4,6	4,4	89	4,6	4,3	191	4,6	4,1	312
5,1	4,9	121	5,1	4,7	248	5,1	4,6	357
5,6	5,3	116	5,6	5,1	281	5,6	4,9	341
6,1	5,8	91	6,1	5,8	246	6,1	5,6	346
6,6	6,4	80	6,6	6,2	117	6,6	6,1	211
7,3	7,0	28	7,3	6,9	48	7,3	6,7	61
7,8	7,3	12	7,8	7,0	18	7,8	6,9	20

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Versuchsserie bei 25 ° C die günstigsten Resultate ergibt, wie das auch Wolpert gefunden hat. Die nächsten Versuche wurden deshalb meistens bei einer Temperatur von 25 ° C vorgenommen.

Weiter ersieht man aus der Tabelle, daß bei 10 ° C das Optimalwachstum zwischen pH 4 und pH 6,6, bei 15 bis 19 ° C zwischen pH 4,8 und pH 6,4 und bei 25 ° C zwischen pH 4,6 und pH 6,4 liegt.

Eine Erhöhung der Temperatur führt unabhängig vom pH immer zu einer Vergrößerung des Ertrags, jedoch äußert sich das am stärksten bei dem günstigsten pH-Wert. In allen Fällen habe ich gefunden, daß an der alkalischen Seite ein steiler Abfall der Ertragskurven stattfindet.

Wolpert dagegen hat bei 10 ° C und einem pH 7,0 eine starke Wachstumssteigerung beobachtet, aber nur das Ausgangs-pH in seinen Kurven in Betracht gezogen, trotzdem dieses sich stark ändert. Hierauf ist wohl die von ihm gefundene Wachstumssteigerung zum Teil zurückzuführen.

Auch ich habe eine pH-Verschiebung konstatiert, aber jede Woche wurde das geänderte pH wieder auf das Ausgangs-pH zurückgebracht. Der hierbei entstandene Fehler ist also viel kleiner als der Fehler Wolper ts. Daß Wolpert bei einer Temperatur von 35 ° C bei pH 7,0 starkes Pilzwachstum gefunden hat, ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß der Pilz infolge der pH-Änderung unter viel bessere Wachstumsbedingungen kam, denn das optimale Wachstumsgebiet liegt zwischen pH 4,5 und pH 6,4

Weiter folgt aus den angeführten Versuchen, daß sowohl bei einer Temperatur von 10 ° C als auch von 15 bis 19 ° C und 25 ° C in allen Fällen, in denen sich das pH ändert, die Verschiebung stets nach der saueren Seite hin eintritt, während Wolpert bei 10 ° C eine pH-Verschiebung nach der alkalischen Seite und nur bei 25 und 35 ° C nach der saueren Seite hin konstatiert hat.



## B. Einfluß verschiedener N-Quellen bei variierten H-Ionen-Konzentrationen.

### a) Literaturübersicht.

Ritter (1909) konstatiert für die Pilze *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* und *Penicillium sp.*, daß sie Kaliumnitrat als N-Quelle benutzen können, jedoch ist die Entwicklung in Ammoniumnährlösungen viel besser. Daß organische Ammonium-Salze bessere N-Quellen sind als anorganische, ist auch sonst öfters festgestellt worden, z. B. durch J. Nikitinsky (1904) bei *Penicillium glaucum*, *Penicillium griseum*, *Mucor stolonifer*, *Aspergillus flavus*, *Saccharomyces rosaceus* und *cerevisiae*. Tamiya (1928) behauptet dasselbe für *Aspergillus Oryzae*. Wolpert (1924) hat gezeigt, daß auch auf das Wachstum von *Armillaria mellea* die N-Quelle von großem Einfluß ist. Eine vergleichende Literaturübersicht liegt von van der Veen (1930) vor.

Es ist ferner eine bekannte Tatsache, daß viele Pilze, die Kaliumnitrat als N-Quelle konsumieren, eine pH-Verschiebung nach der alkalischen Seite bedingen, während solche, die Ammonium-Salze verbrauchten, meistens eine Verschiebung nach der sauren Seite feststellen lassen.

Zeller, Schmitz und Duggar (1919), welche das Wachstum von 12 Holzpilzen in flüssigen Nährböden untersuchten, konnten beobachten, daß sie alle außer *Merulius pinastri* die Tendenz haben, den Säuregrad während des Wachstums zu erhöhen. Die von ihnen gebrauchten Nährlösungen waren die nach Czapek, Reed und Richard. Daß eine pH-Verschiebung nach der sauren Seite stattfindet, wurde bei der Richardschen und Reedschen Lösung dem Umstand zuzuschreiben sein, daß in der Reedschen Lösung Ammoniumnitrat und in der Richardschen Nährlösung Kaliumnitrat nebst Ammoniumnitrat als N-Quellen gegeben wurden; in der Czapekschen Lösung war Kaliumnitrat die einzige N-Quelle und trotzdem wurde eine Erhöhung des Säuregrades festgestellt.

### b) Versuche.

Die von mir benutzten N-Quellen waren Kaliumnitrat, Ammoniumnitrat, Ammoniumsulfat, Ammoniumchlorid, Ammoniumtartrat, Asparagin, Glykokoll und Pepton.

In der Grundlösung wurde nur die N-Quelle variiert. Der Stickstoff wurde stets in äquivalenten Quantitäten gegeben, d. h. auf 100 ccm Nährlösung für Kaliumnitrat, Ammonchlorid und Glykokoll 25 ccm einer 0,2 mol Lösung und für Ammonnitrat, Ammon-sulfat, Ammoniumtartrat und Asparagin 25 ccm einer 0,1 mol Lösung. Vom Pepton wurden 25 ccm einer zweiprozentigen Lösung genommen.

Mit Ammoniumtartrat, Asparagin und Glykokoll als N-Quellen bestimmte ich nur die Pilztrockengewichte bei verschiedenem pH.

Tabelle 3.

pH	Gewichte			
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ammonium- tartrat	Asparagin	Glykokoll
	mg	mg	mg	mg
3,4	—	—	29	32
3,7	31	43	—	—
4,4	47	57	68	63
5,0	76	98	87	92
5,6	64	69	80	78
6,1	42	33	54	51
6,6	22	19	23	28



Die Versuche wurden bei 16—18° C ausgeführt. Die Versuchsdauer betrug sechs Wochen. Das pH wurde am Ende jeder Woche bestimmt und wieder auf den ursprünglichen Wert gebracht. Die Mittelwerte wurden aus je sechs Kulturen einer Gruppe mit gleichem pH bestimmt.

Aus der Tabelle geht hervor, daß das optimale Wachstum von allen obengenannten Versuchsreihen etwa bei pH 5 liegt.

Mit Ammoniumtartrat als N-Quelle ist das Wachstum am besten, dann folgt Glykokoll, dann Asparagin und zum Schluß Ammoniumsulfat.

Vergleicht man die Pilztrockengewichte bei den anderen pH-Werten, dann sieht man, daß der Pilz in Lösungen mit Asparagin und Glykokoll ungefähr denselben Ertrag ergibt; darauf folgt die Reihe mit Ammoniumtartrat und dann die mit Ammoniumsulfat.

Tabelle 4.

Das Wachstum von *Armillaria mellea* bei den verschiedenen H-Ionen-Konzentrationen und variierten N-Quellen nach 2, 4 und 6 Wochen vom Anfang des Versuches an gerechnet bei einer Temperatur von 25° C.

KNO <sub>3</sub> -Reihe		NH <sub>4</sub> Cl-Reihe		NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> -Reihe		(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -Reihe	
pH	Gewichte mg	pH	Gewichte mg	pH	Gewichte mg	pH	Gewichte mg
Nach 2 Wochen							
2,9	8	2,9	9	2,9	9	2,9	9
3,4	10	3,4	13	3,4	18	3,4	14
3,9	15	3,9	21	3,9	25	3,9	22
4,3	24	4,3	27	4,3	31	4,3	34
4,9	32	4,9	27	4,9	35	4,9	39
5,4	26	5,4	26	5,4	27	5,4	35
5,8	17	5,8	21	5,8	19	5,8	24
6,2	11	6,2	17	6,2	16	6,2	18
6,6	9	6,6	14	6,6	11	6,6	14
7,3	7	7,3	9	7,3	8	7,3	11
Nach 4 Wochen							
2,9	8	2,9	10	2,9	11	2,9	10
3,4	11	3,4	13	3,4	16	3,4	14
3,9	20	3,9	23	3,9	31	3,9	26
4,3	33	4,3	46	4,3	58	4,3	44
4,9	36	4,9	54	4,9	66	4,9	62
5,4	24	5,4	47	5,4	54	5,4	68
5,8	16	5,8	32	5,8	40	5,8	57
6,2	11	6,2	32	6,2	24	6,2	41
6,6	10	6,6	14	6,6	15	6,6	24
7,3	9	7,3	11	7,3	12	7,3	13
Nach 6 Wochen							
2,9	12	2,9	13	2,9	13	2,9	15
3,4	23	3,4	21	3,4	32	3,4	29
3,9	35	3,9	31	3,9	48	3,9	47
4,3	42	4,3	46	4,3	72	4,3	63
4,9	39	4,9	64	4,9	83	4,9	78
5,4	24	5,5	62	5,4	73	5,4	77
5,8	17	5,8	56	5,8	44	5,8	63
6,2	14	6,2	26	6,2	25	6,2	27
6,6	11	6,6	16	6,6	16	6,6	19
7,3	9	7,3	13	7,3	14	7,3	12

Mit den N-Quellen Kaliumnitrat, Ammoniumnitrat, Ammoniumsulfat und Ammoniumchlorid wurden Versuche ausgeführt, bei denen speziell auf die Beziehung zwischen Pilzwachstum (nach der Pilztrockengewichtsbestimmung) und pH-Verschiebung zu achten war. Für jede Stufe wurden 15 Erlenmeyerkolben genommen. Die Trockengewichte wurden als Mittel aus fünf Kolben bestimmt.

In Tabelle 5 sind die pH-Änderungen für die N-Quellen nach der 1., 2., 3., 4., 5. und 6. Woche in Teilen von pH-Einheiten angegeben.

Tabelle 5.

pH	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche	5. Woche	6. Woche
KNO <sub>3</sub> -Reihe						
2,9	0	0	0	0	0	0
3,4	0	0	0	0	0	0
3,9	0	0	0	-0,1	-0,150	-0,1
4,3	0	0	-0,025	-0,150	-0,175	-0,1
4,9	0	-0,05	-0,1	-0,125	-0,150	-0,075
5,4	0	-0,1	-0,125	-0,125	-0,125	-0,075
5,8	0	-0,075	-0,1	-0,1	-0,125	-0,05
6,2	0	-0,05	-0,1	-0,1	-0,1	-0,05
6,6	0	-0,05	-0,05	-0,075	-0,05	-0,05
7,3	0	-0,075	-0,125	-0,175	-0,075	-0,075
NH <sub>4</sub> Cl-Reihe						
2,9	0	0	0	0	0	0
3,4	0	0	0	0	-0,05	-0,05
3,9	0	0,1	-0,150	-0,2	-0,2	-0,175
4,3	0	-0,150	-0,2	-0,325	-0,225	-0,2
4,9	-0,05	-0,2	-0,250	-0,350	-0,3	-0,2
5,4	-0,075	-0,2	-0,275	-0,325	-0,3	-0,250
5,8	-0,05	-0,175	-0,175	-0,250	-0,250	-0,175
6,2	0	-0,125	-0,125	-0,2	-0,2	-0,1
6,6	0	-0,05	-0,1	0,1	-0,150	-0,075
7,3	0	-0,125	-0,2	-0,225	-0,150	-0,1
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> -Reihe						
2,9	0	0	0	0	0	0
3,4	0	0	0	0	0	0
3,9	0	0	-0,05	-0,05	-0,125	-0,1
4,3	0	-0,05	-0,1	-0,2	-0,2	-0,150
4,9	-0,025	-0,175	-0,250	-0,325	-0,325	-0,2
5,4	-0,05	-0,175	-0,3	-0,225	-0,2	-0,250
5,8	-0,05	-0,2	-0,250	-0,275	-0,275	-0,2
6,2	-0,025	-0,1	-0,150	-0,150	-0,2	-0,150
6,6	0	-0,05	-0,1	-0,125	-0,125	-0,1
7,3	0	-0,005	-0,125	-0,175	-0,150	-0,125
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> -Reihe						
2,9	0	0	0	0	0	0
3,4	0	0	0	0	0	0
3,9	0	0	-0,1	-0,175	-0,2	-0,2
4,3	0	-0,175	-0,250	-0,3	-0,250	-0,175
4,9	-0,075	-0,175	-0,3	-0,375	-0,3	-0,250
5,4	-0,075	-0,150	-0,275	-0,375	-0,350	-0,225
5,8	-0,05	-0,150	-0,250	-0,325	-0,275	-0,175
6,2	-0,025	-0,075	-0,125	-0,225	-0,225	-0,125
6,6	0	-0,05	-0,075	-0,150	-0,125	-0,075
7,3	0	-0,1	-0,150	-0,175	-0,125	-0,1



(— bedeutet pH-Rückgang; + bedeutet pH-Steigerung; z. B. — 0,175 [1. Serie, 5. Woche] bedeutet: das pH ist von 4,3 auf 4,125 zurückgegangen).

Aus den Tabellen 4 und 5 sieht man, daß der Zuwachs und die pH-Verschiebung einander parallel gehen: in dem optimalen Wachstumsgebiet ist auch die pH-Verschiebung am größten. Im alkalischen Milieu, bei pH 7 bis 7,3, ist das Wachstum aber sehr gering und die pH-Änderung wird größer. Die von den Pilzen im alkalischen Milieu produzierte Kohlensäure scheint einen nicht geringen Einfluß auf die Reaktion der Nährlösung auszuüben. (Vgl. auch Tamiya 1927.) In Nährlösungen, denen ich nur Kaliumnitrat als N-Quelle zufügte, wurde immer eine pH-Verschiebung nach der sauren Seite gefunden, die allerdings sehr gering war. Gebraucht man aber Ammoniumsulfat als N-Quelle, so werden die Nährlösungen rascher sauer. Mit Ammoniumsulfat als N-Quelle ist die pH-Verschiebung größer als mit Kaliumnitrat, jedoch kleiner als mit Ammoniumsulfat. Durch den Verbrauch des Nitrats in einer Lösung mit Kaliumnitrat wird das Kalium in Freiheit gesetzt und die Lösung müßte eigentlich alkalisch werden. Sie wird aber etwas saurer, was m. E. darauf zurückzuführen ist, daß der Pilz eine oder mehrere Säuren ausscheidet. Die Ausscheidung bestimmter Säuren hat z. B. Tamiya (1928) bei *Aspergillus Oryzae* festgestellt; dieser Pilz macht nach Tamiya Kojisäure frei.

Wenn man die verschiedenen N-Quellen der Größe des Pilzertrags nach ordnet, so ergibt sich die nachstehende Reihenfolge: Pepton > Asparagin und Glykokoll > Ammoniumtartrat > Ammoniumsulfat > Ammoniumchlorid > Kaliumnitrat.

Vergleicht man die pH-Änderungen in bezug auf die verschiedenen N-Quellen miteinander, dann ist die folgende Reihe aufzustellen: Pepton > Ammoniumsulfat > Ammoniumchlorid > Glykokoll > Ammoniumtartrat > Asparagin > Kaliumnitrat.

Nimmt man an, daß der Pilz selbst die Säure abscheidet, so muß man erwarten, daß die hierdurch entstandene pH-Verschiebung schneller verläuft, wenn der Pilz üppiger wächst, daß also eine Parallelität zwischen diesen beiden Änderungen auftreten müßte. Das ist in der Tat der Fall, wenn man nur diejenigen Stoffe in Betracht zieht, welche nicht selbst durch selektive Ionenaufnahme zum Entstehen einer Base oder Säure Anlaß geben, wie z. B. Ammoniumtartrat usw.

#### C. Einfluß verschiedener Konzentrationen der Stickstoffquelle Ammoniumsulfat.

Da bei der Bestimmung des optimalen Wachstums-pH schon die Wirkung verschiedener N-Quellen untersucht worden ist, habe ich in untenstehender Lösung das Wachstum des Myzels bei pH: 5, Temperatur 25° C bei verschiedenen Ammoniumsulfat-Konzentrationen nach 6 Wochen bestimmt.



## Zusammensetzung der Lösung:

25	ccm $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1,32 %
29	ccm Glukose N/2
19	ccm Saccharose N/2
18,5	ccm $\text{KH}_2\text{PO}_4$ N/2
1,5	ccm $\text{K}_2\text{HPO}_4$ N/2
1	Tropfen $\text{FeCl}_3$ 2 %
2	ccm $\text{MgSO}_4$ 6 %
5	ccm aqua destillata
100 ccm Nährlösung pH = 5	

Tabelle 6.

Konzentration $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ %	Gewichte mg	Konzentration $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ %	Gewichte mg
0,0078125	36	0,5	89
0,015625	50	1	85
0,03125	66	2	62
0,0625	79	4	21
0,125	91	8	13
0,25	95		

Wie man sieht, liegt das optimale Wachstum bei einer Ammoniumsulfat-Konzentration von 0,125 % bis 0,5 %, während im übrigen bei den Konzentrationen 0,0625 % und 1 % ebenfalls noch ein sehr gutes Wachstum möglich ist. Der schädigende Einfluß macht sich erst bei 4 % und 8 % bemerkbar, während bei einer 0,007812 % Ammonsulfat-Konzentration der Stickstoffmangel zutage tritt.

#### D. Einfluß verschiedener Kohlenstoffquellen bei verschiedenen H-Ionen-Konzentrationen.

In Abhängigkeit von den produzierten Enzymen ist der Pilz in der Lage, verschiedene Kohlenstoffquellen zu konsumieren.

Czapek (1899) hat aus *Armillaria* das Enzym „Hadromase“ (eig. Ligninase) isoliert, Kohnstamm (1901) die Anwesenheit amylytischer, diastatischer, proteolytischer, Glykosid-spaltender und Cellulose-hydrolysierender Fermente gezeigt. Schmitz und Zeller (1919) fanden Carbohydrasen, Maltose-, Laktose-, Sukrose-, Raffinose-, Amylum-, Inulin-, Cellulose- und Hemi-Cellulose-lösende Enzyme. Diese Forscher haben auch zuerst bei höheren Pilzen Laktase gefunden. Hasenohrl und Zellner (1923) haben das Vorhandensein von Cellulose- oder Lignin-spaltenden Enzymen bei *Armillaria* nicht bestätigen können. Wolpert (1924) dagegen sagt, daß *Armillaria* imstande ist, Filtrierpapier als C-Quelle zu benutzen.

Um mich über die Anwesenheit dieser verschiedenen Enzyme in der untersuchten *Armillaria*-Rasse zu orientieren, prüfte ich den Einfluß verschiedener Kohlenstoffquellen auf das Wachstum des Myzels, weil hieraus indirekte Schlüsse auf die Enzymtätigkeit des Pilzes zu ziehen sind.

Hierzu wurden in der Grundlösung als N-Quelle 25 ccm einer 1,32 % Ammonsulfatlösung genommen, während als C-Quelle 48 ccm einer  $\frac{1}{2}$  normalen Maltose-, Laktose-



Galaktoselösung, eine Filtrierpapierlösung (90 g je 1 l H<sub>2</sub>O) und eine Amylum-solubile-Lösung (50 g je Liter H<sub>2</sub>O) dienten. Der Kontrollversuch hatte als C-Quellen die bekannte Glukose-Saccharose-Kombination (S. 478). Das Filtrierpapier wurde mit heißem Wasser einige Male gereinigt und sehr fein zerfasert und verteilt. Alle Versuche wurden unter gleichen Bedingungen ausgeführt. Die Temperatur war 18–20° C, die pH-Werte 5, 5,6, 6,1 und 8,5; die Versuchsdauer betrug wieder 6 Wochen. Bei einer Versuchsreihe wurde überhaupt kein Kohlenstoff geboten, weil mit dem Überimpfen aus den Peptonkulturen selbstverständlich immer ein wenig der an dem Myzel anhaftenden Peptonnährlösung in die neue Nährlösung übertragen wird. Diese letzte Versuchsreihe werde ich in der Tabelle 7 die „Ohne C“-Reihe nennen.

Tabelle 7.

pH	Gewichte Kontrolle mg	Gewichte Maltose mg	Gewichte Amylum mg	Gewichte Laktose mg	Gewichte Galaktose mg	Gewichte „Ohne C“- Reihe mg
5	76	69	33	11	10	5
5,6	63	56	27	17	15	5
6,1	42	33	15	10	12	4
6,6	24	15	8	9	11	6

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß von den untersuchten C-Quellen die Kontrollreihe mit Glukose + Saccharose und die Maltose-Reihe das höchste Trockengewicht aufweisen. *Armillaria* hat jedoch auch die Fähigkeit, Stärke als C-Quelle zu benutzen. Laktose und Galaktose sind als schlechte C-Quellen anzusehen, doch kann der Pilz diese beiden Stoffe als C-Quellen gebrauchen.

Aus der „Ohne C“-Reihe sieht man, daß die Menge der an dem übergeimpften Myzel haftenden Peptonnährlösung zu gering ist, um den Pilz auswachsen zu lassen. Von der Versuchsreihe mit Filtrierpapier als C-Quelle ist es unmöglich, die Trockengewichte anzugeben, da das Myzel zwar gewachsen, aber mit den Filtrierpapierfasern fest verklebt war. Aus diesen Versuchen ist zu schließen, daß das Myzel der untersuchten *Armillaria mellea* Glukose-, Saccharose-, Maltose-, Amylum-, Laktose- und Cellulose-auflösende Enzyme enthält.

#### E. Einfluß verschiedener Konzentrationen einiger Kohlenstoffquellen.

Da in allen Versuchen als C-Quelle immer Glukose + Saccharose zusammen gebraucht wurden, habe ich in der folgenden Versuchsreihe

- als C-Quelle 48 ccm Glukose genommen und die Konzentrationen variiert,
- als C-Quelle 48 ccm Saccharose genommen und die Konzentrationen variiert,
- als C-Quelle 24 ccm Glukose + 24 ccm Saccharose genommen und die Konzentrationen variiert.

Die Zusammensetzung der Nährlösung war dieselbe wie auf S. 478 beschrieben. Die Versuchsdauer betrug sechs Wochen. Temperatur 25° C, pH = 5.

Das optimale Wachstum findet man bei Glukose-Konzentrationen von 1,8125 % bis 12,5 %. 25 % Glukose wirkt schädlich, höchstwahrscheinlich infolge osmotischer Wirkung des Zuckers.



Tabelle 8.

Glukose-Konzentration ‰	Gewichte mg	Glukose-Konzentration ‰	Gewichte mg
0,2265	26	3,625	91
0,45325	40	6,25	88
0,9065	61	12,5	75
1,8125	73	25	14

Das optimale Wachstumsgebiet liegt bei Saccharose-Konzentrationen von 3,625—12,5 ‰. Wie bei Glukose wirken auch hier hohe Konzentrationen schädlich. Auch sieht man aus diesen Tabellen, daß Saccharose eine weniger günstige Kohlenstoffquelle als Glukose darstellt.

Tabelle 9.

Saccharose-Konzentration ‰	Gewichte mg	Saccharose-Konzentration ‰	Gewichte mg
0,2265	17	3,625	72
0,45325	28	6,25	63
0,9065	43	12,5	60
1,8125	54	25	9

Im Vergleich mit den vorhergehenden Versuchsreihen ist festzustellen, daß die Kombination Glukose + Saccharose anscheinend günstiger wirkt, als Saccharose allein und ungefähr den gleichen Ertrag ergibt wie eine Nährlösung mit Glukose allein.

Tabelle 10.

Gluk. + Sacch. Konzentration ‰	Gewichte mg	Gluk. + Sacch. Konzentration ‰	Gewichte mg
0,2265	19	3,625	83
0,45325	31	6,25	89
0,9065	38	12,5	78
1,8125	67	25	15

Daher erhielten auch die für die Versuche hergestellten Nährlösungen immer die optimale Glukose + Saccharose-Mischung, besonders auch deshalb, weil sich eine nur mit Glukose angesetzte Lösung bei der Sterilisation etwas braun färbt, was die kolorimetrische pH-Bestimmung erschwert.

Vergleicht man damit schließlich die Resultate der Untersuchung über den Einfluß verschiedener N-Quellen, bei denen festgestellt wurde, daß besonders die komplizierten N-Verbindungen als gute N-Quellen in Betracht kommen, so wäre hieraus und aus dem besonders günstigen Einfluß von Glukose zu ersehen, daß *Armillaria mellea* heterotroph eingestellt ist.



### F. Einfluß verschiedener Konzentrationen der Phosphatquelle.

Die Zusammensetzung der Nährlösung war dieselbe wie die der auf S. 478 genannten Lösung. Die Phosphat-Konzentrationen waren 25 ccm einer 0,03125 %, 0,0625 %, 0,125 %, 0,25 %, 0,5 %, 1 %, 2 %, 4 %, 8 %, 16 % und 32 % Phosphatlösung.

Tabelle 11.

Phosphat-Konzentration %	Gewichte mg	Phosphat-Konzentration %	Gewichte mg
0,007812	29	0,5	97
0,015625	45	1	85
0,03125	74	2	64
0,0625	85	4	23
0,125	94	8	8
0,25	99		

Wie man sieht, liegt das optimale Wachstum bei den Konzentrationen 0,0625 % bis 1 %, während allerdings bei den Phosphat-Konzentrationen 0,03125 % und 2 % auch noch gutes Wachstum stattfindet. Die schädlichen Konzentrationen liegen bei 4 % und 8 % Phosphat.

### G. Einfluß der Wasserstoffionenkonzentrationen auf den Habitus des Myzels.

Bei Kultur des *Armillaria*-Myzels auf flüssigen Nährböden treten makroskopisch und mikroskopisch sichtbare Verschiedenheiten im Wachstumsbild und im Myzelbau auf, die den Einflüssen verschiedener H-Konzentrationen zuzuschreiben sind.

Die hier folgenden Beschreibungen beziehen sich auf eine sechs Wochen alte *Armillaria*-Kultur auf einem flüssigen Nährboden mit Ammoniumnitrat als Stickstoffquelle.

pH = 2,9: Das übergeimpfte Myzelstückchen hat sehr wenig an Größe zugenommen. Das Myzel ist sehr durchsichtig und der Inhalt feinkörnig mit vereinzelt sehr kleinen Fetttropfen (f) (färbbar mit Sudan III). (Abb. 4.)

pH = 3,4: In der Nährlösung entstehen an verschiedenen Stellen kleine Myzeflöckchen, die selbständig weiterwachsen. Mikroskopisch ist das Myzel von dem bei pH 2,9 erhaltenen nicht verschieden. Die Entstehung mehrerer Myzeflocken kann ihren Ursprung darin haben, daß man beim Überimpfen abgeschnittene Hyphenteilchen in den Nährboden bringt, die nachher auswachsen. Bei pH 2,9 aber wächst nur das übergeimpfte Stückchen Myzel. pH 2,9 scheint für das Auswachsen obengenannter Zellen zu ungünstig zu sein.

pH = 3,9: Zeigt ungefähr das gleiche Wachstumsbild wie pH 3,4. Der Inhalt des Myzels wird deutlicher differenziert. Das hier nicht reproduzierte mikroskopische Bild stellt einen Übergang von pH 3,4 nach pH 4,3 dar.

pH = 4,3: Es findet eine lockere Verwachsung des Myzels statt, außerdem treten in dem dunkleren, körnigen Protoplasma etwas größere Öltropfen und einige kleine Vakuolen (v) auf (Abb. 5).

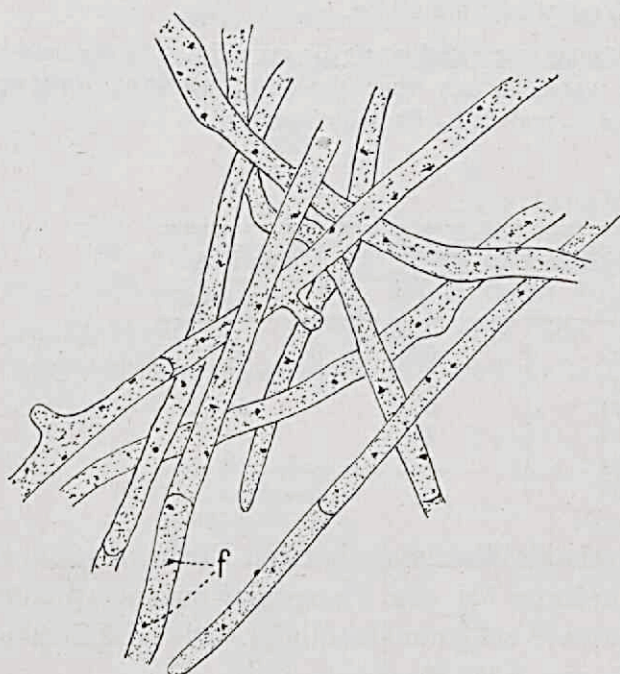


Abb. 4.

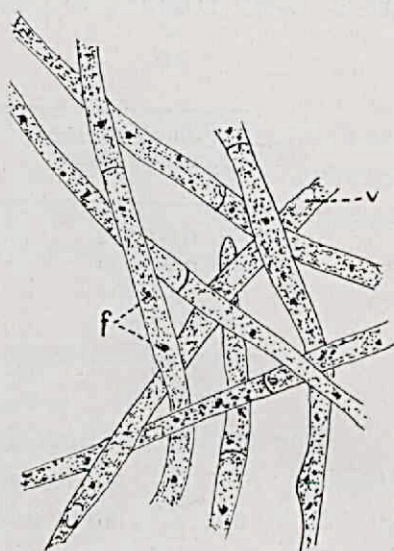


Abb. 5.

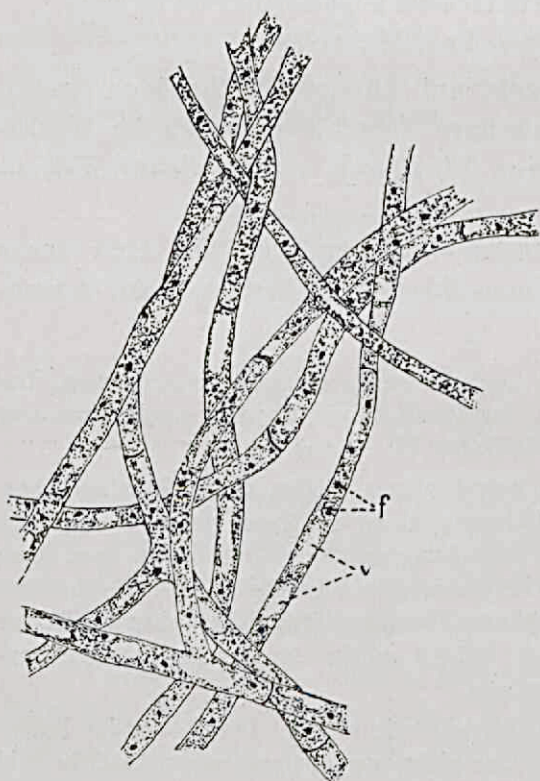


Abb. 6.

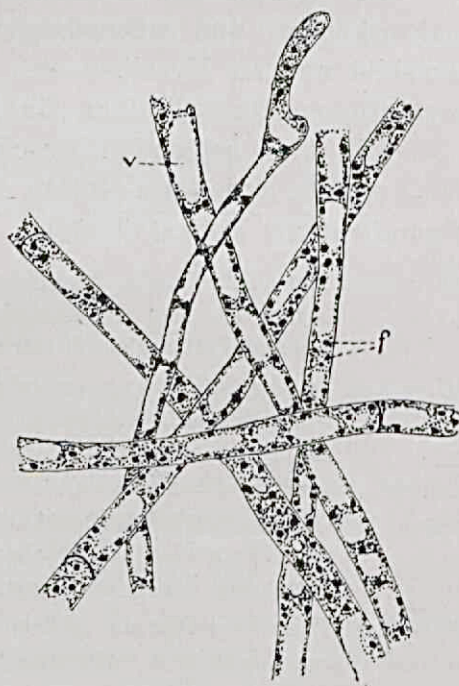


Abb. 7.



- pH = 4,9: Die Hyphen sind fest miteinander verwachsen; das Myzel entwickelt sich gut. Die Oberseite ragt aus der Kulturflüssigkeit heraus und formt einen trockenen Rasen. Mikroskopisch ergibt sich ungefähr dasselbe Bild, wie Abb. 5 zeigt.
- pH = 5,2: Gutes Myzelwachstum! Feste Myzelmasse mit einer trockenen Oberseite! Das Myzel enthält mehrere Öltropfen (f) und größere Vakuolen (v). (Abb. 6.)
- pH = 5,8: Gutes Wachstum! Feste Myzelmasse! Das mikroskopische Bild ist dem vorhergehenden ähnlich.
- pH = 6,2: Weniger gutes Wachstum! Die Myzelverbindungen werden lockerer; die Oberfläche bleibt feucht. Das mikroskopische Bild stellt einen Übergang zwischen dem bei pH 5,8 und pH 6,6 erhaltenen dar.
- pH = 6,6: Das Wachstum ist hier viel schlechter als bei pH 6,2. Das Myzel wird etwas schleimig. Große Vakuolen (v) und zahlreiche Öltropfen (f) treten auf. (Abb. 7.)
- pH = 7,3: Sehr schlechtes Wachstum! Die ganze Myzelmasse ist schleimig. Die Vakuolen (v) sind kleiner und zahlreicher als bei pH 6,6, aber die Öltropfen (f) größer und zahlreicher. (Abb. 8.)

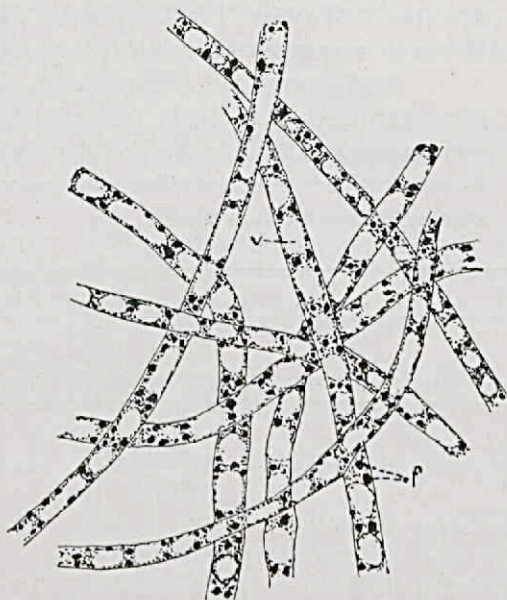


Abb. 8.

Wenn man den Pilz auf Nährböden mit anderen N-Quellen züchtet, so findet man die oben beschriebenen Formen bei anderen pH-Werten. Man kann aber stets beim Überschreiten der Grenze zwischen saurem und alkalischem Milieu in derselben Reihenfolge die nachstehenden Stadien unterscheiden:

1. Auswachsen nur des übergeimpften Myzelstücks,
2. Verwachsung des sich reichlich entwickelnden Myzels zu festem Luftmyzel,
3. Verschleimung des vakuolreichen Myzels.

#### 4. Untersuchungen über die toxische Wirkung einiger Stoffe in verschiedenen Konzentrationen auf das Myzel von *Armillaria mellea* und anderen Pilzen.

##### A. Versuche mit *Armillaria mellea* (Stamm Reitsma).

##### 1. Ammoniumsulfat als N-Quelle.

Mehrfach findet man in der Literatur Arbeiten, in denen der toxische Einfluß anorganischer Salze auf das Wachstum von Pilzen untersucht worden ist. So hat Tamiya (1927) sehr viele chemische Verbindungen hinsichtlich ihrer toxischen Wirkung auf das Wachstum des Myzels von *Aspergillus Oryzae* studiert. In den folgenden Versuchen habe ich die toxischen Einflüsse verschiedener Stoffe auf das Wachstum des *Armillaria*-myzels untersucht.

a) Kupfersulfat, Kupferchlorid, Manganchlorid, Natriumchlorid, Kalziumchlorid und Sublimat.

b) Zinkchlorid, Lithiumsulfat und Borsäure ( $H_3BO_3$ ).



Bei den in diesem Abschnitt behandelten Versuchen wurde in der Grundlösung (S. 469) als N-Quelle Ammoniumsulfat genommen (25 ccm einer 1,65 %  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung). Statt der zugefügten 5 ccm destillierten Wassers wurden aber 5 ccm des Toxicums beigegeben. Die Versuche mit Kupfersulfat, Kupferchlorid, Sublimat, Natriumchlorid, Kalziumchlorid und  $\text{MnCl}_2$  wurden gleichzeitig und unter gleichen Bedingungen angestellt. Sie dauerten 6 Wochen. Die Temperatur war 25° C. Die in dieser Versuchsserie gebrauchten H-Ionenkonzentrationen waren: pH = 4,8, 5,4, 5,8, 6,2 und 6,6.

Die Versuche mit Lithiumsulfat, Zinkchlorid und Borsäure wurden bei den H-Ionenkonzentrationen 4,3, 5, 5,6, 6,1 und 6,5 ausgeführt. Sie dauerten 4 Wochen bei einer Temperatur von 25° C. Wie bei der ersten Reihe lief auch hier bei den gleichen H-Ionenkonzentrationen ein Kontrollversuch nebenher. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 12 und 13 zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 12.

pH . . . . .	4,8	5,4	5,8	6,2	6,6	
	mg	mg	mg	mg	mg	
Kontrolle . . . . .	87	92	74	48	36	Optimales Wachstum bei pH 5,4
$\frac{n}{75}$ $\text{CuSO}_4$ (0,016 %) .	71	53	28	24	17	Starke Wachstums- hemmung auf der alkalischen Seite
$\frac{n}{50}$ $\text{CuSO}_4$ (0,025 %) .	52	39	32	16	13	
$\frac{n}{25}$ $\text{CuSO}_4$ (0,05 %) .	35	21	16	12	9	Bei allen pH-Werten starke Wach- stums- hemmungen
$\frac{n}{60}$ $\text{CuCl}_2$ (0,014 %) .	63	49	33	21	15	$\text{CuCl}_2$ verhält sich ungefähr wie $\text{CuSO}_4$
$\frac{n}{40}$ $\text{CuCl}_2$ (0,0215 %) .	40	42	21	13	10	
$\frac{n}{20}$ $\text{CuCl}_2$ (0,0421 %) .	32	23	15	9	10	
$\frac{n}{200}$ $\text{MnCl}_2$ (0,005 %) .	65	88	82	54	35	Wachstums- steigerung auf der alka- lischen Seite
$\frac{n}{100}$ $\text{MnCl}_2$ (0,01 %) .	85	80	76	50	40	
$\frac{n}{50}$ $\text{MnCl}_2$ (0,02 %) .	71	66	53	34	27	Wachstums- hemmung bei allen pH- Werten
$\frac{n}{1350}$ $\text{HgCl}_2$ (0,001 %) .	57	46	35	22	19	Wachstums- hemmung bei allen pH- Werten  Myzel nach 6 Wochen abgestorben
$\frac{n}{270}$ $\text{HgCl}_2$ (0,005 %) .	14	13	9	10	8	
$\frac{n}{168}$ $\text{HgCl}_2$ (0,008 %) .	7	9	8	7	7	
$\frac{n}{5}$ $\text{NaCl}$ (0,058 %) .	89	96	68	37	28	Die Einflüsse dieser beiden Stoffe sind ungefähr die gleichen. Sie wirken nur wenig toxisch auf der sauren Seite
$\frac{n}{2,5}$ $\text{NaCl}$ (0,116 %) .	10	61	45	31	22	
$\frac{n}{1}$ $\text{NaCl}$ (0,292 %) .	54	39	28	13	12	
$\frac{n}{10}$ $\text{CaCl}_2$ (0,109 %) .	95	83	68	35	24	
$\frac{n}{5}$ $\text{CaCl}_2$ (0,219 %) .	69	52	44	23	16	
$\frac{n}{2,5}$ $\text{CaCl}_2$ (0,438 %) .	47	34	21	14	10	



Tabelle 13.

pH . . . . .	4,3	5,0	5,6	6,1	6,5	
	mg	mg	mg	mg	mg	
Kontrolle . . . . .	44	68	62	47	24	Optimales Wachstum bei pH 5,0
$\frac{n}{680}$ $MnCl_2$ (0,001 %) .	37	72	63	42	23	} Wachstumssteigerung bei pH 5 und 5,6
$\frac{n}{68}$ $MnCl_2$ (0,01 %) .	32	57	60	34	18	
$\frac{n}{13,6}$ $MnCl_2$ (0,05 %) .	23	46	43	31	14	} Wachstumssteigerung auf der alkalischen Seite. Optimales Wachstum bei pH 5,0
$\frac{n}{10}$ $Li_2SO_4$ (0,06 %) .	48	65	70	51	23	
$\frac{n}{5}$ $Li_2SO_4$ (0,13 %) .	45	71	64	32	17	} Wachstumssteigerung bei pH 5,6
$\frac{n}{1}$ $Li_2SO_4$ (0,65 %) .	48	32	41	29	15	
$\frac{n}{300}$ $B(OH)_3$ (0,001 %) .	42	70	77	52	34	} Wachstumssteigerung bei allen pH-Werten
$\frac{n}{30}$ $B(OH)_3$ (0,01 %) .	46	74	67	48	28	
$\frac{n}{1}$ $B(OH)_3$ (0,3 %) .	32	50	40	33	18	} Wachstumssteigerung bei allen pH-Werten

In den Tabellen 12 und 13 sind in der letzten Kolonne die hauptsächlichsten Besonderheiten erwähnt. Nur will ich noch darauf aufmerksam machen, daß Tamiya (1928) bei *Aspergillus Oryzae* beobachtet hat, daß eine N/10  $CaCl_2$ -Lösung eine hemmende Wirkung ausübte, während eine N/1  $NaCl$ -Lösung das Wachstum förderte. In den von mir benutzten Konzentrationen zeigen sich diese Stoffe für *Armillaria* wenig toxisch auf der sauren Seite.

## 2. Pepton als N-Quelle.

Auf ihre toxische Wirkung wurden geprüft: a) Kupfersulfat, Kupferchlorid, Eisenchlorid, Natriumchlorid und Kalziumchlorid; b) Kaliumfluorid, Sublimat, Uspulun und Germisan.

Aus den bereits erwähnten Versuchen ergab sich, daß Pepton eine viel bessere N-Quelle ist als Ammonsulfat (S. 477). In der Grundlösung wurden nur die 5 ccm destilliertes Wasser durch 5 ccm einer Lösung der oben aufgezählten Substanzen ersetzt. Die Versuche der Reihe a wurden gleichzeitig angesetzt. Die Versuchsdauer betrug vier Wochen, die Temperatur war 25° C. Die benutzten Wasserstoffionen-Konzentrationen waren 3,3, 3,9, 4,7, 5,6, 6,1, 6,6 und 7,3. Ein Kontrollversuch wurde unter denselben Bedingungen angesetzt. Die Versuche mit Kaliumfluorid, Sublimat, Uspulun und Germisan wurden bei pH 2,9, 4,4, 5,6, 6,1, 6,6 und 7,3 durchgeführt. Versuchsdauer ebenfalls vier Wochen, Temperatur 25° C.

Bei den letzten Versuchen tritt die schädliche Wirkung des Quecksilbers deutlich hervor. Die Unterschiede im Pilztrockengewicht sind aber zu gering, um hieraus schließen zu können, welche der drei Hg-Verbindungen die schädlichste ist.

## B. Versuche mit anderen *Armillaria*-Stämmen.

Um einigermaßen einen Eindruck davon zu bekommen, wie sich andere *Armillaria*-Stämme verschiedener Konzentrationen toxischen Stoffen gegenüber verhalten, habe ich einige Versuche mit den folgenden Stämmen



Tabelle 14.

pH . . . . .	3,3	3,9	4,7	5,6	6,1	6,6	7,3	
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	
Kontrolle . . . . .	68	161	248	231	173	87	32	Optimales Wachstum bei pH 4,7
$\frac{n}{50}$ CuSO <sub>4</sub> (0,025 ‰) .	61	141	173	126	78	35	19	{ Bei allen pH Wachstum hemmend. Wachstumsopt. pH 4,7.
$\frac{n}{15}$ CuSO <sub>4</sub> (0,0835 ‰) .	49	103	92	71	50	21	11	
$\frac{n}{7,5}$ CuSO <sub>4</sub> (0,167 ‰) .	26	57	54	39	31	12	9	{ Optimales Wachstum bei pH 3,9. Starke Hemmung auf der alkalischen Seite.
$\frac{n}{40}$ CuCl <sub>2</sub> (0,0213 ‰) .	53	147	155	111	64	37	20	{ CuCl <sub>2</sub> verhält sich ungefähr wie CuSO <sub>4</sub> .
$\frac{n}{15}$ CuCl <sub>2</sub> (0,0568 ‰) .	38	87	94	63	39	18	12	
$\frac{n}{6}$ CuCl <sub>2</sub> (0,142 ‰) .	17	37	52	46	23	12	10	
$\frac{n}{50}$ FeSO <sub>4</sub> (0,0278 ‰) .	59	153	194	137	113	40	22	{ Hemmung auf der alkalischen Seite. Bei allen pH-Werten Wachstumshemmung.
$\frac{n}{5}$ FeSO <sub>4</sub> (0,278 ‰) .	27	66	53	60	37	13	10	
1,25/n NaCl (0,365 ‰)	62	137	211	169	83	22	16	{ Wachstumshemmung am stärksten auf der alkalischen Seite.
5/n NaCl (1,46 ‰) .	30	52	124	65	43	13	10	
12,5/n NaCl (3,65 ‰) .	19	28	24	25	18	12	8	
$\frac{n}{5}$ CaCl <sub>2</sub> (0,219 ‰) .	53	142	197	146	69	27	17	{ Wachstumshemmung auf der alkalischen Seite. CaCl <sub>2</sub> -Konzentrationen, höher als 0,438 ‰, geben Niederschläge.
$\frac{n}{2,5}$ CaCl <sub>2</sub> (0,438 ‰) .	44	128	113	99	53	22	13	

Tabelle 15.

pH . . . . .	2,9	4,4	5,6	6,1	6,6	7,3	
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	
Kontrolle . . . . .	36	214	221	149	102	34	Optimales Wachstum bei pH 5,6
$\frac{n}{2,5}$ KF (0,188 ‰) . .	28	138	152	87	45	17	{ Bei allen pH Wachstum gehemmt.
$\frac{n}{2}$ KF (0,940 ‰) . .	13	98	71	73	26	10	
$\frac{n}{675}$ HgCl <sub>2</sub> (0,002 ‰) .	14	55	61	42	28	16	{ Starke Schädigung.
$\frac{n}{225}$ HgCl <sub>2</sub> (0,006 ‰) .	10	31	24	22	14	11	
$\frac{n}{168}$ HgCl <sub>2</sub> (0,008 ‰) .	8	9	6	8	7	5	Myzel abgetötet.
Uspulun (0,002 ‰) . .	21	49	43	31	23	19	{ Starke Schädigung.
Uspulun (0,006 ‰) . .	12	23	18	19	12	9	
Uspulun (0,008 ‰) . .	7	7	8	6	8	6	Myzel abgetötet.
Germisan (0,002 ‰) . .	17	39	51	34	21	14	{ Starke Schädigung.
Germisan (0,006 ‰) . .	14	27	19	14	10	9	
Germisan (0,009 ‰) . .	8	6	8	8	6	5	



vorgenommen: *Armillaria mellea* (Stamm Rant); *Armillaria mellea* (Stamm Cool); *Armillaria fuscipes* (Stamm Petch).

Es wurden folgende Reihen angesetzt:

- Armillaria mellea* (Stamm Rant) mit Kupferchlorid und Eisensulfat.
- Armillaria mellea* (Stamm Cool) mit Eisenchlorid, Cadmiumchlorid, Kaliumfluorid und Natriumchlorid.
- Armillaria fuscipes* (Stamm Petch) mit Kupfersulfat und Sublimat.

Auch bei diesen Versuchen wurde die Grundlösung als Nährlösung gebraucht. Die 5 ccm destilliertes Wasser wurden durch 5 ccm einer der toxischen Lösungen ersetzt. Der Kulturversuch dauerte 4 Wochen, die Temperatur war 25° C.

Allgemein ist zu sagen, daß das Vermögen zur Rhizomorphenbildung in Flüssigkeiten stark zurückgedrängt ist und schließlich ganz verschwindet. Außerdem ist das Wachstum des Myzels der drei hier gebrauchten *Armillaria*-Stämme in den Kontrollreihen verschieden. Vor allem tritt als deutlicher Unterschied zwischen *Armillaria mellea* (Cool) und *Armillaria mellea* (Rant) bei der ersten Rasse eine stärkere Rhizomorphenbildung auf. Noch größer ist diese bei *Armillaria fuscipes* (Petch). Das ausgewachsene Myzel dieses Stammes wird sehr bald hart und krustig. Die krustige Masse besteht hauptsächlich aus Rhizomorphen. Diese Rhizomorphenbildung ist die Ursache, daß die Pilztrockengewichte der Kulturen, welche unter denselben Bedingungen gezüchtet worden sind, stark variieren. Bei dem Stamme *Armillaria fuscipes* betrug die Variation in einigen Fällen 90 mg. Es ist daher bei diesen Versuchen notwendig, die Mittelwerte aus vielen (mindestens acht) Einzelwerten zu nehmen. Je geringer die Rhizomorphenbildung ist, um so kleiner sind die Gewichtsvariationen.

Tabelle 16.  
Stamm Rant.

pH . . . . .	2,9	4,3	5,1	5,6	6,1	6,5	7,3	
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	
Kontrolle . . . . .	36	242	270		226	142	35	Optimales Wachstum bei pH 5,1
$\frac{n}{40}$ CuCl <sub>2</sub> (0,0213 %) .	24	169	178	186	—	75	26	Rhizomorphenbildung schlecht
$\frac{n}{10}$ CuCl <sub>2</sub> (0,0852 %) .	17	97	109	80	—	33	17	{ Rhizomorphenbildung unter- bleibt
$\frac{n}{50}$ FeSO <sub>4</sub> (0,0278 %) .	22	187	—	184	112	61	21	{ Rhizomorphenbildung wenig gehemmt
$\frac{n}{5}$ FeSO <sub>4</sub> (0,278 %) .	16	73	85	61	—	37	15	
$\frac{n}{3}$ FeSO <sub>4</sub> (0,464 %) .	12	26	48	37	—	21	10	{ Rhizomorphenbildung stark gehemmt

Daß „Stamm Petch“ viel höhere Pilztrockengewichte gibt als die anderen Stämme, rührt von der starken Rhizomorphenbildung her.

Bemerkenswert ist auch, daß gegenüber dem Myzel von *Armillaria mellea*, das schon durch eine 0,008 % HgCl<sub>2</sub>-Lösung getötet wird, bei



Vier *Armillaria*-Stämme wurden miteinander verglichen und zwar wurde bei den drei Stämmen, welche noch in flüssigen Nährböden Rhizomorphen bildeten, speziell auf den Einfluß geachtet, den die Konzentrationen der Phenolderivate auf die Rhizomorphenbildung ausübten.

Da bei dem von mir isolierten Stamme die Rhizomorphenbildung nicht mehr auftritt, kommt hier als einziges Kriterium das Piltrockengewicht in Betracht.

Tabelle 20.

pH . . . . .	Stamm Cool.			Stamm Rant.			Stamm Petch		
	4,8	5,5	6,3	4,8	5,5	6,3	4,8	5,5	6,3
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
Kontrolle . . . . .	399	447	311	273	398	266	522	610	391
$\frac{n}{150}$ Metol (0,005 %) . . . . .	381	413	277	233	342	298	524	598	396
$\frac{n}{75}$ Metol (0,01 %) . . . . .	274	293	211	163	192	250	318	426	359
$\frac{n}{7,5}$ Metol (0,1 %) . . . . .	272	177	123	153	200	112	310	169	184
$\frac{n}{110}$ Metadioxybenzol (0,005 %) . . . . .	323	375	226	234	275	222	331	442	309
$\frac{n}{55}$ Metadioxybenzol (0,01 %) . . . . .	234	226	173	225	224	146	425	496	301
$\frac{n}{5,5}$ Metadioxybenzol (0,1 %) . . . . .	117	91	24	47	32	21	75	111	23
$\frac{n}{320}$ Tannin (0,005 %) . . . . .	362	464	394	370	363	305	499	574	432
$\frac{n}{160}$ Tannin (0,01 %) . . . . .	421	328	431	269	342	284	531	522	489
$\frac{n}{110}$ Hydrochinon (0,005 %) . . . . .	362	275	176	222	210	192	492	577	273
$\frac{n}{55}$ Hydrochinon (0,01 %) . . . . .	286	227	213	205	115	196	294	376	296
$\frac{n}{5,5}$ Hydrochinon (0,1 %) . . . . .	58	50	29	97	79	66	133	76	47

Eine 0,005 % Metol-Lösung scheint bei dem Stamme Cool schon ein wenig hemmend zu wirken. Beim Stamme Rant ist das Wachstum bei pH 6 etwas höher als das der Kontrollreihe, während bei dem Stamm *fuscipes* bei pH 4,8 und 6 eine kleine Wachstumssteigerung auftritt.

Die hemmende Wirkung einer 0,01 % Metol-Lösung kann man beim Stamm Cool und Stamm Rant feststellen, auch ist hier die Rhizomorphenbildung gehemmt. Die Rhizomorphen bleiben klein, sind aber stark verzweigt. Die Piltrockengewichte vom Stamm *fuscipes* sind unregelmäßig. Wie schon auf S. 487 gesagt, bilden nämlich die Stämme *fuscipes* sehr stark Rhizomorphen und krustiges Myzel, Eigentümlichkeiten, die das unregelmäßige Wachstum veranlassen. Durch eine 0,005 % und 0,01 % Metol-Lösung wird bei den drei Rhizomorphen-bildenden Stämmen die Rhizomorphenbildung merkbar beeinflusst.



Metadioxybenzol wirkt auf alle vier Stämme in allen Konzentrationen wachstumshemmend. Die Pilztrockengewichte sind im großen und ganzen bedeutend niedriger als die der Metolreihe. Eine 0,1 % Metadioxybenzollösung hemmt ferner bei den obigen drei Pilz-Stämmen die Bildung der Rhizomorphen vollständig.

Tannin übt auf das Wachstum der drei Stämme ungefähr den gleichen Einfluß wie auf den Stamm Reitsma aus. Der Stamm Cool zeigt eine Wachstumserhöhung, ausgenommen die Reihe mit  $\text{pH}=5,5$  und einer Tanninkonzentration von 0,01 %, sowie Reihe  $\text{pH}=4,8$  bei einer 0,005 % Tanninlösung. Da die anderen Werte alle höher liegen, darf man wohl sagen, daß 0,005 % und 0,01 % Tanninlösungen das Wachstum steigern. Diese Konzentrationen üben auf die Rhizomorphenentwicklung keinen Einfluß aus.

Hydrochinon wirkt stark hemmend. Die Stämme Cool, Rant und *fuscipes* unterliegen im großen und ganzen demselben Einfluß der Hydrochinonkonzentrationen wie Stamm Reitsma. In einer 0,1 % Hydrochinonlösung hört die Rhizomorphenbildung bei allen drei Stämmen ganz auf.

#### D. Versuche mit *Pythium mammillatum* (Stamm Meurs) und *Verticillium Dahliae*.

Um festzustellen, ob sich die toxische Wirkung von Kupfersulfat und Kaliumfluorid nur bei *Armillaria* oder, wie zu erwarten ist, auch bei anderen Pilzen äußert, wurden auch mit *Pythium mammillatum* (Stamm Meurs) und *Verticillium Dahliae* (auf Tilia) Versuche vorgenommen. Beide Pilze stammten aus den Kulturen des „Centraal Bureau voor Schimmelcultures te Baarn“.

Die Kulturlösungen befanden sich wieder in Erlenmeyerkolben von 100 ccm. Die Nährlösung für *Pythium mammillatum* hatte folgende Zusammensetzung:

25 ccm einer Knopschen Lösung	
25 ccm einer 1 % Saccharose-Lösung	
25 ccm einer 0,1 % Pepton Lösung	
20 ccm einer N/8	$\left\{ \begin{array}{l} \text{H}_2\text{PO}_4 \\ \text{KH}_2\text{PO}_4 \\ \text{K}_2\text{HPO}_4 \\ \text{K}_3\text{PO}_4 \end{array} \right\} \text{Lösung}$

5 ccm dest. Wasser oder 5 ccm einer toxischen Lösung.

In jeden Kolben wurden 25 ccm dieser Nährlösung gebracht und ein Stückchen Myzel übergeimpft. In der Knopschen Lösung wurde das  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ersetzt durch 20 ccm einer n/8 Phosphatlösung, die die Veränderung der pH-Werte gestattet. Die für *Pythium* benutzten pH-Werte waren: 3,3, 3,8, 5,2, 6 und 7. Die Versuchsdauer betrug 4 Wochen; die Temperatur war 25° C. Als toxische Stoffe wurden gebraucht: Cuprisulfat und Fluorkalium. Die Kulturlösung für *Verticillium* war eine Richardsche Lösung von nachstehender Zusammensetzung: 10 g  $\text{KNO}_3$ , 5 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 2,5 g  $\text{MgSO}_4$ , 20 g  $\text{FeCl}_2$ , 50 g Glukose, 1 l destill. Wasser. Um verschiedene pH-Werte zu bekommen, wurde auch hier das  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  durch ein Phosphatgemisch ersetzt. Auf 100 ccm Kulturflüssigkeit kamen

75 ccm einer Richardschen Lösung und 20 ccm einer n/8	$\left\{ \begin{array}{l} \text{H}_2\text{PO}_4 \\ \text{KH}_2\text{PO}_4 \\ \text{K}_2\text{HPO}_4 \\ \text{K}_3\text{PO}_4 \end{array} \right\} \text{Lösung,}$
---	---



dazu 5 ccm dest. Wasser oder 5 ccm einer toxischen Lösung. In jeden Kolben wurden zum Versuch 25 ccm dieser Lösung gebracht und ein Stückchen Myzel hierin übergeimpft. Kulturdauer 4 Wochen. Temperatur 25° C. pH = 3,3, 4,5, 5,8, 6,5 und 7.

Tabelle 21.  
*Pythium mammillatum*.

pH . . . . .	3,3	3,8	5,2	6,0	7,0	
	mg	mg	mg	mg	mg	
Kontrolle . . . . .	20	47	78	97	84	Optim. Wachst. zwischen pH 6 u. 7
$\frac{n}{400}$ KF (0,0117 %) . .	11	27	49	33	34	KF ist für <i>Pythium</i> viel schädlicher als für <i>Armillaria</i> , und im Gegensatz zu <i>Armillaria</i> besonders auf der sauren Seite
$\frac{n}{100}$ KF (0,0047 %) . .	9	34	31	32	35	
$\frac{n}{40}$ KF (0,0117 %) . .	3	4	37	41	48	
$\frac{n}{4}$ KF (0,117 %) . .	3	3	5	4	26	Myzel nur bei pH 7 gewachsen
$\frac{n}{2500}$ CuSO <sub>4</sub> (0,0005 %) .	9	32	54	69	61	Starke Wachstums hemmung
$\frac{n}{1250}$ CuSO <sub>4</sub> (0,001 %) .	3	4	3	5	4	
$\frac{n}{250}$ CuSO <sub>4</sub> (0,005 %) .	3	3	4	4	5	Myzel getötet

Tabelle 22.  
*Verticillium Dahliae*.

pH. . . . .	3,3	4,5	5,8	6,5	7,0	
	mg	mg	mg	mg	mg	
Kontrolle . . . . .	141	232	321	277	165	Opt. Wachst. zwischen pH 5,8 u. 6,5
$\frac{n}{400}$ KF (0,0011 %) . .	69	221	279	214	193	Wachstums hemmung auf der sauren Seite. Bei pH 7 Wachstumssteigerung
$\frac{n}{40}$ KF (0,0117 %) . .	14	59	198	186	177	
$\frac{n}{4}$ KF (0,117 %) . .	9	28	126	181	153	
$\frac{n}{500}$ CuSO <sub>4</sub> (0,0025 %) .	68	253	249	229	188	Wachstumssteigerung bei pH 4,5 und 7
$\frac{n}{75}$ CuSO <sub>4</sub> (0,0167 %) .	47	229	236	221	168	
$\frac{n}{15}$ CuSO <sub>4</sub> (0,0835 %) .	14	18	41	159	113	Starke Hemmung auf der sauren Seite
Uspulun (0,001 %) . .	9	10	53	60	43	Starke Hemmung a. d. sauren Seite Myzel bei allen pH-Werten abgetötet
Uspulun (0,005 %) . .	4	5	4	3	5	
Uspulun (0,01 %) . .	3	4	4	5	4	

Aus diesen beiden Versuchen geht hervor, daß *Pythium mammillatum* eine viel geringere Widerstandsfähigkeit gegen toxische Stoffe hat als *Armillaria mellea*.

Der Uspulunversuch zeigt, daß *Verticillium* eine etwas geringere Widerstandsfähigkeit gegenüber toxischen Stoffen besitzt als *Armillaria*.



## 5. Infektionsversuche.

## A. Allgemeines — Literaturübersicht.

Um für die Praxis nützliche Hinweise hinsichtlich der Bekämpfung des Pilzes zu bekommen, ist es an erster Stelle notwendig, Material zu finden, das sich zu Infektionsversuchen eignet, so am besten Keimpflanzen von Bäumen, Sträuchern oder Kräutern, weil das Experimentieren mit älteren, größeren Bäumen sehr viele Schwierigkeiten mit sich bringt. Dabei erhebt sich aber die Frage, ob es überhaupt möglich ist, Keimpflanzen für Infektionsversuche zu benutzen, weil es nicht ausgeschlossen ist, daß diese in jugendlichem Alter immun gegen Pilzbefall sind, so daß künstliche Infektionen nicht gelingen würden.

Hartig (1874) hat nämlich im Freien ein plötzliches Absterben von Kiefern, Eichen, Tannen und Lärchen in verschiedenen Altersstadien (aber nicht unter fünf Jahren) konstatiert. Die Versuche Brefelds (1877) und Münchs (1909) wurden mit isolierten Sproßteilen, Zweigen, zersägten und zerspaltenen Stämmen ausgeführt. H. E. Thomas (1929) hat die Infektion und weitere Entwicklung der Rhizomorphen untersucht bei *Juglans regia*, *Prunus persica*, *Prunus cerasifera*, *Pirus communis*, *Daucus carota*, *Pastinaca sativa*, *Dahlia spec.* und *Solanum tuberosum*. Wie alt die von ihm benutzten Bäume waren, und auf welche Weise er die Infektionsversuche anstellte, erwähnt er nicht.

M. C. Rayner (1930)<sup>1)</sup> hat Versuche an Koniferen (*Pinus laricio* var. *Corsicana* London und *Pseudotsuga Douglasii* Carr.) in sterilen Erlenmeyer- und Topfkulturen angestellt. Aus ihren Versuchen geht hervor, daß die verwendeten Koniferen in den sterilen Kulturen während der ersten Monate nicht von *Armillaria* befallen wurden; indessen waren sie nach Verlauf eines Jahres alle krank. In den Topfkulturen war nach Verlauf von drei Jahren noch keine Spur von Pilzbefall zu sehen. Im Gegensatz zu den Resultaten Hartigs kann man aus diesen Versuchen ersehen, daß Keimpflanzen wenigstens von *Pinus* und *Pseudotsuga* als Material für künstliche Infektionsversuche benutzt werden können.

## B. Versuche.

Die folgenden Versuche beziehen sich auf künstliche Infektionen bei jungen Bäumen und Kräutern.

Die verwendeten Bäume waren:

Ein- und zweijährige <i>Picea excelsa</i> . . . . .	(40 Exemplare),
zweijährige <i>Prunus Padus</i> . . . . .	(35 " ),
zweijährige <i>Ulmus campestris</i> . . . . .	(50 " ),
ein- und zweijährige <i>Quercus robur</i> . . . . .	(30 " ),
zweijährige <i>Sorbus aucuparia</i> . . . . .	(18 " ),
einjährige <i>Aesculus Hippocastanum</i> . . . . .	(26 " ),
einjährige <i>Fagus sylvatica</i> . . . . .	(40 " ).

Die benutzten Kräuter waren: *Lepidium sativum*, *Daucus carota*, *Pastinaca sativa*, *Pisum sativum*.

Von den Kräutern und 1- und 2jährigen Kiefern wurden Topfkulturen hergestellt. In die Töpfe wurde stark mit *Armillaria* infizierter Waldboden gebracht. Diesem Boden wurde zugleich noch infiziertes Holz (siehe Zweigkulturen, Seite 467) beigemischt.

Die übrigen Bäume wurden im Garten ausgepflanzt. Der Gartenboden war sehr wahrscheinlich frei von *Armillaria mellea*. 50 % der Bäume wurden mit in Agarböden

<sup>1)</sup> Diese Arbeit erschien erst nach Abschluß des experimentellen Teiles, so daß ich bei meinen Versuchen keine Rücksicht darauf nehmen konnte.



gewachsenen Rhizomorphen, die anderen 50 % mit von Rhizomorphen durchwachsenen Holzstückchen infiziert. Die Infektion geschah dadurch, daß die Bäume am Wurzelhals verwundet und die Agarkulturen bzw. Holzstückchen auf die Wundstelle gelegt wurden.

Aus den Versuchen ergab sich, daß eine künstliche Infizierung jüngerer Bäume und Sträucher nicht eintritt. Von den in Gartenboden gebrachten Agarbödenkulturen war nach einem Jahre nichts mehr vorzufinden. Auch bei den in Gartenboden gebrachten infizierten Zweigstückchen war nicht die geringste Spur eines weiteren Auswachsens des Myzels oder einer Infektion zu bemerken.

In den Töpfen dagegen war in einigen Fällen eine geringe Rhizomorphenbildung aufgetreten. Die von mir untersuchten Kräuter haben durch diese Rhizomorphen nicht die geringste Schädigung erfahren. Bei den 1—2jährigen Kiefern hat sich nur in einem Falle und bei den 2jährigen Kiefern in 3 Fällen auf einigen Wurzeln ein weißes Myzel gebildet. Die Wurzeln sahen aber nach einem Jahre noch sehr gesund und frisch aus, keine der jungen Kiefern war an *Armillaria* zugrunde gegangen.

Obwohl keine Rhizomorphen nachgewiesen werden konnten, blieb die Möglichkeit einer Myzelinfektion bestehen. Bei einer nachher an den Wurzeln vorgenommenen anatomischen Untersuchung konnte aber die Anwesenheit von Myzel nicht festgestellt werden.

## 6. Bekämpfung.

### A. Literaturübersicht.

Da *Armillaria mellea* in Wäldern, Anlagen, Baumanpflanzungen usw. großen Schaden verursacht, sind Mitteilungen über Versuche zur Erlangung von Bekämpfungsmitteln in der Literatur nicht ausgeblieben.

Die von Brefeld (1877) angegebene Bekämpfungsmethode ist sehr lange die einzige gewesen und findet, weil sie praktisch ausführbar ist, noch immer Anwendung. Dabei werden die durch *Armillaria* befallenen Bäume umgehackt und die Wurzelstümpfe ausgerodet (Infektionsherde!).

Der Infektionsherd wird durch eine tiefe Grabenrinne rings um die betreffende Stelle isoliert. Diese Methode wird von den meisten späteren Autoren erwähnt, wie z. B. L. B. Hesler and H. H. Whetzel (1917), W. H. Rankin (1918), Forestry Commission (1921), W. Small (1923), A. H. Hendrickson (1925), 19th Annual Report of the New York State conservation (1928) usw.

Hinsichtlich einer chemischen Bekämpfung liegen ebenfalls mehrere Untersuchungen vor. Als Bodendesinfektionsmittel werden genannt:  $\text{FeSO}_4$ ,  $\text{CuSO}_4$ , Bordeauxsche-Mischung,  $\text{CS}_2$ , Formalin,  $\text{KMnO}_4$ -Lösungen.

Die Daten über erforderliche Konzentration und Zusammensetzung der verschiedenen Lösungen gehen weit auseinander:

1) Eisensulfat als Bodendesinfektionsmittel: M. Gard (1926) empfiehlt eine 30 % Eisensulfatlösung mit Zusatz von 1 % Schwefelsäure, G. Quinn (1924) und Fruit world of Australasia (1925) sprechen über die toxischen Wirkungen einer starken Eisensulfat-Lösung.

2. Kupfersulfat als Bodendesinfektionsmittel: M. Gard (1925) gebraucht eine 10 % Kupfersulfat-Lösung; dagegen benutzen H. P. Barrs (1923), W. N. Carne (1926), J. G.-C. (1927) die Bordeauxsche-Mischung.



3. Schwefelkohlenstoff als Bodendesinfektionsmittel. Dieses Mittel wird erwähnt in Plant Pathology (1924) und von H. S. Fawcett (1925), J. G.-C. (1927), L. Ravaz (1929). Ravaz gebraucht 100 g Schwefelkohlenstoff pro Quadratmeter.

4. Formalin und Kaliumpermanganat als Bodendesinfektionsmittel: Hierüber berichtet M. Gard (1926). Beide Stoffe sind in einer 2% Lösung zu verwenden.

Aus den mitgeteilten Resultaten dieser Untersuchungen läßt sich folgern, daß eine direkte Bekämpfung des Pilzes sehr schwierig ist. Für einzelne Bäume oder kleine infizierte Stellen in Gärten oder Anlagen sind die erwähnten Stoffe zwar vorteilhaft zu gebrauchen, aber für größere Gebiete ist das praktisch unmöglich.

Für den Waldbau ist es nun aber notwendig, billige Bodendesinfektionsmittel zu finden, welche schon in kleinen Konzentrationen das Myzel und die widerstandsfähigeren Rhizomorphen töten. Da die toxische Wirkung der von mir benutzten Quecksilberverbindungen  $\text{HgCl}_2$ , Uspulun und Germisan im großen und ganzen gleich ist, indem sie schon in geringer Konzentration sehr schädlich auf den Pilz wirken, wurden vor allem mit Uspulun als dem geeignetsten Mittel neue Versuche angestellt.

## B. Versuche.

In 100 ccm Erlenmeyerkolben wurde gebracht: für Versuchsreihe a 25 ccm Ulmenholzdekot, für Versuchsreihe b je 25 ccm einer 0,005%, 0,01%, 0,03% und 0,06% Ulmenholzdekot-Uspulunlösung. Für jede Reihe wurden 15 Erlenmeyerkolben genommen und in jeden ein mit Rhizomorphen durchwachsenes Zweigstückchen von 3 cm Länge gebracht. Nach 6 Monaten ergab sich das folgende Bild:

In der Ulmendekotlösung bildeten sich Myzel, Rhizomorphen und Fruktifikationen. Mit 0,005% Uspulun fand keine Myzel- und Rhizomorphbildung statt, wohl aber bildeten sich einige Fruchtkörper auf dem Holz. Doch unterblieb auch diese bei Anwendung stärkerer Uspulunlösungen. In der Kulturlösung mit 0,06% ist alles abgetötet. Aus dieser Versuchsreihe sieht man, daß zum Vernichten der Rhizomorphen im Holzinnern die Uspulunkonzentration zirka zehnmal stärker sein muß, als es zum Töten des freien Myzels notwendig ist.

Versuche, bei denen der Pilz auf Sägemehl gezüchtet wurde, ergaben ungefähr das gleiche Resultat. Weil ebenso, wie im Sägemehl, auch im Boden ein Teil der Lösung adsorbiert wird, wurde für zwei Bodenarten, nämlich lockerer Waldboden und Gartenboden, untersucht, wie stark die Uspulunlösungen für Bodendesinfektion sein müssen.

Gläser von 250 ccm Inhalt wurden mit den zwei verschiedenen Bodenarten gefüllt. Nach Sterilisation wurden in jedes Glas vier stark infizierte und mit Rhizomorphen durchwachsene Ulmenzweigstücke gebracht und 25 ccm einer Uspulunlösung in verschiedenen Konzentrationen zugefügt. Der Erde in den Kontrollversuchsgläsern wurden, um die gleichen Feuchtigkeitsbedingungen zu schaffen, 25 ccm Wasser zugefügt. Die zugesetzten Uspulunkonzentrationen waren: 0,008%, 0,016%, 0,03%, 0,06%, 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, 1%.



Je Einzelversuch wurden sechs Gläser genommen. Zur gleichen Zeit wurden auch Bodendesinfektionsversuche mit Topfkulturen gemacht.

Als Bodendesinfektionsmittel kamen nebeneinander Uspulun und  $\text{HgCl}_2$  zur Verwendung, weil bekannt ist, daß  $\text{HgCl}_2$  die Pflanzen viel stärker schädigt, als Uspulun. Die giftige Wirkung der beiden Stoffe untersuchte ich bei ein- und zweijährigen Kiefern. Die Töpfe wurden mit 1000 ccm Wald- oder Gartenerde gefüllt. In jeden Topf wurden zehn stark infizierte Ulmenzweigstücke gebracht und in den derart infizierten Boden die jungen Kiefern gepflanzt. Die Topfkulturen wurden sodann mit 100 ccm Uspulunlösung von der Konzentration 0,008 %, 0,016 %, 0,03 %, 0,06 %, 0,2 %, 0,4 %, 0,6 %, 0,8 % und 1 % übergossen.

Dem Inhalt der Kontrollversuchstöpfe wurden 100 ccm Wasser zugefügt.

Je Einzelversuch wurden sechs Töpfe genommen.

### Ergebnisse der Glaskulturen nach sechs Monaten.

Waldboden: Starke Rhizomorphen- und Fruchtkörperbildung trat in den Kontrollversuchen und in den Gläsern auf, auf denen eine 0,008 % und 0,016 % Uspulunlösung zugefügt worden war. Die Beifügung einer 0,06 % Uspulunlösung setzte die Rhizomorphenbildung stark herab. Bei 0,6, 0,8 und 1 % Uspulunlösung hatte das ins Holz eingedrungene Toxicum alles abgetötet.

Die Versuche mit Gartenboden zeigen gegenüber den Waldbodenversuchen eine viel höhere Empfindlichkeit der Rhizomorphen- und Fruchtkörperbildung. Schon nach Zugabe einer 0,06 % Uspulunlösung bleibt die Rhizomorphenbildung ganz aus.

Hierbei spielen wohl zwei Faktoren eine Rolle. Wie schon auf S. 465 gezeigt wurde, bilden sich die Rhizomorphen in lockeren, sauerstoffreichen Nährböden (Brotkulturen) besser als in festeren Substraten aus. Außerdem sind im Waldboden in höherem Maße als im Gartenboden holzige Bestandteile vorhanden, die natürlich einen größeren Teil des Desinfektionsmittels absorbieren. Dies schließt natürlich nicht generell ein, daß in der Natur Waldböden für Rhizomorphen ein besseres Substrat bilden als Gartenböden.

### Ergebnisse der Topfkulturen.

Nach acht Monaten wurden die Töpfe geleert. Es zeigte sich, daß sich zwar in vereinzelt Töpfen hier und dort sehr kleine Rhizomorphen entwickelt hatten, aber stets nur auf den zugefügten Holzstückchen.

Was die Wirkung des  $\text{HgCl}_2$  angeht, so steht dieser Stoff hinsichtlich seiner desinfizierenden Kraft der des Uspuluns gleich, ist aber für die Bäume viel schädlicher als Uspulun. Schon die Beifügung einer 0,2 % Sublimatlösung führte zum Absterben von fünf Kiefern bei einer Gesamtzahl von 10 Topfkulturen. Wenn man 0,4 % und höhere Sublimatkonzentrationen zufügte, wurden alle jungen Kiefern getötet.

In allen Fällen waren die Wurzeln ganz von einem *Penicillium*-Myzel bedeckt, vermutlich, weil durch das Sublimat alle anderen im Boden anwesenden Pilze getötet worden waren.



Uspulun wirkt erst in einer 0,8 % Lösung schädlich für die Kiefern. In den zehn Topfkulturen waren bei dieser Konzentration drei Kiefern getötet, welche ebenfalls von *Penicillium sp.* befallen waren. In der Kultur mit einer 1 % Uspulunlösung wurden fünf junge Kiefern getötet. Es scheint, daß bei Überschreitung der eben noch erträglichen Dosis die toxische Wirkung schädigender Stoffe schon bei geringen Konzentrationserhöhungen sehr stark zunimmt.

Aus dem Unterschied zwischen der Rhizomorphenentwicklung der Glas- und der Topfkulturen sieht man ferner, daß die Frage, inwieweit Rhizomorphen gesunde junge Bäume infizieren können, nur gelöst werden kann, wenn man die Umstände so wählt, daß die Rhizomorphen sich gut entwickeln, und das ist nur in den oben erwähnten Glaskulturen der Fall.

Weder die Topfkulturen noch die im freien Garten angestellten Versuche geben ein richtiges Bild, weil in keinem dieser beiden Fälle die Bedingungen sowohl für die Rhizomorphenentwicklung als für die Infektion so sind, wie sie in der Natur vorzuliegen scheinen. Gelingt es deshalb, Keimpflanzen zu züchten in einem Boden, in welchem sich Rhizomorphen zu bilden vermögen, so wird eine eventuelle Beobachtung der Infektion bei der Verwendung von Glasgefäßen sehr erleichtert, da man durch die Gefäßwände hindurch das Eindringen der Rhizomorphen beobachten kann.

Obwohl übrigens die Infektion mittels Rhizomorphen meines Erachtens die häufigste ist, kann auch eine Infektion durch Myzel stattfinden, wie nämlich aus den Untersuchungen Rayners (1930) hervorgeht. Sie hat in ihren Kulturen nur Myzelentwicklung konstatiert; trotzdem wurden die Wurzeln infiziert.

Zum Schluß sei zur Bekämpfung von kleinen, begrenzten, von *Armillaria* infizierten Stellen folgendes empfohlen:

Man isoliere die infizierten Stellen durch eine 1½ bis 2 m tiefe Grabenrinne. Die befallenen Bäume muß man umhacken, die Wurzelstümpfe ausroden und verbrennen. Dann wird der Boden tief umgegraben, und die im Boden vorhandenen Holzreste und Rhizomorphen entfernt und verbrannt. Nunmehr wird der Boden mit einem Bodendesinfektionsmittel behandelt:

1. Von Uspulun oder Sublimat genügen 20 Liter einer 0,6 %igen Lösung je Quadratmeter oder
2. Von Schwefelkohlenstoff genügen 100 g je Quadratmeter (Ravaz, 1929) oder
3. Eine 10 % Kupfersulfatlösung, wie sie von Gard angegeben wird, ist meines Erachtens besser nach Zusatz von Kalziumoxyd zu verwenden, weil diese Mischung länger vom Boden festgehalten wird und nicht so rasch wie eine zusatzfreie Kupfersulfatlösung ausgewaschen wird.



## 7. Bodenuntersuchungen.

### A. Allgemeines.

Aus den in Abschnitt 3 erwähnten Ergebnissen ist ersichtlich, daß das Wachstum von *Armillaria mellea* in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration seinen Ausdruck in einer Optimumkurve findet.

Das Wachstum ist optimal bei pH 5, um in der Richtung der höheren pH-Werte abzunehmen. Bei pH 8,6 ist überhaupt kein Wachstum mehr festzustellen. Es schien daher interessant, zu untersuchen, inwieweit auch die Wasserstoffionenkonzentration im Boden ihren Einfluß auf das Wachstum des Myzels und der Rhizomorphen von *Armillaria mellea* geltend macht. Dazu wurden besonders solche Gebiete ausgewählt, in denen saure und alkalische Böden nebeneinander zu erwarten waren, wie z. B. in der Nähe des Meeres (s'Gravenhage, Bergen aan Zee, Aerdenhout, Eemnes buiten) oder in Gegenden, welche durch ein gleichzeitiges Vorkommen verschiedener Erdschichten nebeneinander gekennzeichnet sind, wie z. B. Teile von Limburg.

Hierbei wurden möglichst die Karten des „Rijks Geologische Dienst“ benutzt, weil hier die Grenzen zwischen kalkarmen und kalkreichen Gebieten, wenn auch etwas schematisch, angegeben sind. Die bei Bergen aan Zee gelegenen Gebiete wurden an Hand der von Bijhouwer (1926) angegebenen Daten ausgewählt. Innerhalb eines Gebietes wurden an verschiedenen Stellen Grundproben entnommen, nachdem zuvor die Gras- und Moosschicht entfernt worden war. An jeder Stelle wurden zwei Bohrungen ausgeführt und jeweils bei der ersten Bohrung der Erdschicht von 0–15 cm, bei der zweiten Bohrung der Erdschicht von 15–30 cm eine Probe entnommen. Auch ist darauf geachtet worden, daß die ausgewählten Stellen sich nicht durch irgendwelche Besonderheiten von der Gesamtumgebung unterscheiden (Beschattung, Wassergehalt usw.), (vgl. Nemeček und Kvapil 1927), weil man sonst Unterschiede feststellen würde, die dem wirklichen Zustand nicht entsprechen.

Alle Proben wurden Anfang November 1930 gesammelt. Dies muß hervorgehoben werden, weil nach einigen Forschern [H. Kurz (1923), E. J. Salisbury (1924), Bijhouwer (1926)] die obere Bodenschicht im Spätherbst saurer reagiert als im Frühjahr.

Die Proben wurden in gut abgeschlossenen Glasröhren aufbewahrt und zur Untersuchung dem „Bodemkundig Instituut Groningen“ übergeben.

Die mir von Dr. Hissink überlassenen Daten beziehen sich auf: a) Beschaffenheit der Probe, b)  $\text{CaCO}_3$ -Gehalt in trockenen Proben, c)  $\text{CaCO}_3$ -Gehalt in Trockensubstanz, d) Wassergehalt, e) H-Ionenkonzentrationen. Außerdem wurden die Proben des „Zuiderzee“-Gebietes noch auf ihren Kochsalzgehalt analysiert.

Die Bodenproben wurden besonders auf Kalziumkarbonat- und Natriumchlorid-Gehalt untersucht, denn aus Seite 486 und 488 geht deutlich hervor, welchen Einfluß Kalziumchlorid, Natriumchlorid- u. a. Salze haben. Außerdem war auch im Freien ohne weiteres eine Hemmung des Wachstums von *Armillaria mellea* in der Nähe des Meeres (hoher NaCl- und  $\text{CaCO}_3$ -Gehalt) bemerkbar (s. S. 499).

### B. Analyse-Methoden.

Da man sich noch nicht über die besten Methoden zur Untersuchung der Zusammensetzung von Bodenproben hat einigen können, müssen die hier angewendeten Methoden näher erwähnt werden, weil erst dann die Resultate der Bodenuntersuchungen beurteilt werden können. Der Karbonat-Gehalt wurde mit der Passonschen Methode (ähnlich der von Bijhouwer (1926) benutzten Scheibler'schen Methode) aus der Menge des bei Zufügung von Salzsäure entstandenen Kohlendioxyds berechnet. Da die Salzsäure ziemlich konzentriert sein muß, lösen sich fast alle Karbonate. Die Kalziumkarbonatmenge muß sich



auf diese Weise berechnen lassen, wenn man annimmt, daß alles Kohlendioxyd an Kalzium gebunden ist (Commissie Proefpolder Andyk 1929). Der holländische Boden enthält kein  $MgCO_3$ , eine  $CO_2$ -Verbindung, die an anderen Orten noch in Betracht kommen könnte. (Versl. Rykslandb. Proefst. 1920.) Der Wassergehalt wurde durch Ausglühen des Bodens bestimmt.

Die Säuregrad-Bestimmung ist mit den meisten Schwierigkeiten behaftet. Da schon die Art der Bodenentnahme einen Einfluß ausübt, ist auf Seite 498 erwähnt, wie in unserem Falle die Proben entnommen wurden. Von einer lufttrockenen Probe wurde ein möglichst konzentriertes Filtrat hergestellt, dessen pH mittels der Chinhydron-Elektrode bestimmt wurde. (Siehe dazu eine vergleichende Untersuchung über diese und die kolorimetrische H-Elektroden- und Sb-Elektromethode in Soil-Research, 1930. Für die Verwendbarkeit der verschiedenen Methoden vgl. z. B. R. M. Barnette, D. J. Hissink and Jac. v. d. Spek, 1924, J. M. Kolthoff, 1923, Nemec und Kvapil, 1926, W. A. J. Oosting, 1929, W. Lehmann, 1930.)

### C. Ergebnisse der Bodenuntersuchungen.

Es folgen nunmehr die Resultate der Bodenuntersuchungen an den verschiedenen Stellen.

Tabelle 23.

#### Zuiderzee Boden a./d. Gooyersgracht.

Karte: „Ryks-Geologische Dienst“. 26. Harderwyk. Kwartblad III. 1927.

Proben-Nr.	Standort	Beschaffenheit der Bodenproben	Angaben der geologischen Karte	$CaCO_3$ lufttrocken	Wassergehalt	$CaCO_3$ in der Trockenprobe	NaCl-Gehalt in d. Trockenprobe	pH	Bemerkungen über das Vorkommen von <i>Armillaria mellea</i>
7	Deich a./d. Gooyersgracht	Sandboden mit Humus und einzelnen Pflanzenwurzeln	Post-glaziale Tal-füllung oder Nieder-Terrasse	0	—	0	0	7,02	Stark befallene Bäume, viele Fruchtkörper
11	Ebenda	Sandiger, fester Ton mit Pflanzenwurzeln	Übergang von Niedermoor (1—10 dm Dicke) in jungen Seeton (Dicke 1—4 dm)	0	—	0	0	6,68	Ein stark von Rhizomorphen befallener Baum. Keine Fruchtkörper
9	Ebenda	Fester Ton mit vereinzelt Pflanzenwurzeln	Junger Seeton (Dicke 1—4 dm) auf Niedermoor liegend	0	—	0	0	7,02	Ein Baum zeigt typische Armillariafäule, aber Rhizomorphen oder Fruchtkörper sind nicht aufzufinden
13	Ebenda	Fester, zäher Ton mit einigen Pflanzenresten	Junger Seeton (Dicke 1—4 dm) auf Niedermoor liegend	0	—	0	0,06	7,03	Keine von Armillaria befallene Bäume
15	Ebenda	Zäher Ton mit ziemlich vielen Pflanzenwurzeln	Junger Seeton (Dicke 1—4 dm) auf Niedermoor liegend	0	—	0	0,06	6,99	Keine von Armillaria befallene Bäume
16	Ebenda	Fester Ton mit einzelnen Pflanzenwurzeln	Junger Seeton (Dicke 1—4 dm) auf Niedermoor liegend	0,27	9,99	0,30	0,06	7,21	Keine von Armillaria befallene Bäume



Untersucht wurde der Damm bei der „Gooyersgracht“, welcher die „Meent“ von dem „Noordpolder te Veen“ abgrenzt. Einige Male im Jahre wird bei hohem Wasserstand der Zuiderzee das Meerwasser bis zum Damm aufgestaut. In Zusammenhang damit nimmt der Karbonat- und Natriumchlorid-Gehalt zu (s. auch A. A. ter Haar, 1907).

In den Wäldern gleich hinter dem Deich, welche niemals vom Meere überschwemmt werden, waren beinahe alle Bäume von *Armillaria* befallen. In der Umgebung des Deiches sind die meisten Bäume von mehreren sekundären Holzpilzen infiziert.

Man findet am Deich entlang von Westen nach Osten drei Bodenarten: Sand, Niedermoor und jungen Seeton.

Das pH ist überall etwa 7. Nur in Probe 16 wurde Kalziumkarbonat gefunden. Der Kochsalz-Gehalt ändert sich stark. Man beobachtet, daß dort, wo eine Kombination von zähem Ton und einem Natriumchlorid-Gehalt von 0,06% gefunden wurde, keine *Armillaria* vorkommt. Wenn der Boden sandig wird, ist auch der *Armillaria*-Befall stärker. In der Umgebung von Probe 7 ist kein Baum mehr frei von *Armillaria*. Es ist bekannt, daß sowohl Natriumchlorid, Kalziumkarbonat, als auch andere Stoffe in leichteren Böden viel schneller als in schwereren Böden ausgewaschen werden. Hierauf sind wohl auch die Unterschiede im Vorkommen von *Armillaria* teilweise zurückzuführen.

Tabelle 24.

**Aerdenhout (bei Haarlem). Das Gebiet liegt zwischen „Strandpaal“ 66 und 69.**

Karte: „Ryks Geologische Dienst“. 24. Hillegom. Kwartblad. II. 1927.

Proben-Nr.	Standort	Beschaffenheit der Bodenproben	Angaben der geologischen Karte	CaCO <sub>3</sub> Lufttrocken	Wassergehalt	CaCO <sub>3</sub> in der Trockenprobe	pH	Bemerkungen über das Vorkommen von <i>Armillaria mellea</i>
24	Marienduin	Sandboden mit wenig Humus und einigen Pflanzenwurzeln	Alter Dünenand in den tieferen Lagen mit Muschelschutt, die höheren Lagen verwittert und ausgelaugt	0	—	0	5,08	Einzelne von Rhizomorphen befallene Bäume einige Fruchtkörper
25	Marienhof	Sandboden mit wenig Humus und einigen Pflanzenwurzeln	Grenze des ausgelaugten und nicht-ausgelaugten Gebietes	0,58	1,46	0,59	7,0	Einzelne von Rhizomorphen befallene Bäume, keine Fruchtkörper
26	Der Weg Aerdenhout-Zandvoort	Sandboden mit wenig Humus und einigen Pflanzenwurzeln	Junger Dünenand mit viel Muschelschutt	0	—	0	6,90	Auf zahlreichen Bäumen und Sträuchern Rhizomorphen
27	Dünengebiet a./d. Weg Aerdenhout-Zandvoort	Sandboden mit wenig Humus und einigen Pflanzenwurzeln	Junger Dünenand mit viel Muschelschutt	0,42	0,79	0,42	7,1	Vereinzelt alte Stämme mit Rhizomorphen
28	Dünengebiet a./d. Weg Aerdenhout-Zandvoort	Sandboden, beinahe humusfrei, einzelne Pflanzenwurzeln	Junger Dünenand mit viel Muschelschutt	0,16	0,47	0,16	7,2	Viel totes, junges Krüppelholz, keine Rhizomorphen
29	Dünengebiet a./d. Weg Aerdenhout-Zandvoort	Sandboden, mit wenig Humus, einzelne Pflanzenwurzeln	Junger Dünenand mit viel Muschelschutt	0	—	0	6,66	Vereinzelt junges Krüppelholz, Stämme mit Rhizomorphen



Gleichfalls ist dieser Umstand die Ursache davon, daß keine Unterschiede zwischen den Proben aus 0—15 cm und solchen aus 15—30 cm Tiefe festgestellt wurden. Nur in einigen Fällen, wo der Unterschied größer war, ist er in der Tabelle 24 angegeben.

Der Prozentsatz der armillariakranken Bäume in den ausgelaugten Gründen ist viel höher als der im jüngeren Dünengebiet, was auf den Nährsalzverlust der ersteren zurückzuführen ist. Möglicherweise kann der stärkere Befall aber auch dadurch erklärt werden, daß die alten Gebiete mit Bäumen bepflanzt sind und eine Humusbildung stattgefunden hat, die eine Steigerung des Säuregehaltes des Bodens zur Folge hat. (So berichtet Aaltonen 1925, daß die Reaktionen der Waldböden im allgemeinen zwischen pH 3,5 und 5,5 liegen). Demgegenüber ist der andere Boden nur mit jungem Gestrüpp bewachsen und weist daher nur geringe oder gar keine Humusbildung auf.

Man findet im Dünengebiet nur wenig Fruchtkörper. Eine Ausbreitung der Krankheit durch Sporen ist deshalb praktisch ausgeschlossen. *Armillaria mellea* ist daher in trockenen Gebieten auf Verbreitung durch Rhizomorphen angewiesen, die sich, obwohl trockenresistent, jedoch nur langsam weiterentwickeln.

Tabelle 25.  
Limburg. Gebiet von Maastricht bis Eysden.

Proben-Nr.	Standort	Beschaffenheit der Bodenproben	CaCO <sub>3</sub> lufttrocken	Wassergehalt	CaCO <sub>3</sub> in der Trockenprobe	pH	Bemerkungen über das Vorkommen von <i>Armillaria mellea</i>
30	Eysden	Brauner, krümeliger Lehm, einzelne Pflanzenwurzeln	0	—	0	5,06	Fruchtkörper auf einer Weißdornhecke
32	Eysden	Brauner, sandiger, krümeliger Lehm, ziemlich viele Pflanzenwurzeln	0	—	0	5,89	Einzelne Apfelbäume stark von Rhizomorphen befallen, einzelne Fruchtkörper
34	Mergelhügel bei Maastricht	Brauner, krümeliger Lehm, wenig Pflanzenwurzeln	1,34	3,54	1,39	7,59	Rhizomorphen auf totem Holz, keine Fruchtkörper
35	Mergelhügel bei Maastricht	Brauner, krümeliger Lehm, wenig Pflanzenwurzeln	0	—	0	4,90	Rhizomorphen auf totem Holz, keine Fruchtkörper

Das Gebiet in Limburg wurde untersucht, weil man auch hier karbonathaltige Böden vorfindet. Es fällt auf, daß der Boden viel saurer ist, als man erwarten möchte. Proben 34 und 35 sind einem Mergelhügel entnommen und liegen nur 20 Meter auseinander. Hieraus sieht man, wie gefährlich es ist, aus einzelnen Proben ein ganzes Gebiet beurteilen zu wollen.

Abgesehen von einigen Stellen ist der Prozentsatz der von *Armillaria* befallenen Bäume (Tabelle 26) sehr klein.

Der Unterschied zwischen Probe 20 und 21 ist auffallend, da beide dasselbe pH aufweisen, so daß man meinen könnte, die Anwesenheit von *Armillaria* sei nur vom Kalziumgehalt abhängig. Dem widerspricht aber Probe 23, die deutlich sehen läßt, daß auch ein großer Kalziumgehalt im Boden die *Armillaria*-Entwicklung nicht ausschließt.

Der *Armillaria*-befall ist in Baarn (Tabelle 27) viel stärker als in allen anderen untersuchten Gebieten. *Fagus sylvatica* und *Quercus robur* sind am heftigsten angegriffen, dann *Picea* und vereinzelt auch *Pinus*.



Bergen aan Zee. Gebiet am Hauptweg zwischen „Strandpaal“ 33 und 35. Nach Bijhouwer ist hier das pH 7,2–7,6 und der Ca-Gehalt 10–30 %. Überall findet man *Armillaria*, des öfteren auch fruktifizierend. Bei „Strandpaal“ 34 waren die Bäume stark erkrankt; die hier entnommene Probe ergab ein pH von 6,37 und einen Ca-Gehalt = 0, während Bijhouwer für dieses Gebiet ein pH von 7,2–7,6 und einen Ca-Gehalt von 10–30 % angibt. (Hieraus folgt wiederum, daß sich nur schwerlich aus einzelnen Bodenproben Schlußfolgerungen für ein ganzes Gebiet ziehen lassen. Die „Heerenweide“ bei „Strandpaal“ 35 ist mit Sträuchern (*Quercus robur*) bewachsen. Das pH (nach Bij-

Tabelle 26.

's Gravenhage: Gebiet A. Zwischen „Strandpaal“ 102 und 105 (Scheveningen > Kykduin).

Karte: „Ryks Geologische Dienst“ 30. 's Gravenhage Kwartblad III. 1925.

's Gravenhage: Gebiet B. Zwischen „Strandpaal“ 95 und 98.

Karte: „Ryks Geologische Dienst“ 30. 's Gravenhage Kwartblad IV. 1925.

Probe Nr.	Standort	Beschaffenheit der Bodenproben	Angaben der geologischen Karte	CaCO <sub>3</sub> lufttrocken	Wassergehalt	CaCO <sub>3</sub> in der Trockenprobe	pH <sup>1)</sup>	Bemerkungen über das Vorkommen von <i>Armillaria mellea</i>
Gebiet A								
18	Wald beim Sportplatz 102 und 103	Sandboden mit wenig Humus und einigen Pflanzenresten	Alter Dünen sand in den tieferen Lagen mit Muschelschutt, die höheren Lagen verwittert und ausgelaugt	—	—	—	5,79	Mehrere Bäume m. Rhizomorphen. Einige Fruchtkörper.
19	„Daal en Berg“	Sandboden mit etwas mehr Humus und einigen Pflanzenresten	Wie 18	—	—	—	4,89	Einzelne von Rhizomorphen befallene Bäume
20	„West-Blok“	Sandboden mit sehr wenig Humus	Wie 18	0,23	0,45	0,23	7,1	Keine von Armillaria befallenen Bäume
Gebiet B								
21	<i>Pinus sylvestris</i> -Wald bei dem „strandpaal“ 96	Sandboden mit wenig Humus	Junger Dünen sand mit feinem Muschelschutt	0	—	0	7,0	Viele infizierte Bäume und zahlreiche Fruchtkörper
22	Wald bei den Wasserleitungswerken	Humussandboden mit ziemlich vielen Pflanzenwurzeln	Wie 21	0,17	2,55	0,17	6,40	Einzelne infizierte Bäume und einige Fruchtkörper
23	„Meyendel“	Wie 22	Wie 21	0,61	1,00	0,62	7,1	Mehrere infizierte Bäume und einzelne Fruchtkörper

<sup>1)</sup> Die fett gedruckten Daten zeigten bei der Bestimmung ein schnell sich änderndes pH, wie es nach S. G. Heintze and E. M. Crowther (1927) manganhaltige Bodenproben tun.



Tabelle 27.

## Baarn.

Karte: „Ryks-Geologische Dienst“. 32. Amersfoort. Kwartblad I. 1929.

Proben-Nr.	Standort	Beschaffenheit der Bodenproben	Angaben der geologischen Karte	pH	Bemerkungen über das Vorkommen von <i>Armillaria mellea</i>
1	Eichenkrüppelholz bei Lage Vuursche ( <i>Quercus robur</i> )	Sandboden mit Humus und Pflanzenresten	Grenzgebiet: Aufgestaute, prae-glaziale und linsenförmige Lage von sandigem Kies und gemischtem Lehm in dem Fluvial-glazialen Mantel	4,43	Außergewöhnlich stark infiziertes Gebiet. Alle Stämme infiziert, von unten bis oben mit Fruchtkörpern besetzt
3	<i>Picea excelsa</i> Bäume an dem Weg Baarn—Hilversum	Sandboden mit Humus und Pflanzenresten	Aufgestaute, prae-glaziale, mittelkörnige, bis grobe Sande (Reduzierte Grundmoräne)	4,21	Sehr stark infizierte <i>Picea excelsa</i> -Bäume, sehr viele Fruchtkörper
5	<i>Fagus sylvatica</i> Bäume an der Torenlaan	Sandboden mit Humus und Pflanzenwurzeln, Kieselsteine	Linsenförmige Lage von sandigem, mit Kies gemischtem Lehm in dem fluvialglazialen Mantel	4,37	Außergewöhnlich stark infizierte Bäume von <i>Fagus sylvatica</i> . Sehr zahlreiche Fruchtkörper auf den Wurzeln

houwer) ist hier 7,2—7,6 und 7,0—7,1. Der Ca-Gehalt 10—30 ‰. Der Dünsand enthält sehr wenig Humus, aber viel Muschelschutt. Die Sträucher waren mit *Armillaria* befallen. Auch hatten sich Fruchtkörper auf den aus dem Dünenhügel herausragenden Wurzeln entwickelt.

Im großen und ganzen ergibt sich aus dem eben mitgeteilten, daß *Armillaria* sich sehr gut entwickelt in leichten, sauren Böden (Baarn), weniger gut in leichten alkalischen Böden (s Gravenhage, Aerdenhout) und in schweren, sauren und alkalischen Böden (Limburg), daß der Pilz aber nicht mehr bestehen kann in schweren, alkalischen Böden, die außerdem noch Natriumchlorid enthalten (Zuiderzee).

8. Über das Leuchten von Myzel und Rhizomorphen bei *Armillaria mellea*.

## A. Allgemeines.

Das Leuchten des Holzes ist eine schon seit langem bekannte Erscheinung. Den älteren Forschern aber, wie z. B. Placides Heinrich (1815), war es noch unbekannt, wie das Leuchten der Pilze zustande kommt. Jedoch hat schon er einige interessante Versuche angestellt, bei denen er das Leuchten des Holzes in verschiedenen Flüssigkeiten und Gasen (Wasser, Äther, Alkohol, Stickstoff, Kohlensäure usw.) studierte. Er kommt zur Annahme, daß das Leuchten von der Menge des anwesenden Sauerstoffs abhängig ist. In Übereinstimmung hiermit hat R. Guyot (1927) festgestellt, daß die Anaesthetika (welche bekanntlich die Wirkung von Oxydasen hemmen) die Leuchtfähigkeit herabsetzen oder gänzlich aufheben. Aber auch Antiseptika, wie Phenole und Phenolderivate, Radium usw.



haben denselben Effekt, sodaß in diesen Fällen auch eine direkte Plasmaschädigung eine Rolle spielen kann.

Weiter ist zu erwähnen, daß im Jahre 1853 J. F. Heller darauf hinwies, daß Pilze die Ursache des Holzleuchtens seien.

Brefeld (1877) ist wieder der erste, der das Leuchten von *Armillaria mellea* in Petrischalen beobachtet hat. Er beschreibt, wie zuerst die Rhizomorphen zu leuchten beginnen, wenn sie aus dem Nährboden herausragen; dieses Leuchten ist gering, wird aber stärker, sobald eine Hyphenbildung an den Rhizomorphen stattfindet, weil auch diese Hyphen das Leuchtvermögen aufweisen. Auch beobachtete er, daß das Leuchten aufhört, sobald die Rhizomorphen eine braune Farbe annehmen.

Molisch (1904) gibt über diese Fragen eine ausführliche Literaturzusammenfassung. Zugleich fragt er sich, ob das Leuchten von dem Faulen des Holzes, also von einem chemischen Prozeß, oder von einem physiologischen Prozeß (in der Weise, daß das Leuchten vom Pilze selbst verursacht wird) abhängig ist. Er meint, daß die letzte Auffassung die richtige ist, daß also nicht Bakterien die Ursache des Leuchtens sind. Auch Guyot (1927, 1928) kommt zur gleichen Ansicht, weil über leuchtendes Mycel gegossenes Wasser nicht leuchtet, obwohl das Leuchten des Myzels aufhört. Auch können keine Bakterien in dem Wasser nachgewiesen werden.

Ferner stellt Molisch fest, daß das Leuchten nur stattfindet bei Anwesenheit von Sauerstoff und deshalb als ein oxydativer Prozeß anzusehen ist. (Siehe oben.) Auch hat Molisch das Spektrum des vom leuchtenden Pilz produzierten Lichtes untersucht und festgestellt, daß ein kontinuierliches Spektrum vorliegt. Höhere Pilze haben im Vergleich zu Bakterien ein sehr schmales Spektrum. Bei Pilzen dominieren die grünen Strahlen, nach der Seite von Gelb und Grün findet eine starke Intensitätsabnahme statt.

Nur beiläufig wird das Leuchten des Pilzes beschrieben von C. Mez (1908), und Buller (1924).

## B. Versuche.

Im Abschnitt 4 des morphologischen Teiles wurde der Einfluß verschiedener Nährböden auf das Wachstum von *Armillaria mellea* behandelt. In Verbindung mit diesen Untersuchungen konnte ich auch feststellen, welchen Einfluß dieselben Nährböden auf das Leuchtvermögen des Pilzes hatten.

Bothe (1928) gibt an, daß die äußeren Umstände auf das Leuchten des Pilzes einen viel größeren Einfluß als auf sein Wachstum ausüben. Weiter stellt er fest, daß bei Anwesenheit von Alkalichloriden, -sulfaten und -nitraten ein stärkeres Leuchten als bei Anwesenheit von Ammoniumsalzen zu beobachten ist. Auch mit 0,001—0,00001 % Zinksulfatlösung, mit Glyzerin oder Fruktose statt Saccharose kann ein erhöhtes Leuchten erzielt werden.

In Übereinstimmung damit leuchtete auf den von mir untersuchten Agarböden das Myzel auf Pepton-Glukose-Saccharose-Agar, Bierwürze-Salep-Agar und X-Agar (in 80 % der Kulturen wurde das Leuchten wahrgenommen). Dann folgen Bierwürze und Sabouraud-Agarkulturen. Hier leuchteten 60 % der Kulturen. Auf Kirschagar wurden nur in einigen Fällen kleine leuchtende Stellen beobachtet; stets waren dies nur Rhizomorphenspitzen.



Wenn man diese Tatsachen mit dem in Abschnitt 4 (S. 466) des morphologischen Teiles Mitgeteilten vergleicht, so sieht man, daß die Bildung von Fruchtkörpern und das Leuchten einander parallel verlaufen. Dies ist z. B. deutlich aus den Versuchen mit Brotkulturen ersichtlich. Allgemein wird angegeben (Molisch 1904, Kniep 1911, Bothe 1928, Falck 1930, u. a.), daß *Armillaria* sich am besten auf Brotböden entwickelt; tatsächlich wurde in diesen Fällen sehr starkes Leuchten beobachtet. Auf Bierwürze und Sabouraud-Agar bildeten sich nur selten Fruchtkörper, obwohl die Myzel- und Rhizomorphenbildung nicht hinter der von Kulturen auf Pepton-Glukose-Saccharose-Agar, Bierwürze-Salep-Agar und X-Agar zurücksteht. Auch die Prozentzahl „Leuchten“ war in Übereinstimmung mit dem oben Gesagten kleiner. Es sieht so aus, als ob die für die Fruchtkörperbildung weniger günstigen Wachstumsbedingungen auch eine Erniedrigung der Prozentzahl „Leuchten“ bedingen. Bei Kirschagar ist die Luftmyzelbildung sehr gering, dagegen findet man reiche Rhizomorphenbildung. Es zeigt sich, daß die beobachteten leuchtenden Punkte von Rhizomorphen herrühren, die aus dem Agar hervorragen.

Es ist bekannt, daß das Leuchten von *Armillaria* auf künstlichen Nährböden nicht überall gleich stark ist. Einige Stellen leuchten stark, andere wenig oder gar nicht. Bothe sagt hierzu: „Dies rührt wohl daher, daß beim *Agaricus melleus* Myzel und Rhizomorphen nebeneinander vorhanden sind, die selbst verschieden stark leuchten.“ Aus dieser Bemerkung geht m. E. keine Erklärung für die Tatsache, daß in einem gleichmäßig ausgebildeten Luftmyzel eine Stelle gut, eine andere schwach oder gar nicht leuchtet, hervor.

In Zweigkulturen wurde ein starkes Leuchten beobachtet. Die Herstellung dieser Kulturen ist in Abschnitt 4 des morphologischen Teiles schon mitgeteilt. Nachdem diese Kulturen 11 Tage bei 25° C gezüchtet waren, war das erste Leuchten zu sehen. Dabei leuchtet nicht das ganze Pilzgewebe gleichmäßig; vielmehr kann man nach einiger Zeit deutlich feststellen, daß nur die Rhizomorphenspitzen und das Myzel, das sich an der Oberfläche entwickelt hat, leuchten.

Auf flüssigen künstlichen Nährböden wurde ein Leuchten niemals gesehen. Sehr wahrscheinlich rührt das daher, daß die Wachstumsbedingungen in diesem Falle ungünstig sind, was z. B. auch daraus ersichtlich wird, daß durch das erforderliche regelmäßige Überimpfen des Myzels auf die flüssigen Nährböden die Rhizomorphenbildung gehemmt wird, um schließlich ganz zu verschwinden. Impft man das Myzel ohne Rhizomorphen wieder auf Agarböden oder Holzsubstrat, dann bilden sich die Rhizomorphen von neuem. Sie sind erst klein und dünn, aber bei regelmäßigem Überimpfen entwickeln sie sich nach und nach völlig normal. Die Parallelität der Entwicklung von Rhizomorphen und das Vermögen des Leuchtens bietet schon eine mögliche Lösung des Problems. So entwickelte sich auf



Maismehl-, Hafermalz- und Erdnußagar-Nährböden wohl ein gutes Myzel, aber keine Rhizomorphen, und hier konnte auch kein Leuchten festgestellt werden. Es wäre nicht unmöglich, daß es einen Stoff gibt, dessen An- oder (bei Hemmung) Abwesenheit das Leuchten bedingt und der das Verhalten des Pilzes auf allen drei genannten Nährböden erklärt.

Außerdem hätte man hier vielleicht ein gutes Objekt, um die Faktoren, von denen das Leuchten abhängig ist, feststellen zu können.

## 9. Anaerobiose.

### A. Allgemeines.

Über den Einfluß von verschiedenen Gasen und Gasdrucken auf das Wachstum von Pilzen liegen mehrere Untersuchungen vor.

Eine ausführliche historische Literaturübersicht mit kritischen Betrachtungen gab Bavendamm (1927). Es sei deshalb nur folgendes gesagt: R. Falck (1926) hat die Vermutung ausgesprochen, daß Basidiomyceten anaerob leben können, „worauf schon aus ihrem Wachstum im Kernholz lebender Bäume unabhängig von jeder Luftzufuhr geschlossen werden kann“.

Münch kommt in seinen Untersuchungen (1907, 1908) zur Schlußfolgerung, daß nur das Wasser bzw. der Luftgehalt des Holzes ausschlaggebend für Pilzbefall sind. Die meisten Pilze sind sehr sauerstoffbedürftig und nicht fähig, in wassergesättigtes Splintholz einzudringen, da ihnen die nötige Luft fehlt.

*Stereum purpureum* braucht z. B. sehr wenig Sauerstoff, während *Agaricus melleus* deshalb eine Ausnahme macht, weil die Rhizomorphen Sauerstoff transportieren und der Pilz hierdurch in der Lage ist, in luftarme Gewebe einzudringen.

W. Bavendamm (1928) hat den Einfluß verschiedener Gase und Gaskonzentrationen auf das Wachstum von 32 Holzpilzen untersucht. Für *Armillaria* hat er festgestellt, daß der Pilz noch bei  $\frac{1}{16}$  Atmosphärendruck wächst, während das Myzel von *Saprophyten* schon bei  $\frac{1}{8}$  Atmosphärendruck naß und schleimig wird und nur noch sehr langsam weiter wächst. Die meisten Pilze ertragen sehr niedrige Luftdrucke. *Armillaria* lebt z. B. noch, wenn er 14 Tage ohne Sauerstoffzutritt kultiviert wird.

Bavendamm's allgemeine Schlußfolgerungen über die von ihm studierten Pilze sind, daß 19%  $\text{CO}_2$  das Wachstum hemmen und bei  $\text{CO}_2$ -Konzentrationen von mehr als 80% kein Wachstum mehr möglich ist.

### B. Versuche.

Ich habe versucht, die folgenden Fragen zu lösen: 1. Ist die Vermutung Falks richtig, daß die Basidiomyceten anaerob leben können? 2. Können Rhizomorphen Sauerstoff transportieren, wie Münch behauptet? Um die Pilze in Abwesenheit von Sauerstoff zu züchten, wurden sie in eine Stickstoff-Atmosphäre gebracht.

#### I. Kulturversuche in einer Stickstoff-Atmosphäre.

Die Versuchsanordnung ist in Abb. 9 dargestellt: A = Stickstoff-Zylinder, B, C, D und E = Pettenkofer-Röhren mit alkalischer Pyrogallol-Lösung, F und G = Waschflasche mit alkalischer Pyrogallollösung, H = Waschflasche mit Aqua destillata, I, K usw. = Erlenmeyerkölbchen.

Der Stickstoff aus dem Zylinder enthielt etwa 2% Sauerstoff. Die Sauerstoffbestimmung wurde mit einer Jordan-Pipette (Jordan, 1927) ausgeführt. Nachdem der



Stickstoff durch die Pyrogallollösungen geleitet war, war er sauerstofffrei; er strömte dann durch destilliertes Wasser und nachher durch die Erlenmeyerkolben, welche die Nährlösungen enthielten.

In jedes Kölbchen wurden 25 cem Grundlösung vom pH 5 gebracht und ein Stückchen Myzel von 10 mm Größe übergeimpft. Durch das Röhrchen a wird der Stickstoff herangeführt; dieses Röhrchen ragt durch den durchbohrten Gummipfropf in die Nährlösung b hinein.

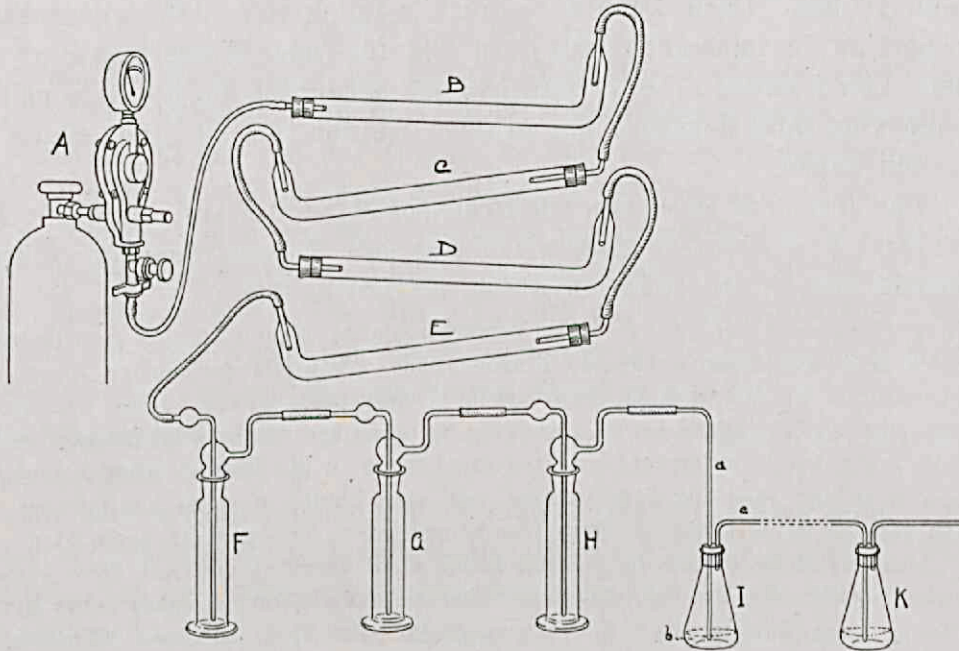


Abb. 9.

lösung b hinein. Der Stickstoff verläßt durch das Röhrchen c den ersten Kolben und gelangt dann in den zweiten usw.

Die Versuchsdauer war sechs Wochen.

Das Myzel zeigte nicht das geringste Wachstum. Wurden die Nährlösungen danach aber mit Luft versorgt, so trat schon nach sechs Tagen ein deutliches Myzelwachstum ein.

Schädlich scheint die Stickstoffatmosphäre für das Myzel nicht zu sein. Mit diesem Versuch ist bewiesen, daß das Myzel von *Armillaria* nicht anaerob leben kann.

## II. Der Sauerstofftransport in den Rhizomorphen.

Aus den vorher beschriebenen Versuchen kann man die Schlußfolgerung ziehen, daß das Myzel von *Armillaria* nicht ohne Sauerstoff wachsen kann. Nach Münch (1909) ist aber das Myzel doch imstande, ohne Sauerstoff zu wachsen, wenn es mit den Rhizomorphen damit in Verbindung steht, weil die Rhizomorphen die Fähigkeit haben sollen, den Sauerstoff zu transportieren.

Münch schnitt in Agar wachsende Rhizomorphen durch und sah, daß das Wachstum sofort aufhört, weil die Verbindung mit der sauerstoffreichen Luft dadurch unterbrochen wurde. Auch wenn auf die Agarkulturen Wasser gegossen wurde, hörte das Wachstum des Myzels und der Rhizo-



morphen sofort auf. Durch den Sauerstofftransport mittels der Rhizomorphen ist *Armillaria* also fähig, in wassergesättigtes oder auf andere Weise von Sauerstoff befreites Holz (z. B. Kernholz) einzudringen.

Der Transport soll durch Kanäle geschehen. Im Rhizomorphen-Querschnitt sind viele Öffnungen zu sehen, welche schon Brefeld (1877) abgebildet hat. Doch könnte es auch möglich sein, daß der Sauerstofftransport im Zusammenhang mit dem Nährstoff- oder Wassertransport stattfindet. Von Brefeld (1877) wird nämlich behauptet, daß die Rhizomorphen solange vom Infektionsherd aus ernährt werden, bis sie einen neuen Wirt gefunden haben.

Das Problem des Sauerstofftransports wurde auf dreierlei Arten untersucht und zwar im Zusammenhang mit Wassertransport, Nährstofftransport und reiner Diffusion durch die Luftkanäle.

1. Wassertransport. Als Versuchsmaterial dienten frische im Boden und zwischen Holz und Rinde wachsende Rhizomorphen. Beim Durchschneiden dieser Rhizomorphen stellte ich fest, daß sie einen hohen Wassergehalt hatten. Diese Rhizomorphen wurden mit der Schnittfläche in eine 0,001 % wässrige Methylenblaulösung gebracht. Nach 5 Tagen wurde untersucht, wie tief die Lösung in die Rhizomorphen eingedrungen war. Nur in der Nähe der Schnittfläche war eine Blaufärbung zu konstatieren; schon 0,5 cm von der Schnittfläche entfernt war keine Spur mehr davon zu beobachten.

Daß das Methylenblau an sich die Zellen nicht vergiftet und auf diese Weise den Wassertransport verhindert hat, geht daraus hervor, daß die Rhizomorphen in der Methylenblaulösung neue Rhizomorphen bildeten, und daß das Myzel in einer Nährlösung mit 0,001 % Methylenblaulösung weiterwuchs.

2. Nährstofftransport. Die Versuche wurden folgendermaßen ausgeführt. Einige große Petrischalen wurden mit Kirsch- oder Peptonagar gefüllt und in diese Schalen kleinere Petrischalen mit 2 % Agar-Agar, Wasser oder einer Nährlösung (der Grundlösung S. 469) ohne Stickstoff gesetzt. Die Rhizomorphen waren für den Versuch in halbfesten Kirschagarböden kultiviert worden, aus denen sie nach Erreichung einer Länge von 4—5 cm leicht ohne Beschädigung herausgenommen werden konnten. Um sie von anhaftenden Nährbodenresten zu befreien, wurden sie in sterilem Wasser abgespült. Die Rhizomorphen wurden nunmehr mit der einen Seite auf Kirschagar und mit der anderen in die kleinen Schalen gebracht. Bei 50 % der Versuche wurden die Spitzen der Rhizomorphen auf Kirschagar gelegt, bei den anderen 50 % die Basis. Für jeden Versuch sind 8 Rhizomorphen benutzt worden.

Nach 6 Monaten waren die Rhizomorphen auf der Seite mit der sie in den nährstoffarmen Substraten steckten, nicht gewachsen. Auf dem 2 % Agar-Agar hatte sich ein sehr dünnes Myzel gebildet.

Dasselbe Resultat ließ sich auch bei Kontrollversuchen feststellen, wo den Rhizomorphen nur der 2 % Agar als Nährstoff zur Verfügung stand. Vielleicht ist die Bildung dieses Myzels sehr geringen Nährbodenresten zuzuschreiben, welche trotz des Abspülens an den Rhizomorphen haften geblieben waren.

Wie auf S. 465 beschrieben ist, treten die Rhizomorphen aus den Agarböden aus. Diese Rhizomorphen bleiben nun immer sehr kurz (kleiner als 0,5 cm). Ein Austrocknen konnte die Ursache dieser Wirkung sein. Doch blieb das Resultat aber dasselbe, wenn für den O<sub>2</sub>-Transport die Petrischalen in eine feuchte Kammer gesetzt wurden. Auch die Nährstoffzufuhr kann also nicht in Frage kommen, weil sie so gering ist, daß nicht einmal die Rhizomorphen, die sich selbst nicht ernähren können, auswachsen.



Aus den Versuchen 1 und 2 geht hervor, daß Wasser- oder Nährstofftransport für die Sauerstoffleitung nicht in Betracht kommen. Es bleibt also nur die Annahme übrig, daß der Sauerstofftransport durch die Interzellularen stattfindet.

### Sauerstofftransport durch die Luftkanäle der Rhizomorphen.

Zunächst wiederholte ich die von Münch beschriebenen Versuche.

1. Wenn Rhizomorphen in Agar hineingewachsen waren, wurden sie zirka 0,5 cm von der Oberfläche entfernt durchgeschnitten. Das Wachstum des im Agar befindlichen Stückes hörte dann auf.
2. Nachdem sich an der Oberfläche des Agars Myzel und im Nährboden Rhizomorphen gebildet hatten, brachte ich auf diese Kulturen steriles Wasser, bis alle Pilstteile untergetaucht waren. Sofort wurde das Wachstum des Myzels und der Rhizomorphen sistiert.

In beiden Fällen tritt aber eine Schädigung auf, im ersten Falle bei den Rhizomorphen, im zweiten am Myzel. Dieser Umstand beeinträchtigt den Wert dieser Versuche.

Aus seinen Untersuchungen über die Fähigkeit verschiedener Pilze, in wassergesättigtes Holz einzudringen, zieht Münch (1908) den Schluß, daß diese auch bei *Armillaria* vorhandene Fähigkeit nur durch den Sauerstoff-Transport mittels der Rhizomorphen erklärt werden kann.

Es wäre jedoch auch möglich, daß das Myzel und die Rhizomorphen sehr wenig O<sub>2</sub>-bedürftig sind und deshalb selbst durch den geringen Sauerstoffgehalt des wassergesättigten Holzes zu weiterem Wachstum befähigt werden.

Zur Prüfung der Frage, ob ein Weiterwachsen der Rhizomorphen oder eine Myzelbildung in sauerstoffarmer Umgebung stattfinden kann, wenn es durch irgend welches Gewebe mit einem sauerstoffhaltigen Milieu in Verbindung steht, stellte ich die folgenden Versuche an.

Abb. 10 zeigt die dafür benutzte Apparatur.

Die Probegläser A und B sind mit Gummipfropfen versehen. Durch Löcher in dem Gummipfropfen des Glases A sind die Röhren c und d eingeschoben. Das Rohr c, das auch durch den Gummipfropfen von Rohr B geführt ist, bildet eine Kommunikation zwischen Gefäß A und B. Das Röhren e ragt tief in das Rohr B hinein. Das Röhren f ist sehr kurz und ragt nur oberflächlich in das Gefäß B hinein. Die Probegläser A und B werden mit Brot gefüllt und die kleinen Röhren mit Wattenpfropfen versehen; sodann wird alles eine Stunde lang bei 0,5 Atmosphäre Überdruck sterilisiert. Das Röhren c, in das dünne Ulmenzweige eingeführt sind, die an beiden Seiten 3 bis 4 cm weit hervortreten, wird gesondert sterilisiert (1 Stunde bei 1 Atmosphäre Überdruck). Dann wird Röhren c durch die Löcher der Gummipfropfen hindurchgeführt, der Gummipfropfen von Glas A sehr vorsichtig abgehoben und ein Stückchen Myzel auf das aus dem Röhren c hervorragende Ulmenzweigstück übergeimpft.

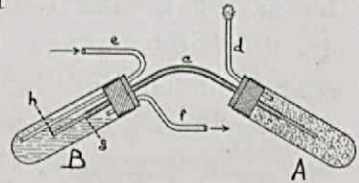


Abb. 10.



Nach Verlauf von zirka zwei Monaten sind die Rhizomorphen von Glas A aus durch den Ulmenzweig nach Glas B gewachsen. Jetzt wird das mit Brot gefüllte Probeglas B durch ein neues Glas ersetzt, in welchem sich Kirschdekokt oder Kirschagar befindet.

Das aus Rohr c heraustretende Zweigstück ragt in den Kirschdekokt oder Kirschagar hinein. Durch die Kirschdekokt-Nährlösungen und über die Kirschagar-Nährböden wird jetzt  $O_2$ -freier Stickstoff geleitet. (Die Versuchsanordnung war dieselbe wie die auf Seite 507 beschriebene.)

Der Stickstoff wird durch das Röhrchen c eingeführt, um durch das Röhrchen f, nachdem er durch die Nährlösung gegangen ist, wieder entfernt zu werden. Dann wird der Stickstoff auf gleiche Weise durch die anderen Apparate geleitet. Ist der Stickstoff durch vier Kulturlösungen gegangen, so muß er erst wieder eine Flasche mit Pyrogallol und eine Flasche mit Wasser passieren.

Nachdem der Stickstoff zwei Wochen lang durchgeströmt war, wurden Myzel oder inzwischen ausgewachsene Rhizomorphen entfernt, weil es ja hätte möglich sein können, daß der noch im Holze befindliche Sauerstoff der Anlaß zu diesem Wachstum gewesen war.

Nachdem sich die Zweige zwei Wochen lang in der sauerstofffreien Lösung aufgehalten haben, darf man wohl annehmen, daß das Holz praktisch sauerstofffrei ist. Jetzt erst wird der eigentliche Versuch über den Sauerstofftransport angesetzt, der acht Wochen dauerte.

Bei diesem Versuch sind zwölf Probegläser B (siehe S. 507), welche mit Kirschdekokt gefüllt waren und fünf Probegläser B, die mit Kirschagar gefüllt waren, verwendet worden. Zur Kontrolle dienten vier Kölbchen, die auf dieselbe Weise vorbereitet waren, wie beim vorhergehenden Versuch beschrieben (siehe S. 507).

In der Kirschdekoktreihe bildete sich in zehn Fällen an der Stelle g, wo der als Substrat dienende Zweig aus dem Glasröhrchen c austritt, ein Kranz von kleinen Rhizomorphen. Dies ist vielleicht dadurch zu erklären, daß der Diffusionsweg von dem sauerstoffreichen zum sauerstoffarmen Raum sehr klein ist.

In drei Röhren wuchsen einzelne Rhizomorphen bis zu einer Länge von etwa 1 cm aus. An der Stelle n, dem äußersten, tief in die Nährlösung hineinragenden Teil des Zweiges, entstanden in vier Röhren kleine, 1 bis 2 mm große Rhizomorphenspitzen.

In fünf Röhren entwickelte sich Myzel auf dem in die Nährlösung hineinragenden Ästchen. In den Gläsern B, welche mit Kirschagar gefüllt waren, wuchsen die Rhizomorphen in den Agar aus. Die größten Rhizomorphen hatten eine Länge von 1,5 cm, während in den Kontrollversuchen eine Länge von 5 cm erreicht wurde.

Das Myzel in den Kölbchen (S. 507), in denen jede Verbindung der Rhizomorphen mit einem sauerstoffreichen Raume fehlte, war gar nicht gewachsen.

Aus diesen Versuchen ergibt sich also, daß tatsächlich eine Sauerstoffversorgung des Myzels unter Mitwirkung der Rhizomorphen stattfindet, außerdem aber auch, daß ein Fehlen des Sauerstoffs die Bildung von Myzel und Rhizomorphen hemmt.

Daß der Sauerstoffmangel für das Wachstum der Rhizomorphen in Agarböden ein beschränkender Faktor sein kann, ist daraus ersichtlich,



daß in Agarböden von 10 cm Dicke oder mehr die Rhizomorphen nie bis zum Boden des Gefäßes reichen.

In Bezug auf den Sauerstofftransport wurde schließlich noch ein anderer Versuch ausgeführt. In einen 100 ccm Erlenmeyerkolben wird eine Spirale (S) gebracht, die an der Oberseite eine Öse hat. Das Ganze wird trocken sterilisiert, sodann der Kolben mit einer 2–3 cm dicken Schicht Kirschagar (k) versehen. Durch die Öse der Spirale bringt man eine Rhizomorphe (r), welche mit einer Spitze in die Kirschagar hineinragt. Dann wird auf den Kirschagar eine Schicht Öl (o) gegossen und damit der Agar völlig von der Luft abgeschlossen. Transportieren die Rhizomorphen den Sauerstoff, dann muß die Rhizomorphenspitze sich in dem von der Luft abgeschlossenen Kirschagar weiter entwickeln können.

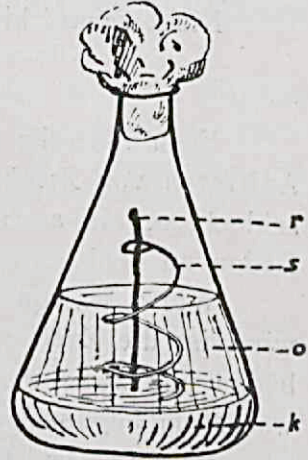


Abb. 11.

Der Versuch zeigte, daß nach zwei Wochen bei drei Rhizomorphen ein Wachstum zu beobachten war. Die Luft, welche durch die Rhizomorphen herangebracht wird, genügt also, um ein Weiterwachsen in dem von der Luft abgeschlossenen Agarboden zu ermöglichen, wenn auch nicht über große Abstände. Es würde sich lohnen, durch eine genauere Untersuchung festzustellen, inwieweit hierbei eine weitere Entwicklung des Pilzes von der Länge des Diffusionsweges abhängig ist.

#### 10. Parasitismus oder Saprophytismus von *Armillaria mellea*.

Früher glaubte man, daß *Armillaria mellea* nur auf abgestorbenem Holz wachse. So ergibt sich auch aus der Übersicht der forstlichen Literatur über *Armillaria* von Hartig (1874), daß man die Ursache für das plötzliche, von Harzausfluß begleitete Koniferensterben in einem übermäßigen Harzgehalt, in einer Behinderung der Fortbewegung harziger Säfte usw. suchte. Hartig (1874) selbst hat dann zuerst *Armillaria* als Erreger dieser Krankheit erkannt. Man kam zu der Einsicht, daß der Pilz auch lebende Bäume befallen konnte, und somit wurde *Armillaria* zum Parasiten erklärt. Unter welchen Umständen der Pilz aber als virulenter Parasit auftreten kann, ist eine Frage, die bis jetzt noch nicht gelöst ist, und die nur durch eingehende Infektionsversuche entschieden werden kann. Auf die Unvollkommenheit der Infektionsversuche habe ich schon auf Seite 494 hingewiesen. Trotzdem wurden für das Sterben von Bäumen im Freien immer wieder mehr oder weniger begründete Ursachen angegeben. Dabei wird meistens der gleiche Fehler begangen, daß man nämlich stets nach den für die Bäume ungünstigen Wachstumsbedingungen sucht, während auf die für den Pilz im Boden günstigen Wachstumsbedingungen nicht geachtet wird.



## A. Faktoren, die das Auftreten von *Armillaria mellea* begünstigen.

### I. Klimatologische Verhältnisse.

Nach Hartig (1874) haben diese Verhältnisse keinen Einfluß auf das Auftreten von *Armillaria mellea*, weil Bäume das ganze Jahr hindurch absterben können. Am Weinstock hat L. Ravaz (1929) konstatiert, daß Fröste die Infektionsmöglichkeit durch *Armillaria mellea* fördern.

Nicht scharf hiervon geschieden sind:

### II. Bodenverhältnisse.

Nach Hartig (1874) beeinflussen auch diese Verhältnisse nicht das Auftreten von *Armillaria mellea*, weil die Krankheit sowohl auf guten und schlechten, als auch auf feuchten und trockenen, schweren und leichten Böden zu beobachten ist.

Wie z. B. von B. J. Haskell (1929) und W. R. Day (1929) erörtert wird, ist die Entwicklung des Pilzes besonders stark in Anlagen auf Waldböden und zwar wegen der in solchen Waldböden vorhandenen das Pilzwachstum begünstigenden Holzreste.

C. Bernard (1922) gibt an, daß *Armillaria* häufig in Anlagen auf Waldböden auftritt, jedoch nach 6—8 Jahren Kultivierung des Bodens wieder verschwindet.

Falck (1923) behauptet, daß er ein beträchtliches Absterben von Eichen gefunden hat auf Sandböden mit starker Ortsteinbildung, auf Moorbruchböden und auf früheren Ackerböden. Auch er ist der Ansicht, daß es sehr schwer ist, aus Bodenproben Rückschlüsse auf das Vorkommen von *Armillaria* zu ziehen.

In Frankreich ist die *Armillaria*-Krankheit bei *Juglans regia* von M. Gard untersucht worden. Nach seinen Angaben (1925, 1928) tritt sie häufig auf festem Tonboden und viel weniger häufig auf trockenem Kalkboden auf.

Wo mehr als 25 % Kalk im Boden anwesend ist, hat er niemals *Armillaria mellea* gefunden. Nach den Untersuchungen in Abschnitt 7, in denen mehrere Bodenarten auf das Vorkommen von *Armillaria* miteinander verglichen wurden, ist das Pilzwachstum am häufigsten auf saurem Sandboden und am geringsten auf alkalischen Böden.

Bodenfeuchtigkeit scheint auch die Infektion der Bäume durch *Armillaria* zu begünstigen. Darauf weisen mehrere Autoren hin, so z. B. C. Frömbli (1915), M. E. Miège (1920), M. Wilson (1921), M. Gard (1927), R. W. Marsh and R. M. Nattrass (1927), S. Leefmans (1927), (1927), H. A. Dade (1927).

Bodentrockenheit scheint gleichfalls die Infektionsmöglichkeit zu erhöhen. Jedenfalls erwähnen verschiedene Autoren diesbezügliche



Beobachtungen, wie z. B. Baumgarten (1913), Baltz (1918), R. L. Robinson (1927), G. & Mme Arnaud (1927), E. Rosella (1929).

Die bezüglich dieser letzten beiden Faktoren ausgeführten Untersuchungen sind aber so wenig vollkommen, daß man derartigen Untersuchungen keinen allzugroßen Wert beimessen darf. Es wird hier nämlich von Bodenfeuchtigkeit und Bodentrockenheit gesprochen, ohne daß dabei der Wassergehalt des Bodens angegeben wird. Ferner haben solche Beobachtungen auch dann nur einen Wert, wenn man außer diesen Faktoren auch die Beschaffenheit des Bodens, das pH usw., beachtet.

Es ist schwer, sich über den Einfluß der biologischen Verhältnisse ein Urteil zu bilden, weil z. B. Tierfraß, Befall von irgendwelchen Parasiten und andere Umstände auf verschiedenen Wegen die Disposition der Pflanzen ändern können.

### III. Biologische Verhältnisse.

Nach Falck (1918, 1923), P. Georgovitch (1926), M. Yossifovitch (1926), W. R. Day (1927), R. L. Robinson (1927) und L. S. Osmaaston (1927) ist das große Eichensterben der letzten Jahre zunächst *Microsphaera quercina* zuzuschreiben, wodurch die Bäume so geschwächt werden, daß sie dann leicht von *Armillaria* befallen werden können. Es besteht also die Ansicht, daß Bäume, nur nachdem sie durch irgendwelche Umstände geschwächt sind, von *Armillaria* befallen werden können. Der Pilz wird deswegen als Schwächeparasit bezeichnet. Man muß aber bedenken, daß mit einer derartigen Benennung nicht das eigentliche Problem des Parasitismus gelöst ist, sondern vielmehr nur die Schwierigkeiten verschoben worden sind.

### IV. Biologische Rassen von *Armillaria mellea*.

Untersuchungen über das Vorkommen von biologischen Rassen bei *Armillaria mellea* sind kaum ausgeführt worden. Unsere Kenntnisse beschränken sich in dieser Hinsicht auf vereinzelte Mitteilungen.

Über morphologisch verschiedene *Armillaria*-Rassen berichtete z. B. Falck (1923), der zwei derartige *Armillaria*-Rassen kultivierte, die Differenzen zwischen beiden aber nicht angibt. M. Gard (1926) hat bei *Juglans regia* eine *Armillaria*-Rasse gefunden, die sich morphologisch von der bekannten gewöhnlichen Rasse unterscheidet. Die Carpophoren der neuen Rasse sind dunkler gefärbt, dabei kürzer und dicker. Mit zwei physiologisch verschiedenen *Armillaria*-Rassen haben L. Childs and M. Zeller (1929) Versuche angestellt. Eine dieser Rassen wurde gefunden auf Wurzeln von Koniferen, besonders auf *Pseudotsuga Douglasii*, und deswegen „fir strain“ genannt. Die andere Rasse trat auf Eichen auf und wurde deshalb als „oak strain“ bezeichnet. In Boden, wo früher von *Armillaria* befallene Koniferen und Eichen wuchsen, pflanzten sie Äpfel-, Pflaumen- und Nuß-



bäume. Es zeigte sich, daß auf Böden, in denen alte Eichenwurzeln anwesend waren, die Bäume von *Armillaria* befallen wurden, während im Boden, der Koniferenwurzeln enthielt, die Bäume gesund blieben.

Die Autoren folgern aus diesen Untersuchungen, daß der „fir strain“ saprophytisch und der „oak strain“ parasitisch disponiert ist.

Diese Schlußfolgerung ist nicht ganz richtig, weil der „fir strain“ gerade parasitisch auf *Pseudotsuga* lebt. Das einzige, was aus diesen Versuchen hervorgeht, ist die Tatsache, daß hier zwei physiologisch verschiedene Rassen vorliegen, welche nach den genannten Autoren keine morphologischen Verschiedenheiten aufweisen. Daß ferner die amerikanische, auf Koniferen wachsende *Armillaria*-Rasse von der entsprechenden europäischen Rasse verschieden ist, geht aus der folgenden, von Westerdijk (1912—1917) mitgeteilten Beobachtung hervor: Kirschbäume, die auf Böden gepflanzt wurden, wo früher von *Armillaria* befallene Koniferen gestanden hatten, wurden durch diesen Pilz abgetötet.

Schließlich möchte ich noch erwähnen, daß in der Literatur mehrere Fälle bei Koniferen und bei Laubbäumen erwähnt werden, in denen trotz Eindringen von Myzel und Rhizomorphen die Bäume nicht zu Grunde gingen, sondern der Pilz sogar nach einigen Jahren wieder verschwunden war. (Vgl. Geschwind 1920, Berger 1922, Reginald Buller 1924, Eklund et Wenmark 1925, Day 1927, Schmitz and Jackson 1927.) Die Faktoren, die hierbei eine Rolle spielen, sind indessen noch ganz unbekannt.

## V. Definitionen.

Infolge der gegenwärtigen unvollkommenen Kenntnis des Parasitismus bei *Armillaria mellea* ist durch die abweichenden Auffassungen verschiedener Autoren hinsichtlich der Stellung des Pilzes als Parasiten eine große Verwirrung entstanden.

Es scheint mir deshalb nicht überflüssig, diesbezüglich einige Bemerkungen anzuführen. Erstens muß man der Tatsache Rechnung tragen, daß eine Bezeichnung des Parasitismus von der jeweiligen Definition stark abhängig ist. Durch Beobachtungen sind z. B. Falck (1923) und Day (1929) zu der Schlußfolgerung gekommen, daß *Armillaria* ein sekundärer Parasit ist. Fischer und Gäumann (1929) verstehen unter einem sekundären Parasiten einen wirtschaftlich schädlichen Pilz, für den der Eingang mechanisch durch primäre Parasiten, die zwar unter den gegebenen Umständen nicht sehr schädlich sind, geschaffen worden ist. Hält man sich an diese Definition, dann muß sekundärer Parasitismus für *Armillaria* ganz abgelehnt werden, weil aus den Untersuchungen von Brefeld (1877), Zeller (1926), Day (1927), Thomas (1929) und Rayner (1930) die Schlußfolgerung gezogen werden darf, daß *Armillaria* durch die gesunde



Rinde hindurch die Wurzeln befallen kann. Ebenso folgt hieraus, daß die Bezeichnung „Wundparasit“, wie sie von Fischer und Gäumann (1929) gegeben wird, für *Armillaria mellea* nicht allgemein gültig ist.

Eine unzureichend begrenzende Definition über sekundären Parasitismus wird von Day (1929) gegeben. Er versteht unter einem sekundären Parasit: „that is always secondary to some other factor acting as the primary cause of disease.“

Jetzt ergibt sich aber die Frage, welche Faktoren man als primäre Ursachen der Krankheit bezeichnen muß und darin geht Day meines Erachtens viel zu weit (siehe Day, 1929, S. 101).

Auch Falck (1923) macht denselben Fehler. Obwohl er sagt: „ob der Pilz, was nach meinen Beobachtungen am wahrscheinlichsten ist, diejenigen Wurzelstöcke, die er später abtötet, schon vorher am gesunden Baum in gewisser Art befallen hatte...“, betrachtet er *Armillaria* doch als sekundären Parasit. Hält man sich an die bestehende Definition, z. B. von Fischer und Gäumann (1929), dann muß man *Armillaria* als fakultativen Parasiten bezeichnen. Als Definition für fakultativen Parasitismus geben die beiden Autoren an:

„Man kennt Pilze, deren gewöhnliche Lebensweise saprophytisch ist, die aber unter gewissen Umständen auch auf lebende Gewebe übergehen können.“ Um aber der Definition von Fischer und Gäumann (1929) gegenüber eine weitere Entscheidung treffen zu können, müssen wir noch eine Arbeit Münchs (1929) in Betracht ziehen. Er nennt *Armillaria mellea* einen fakultativen Perthophyt: „Perthophyten sind Organismen, welche lebende Pflanzen befallen, aber nur von totem Gewebe leben, das sie entweder selbst getötet haben oder das schon von Natur leblos war (z. B. „Kernholz“)“.

Fakultative Perthophyten können sich in der Natur auch auf totem Substrat, das sie nicht selbst getötet haben, voll entwickeln oder sie können gelegentlich auch lebende Pflanzen befallen.

Dieser Begriff deckt sich ungefähr mit dem des fakultativen Parasiten, nur führt die Bezeichnung „fakultativer Perthophyt“ ein doppeltes Einteilungsprinzip ein, nämlich einerseits die Art und Weise, in welcher der Pilz auf die von ihm zur Ernährung herangezogenen Substrate einwirkt und andererseits die Form, in welcher er diese verwendet. Die Bezeichnung „Perthophyt“ ist also gegenüber der umfassenden Benennung „Parasit“ einschränkend.

Zur Zusammenfassung der allgemeinen Definition von Fischer und Gäumann und der spezielleren von Münch dürfte es wohl am besten sein, wenn man *Armillaria mellea* als fakultativen Parasiten mit den Eigenschaften eines Perthophyten bezeichnet.



### Zusammenfassung.

Obwohl für den behandelten Pilz der Name *Armillariella mellea* auch Eingang gefunden hat, wird aus praktischen Gründen der Name *Armillaria mellea* beibehalten.

Die wichtigsten Ergebnisse sind in 4 Gruppen einzuordnen.

a) Es stellt sich heraus, daß die Fruchtkörperbildung des Pilzes weitgehend von äußeren Umständen abhängig ist. So entstehen auf den für die Rhizomorphen- und Myzelbildung günstigen Agarböden auch Fruchtkörper. Diese entwickeln sich jedoch am besten auf Zweigkulturen. Die Fruchtkörperbildung auf flüssigen Substraten wurde auf einer Peptonlösung erzielt. Die erhaltenen Fruchtkörper entstanden nach 3—4 Monaten bei einer Temperatur von 18—22° C und diffusem Tageslicht. Die Fruchtkörper, die meistens sehr abnormal waren, bildeten aber öfters keimfähige Sporen.

Durch regelmäßiges Überimpfen des Myzels in flüssige Nährböden wurde die Rhizomorphenbildung schließlich ganz gehemmt. Beim Überimpfen auf festen Substraten tritt sie jedoch wieder auf.

b) Das Wachstum des Pilzes zeigt sich in folgender Weise abhängig vom pH, von der Temperatur und der Zusammensetzung des Nährbodens. Das optimale Wachstum findet sich für alle Kohlenstoff- und Stickstoffquellen bei 25° C und einem pH = 5. Die pH-Änderung der Nährlösung tritt hier am stärksten in Erscheinung und zeigt sich somit abhängig vom Myzelwachstum.

Hinsichtlich des Einflusses verschiedener N-Quellen ergibt sich, daß Pepton das größte Myzelgewicht liefert; dann folgen absteigend: Asparagin und Glycocoll, Ammoniumtartrat, Ammoniumsulfat, Ammoniumchlorid und Kaliumnitrat.

Für die Kohlenstoffquellen ergab sich folgende Reihe: Glukose (höchstes Myzelgewicht), Saccharose, Maltose, Amylum, Laktose, Galaktose, Cellulose (kleinstes Myzelgewicht).

Sowohl für die C-, N- als auch P-Quellen wurde festgestellt, daß der Einfluß der Konzentrationen dieser Stoffe auf den Pilzertrag durch eine Optimumkurve dargestellt werden kann.

c) Die Möglichkeit einer Bekämpfungsmethode wird diskutiert an Hand von Untersuchungen im Freien, von Infektionsmethoden und von Resultaten, die mit toxischen Stoffen erhalten worden waren, usw.

Das Wachstum der vier untersuchten *Armillaria*-Stämme und das damit verglichene von *Pythium mammillatum* und *Verticillium Dahliae* wird am meisten geschädigt durch die Quecksilberverbindungen Sublimat, Uspulun und Germisan, ferner die Kupferverbindungen  $\text{CuSO}_4$  und  $\text{CuCl}_2$ , vor allem bei Anwendung im alkalischen Milieu. Das Wachstumsoptimum der *Armillaria*-Stämme wird dann nach der sauren Seite verschoben, das von *Pythium*



*mammillatum* und *Verticillium Dahliae* nach der alkalischen Seite. *Armillaria* erwies sich als relativ unempfindlich.

Als Bodendesinfektionsmittel sind zu verwenden: Eine 0,6 % Uspulung, eine 0,6 % Sublimatlösung und eine Mischung von 10 % Kupfersulfat + Kalziumoxyd.

Aus den Bodenuntersuchungen folgt, daß sich der Pilz gut in leichten, sauren Böden, schlecht oder überhaupt nicht in schweren, alkalischen, NaCl-haltigen Böden entwickelt.

d) Bezüglich des Leuchtenphänomens und des Sauerstofftransports wurde das Folgende festgestellt:

Das Leuchten des Pilzes steht in engem Zusammenhang mit der Rhizomorphenentwicklung; entwickelt sich nur Myzel, dann findet kein Leuchten mehr statt. Weiterhin stellt sich heraus, daß *Armillaria* nicht ohne freien Sauerstoff leben kann. Die Rhizomorphen sind imstande, über eine gewisse Strecke hin den Sauerstoff zu transportieren.

### Zitierte Literatur.

- Aaltonen, V. T., Über den Aziditätsgrad (pH) der Waldböden. 1925. Sonderabdruck aus den Kommunikationen ex Instituto Quästiomum Forestalium Finlandiae-Editae 9. Helsinki. Ref. Forstarchiv. 1927. 3. Jahrg. Heft 4.
- Alcock, N. E., and Wilson, M., *Armillaria mellea* on heather. 1927. Scottish. Forestry Journal 41, 224.
18. Annual Report of the New-York State Conservation. 1929. Rep. for the year 1928. 424. Review of Applied Mycology Vol. IX. 682. 1929.
- Armillaria*. 1925. Fruit world of Australasia. XXVI. 10. 402.
- Arnaud, G. et Mm., Notes de pathologie végétale III. 1924. Rev. Path. Vég. et Ent. Agric. XI. 3. 778—782.
- Baltz, Das Absterben der Eichen in Westfalen. 1913. Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen. 193—197.
- Baltz, Die Eichenerkrankung in Westfalen. 1918. Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen. 219—222.
- Barnette, R. M., Hissink, D. J., and v. d. Spek, Jac., Some remarks on the determination of the Hydrogen ion concentration of the soil. 1924. Recueil des Trav. Chim. des Pays-Bas. Tome XLIII. 434—447.
- Barrs, H. P., Mushroom root-rot of fruit-trees. 1923. 17. Biennial Rept. Oregon Board of Hort. 171—176. R. A. M. 89. 1924.
- Bary, A. de, Morphologie der Pilze. 1866.
- Baumgarten, Das Absterben der Eichen in Westfalen. 1913. Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen. 657—658.
- Bavendamm, W., Neue Untersuchungen über die Lebensbedingungen holzerstörender Pilze. Ein Beitrag zur Immunitätsfrage. 1927. Ber. d. D. Bot. Ges. 45. 6. 357—367.
- Bavendamm, W., Neue Untersuchungen über die Lebensbedingungen holzerstörender Pilze. Ein Beitrag zur Frage der Krankheitsempfindlichkeit unserer Holzpflanzen. I. Mitteilung: Gasversuche. 1928. Centralbl. f. Bakt., Abt. 2. LXXV. 15—24. 426—452. 25—26. 503—533. — II. Mitteilung: Gerbstoffversuche. 1928. Centralbl. f. Bakt. Abt. 2. LXXVI. 8—14. 172—227.
- Berger, Ist der Hallimasch Parasit oder Saprophyt? 1922. Forstwiss. Centralbl. 424—431.



- Bernard, C., Verslag van het Algemeen Proefstation voor Thee over het jaar 1922. 1923. Med. Proefstat. voor Thee. LXXXIII.
- Bose, S. R., Biology of Wood-Rotting Fungi common in Forest-areas. 1930. The Journ. of the Linnean Soc. of London. Vol. XLVIII. 417—438.
- Bothe, F., Über den Einfluß des Substrats und einiger anderer Faktoren auf Leuchten und Wachstum von Mycelium X und *Agaricus melleus*. 1928. Sitzungsbericht der Akademie der Wissenschaften in Wien. Bd. 137. Abt. I. CXXXVII. 595—626.
- Brefeld, O., Neue Kulturmethode zur Untersuchung der Pilze. 1875. Sitzungsbericht der Naturf. Freunde. Berlin.
- Brefeld, O., Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze. 1877. Basidiomyceten I. Heft III. 141—146.
- Buller, A. H. R., The biology of *Polyporus squamosus* Huds. a timber destroying fungus. 1906. Jour. Econ. Biol. 1. 101.
- Buller, A. H. R., The *Armillaria* sub-type illustrated by *Armillaria mellea* etc. 1924. Researches on Fungi. Vol III. Chapter IV. 83.
- Byhouwer, J. T. P., Geobotanische Studie van de Bergerduinen. 1926. Diss. Wageningen.
- Carne, W. M., Root-rot of fruit trees due to *Armillaria mellea*. 1926. Journ. Dept. Agric. Western Australia. 2nd. Serie III. 429—432.
- Clark, W. Mansfield. Color Chart of Indicators. Reprinted from the third edition of The Determination of Hydrogen Ions.
- Clements, F. E. and Shear, C. L., 1931. The Genera of Fungi. 348.
- Commissie Proefpolder Andijk, 1929. Meded. I.
- Cool, Cath., Beiträge zur Kenntnis der Sporenkeimung und Reinkultur der höheren Pilze. 1912. Meded. Phytopath. Lab. „W. Commelin Scholten“. III. 5.
- Czapek, F., Zur Biologie der holzbewohnenden Pilze. 1899. Ber. d. D. Bot. Ges. 17, 167.
- Dade, H. A., „Collar crack“ of Cacao. *Armillaria mellea* (Vahl) Fr. 1927. Gold Coast. Dept. of Agric. Bull. 5. R. A. M. 1927, 659.
- Day, W. R., Parasitism of *Armillaria mellea* in Relation to Conifers. 1927. The Quart. Journ. of Forestry. January.
- Day, W. R., The oak-mildew *Microsphaera quercina* (Schw.) Burrill and *Armillaria mellea* (Vahl) Quel. in relation to the dying back of oak. 1927. Forestry Vol I. No. 1, 108.
- Day, W. R., Environment and disease. 1929. Forestry Vol III. No. 2, 94.
- Delevoy, G., Chronique forestière. Bruyères et *Armillaria mellea*. 1928. Bull. Soc. Centr. Forest. Belgique. XXXI. 9, 359—360.
- Dufrénoy, J., Biologie de l'*Armillaria mellea*. 1922. Bull. Soc. de Path. Vég. de France. IX. 4, 277.
- Duggar, B. M., The principles of mushroom-growing and mushroom-spawn-making. 1905. U.S. Dept. Agr. Bur. Pl. Ind. Bul. 85, 1—60.
- Eklund et Wenmark: „Några undersökningar av aspskog“. 1925. Skogvårds Föreningens Tidskrift. 23, 80—104. Zitiert von Day. 1929. Forestry III. No. 2.
- Falck, R., Die Kultur der Oidien und ihre Rückführung in die höhere Fruchtform bei den Basidiomyceten. 1902. Beitr. z. Biol. d. Pflanzen. 8. 307—346.
- Falck, R., Die Meruliusfäule des Bauholzes. Hausschwammforschungen. 1912. Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwesen. 6. 1.
- Falck, R., Eichenkrankung in der Oberförsterei Lödderitz und in Westfalen. 1918. Zeitschrift für Forst- u. Jagdwesen. 3.
- Falck, R., Über das Eichensterben im Regierungsbezirk Stralsund nebst Beiträgen zur Biologie des Hallimasch und Eichenmehltaus. 1923. Festschrift zur Feier der Einführung der neuen Hochschulverfassung an der seitherigen Forstakademie. Hann.-Münden. 3. Mai. 57.



- Falck, R., Neue Mitteilungen über die Rotfäule. 1930. Sonderabdruck aus „Mitteilungen für Forstwirtschaft und Forstwissenschaft“.
- Fawcett, H. S., Bark diseases of citrus trees in California. 1925. Calif. Exp. Stat. Bul. 395. 3—61.
- Ferguson, M. C., A preliminary study on the germination of the spores of *Agaricus campestris* and other basidiomycetous fungi. 1901. U. S. Dept. Agr. Bur. Pl. Ind. Bul. 16. 1—43.
- Fischer, E. und Gäumann, E., 1929. Biologie d. pflanzenbewohnenden parasit. Pilze.
- Fries, E., 1821. Systema Mycologicum. 1. 30—31.
- Frömling, C., „Vom Honigpilz.“ 1915. Forstwiss. Centralbl. 299—304.
- G—C., J., Maladies du Mûrier. 1927. Rev. de Bot. appliqué. VII. 67. 213—214.
- Gard, M. E., La Lutte contre le Dépérissement des Noyers. 1923. Off. Agr. Rég. du Massif. Central. Bul. Nr. 3.
- Gard, M. E., L'*Armillaria* (*Armillariella*. Karst.) *mellea* Vahl. et le pourridié du Noyer. 1923. Rev. Path. Vég. et Ent. Agric. X. 55—62.
- Gard, M. E., Sur le dépérissement des jeunes Noyers en 1922. 1923. Bul. de la Soc. de Path. Vég. Tome IX. 4<sup>e</sup> Fascicule.
- Gard, M. E., Les Maladies du Noyer. 1925. Ann. de l'Off. agr. rég. du Sud-Ouest. fasc. X.
- Gard, M. E., La lutte contre le dépérissement des Noyers. 1926. Sonderabdruck.
- Gard, M. E., *Armillaria mellea* Vahl. produit deux sortes de pourridié chez le Noyer. (*Juglans regia* L.). 1926. Rev. Path. Végét. et Ent. Agric. 13. 183—185.
- Gard, M. E., A propos de „mourios“ de l'Aveyron. 1927. Rev. Path. Végét. et Ent. Agric. 14. 24—26.
- Gard, M. E., Pourridié du Noyer cultivé et carbonate de chaux. 1928. Comptes rendus Acad. d. Sc. CLXXXVI. 20. 1373—1375.
- Georgivitch, P., *Armillaria mellea* als Verderber der Eichenwälder Slavoniens. 1926. Biol. General. 2.
- Geschwind, A., Das Vorkommen des Hallimasch (*Agaricus melleus* Quél.) in den bosnischherzegowinischen Wäldern. 1920. Naturw. Zeitschr. f. Forst- u. Landw. 182—186.
- Guyot, R., Mycelium lumineux de l'Armillaire. 1927. Comptes rendus. Soc. de Biol. XCVI. 116—144.
- Guyot, R., Particularités de culture du mycelium d'Armillaire en milieu stérile. 1928. Comptes rendus 52. Session Assoc. Franç. pour l'av. d. Sc. La Rochelle. 581—586.
- Haar, ter, A. A., De Cultuur in de in 1906 in Zeeland ondergelopen polders. 1907. Versl. en Meded. v. d. Directie v. d. Landbouw.
- Hartig, Th., Über das Leuchten des weißfaulen Holzes. 1855. Bot. Zeitung. 148.
- Hartig, R., Wichtige Krankheiten der Waldbäume. 1874. 12—36.
- Hartig, R., Die Zersetzungserscheinungen des Holzes der Nadelholzbäume und der Eiche in forstlicher, botanischer und chemischer Richtung. 1878. 59—62.
- Hartig, R., Die Ausschlagfähigkeit der Eichenstöcke und deren Infektion durch *Agaricus melleus*. 1894. Forstl. Nat. Wiss. Zeitschr. 3. 428.
- Hartig, R., Lehrbuch der Pflanzenkrankheiten. 1900.
- Hasenohrl, R., und Zellner, I., Chemische Beziehungen zwischen den höheren Pilzen und ihren Substraten. 1923. Monatshefte für Chemie. XLIII. 21—41.
- Haskell, B. J., Diseases of fruit and nut crops in the United States in 1928. 1929. Plant Disease Reporter. Supplement 70. 177—258. 1929. R. A. M. 1929. 726.
- Heinrich, Placidus, Die Phosphoreszens der Körper oder die im Dunkeln bemerkbaren Lichtphänomene usw. 1815. III. Abh. Vom Leuchten vegetabilischer und tierischer Substanzen usw. Nürnberg. 313.
- Heintze, S. G. and Crowther, E. M., An error in soil reaction determinations by the quinhydrone electrode. 1927. Compt. rendus de la deuxième commission de l'Association internationale de la Science du Sol. Vol. A. Juli.



- Heller, J. F., Über das Leuchten im Pflanzen- und Tierreich. 1853 und 1854. Archiv f. physiol. u. path. Chemie u. Mikroskopie mit besonderer Rücksicht auf medicin. Diagnostik u. Therapie. N. F. Jahrg. 1853 und 1854. Wien 44.
- Hendrickson, A. H., Oak fungus in orchard trees. 1925. Calif. Agric. Exp. Circ. 289.
- Hesler, L. R. and Whetzel, H. H., 1917, Manual of fruit diseases.
- Hiley, W. E., 1919, The fungal diseases of the common Larch. Oxford.
- Hissink, D. J., De zuurgraad van boschgronden. 1924. Overdruk uit het Landbouwkundig Tydschrift van Sept. No. 432.
- Honey Fungus (*Armillaria mellea* Vahl.). 1921. Forestry commission. Leaflet 6. August.
- Johannsen, W., 1909, Elemente der exakten Erblchkeitslehre.
- Jordan, H. J., 1927, Übungen aus der vergleichenden Physiologie. S. 27 ff.
- Karsten, P. A., 1879, Krit. öfv. Finl. Basidsy. 54.
- Klimesch, J., Eichensterben in Jugoslavien. 1924. Wien. Allg. Forst- u. Jagd-Zeitung, Nr. 46, 271—273.
- Kniep, H., Über das Auftreten von Basidien im 1-kernigen Myzel von *Armillaria mellea*. 1911. Zeitschr. f. Bot. Jahrg. III. 529.
- Kniep, H., Die Sexualität der niederen Pflanzen. 1928. Basidiomyceten. 388.
- Kohnstamm, P., Amylolytische, Glukosidspaltende, proteolytische und Zelluloselösende Fermente in holzbewohnenden Pilzen. 1901. Bot. Centralbl. Beih. 10. 90—121.
- Kolthoff, J. M., De colorimetrische bepaling van den waterstofexponent van den grond. 1923. Chem. Weekblad. 675.
- Kurz, H., Hydrogen-ion concentration in relation to ecological factors. 1923. Bot. Gaz. LXXVI. 1—29.
- Leefmans, S., Ziekten en plagen der Cultuurgewassen in 1926. 1927. Med. Inst. voor Plantenziekten. 73.
- Lehmann, W., Zur Methodik der pH-Messung in Waldböden. 1930. Forstarchiv. 6. Jahrgang. Heft 10.
- Long, W. H., The death of chestnuts and oaks due to *Armillaria mellea*. 1914. U. S. Dept. of Agr. Bul. 89.
- van Luyk, A., Pilzkulturen in feuchten Kammern. 1927. Med. uit het Phytopath. Lab. W. C. Scholten. II. 58—59.
- Marsh, R. W. and Nattrass, R. M., Investigations on die back of fruit trees. 1927. Ann. Rept. Agric. and Hort. Res. Stat. Long Ashton Bristol. 93—98. Ref. R. A. M. 1928.
- Maublanc, A., 1926. Les Champignons de France. p. CXI.
- Meacham, M. R., Note upon the hydrogen ion concentration necessary to inhibit the growth of four wood-destroying fungi. 1918. Science N. S. 48, 499.
- Meurs, A., Wortelrot veroorzaakt door schimmels uit de geslachten *Pythium* Pringsheim en *Aphanomyces* de Bary. 1928. Diss. Baarn.
- Mez, C., Der Hausschwamm und die übrigen holzzerstörenden Pilze der menschlichen Wohnungen. 1908. Diss. Dresden.
- Miège, M. E., Note préliminaire sur les principales maladies cryptogamiques observées au Maroc. 1920. Bul. Soc. de Path. Vég. de France. VIII. 1, 37—40.
- Molisch, H., 1904. Leuchtende Pflanzen. Jena.
- Münch, E., Die Blaufäule des Nadelholzes. 1907 und 1908. Naturw. Zeitschr. f. Forst. u. Landw. Bd. 5 und 6.
- Münch, E., Untersuchungen über Immunität und Krankheitsempfindlichkeit der Holzpflanzen. 1908. Diss. München.
- Münch, E., Über die Lebensweise des Winterpilzes *Collybia velutipes*. Curt. 1909. Naturw. Zeitschr. f. Forst- u. Landw. Bd. 7.
- Münch, E., Versuche über Baumkrankheiten. 1910. Naturw. Zeitschr. f. Forst- u. Landw. Bd. 8.



- Münch, E., Untersuchungen über Eichenkrankheiten. 1915. Naturw. Zeitschr. f. Forst- u. Landw. Bd. 13.
- Münch, E., Über einige Grundbegriffe der Phytopathologie. 1929. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. 39, 276.
- Nechleba, Das Hallimasch. 1915. Forstw. Zentralbl. 384—392.
- Nemec, A. und Kvapil, K., Über den Einfluß verschiedener Waldbestände auf den Gehalt und die Bildung von Nitraten in Waldböden. 1927. Zeitschr. f. Forst- und Jagdwesen. Bd. 6 und 7, 321—352, 385—412.
- Nikitinsky, J., Über die Beeinflussung der Entwicklung einiger Schimmelpilze durch ihre Stoffwechselprodukte. 1904. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XI.
- Nutman, F. J., Studies of wood-destroying fungi. 1929. The Annals of Appl. biol. Vol. XVI. No. 1.
- Oosting, W. A. J., De colorimetrische bepaling van den waterstofexponent van den grond volgens de dialyse methode. 1929. Chem. Weekblad. Dec. 618.
- Osmaston, L. S., Mortality among oak. 1927. Quart. Journ. of Forestry. XXI. 28—30.
- Patouillard, N., Essai Taxonomique sur les Familles et les Genres des Hymenomycètes Thèse. 1900.
- Persoon, D. C. H., Synopsis methodica fungorum. 1801.
- Petch, T., New Ceylon Fungi. 1907. Annals of the Royal Bot. Gard. Peradeniya. Vol. IV. Pt I. 299.
- Petri, L. I metodi di cura des marciume radicale degli Agriumi (Methods for the control of root-rot of Citrus). 1929. Boll. R. Staz. Path. Veg. IV. S. IX. 3. 255—272. Ref. R. A. M. Vol. IX. 302. 1929.
- Plantpathology. 1924. Ann. Rept. Californ. Agric. Exp. Stat. July 1. 1922 to July 30. 1923. 179—187. R. A. M. 1925. 20.
- Quélet, L., 1872, Les Champignons du Jura et des Vosges.
- Quinn, G., Report of the Horticultural Instructor. Chief Inspector of Fruit, Fertilizers etc. 1924. Rept. Min. Agric. S. Australia for the year ended Juny 30-th 1924.
- Rankin, W. H., 1918, Manual of tree diseases.
- Ravaz, L., Y-a-t-il des Vignes résistantes au pourridié? 1925. Prog. Agric. et Vitic. XLII. 8. 173.
- Ravaz, L., Chronique: Sur le court-noué. Retour agressif du pourridié. 1929. Prog. Agric. et Vitic. XCII. 50. 557—561.
- Rayner, M. C., Observations on *Armillaria mellea* in pure culture with certain conifers. 1930. Forestry. Vol. IV. 65.
- Ritter, G. E., 1909, Ber. d. Deutschen Botan. Gesellsch. Bd. 27. 582.
- Robinson, R. L., Mortality among Oak. 1927. Quart. Journ. of Forestry. XXI. 25—27.
- Rosella, E., Le dépérissement des Abricotiers à Roquevaire. 1929. Prog. Agric. et Vitic. XCII. 44. 427—436.
- Roth, A. W., 1797, Catalecta Botanica, I, 32.
- Rumbold, E., Beiträge zur Kenntnis der Biologie holzerstörender Pilze. 1908. Naturw. Zeitschr. f. Forst- u. Landwirtschaft. 6. 81—140.
- Rykslandbouwproefstation. 1920. Verslagen. Nr. XXIV.
- Saccardo, P., 1887. Sylloge Fungorum. 5. 80.
- Salisbury, E. J., Stratification and hydrogen ion concentration of the soil in relation to leaching and plant succession with special reference to woodlands. 1924. Journ. of Ecology. 9. 220—240.
- Schmitz, J., Über den Bau, das Wachstum und einige besondere Lebenserscheinungen der *Rhizomorpha fragilis* Roth. 1843. Linnaea 17. 487—535.
- Schmitz and Jackson, Heartrot of Aspen. 1927. Univ. of Minn. Agr. Exp. St. Techn. Bul. 50.
- Seward, A. C., 1898. Fossil plants for students of Botany and Geology I.
- Small, W., The diseases of *Coffea arabica* in Uganda. 1923. Uganda Dept. Agric. Circ. 9.



- Smith, C. O., 1922, Report of the College of Agriculture and the Agricultural Exp. Stat. of the Univ. of California. R. A. M. 1923. 392—394.
- Soil Research. 1930. Vol. II, No. 1 and No. 2.
- Sorauer, 1923. Handbuch der Pflanzenkrankheiten, 2. Teil.
- Spaulding, P., The timber rot caused by *Lenzites sepiaria*. 1911. U. S. Dept. Agric. Bur. Pl. Ind. Bul. 214. 1—46.
- Tamya, H., Studien über die Stoffwechselphysiologie von *Aspergillus Oryzae*. 1927. Acta Phytochimica. Vol. III. No. 1. 1928. Vol. IV. No. 1.
- Taylor, R. H. and Philp, G. L., The Almond in California. 1925. Calif. Agric. Exp. Stat. Circ. 284.
- Thomas, H. E., Studies on the nature of host resistance to *Armillaria mellea*. 1929. Phytopathology. Vol. 19. No. 12. 1140.
- Tiemann, H. D., Mortality among Oak. 1927. Quart. Journ. of Forestry. XXI. 3, 225—227.
- von Tubeuf, C., Hausschwamm-Fragen. 1903. Naturw. Zeitschr. f. Land- und Forstwirtschaft. I. Heft 3.
- von Tubeuf, C., Beiträge zur Kenntnis des Hausschwammes. 1903. Naturw. Zeitschr. f. Land- u. Forstw. I. Heft 7.
- Turc, L., Notes sur le dépérissement du chêne pedoncule dans les forêts du plateau nivernais. 1927. Rev. Eaux et Forêts LXV. 11. 561—565.
- Veen, R. van der, Onderzoekingen over Tracheomycosen. 1930. Diss. Baarn.
- Webb, R. W., Studies in the physiology of the fungi. X. Germination of the spores of certain fungi in relation to hydrogen-ion concentration. 1919. Ann. Mo. Bot. Gard. Vol. 6, 201—222.
- Webb, R. W., Studies in the physiology of the fungi XV. Germination of the spores of certain fungi in relation to hydrogenion concentration. 1921. Ann. Mo. Bot. Gard. Vol. 8, 283.
- Westerdijk, Joha, 1912, 1913/14, 1916, 1917, Jaarsversl. v./h. Phytopath. Lab. „Willie Commelin Scholten.
- Wiedemann, E., Hallimasch und Wurzelschwamm, zwei gefährliche Waldfeinde. 1924. Biol. Reichsanstalt f. Land- und Forstwirtschaft. Flugblatt 22.
- Wilcox, E., Mead., A rhizomorphic root-rot of fruit-trees. 1901. Oklahoma Agr. Exp. St. Bul. 49.
- Wilson, M., *Armillaria mellea* as a Potato disease. 1921. Trans. Royal. Scottish. Arbor. Soc. XXXV. 186—187.
- Wolpert, F. S., Studies in the physiology of the fungi XVII. The growth of certain wood-destroying fungi in relation to the H-ion concentration of the media. 1924. Ann. Mo. Bot. Gard. Vol. XI. No. 1.
- Yule Udny, G., 1911, An introduction to the theory of Statistics.
- Yussifovitch, M., Le dépérissement du chêne (*Quercus pedunculata* Ehrh.) dans les forêts de Slavonie (Yougoslavie). 1926. Rev. des Eaux et Forêts. LXIV. 6. 288.
- Zeller, S. M., Studies in the physiology of the fungi. II. *Lenzites sepiaria* with special reference to enzyme activity. 1916. Ann. Mo. Bot. Gard. Vol. III. 439.
- Zeller, S. M., Schmitz, H. and Duggar, B. M., Studies in the physiology of the fungi. VII. Growth of wood-destroying fungi on liquid media. 1919. Ann. Mo. Bot. Gard. Vol. VI. 137.
- Zeller, S. M. and Schmitz, H., Studies in the physiology of the fungi. IX. Enzyme action in *Armillaria mellea*, *Daedalea confragosa* and *Polyporus lucidus*. 1919. Ann. Mo. Bot. Gard. Vol. VI. 193.
- Zeller, S. M., Observations on infections of apple and prune-roots by *Armillaria mellea* Vahl. 1926. Phytopathology. 16. 7. 479.
- Zeller, S. M. and Childs, L., Observations on *Armillaria* root-rot of orchard-trees. 1929. Phytopathology. Vol. 19. No. 9. 869.



# STELLINGEN.

---

## I.

De conclusie van *Oehm*, dat het begrip „Safthyphen” voor bepaalde elementen van *Lentinus squamosus* (Schaeffer) Fries. moet blijven bestaan is onjuist.

*Oehm*. Arch. f. Protistenkunde Bd 74; H. 1; p 141.

## II.

Bij infectieproeven op bladen en stengels verdient het besproeien met een sporenemulsie de voorkeur boven het aanbrengen van stukjes voedingsbodem, die het desbetreffende schimmelweefsel bevatten.

Forsch. a. d. Geb. der Pfl. - Krankheiten. H. 1; p 89; 1931.

## III.

Voor een onderzoek omtrent parasitisme van micro-organismen moet de voedsterplant in reïncultuur gekweekt worden.

## IV.

De enzymen van *Armillaria mellea* (Vahl) Quél. maken voor deze Schimmel slechts een heterotrophe levenswijze mogelijk.

## V.

Het is noodig, het begrip „Perthophyt” in te voeren.

## VI.

De meening, dat de rhizoiden van Levermossen negatief phototropisch zijn is onjuist.

## VII.

Uit de proeven van *Plowe* blijkt niet, dat buitenlaag, tonoplast en protoplasma essentieel van elkaar verschillen.

*Plowe*. Protopl. Bd. 12; H. 2; p 196; 1931.







VIII.

Hypoglycaemie is de oorzaak van de winterslaap.

*Dische, Fleischmann u. Trevain.*

*Pfl. Arch. Bd. 227; H. 1 en 2; 1931.*

IX.

De werking van narcotica berust op vermindering der permeabiliteit.

*Anselmino. Pfl. Arch. Bd. 220; H. 4 en 5; 1928.*

X.

De contorte kroon wordt veroorzaakt door de scheefheidstendens van de afzonderlijke bloembladen.

*Schoute. Proc. Roy. Soc. Amsterdam Vol. 34; No. 8; 1931.*

XI.

Alleen dan, wanneer men op physiologische eigenschappen let, heeft het begrip „Levensvorm” waarde voor de Sociologie.



























