

CHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WIDERSTANDSFÄHIGKEIT DER REISARTEN GEGEN DIE „IMOCHI-KRANKHEIT.“

Zweiter Bericht.
Der Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration auf das Wachstum des Pilzes.

Von

KOJI MIYAKE und MASASHI ADACHI

(Aus dem Agrikultur-chemischen Laboratorium der Hokkaido Kaiserlichen Universität, Sapporo.)

(Eingegangen am 12. März, 1922).

Wenn die Pflanze mit dem krankheitserregenden Pilz geimpft wird, reagiert (7) sie darauf mit verschiedener Wasserstoffionenkonzentration; auch eine Vermehrung der Säure erfolgt als Folgeerscheinung der Infektion. Da nun Säuren in manchen Fällen eine schädliche Wirkung (2, b, usw.) auf die Pilze ausüben, ist es wichtig den Einfluß der im Pflanzensaft vorhandenen Säure auf das Pilzwachstum zu untersuchen.

Die Empfindlichkeit des „Imochi-Pilzes“ gegen Säuren wird von N. Suematsu und T. Matsumoto (5, 14 im ersten Berichte) berichtet, aber der Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration ist noch nicht studiert worden.

Als erste Aufgabe haben wir uns die Erforschung der Wasserstoffionenkonzentration der Wirtspflanze gestellt; es ergaben sich aber hierbei nur geringe Differenzen zwischen den beiden Reisarten; weshalb diese Versuche noch fortgesetzt werden müssen.

In diesem Berichte werden nur die experimentellen Resultate vom Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf den Pilz in bezug auf ein einziges Medium gegeben; später soll mit verschiedenen Medien experimentiert werden. Genauere Mitteilungen bleiben deshalb der Zukunft vorbehalten.

ALLGEMEINE METHODE DES VERFAHRENS.

I. *Auswahl des Mediums.*

Zur kolorimetrischen Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration, die bei der Untersuchung zahlreicher Medien sehr bequem ist, ist es nötig, die Lösung des Mediums farblos zu machen.

Um diese Bedingungen möglichst günstig zu gestalten, stellte ich mit größter Sorgfalt nach dem Rate des Herrn Tochinai, welcher den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf das Wachstum des Inochi-Pilzes in Medien mit Zusatz von Salzsäure mit uns studiert hat, die folgenden Medien her.

Die Methode der Vorbereitung wird weiter unten skizziert werden.

TABELLE I

Art und Menge der chemischen Verbindungen.

Art	Molekularformel	Menge
1) Asparagin	$\begin{array}{c} \text{CH}\cdot\text{NH}_2\cdot\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{CONH}_2 \end{array}$	1.00 g
2) Ammoniumnitrat	NH_4NO_3	1.00 „
3) Säuerliches Potassiumphosphat	KH_2PO_4	0.5 „
4) Magnesiumsulfat	MgSO_4	0.25 „
5) Rohrzucker	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	20. „
6) Destilliertes Wasser	H_2O	1 Liter

Nach Vorbereitung dieser synthetischen Medien wurden Erlenmeyerflaschen mit 100 ccm der Nährlösung gefüllt.

II. *Vorbereitung und Anordnung der Wasserstoffionenkonzentration.*

Für den Fall, daß die Mikroorganismen Säure bildende Kraft haben, ist es am günstigsten, den Medien Säure zuzuführen, bis das Wachstum des Pilzes aufhört, worauf man die Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration mißt.

Hierbei ist es nötig, Vorsorge für große Pufferwirkung (5) zu

treffen, sonst verändert sich die Reaktion nach der Sterilisation übermäßig.

Zu sämtlichen Nährlösungen (je zwei Flaschen) fügten wir zunehmende Mengen 1/100 normaler Salzsäure, Schwefelsäure, Weinsäure und Citronensäure und füllten die Gesamtmenge in allen Fällen mit Nährlösung bis zu 100–110 ccm auf, worauf nach dem kolorimetrischen Verfahren von Clark & Lubs (1) das Resultat bestimmt wurde.

Die Art und die Menge der Säure, die für die Zubereitung der verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationsgrade benützt wird, ist unten angegeben.

TABELLE II.

Art der Säure	Molekularformel	Hinzugefügte Menge
1. Salzsäure	HCl	1–10 ccm von 1/100 N
2. Schwefelsäure	H ₂ SO ₄	1–10 ccm von 1/100 N
3. Weinsäure	CH(OH)CO ₂ H CH(OH)CO ₂ H	1–10 ccm von 1/100 N
4. Citronensäure	CH ₂ —CO ₂ H CCOH—CO ₂ H CH ₂ —CO ₂ H	1–10 ccm von 1/100 N

III. Die Wasserstoffionenkonzentration in sämtlichen Medien :

Der Grad der Wasserstoffionenkonzentration in den verschiedenen Medien kann aus den nachstehenden Tabellen erschen werden.

TABELLE III.

	Quantität der Säure —N/100 hinzugefügt zu 100 ccm der Nährlösung	Arten der Säure			
		Salzsäure	Schwefelsäure	Weinsäure	Citronensäure
		Wert von PH	Wert von PH	Wert von PH	Wert von PH
Nr. I	100 ccm + 0 ccm	6.1	6.1	6.1	6.1
Nr. II	„ „ 1 „	6.1	6.1	5.8	5.7
Nr. III	„ „ 2 „	6.0	5.8	5.6	5.4

	Quantität der Säure —N/100 hinzugefügt zu 100 ccm der Nährlösung	Arten der Säure			
		Salzsäure	Schwefelsäure	Weinsäure	Citronensäure
		Wert von PH	Wert von PH	Wert von PH	Wert von PH
Nr. IV	100 ccm + 3 ccm	5.7	5.6	5.3	5.3
Nr. V	„ „ 4 „	5.2	5.3	4.9	4.9
Nr. VI	„ „ 5 „	5.0	4.9	4.8	4.7
Nr. VII	„ „ 6 „	3.9	4.6	4.5	4.4
Nr. VIII	„ „ 7 „	3.3	4.3	4.2	4.2
Nr. IX	„ „ 8 „	3.1	3.1	4.0	3.9
Nr. X	„ „ 9 „	2.7	3.1	3.8	3.9
Nr. XI	„ „ 10 „	2.6	2.8	—	—

RESULTATE DER VERSUCHE.

I. Wachstumsverhältnis.

Die Kulturmedien werden bei einer Temperatur von 30°C im Brutschranke gehalten. Die Resultate der Beobachtungen, welche nach 3, 7 und 10 Tagen vorgenommen wurden, ergaben für Salzsäure, Schwefelsäure, Citronensäure und Weinsäure ähnliche Resultate. Der Grad des Wachstums wird in der folgenden Tabelle mit Kreuzen bezeichnet. Null bedeutet kein Wachstum; + etwas; +++ ziemlich gut; +++++ gut; ++++++ sehr gut.

TABELLE IV.

Das Wachstum des Pilzes auf synthetischen Medien von verschiedener Wasserstoffionenkonzentration.

	Medien I			Medien II			Medien III			Medien IV		
	Medien mit Zusatz von Salzsäure			Medien mit Zusatz von Schwefelsäure			Medien mit Zusatz von Weinsäure			Medien mit Zusatz von Citronensäure		
	3 Tage	7 Tage	10 Tage	3 Tage	7 Tage	10 Tage	3 Tage	7 Tage	10 Tage	3 Tage	7 Tage	10 Tage
Nr. I	++	+++	++++	+++	++++	++++	++	+++	++++	++	+++	++++
Nr. II	++	+++	++++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	++	+++
Nr. III	+	++	+++	++	++	+++	++	+++	+++	+	++	+++
Nr. IV	+	++	++	+	++	++	+	++	+++	+	++	+++

	Medien I			Medien II			Medien III			Medien IV		
	Medien mit Zusatz von Salzsäure			Medien mit Zusatz von Schwefelsäure			Medien mit Zusatz von Weinsäure			Medien mit Zusatz von Citronensäure		
	3 Tage	7 Tage	10 Tage	3 Tage	7 Tage	10 Tage	3 Tage	7 Tage	10 Tage	3 Tage	7 Tage	10 Tage
Nr. V	+	++	++	+	++	++	+	++	++	+	++	++
Nr. VI	+	+	++	+	++	++	+	+	++	+	++	++
Nr. VII	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	++	++
Nr. VIII	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	+	++
Nr. IX				+	+	+	+	+	++	+	+	+
Nr. X				+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nr. XI												

Aus den obigen Tabellen kann man die Tatsache herauslesen, daß der Pilz in Lösungen, die einen PH-Wert haben, der kleiner ist als 3.1, nicht mehr wachsen kann und daß, je höher der PH-Wert steigt, ein desto besseres Wachstum zu verzeichnen ist.

II. Die Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration.

Die verschiedenen Kulturmedien werden nach den Beobachtungen über das Wachstum kolorimetrisch untersucht, um die Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration zu messen. Das Resultat ist in der nachfolgenden Tabelle kurz zusammengefaßt.

TABELLE V.

Die Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration.

	Die Veränderung des Wertes von PH.			
	Medien I	Medien II	Medien III	Medien IV
Nr. I	4.9	5.0	5.8	5.7
Nr. II	4.8	5.0	5.5	5.6
Nr. III	4.8	5.1	5.4	5.5
Nr. IV	4.5	5.2	5.3	5.2
Nr. V	4.1	5.0	5.0	4.9

	Die Veränderung des Wertes von PH.			
	Medien I	Medien II	Medien III	Medien IV
Nr. VI	4.2	4.5	4.4	4.7
Nr. VII	4.0	4.5	4.2	4.3
Nr. VIII	3.9	4.4	4.1	4.1
Nr. IX	3.9	4.1	4.0	4.1
Nr. X	3.2	4.0	3.7	3.8
Nr. XI	2.9	3.8	—	—

Die Veränderung der Reaktion ist in allen Fällen ähnlich; je stärker das Wachstum des Pilzes ist, einen desto niedrigeren Grad erreicht die Wasserstoffionenkonzentration. Es ist bemerkenswert, daß die Säure durch das Wachstum allmählich vermehrt wird.

ZUSAMMENFASSUNG.

1) Der Hauptzweck dieser Untersuchung ist, die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration des Reispflanzensaftes für den Pilz klarzustellen.

2) Im Reispflanzensaft („Bozu“ und „Akage“) finden wir geringe Differenzen in der Wasserstoffionenkonzentration.

3) Die Wasserstoffionenkonzentration steht in wichtigen Beziehungen zum Wachstum des „Imochi-Pilzes“; er kann in Graden, die einen PH:Wert haben, der niedriger als 3.1 ist, nicht mehr wachsen. Steigt der PH:Wert über 3.7, so nimmt das Wachstum zu, und je höher die Werte steigen, ein desto besseres Wachstum zeigt sich.

Herrn Prof. Dr. K. Miyabe und Herrn Y. Tochinnai, welche diesen Untersuchungen ihr Interesse bekundet haben und uns mit Rat und Tat in gütigster Weise beigestanden haben, sprechen wir unseren tiefgefühlten besten Dank aus.

LITERATURNACHWEIS.

Clark, W. M. and Lubs, H. (1917): The colorimetric determination of hydrogen ion concentration and its application in Bacteriology. Jour. of Bacteriology. 2.

- Gillespie, L. J., (1918): The growth of the potato scab organism at various hydrogen ion concentrations as related to the comparative freedom of acid soils from the potato scab. *Phytopathology*, **8**, 257-269.
- Haas, A. R. C., (1916): The acidity of plant cells as shown by natural indicators. *Jour. Bio. Chem.* **27**, 233-241.
- Haas, A. R. C., (1917): Reaction of Plantprotoplasm. *Bot. Gaz.* **63**, 223-228.
- Itano, A., (1916): Relation of hydrogen ion concentration of media to the proteolytic activity of *Bacillus subtilis*. *Mass. Agr. Exp. Sta. Bull.* 139-177.
- Meacham, M. R., (1918): Note upon the H-ion concentration necessary to inhibit the growth of four wood destroying Fungi. *Science* **48**, P 499.
- Wagner, R. G., (1916): Wasserstoffionenkonzentration und natürliche Immunität der Pflanzen. *Zent. f. Bakt.* **44**, 708-719.

