

Versuch einer Chemotherapie des Gerstenbrandes.

Von A. BINZ und H. BAUSCH.

Mitteilung aus dem Chemischen Institut und dem Botanischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule Berlin.

(Eingeg. 17./4. 1922.)

Die experimentelle Chemotherapie¹⁾ beruht auf der Erfindung von Chemikalien, die stark parasitotrop, aber wenig organotrop sind, d. h. welche die Schädlinge zum Verschwinden bringen, dagegen in der dazu notwendigen Dosis den von Schädlingen befallenen menschlichen Organismus nicht ungünstig beeinflussen. Man pflegt auf diesem Forschungsgebiet nach P. Ehrlich im Tierversuch den chemotherapeutischen Index c/t (c = dosis curativa, t = dosis toxica) für eine große Reihe von Chemikalien festzustellen, unter welchen man schließlich diejenigen zur klinischen Erprobung herausucht, bei denen sich jener Quotient als recht klein erwiesen hat; denn je größer der Abstand zwischen der zur Heilung notwendigen Menge c und der nicht mehr erträglichen Menge t ist, um so sicherer und gefahrloser gelingt die Heilung. Auf diese Weise fand Ehrlich unter hundert von Arsenverbindungen das 3,3'-Diamino-4,4'-dioxy-arsenobenzol-chlorhydrat (Salvarsan) mit dem Index $^{1/12}$ beim infizierten Kaninchen.

Die großen Erfolge der experimentellen Chemotherapie auf dem Gebiete der den Menschen heimsuchenden Infektionskrankheiten legen den Gedanken nahe, eine Chemotherapie infizierter Pflanzen im Sinne Ehrlichs zu versuchen. Will man indessen die Methoden und Erfahrungen, welche sich bei der Bekämpfung von Infektionskrankheiten am Tier und am Menschen ergeben haben, auf die Pflanze übertragen, indem man an die Stelle des Tierversuches das Pflanzenexperiment setzt, so stößt man auf eine große Schwierigkeit, die auf einem grundsätzlichen Unterschied zwischen Tier und Pflanze beruht. Während man den Quotienten c/t im Tierversuch ebenso leicht wie genau bestimmen kann, indem man abgewogene Mengen der Chemikalien in die Blutbahn von Mäusen oder Kaninchen bringt, ist das gleiche bei der Pflanze nicht ausführbar, weil sie keine Blutbahn besitzt. Das dürfte einer der Hauptgründe sein, weshalb man in der agrilkulturchemischen Forschung den Begriff des chemotherapeutischen Index bisher nicht benutzt, sondern sich mit einem weniger planvollen Arbeiten begnügt hat.

Wir haben uns nun die Frage vorgelegt, ob sich nicht dennoch die Denkweise Ehrlichs auf das Studium des Pflanzenschutzes übertragen lasse, und wir fanden einen Anhalt dafür in einer Arbeit von Riehm²⁾. Dieser Autor behandelt Sporen des als Stink- oder Steinbrand (*Tilletia tritici*) bekannten Weizenschädling im Reagenzglas mit wässriger Lösung des zu prüfenden Bekämpfungsmittels („Beizmittel“) und prüft dann in mehrtägiger Beobachtung, ob der Parasit noch keimfähig oder ob die Abtötung gelungen ist. Hierfür ist eine bestimmte Konzentration notwendig, und deren Feststellung entspricht der Ermittlung der Dosis curativa. Die Frage, wie das Beizmittel auf die Keimfähigkeit und Triebkraft des Weizenkornes einwirkt, pflegt ihre Klärung durch weitere Laboratoriumsversuche zu finden, die man der Ermittlung der Dosis toxica vergleichen kann. Riehm stellt auch Feldversuche³⁾ in Aussicht, welche die Laboratoriumsexperimente ergänzen sollen. Wir haben hier somit die Parallele zu Tierversuch und klinischer Erprobung.

Auf Anraten des Direktors des hiesigen botanischen Instituts Prof. Dr. Miehe und von Dr. Burret, denen wir für ihre wertvolle Unterstützung zu großem Danke verpflichtet sind, haben wir auf Grund von Vorversuchen an Stelle des Riehmschen Verfahrens ein ähnliches gewählt, das den Vorzug hat, in kürzerer Zeit Ergebnisse zu liefern:

Mittels einer ausgeglühten Lanzettadel werden drei Spitzen voll der Sporen von gedecktem Gerstenbrand (*Ustilago horidei*)⁴⁾, einem Brandpilz, in ein kleines Reagenzglas von etwa 10 ccm Fassungsvermögen gebracht, und dieses wird bis zum Rande mit Beizlösung, d. h. der in Wasser gelösten chemischen Verbindung, deren parasito-

trophe Wirkung geprüft werden soll, aufgefüllt. Nach kurzem, kräftigem Schütteln bleibt das Reagenzglas 30 Minuten stehen, damit die Substanz auf den Parasiten einwirken kann. Darauf filtriert man ab, läßt das Filter über Nacht an der Luft trocknen und breitet es alsdann mitsamt den darauf befindlichen Sporen in einer Petrischale aus. Als Nährlösung wird eine 0,5%ige Lösung von Calciumnitrat, wie sie Riehm für Steinbrandkulturen empfiehlt, hinzugefügt, so daß eine Flüssigkeitsschicht von 2–3 mm Höhe entsteht. Dabei wurde eine ähnliche Beobachtung gemacht, wie sie H. Böttger⁵⁾ inzwischen bekanntgegeben hat, nämlich daß Calciumnitrat gegenüber Schimmelpilzen nicht wachstumsfördernd, sondern abtötend wirkt. Hierdurch wurde eine Erschwerung der mikroskopischen Untersuchung, wie sie zuweilen bei Anwendung anderer Nährlösungen infolge von Infektion der Kulturen aus der Luft mit Schimmelpilzen in Erscheinung trat, vermieden. Die Schalen werden bei Zimmertemperatur zerstreutem Tageslicht ausgesetzt. Täglich findet eine Prüfung statt, indem man mit einer Platinöse der Nährlösung Sporen entnimmt und sie unter dem Mikroskope auf den Grad der Keimung untersucht. Diese zeigt sich durch Bildung von Keimschläuchen an, welche aus den kugelförmigen Sporen herauswachsen. Auf diese Art ermittelt man die Dosis curativa. Nicht gebeizte Sporen, welche der entsprechenden Behandlung unterworfen werden, bei der indessen an Stelle der Beizlösung Leitungswasser zugegeben wird, sind bereits nach 2–3 Tagen in voller Keimung. Solche blinde Versuche wurden stets als Kontrolle für die Lebensfähigkeit des verwandten Sporenmaterials und zum Vergleichen mit den Beizproben ausgeführt.

Getrennt von den Brandsporen, im übrigen aber in derselben Weise werden nicht infizierte Gerstenkörner der Beizlösung ausgesetzt. Nach dem Trocknen werden die Körner auf angefeuchtem Filterpapier zur Keimung ausgelegt. Durch Ermittlung der Konzentration, welche die Keimfähigkeit beeinträchtigt, ergibt sich makroskopisch die Dosis toxica.

Die Quotienten c/t ergeben sich jeweils durch Division der in den Tabellen vermerkten Zahlen. Selbstverständlich ist unter „Dosis“ jeweils nicht eine bestimmte Gewichtsmenge zu verstehen, wie das beim Einspritzen der Substanz in die Blutbahn des Tieres der Fall ist, sondern entsprechend den der Pflanze angepaßten Arbeitsbedingungen bedeutet Dosis hier nur die Konzentration der wässrigen Lösung.

Zur Anwendung kamen folgende Chemikalien:

Formalin und Uspulun⁶⁾, für einleitende Versuche und als praktisch erprobte Mittel, zum Vergleich mit den zu erprobenden:

Salvarsan und Neosalvarsan, welchen natürlich infolge ihres hohen Preises nur theoretische Bedeutung zukommt. Atoxyl; 4-Aminophenyl-1-arsin-oxyd; 3-Amino-4-oxyphenyl-arsin-oxyd; arsenige Säure, drei Substanzen A, B und C, deren Zusammensetzung noch nicht bekanntgegeben werden kann.

Die Versuchsergebnisse sind nachstehend tabellarisch zusammengestellt. Um die Stärke der Keimung der Sporen kurz auszudrücken sind entsprechend der in der Biologie üblichen Terminologie folgende Bezeichnungen gewählt:

- = vollständige Abtötung,
- + s. w. = sehr wenig, etwa zwei gekeimte Sporen pro Gesichtsfeld,
- + w. = wenig, etwa bis zu 20 gekeimte Sporen,
- + = Keimung eines Drittels aller Sporen,
- ++ = Keimung der Hälfte aller Sporen,
- +++ = allgemeine Keimung.

Bei solchen Konzentrationen einer Beizlösung, welche völlig abtötend wirkten (—), ließen sich daneben meist auch Fälle von Spuren geringer Keimung (+ s. w.) beobachten. Es dürfte sich hierbei wohl um Unzulänglichkeiten in der Versuchsanordnung handeln. Vereinzelt Sporen haften trotz des Schüttelns am oberen Rande des Reagenzglases fest und werden dadurch der Einwirkung der Beize teilweise oder sogar ganz entzogen.

Formalin $c/t = 1/5$.

1. Giftwirkung.

Prozentgehalt der Lösung	Von 10 Gerstenkörnern waren gekeimt n. Tagen:								
	1	2	4	5	6	7	8	9	
0,0	0	10	10						
0,1		8	10	10	10	10	10	10	
0,1	2	10	10	10	10				
0,5 (t)	0	0	2	5	6	9	9	9	
1	0	0	0	0	0	1	1	1	

⁵⁾ Über die Giftwirkung der Nitrats auf niedere Organismen. Zentralblatt für Bakter. und Parasitenkunde. 2. Abt., 54, 220 [1921].

⁶⁾ Von den Farbenfabriken vorm. F. Bayer & Co., Leverkusen, freundlichst zur Verfügung gestellt.

¹⁾ P. Ehrlich, Die experimentelle Chemotherapie der Spirillosen, Berlin 1910. — Über den Begriff der experimentellen Chemotherapie, vgl. W. Eichholz, Ztschr. f. angew. Chem. 35, 205 [1922].

²⁾ „Prüfung von Pflanzenschutzmitteln“. Mitteilungen aus der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft. 15. Jahresbericht erstattet von O. Appel. Berlin, Oktober 1920. — Pape 18, 50 [1920] und Riehm, 21, 139 [1921].

³⁾ Pape, a. a. O. 1920, 50; Riehm, a. a. O. 1921, 139.

⁴⁾ Der gedeckte Gerstenbrand ist eine Erkrankung des Gerstenkornes, wodurch dieses in eine schwarze, feste Sporenmasse umgewandelt wird. Im Gegensatz dazu verwandelt der Flugbrand Körner und umschließende Spelzen in ein loses Sporenpulver, das durch den Wind weitverbreitet wird. Die Infektion erfolgt beim Gerstenbrand in der Weise, daß aus brandigen Körnern beim Dreschen die Sporen in Freiheit gesetzt werden und sich an den gesunden Körnern anheften. Bei deren Aussaat auf den Acker keimen die Sporen aus und infizieren den jungen Getreidekeimling.

2. Wirkung auf den Schädling.

Prozentgehalt der Lösung	Häufigkeit der lebenden Sporen nach Tagen:						
	1	2	4	5	6	8	9
0,0	+ w.	++	++	+++	+++		+++
0,1	—	—	—	—	+ s. w.		+ s. w.
0,1 (c)	—	—	—	+ s. w.		+ s. w.	+ w.
0,5	—	—	+ s. w.	—	—	—	+ s. w.
1	+ s. w.	—	—	—	—	—	—

Uspulun c/t = 1/4.

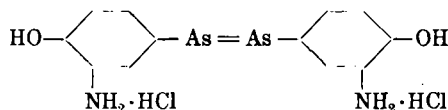
1. Giftwirkung.

Prozentgehalt der Lösung	Von 10 Gerstenkörnern waren gekeimt n. Tagen:					
	1	2	3	4	5	6
0,0	7	10	10			
0,25	1	9		9	10	10
0,5	0	9	10	10		
1	0	5		10		10
2 (t)	0	3		6		8

2. Wirkung auf den Schädling.

Prozentgehalt der Lösung	Häufigkeit der lebenden Sporen nach Tagen:					
	1	2	3	5	6	8
0,0	+	+++	+++			
0,25	+ s. w.	+ w.		+ s. w.	+ s. w.	
0,25	+ s. w.	+ w.	+ w.	+ s. w.		+ s. w.
0,5 (c)	—	—	—	+ s. w.		—
1	—	+ s. w.	—	—		—
2	—	—	—	—	—	—

Salvarsan (3,3'-Diamino-4,4'-dioxy-arsenobenzol-dichlorhydrat).



1. Giftwirkung.

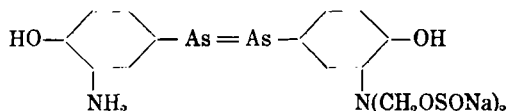
Prozentgehalt der Lösung	Von 10 Gerstenkörnern waren gekeimt nach Tagen:							
	1	2	4	5	6	7	8	9
0,0	0	10	10					
0,5	2	10	10					
1	5	7	8	9				9
1,5	0	3	10	10	10	10	10	10
1,5	0	2	8	8	8	8	8	9

2. Wirkung auf den Schädling.

Prozentgehalt der Lösung	Häufigkeit der lebenden Sporen nach Tagen:					
	1	2	4	5	6	8
0,0	+ w.	++	++	+++	+++	
0,5	+ w.	+	+	+		+ w.
1	+	+	+			+ w.
1,5	+ w.	+	++	+	+	+
1,5	+ s. w.	+	++	+	+	+

Bis zu 1,5% ist bei 1. und 2. kein voller Erfolg zu erzielen. Der Index dürfte größer als 1 sein.

Neosalvarsan.



1. Giftwirkung.

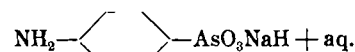
Prozentgehalt der Lösung	Von 10 Gerstenkörnern waren gekeimt nach Tagen:							
	1	2	4	5	6	7	8	9
0,0	0	10	10	10				
0,5	3	7	9				10	
1	0	1	6	7	7	8	8	8
1,5	0	2	4	8	8	9	9	9

2. Wirkung auf den Schädling.

Prozentgehalt der Lösung	Häufigkeit der lebenden Sporen nach Tagen:						
	1	2	4	5	6	8	9
0,0	+ w.	++	++	+++	+++		
0,5	+ w.	++	++	++	++		
0,5	+ s. w.	+	+	++	+	++	
1	+ s. w.	+ w.	+ w.	+	+ w.	+ w.	+
1,5	+ w.	+ s. w.	+ w.	+ w.	+	+ w.	+ w.

Für Neosalvarsan gilt das bereits beim Salvarsan Gesagte. Index größer als 1. Durch Stehenlassen verdorbene Neosalvarsanlösung, welche bekanntlich im Tierversuch hochtoxisch wirkt, zeigte keinen merklichen Unterschied im Vergleich mit frischer Lösung.

Atoxyl (4-Aminophenyl-arsinsäures Natrium).



1. Giftwirkung.

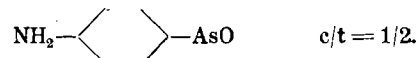
Prozentgehalt der Lösung	Von 10 Gerstenkörnern waren gekeimt nach Tagen:			
	1	2	4	5
0,0	7	10	10	
0,5	4	9	10	10
1	4	9	10	10

2. Wirkung auf den Schädling.

Prozentgehalt der Lösung	Häufigkeit der lebenden Sporen nach Tagen:				
	1	2	3	5	6
0,0	+	+++	+++		
0,5	+	++	++	+	+ w.
1	+ w.	+	+	+	+ w.

Der Index dürfte bei 1 liegen. Eine genaue Feststellung ist wegen der Schwerlöslichkeit des Präparates nicht möglich.

4-Aminophenyl-arsinooxyd



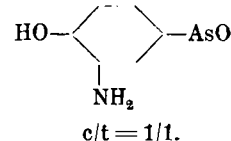
1. Giftwirkung.

Prozentgehalt der Lösung	Von 10 Gerstenkörnern waren gekeimt nach Tagen:								
	1	2	3	4	6	7	8	9	12
0,0	6	8	10	10					
0,5	6	6	6	6	6	6	6	6	7
1 (t)	2	2	6	6	6	6	6	6	6
1,5	0	0	0	1	2	2	2	2	2

2. Wirkung auf den Schädling.

Prozentgehalt der Lösung	Häufigkeit der lebenden Sporen nach Tagen:						
	1	2	3	4	6	9	15
0,0	++	+++	+++				
0,5 (c)	—	+ s. w.	—	—	—	+ s. w.	—
1	—	—	+ s. w.	—	—	+ s. w.	—
1,5	—	—	—	—	+ s. w.	+ s. w.	—

3-Amino-4-oxy-phenyl-arsinooxyd.



1. Giftwirkung.

Prozentgehalt der Lösung	Von 10 Gerstenkörnern waren gekeimt nach Tagen:			
	2	4	5	7
0,0	6	10	10	10
0,25	4	8	9	9
0,5 (t)	0	0	0	0
0,5	1	1	1	2
1	1	0	0	0

2. Wirkung auf den Schädling.

Prozentgehalt der Lösung	Häufigkeit der lebenden Sporen nach Tagen:			
	1	3	5	7
0,0	++	+++	+++	
0,25	+ w.	+ s. w.	+ w.	+ w.
0,5 (c)	—	+ s. w.		—
0,5	—	—	+ s. w.	—
1	—	—	—	—

Arsenige Säure, As_2O_3

c/t = 1/l.

1. Giftwirkung.

Prozentgehalt der Lösung	Von 10 Gerstenkörnern waren gekeimt nach Tagen:									
	1	2	3	4	6	7	8	9	11	
0,0	6	8	10	10						
0,5 (t)	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2
1,05	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2
1,57	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2

2. Wirkung auf den Schädling.

Prozentgehalt der Lösung	Häufigkeit der lebenden Sporen nach Tagen:				
	1	2	3	4	6
0,0	++	+++	+++		
0,5 (c)	—	—	+ s. w.	—	—
1,05	—	—	—	—	—
1,57	—	—	—	—	—

Substanz A

c/t = 1/1,5.

1. Giftwirkung.

Prozentgehalt der Lösung	Von 10 Gerstenkörnern waren gekeimt nach Tagen:				
	1	2	3	4	8
0,0	6	10	10		
0,5	8	10	10		
0,5	8	10	10		
1	0	8	9	9	9
1,5 (t)		6	7		7

2. Wirkung auf den Schädling.

Prozentgehalt der Lösung	Häufigkeit der lebenden Sporen nach Tagen:							
	1	2	3	4	5	6	8	16
0,0	++	+++	+++					
0,5	+ s. w.	+ w.	+ w.		+ w.	+ w.		
0,5	—	—	—	+ s. w.		+ s. w.		+ s. w.
0,5	+ w.	+ w.	—	+		+		
1 (c)	—	—	—	—		—	+ s. w.	
1,5	—	—	—	—		—	—	

Substanz B

c/t = 1/8.

1. Giftwirkung.

Prozentgehalt der Lösung	Von 10 Gerstenkörnern waren gekeimt nach Tagen:					
	1	2	3	4	5	6
0,0	6	10	10			
0,25			9		10	10
0,25		4	8	9	10	10
0,5			7		9	9
0,5	7	8	9	9	9	9
0,5	9	10		10	10	
0,5			9	10		
1	8	10	10	10	10	
1			10	10	10	
2 (t)			4	4	3	2

2. Wirkung auf den Schädling.

Prozentgehalt der Lösung	Häufigkeit der lebenden Sporen nach Tagen:							
	1	2	3	5	6	7	8	16
0,0	++	+++	+++					
0,25	—	—	—	—	+ s. w.			
0,25	+ w.		+ w.	+ w.	+ w.	+ w.		
0,25 (c)	—	+ s. w.		+ s. w.			+ s. w.	
0,5	—		+ s. w.	—	—	—		—
0,5	—	—	—	—	—	—		
0,5	—	—	—	—	—	—		
0,5	—		+ w.	+ w.		+ w.	+ w.	
1	—	—		+ s. w.				
1			—	+ s. w.	+ s. w.	—		
2			—	—	—	—		

Substanz C

c/t = 1/40.

1. Giftwirkung.

Prozentgehalt der Lösung	Von 10 Gerstenkörnern waren gekeimt nach Tagen:					
	2	3	4	5	6	9
0,0	7	10	10	10	10	
0,1	10	10	10			
0,3	9	9				9
0,3	10	10				10
0,6	8	10				10
0,6	7	10				10
1,6	8	9				10
1,6	7	7				9
2 (t)	6	6			9	9
2	7				9	9
3	6				7	7
3	6				8	8

2. Wirkung auf den Schädling.

Prozentgehalt der Lösung	Häufigkeit der lebenden Sporen nach Tagen:							
	2	3	4	6	7	8	10	14
0,0	++	+++	+++					
0,05	—	—	—	—	—			
0,05 (c)	—	—	—	+ s. w.	—			
0,1	—	—	—	—	—	+ s. w.		
0,1	—	—	+ s. w.		—			
0,3								
0,3								
0,6								
0,6								
1,6								
2								
3								
3								

Zusammenstellung der Ergebnisse:

Beizmittel	Dos. cur. (ausgedrückt in Prozenten der wässer. Lösungen)	Dos. tox.	c/t
Atoxyl	größer als 1	größer als 1	> 1
Salvarsan	" " 1,5	" " 1,5	> 1
Neosalvarsan	" " 1,5	" " 1,5	> 1
Arsenige Säure	0,5	0,5	1
3-Amino-4-oxy-phenyl-arsinoxyd	0,5	0,5	1
Substanz A	1	1,5	1/1,5
4-Amino-phenyl-arsinoxyd	0,5	1	1/2
Uspulun	0,5	2	1/4
Formalin	0,1	0,5	1/5
Substanz B	0,25	2	1/8
Substanz C	0,05	2	1/40

Die untersuchten Verbindungen sind nach fallendem Index geordnet. Man sieht, daß Atoxyl, Salvarsan, Neosalvarsan und arsenige Säure vollkommen versagen. Auch die folgenden drei Verbindungen sind belanglos. Günstige Indices haben erst Uspulun und Formalin. Besser ist Substanz B, und hervorragende Wirkung zeigt Substanz C, bei welcher erst das 40-fache der heilenden Dosis die Keimfähigkeit der Gerste schädigt. Über die Zusammensetzung dieser Verbindungen kann erst Mitteilung gemacht werden, wenn ihre etwaige praktische Bedeutung festgestellt ist, zu deren Beurteilung Laboratoriumsversuche selbstverständlich nicht ausreichen. Als Hauptresultat dieser Arbeit betrachten wir die Feststellung, daß es nicht aussichtslos erscheint, den Ehrlichschen Begriff des chemotherapeutischen Index bei Versuchen über Pflanzenschutz anzuwenden und dadurch die Ergebnisse zahlenmäßig festzulegen.

[A. 98.]