

Die  
Tätigkeit der Bakterien im Boden.

---

Vortrag,  
gehalten im Naturwissenschaftlichen Verein zu Karlsruhe  
am 24. April 1903

von

**Dr. Franz Muth**

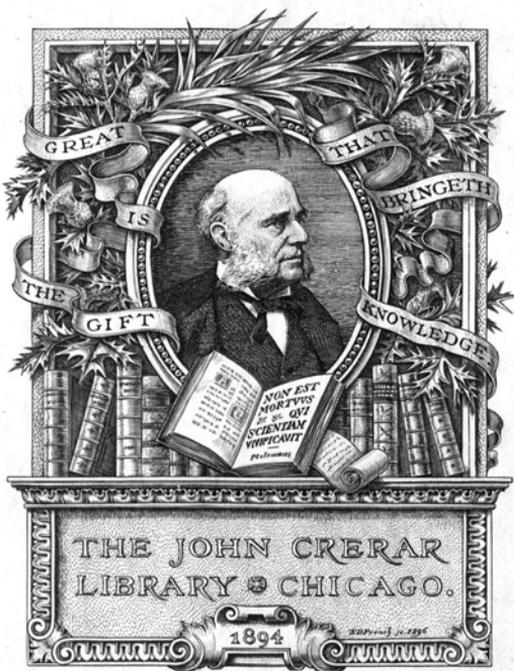
Assistent an der Grossh. badischen landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Augustenberg und  
Privatdozent für Botanik an der Grossh. Technischen Hochschule in Karlsruhe.

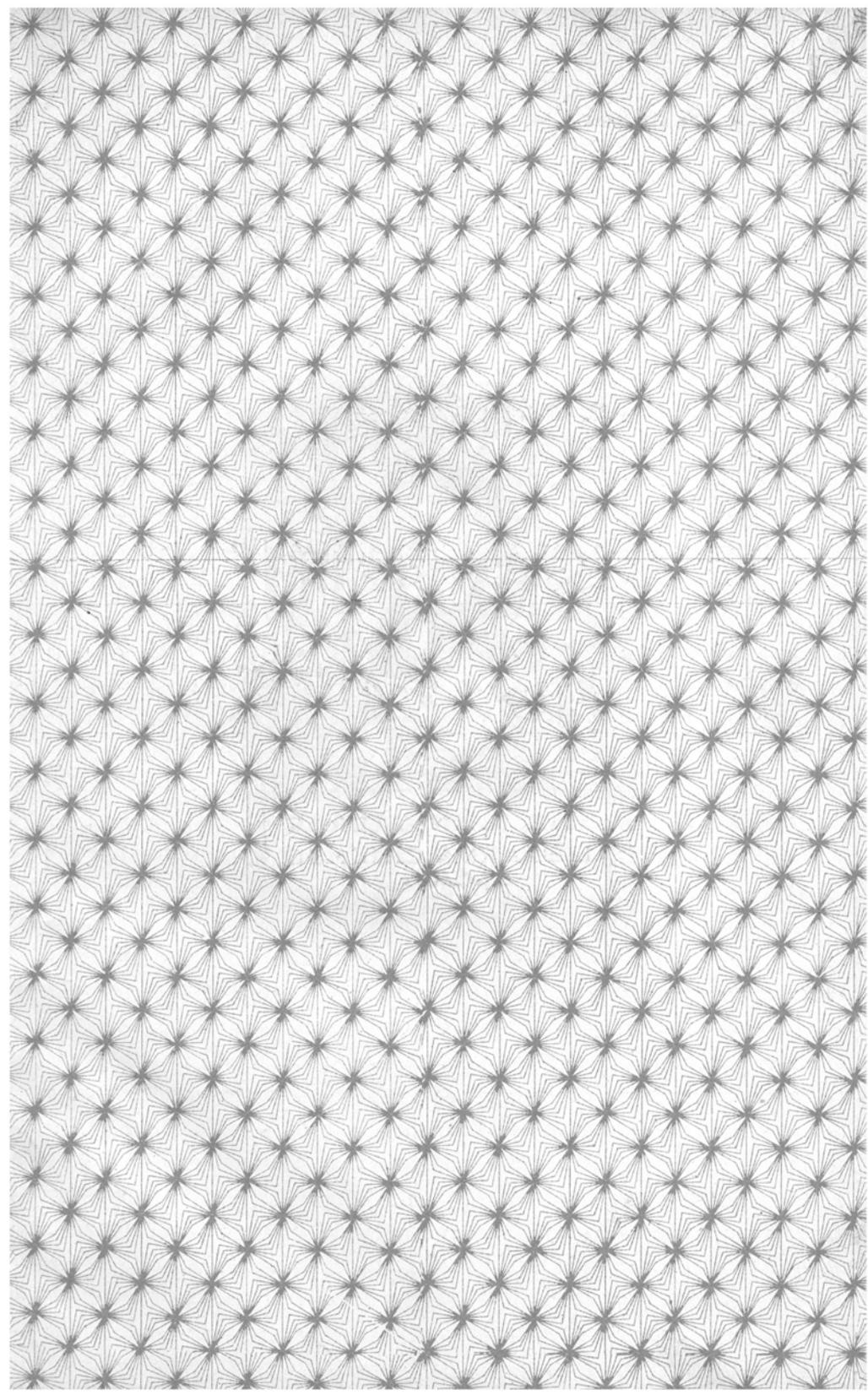
---

Mit Abbildungen.

---

Karlsruhe i. B.  
Verlag von Wilhelm Jahraus.  
1903.











Die  
Tätigkeit der Bakterien im Boden.

---

Vortrag,  
gehalten im Naturwissenschaftlichen Verein zu Karlsruhe  
am 24. April 1903

von

**Dr. Franz Muth**

Assistent an der Grossh. badischen landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Augustenberg und  
Privatdozent für Botanik an der Grossh. Technischen Hochschule in Karlsruhe.

---

Mit Abbildungen.

---

Karlsruhe i. B.  
Verlag von Wilhelm Jahraus.

1903.  
O. P. k.

Sonderabdruck  
aus dem XVI. Band der Verhandlungen  
des Naturwissenschaftlichen Vereins.

Zu den bedeutungsvollsten Gebieten der naturwissenschaftlichen Forschung, welche ihre Entwicklung den letzten Dezennien des durch weittragende, wissenschaftliche Errungenschaften so bemerkenswerten vergangenen Jahrhunderts verdanken, gehört ohne Zweifel die Bakteriologie. Spielen doch die Bakterien, diese kleinen Lebewesen eine so wichtige Rolle im grossen Haushalt der Natur, als ständige Mitarbeiter und Regulatoren bei deren ewigem Kreislauf, als Vermittler organischen Werdens und Vergehens, Lebens und Sterbens. Von grösster Wichtigkeit sind hierbei die biologischen Vorgänge im Boden oder wie der Dichter sagt, der Mutter Erde, an welcher in erster Linie wiederum Bakterien beteiligt sind. Wenn unsere Kenntnisse über diese Vorgänge und über die Bakterien im Boden zurzeit auch noch in den ersten Stadien ihrer Entwicklung begriffen sind, so genügen sie doch, die grosse Bedeutung der Bodenbakteriologie in nationalökonomischer, hygienischer und wissenschaftlicher Beziehung uns vor Augen zu führen.

Die bakteriologischen Verhältnisse und Vorgänge im Boden haben deshalb auch die allgemeine Aufmerksamkeit auf sich gelenkt und dürfte es manchem erwünscht sein, einen Einblick in das Bakterienleben des Bodens zu gewinnen. Diesem Zweck möchten unsere Ausführungen dienen, die einen kurzen und in keiner Weise erschöpfenden, sondern nur das Wichtigste berücksichtigenden Überblick über den jetzigen Stand unserer Kenntnisse der Bodenbakterien und ihrer Tätigkeit bieten möchten.

Auf die geschichtliche Entwicklung der Bakteriologie, sowie auf die vielseitige, täglich gewaltig wachsende Literatur über die Bodenbakterien wollen wir nicht näher eingehen, da dies nicht im Rahmen eines kurzen Referates über den Stand einer Frage liegt. Die wichtigste Literatur findet man im bakteriologischen Zentralblatt, besonders in dessen zweiter Abteilung und im Jahres-

bericht für Gärungsorganismen von A. Koch, ferner in dem ersten Bande der technischen Mycologie von Franz Lafar und dem System der Bakterien von Walther Migula. Besonders erwähnt sei ferner Wollnys bekanntes Werk über die Zersetzung der organischen Stoffe und die Humusbildungen, sowie die Vorlesungen über Bakterien von Alfred Fischer. Einen unser Thema speziell in landwirtschaftlicher Beziehung in der Hauptsache erschöpfenden Überblick hat J. Behrens in einem bemerkenswerten Vortrag über die Arbeit der Bakterien im Boden und im Dünger gegeben, der in den Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft 1901, Heft 64, pag. 108—144 veröffentlicht ist.

Es seien nun zunächst einige kurze, allgemeine Bemerkungen über die Bakterien vorausgeschickt. Dieselben sind ausserordentlich kleine, mitunter an der Grenze des mittelst unserer heutigen optischen Hilfsmittel noch Sichtbaren stehende, einzellige, zu den Spaltpflanzen (Schizophyta) gehörende chlorophyllose Organismen. Sie vermehren sich durch Zweiteilung, „Spaltung in der Mitte“, weshalb man sie mit den in dieser Beziehung ähnlich sich verhaltenden, vielfach, aber nicht mit Recht als ihre Stammeseltern angesehenen Spaltalgen (Schizophyceae) zu der bereits erwähnten Abteilung der Spaltpflanzen vereinigt hat. Manche der höher organisierten, zu den sogenannten Scheidenbakterien gehörende Arten besitzen ausserdem die Fähigkeit, sich durch teils unbeweglich, teils bewegliche Gonidien zu vermehren. (Vergl. die Fig. 19 u. 20 Seite 54 u. 55). Es sind dies aus dem gemeinschaftlichen Verbands in der Scheide entweder direkt oder nach besonderen, nur bei der Gonidienbildung zu beobachtenden Teilungsvorgängen heraustretende, sich nach dem Verlassen der Scheide zu neuen Kolonien entwickelnde Zellen.

Viele, aber nicht alle Arten vermögen sog. Dauerzellen oder Endosporen zu bilden, die sich durch eine bedeutend festere und dickere Membran, sowie durch ihre Widerstandsfähigkeit gegen Hitze, chemische Mittel und andere Einwirkungen der vegetativen Zelle gegenüber auszeichnen. Während nach den Untersuchungen von Brefeld die letzteren z. B. bei dem allerwärts verbreiteten Heubazillus (*Bacillus subtilis* Fig. 1) nach 20 Minuten dauerndem Aufenthalt in siedendem Wasser sicher vernichtet sind, bedarf es bei den Sporen dieses Organismus eines dreistündigen Kochens, um sie zu töten.

Manche Bakterien vermögen sich zu bewegen. Dies geschieht fast ausschliesslich durch feine, an einem oder den beiden Polen der Bakterienzelle befindliche oder über deren ganze Oberfläche zerstreute Plasmafäden, den sog. Geisseln. (Vergl. die Fig. 1 a, 9, 10, 11, 12, 13, 18 b.) Die Bakterien leben entweder einzeln oder sie sind infolge einer vielen Arten eigenen Gallerthülle zu verschieden gestalteten Kolonien vereinigt. Durch weitgehende Gallertbildung entstandene Kolonien, die dabei von fester Konsistenz sind, bezeichnet man mit dem Namen Zoogloea. (Vergl. die Fig. 12 und 13.)

Die Bakterien wachsen teils nur bei Luftzutritt, also bei Gegenwart von freiem Sauerstoff (sog. Aërobionten), teils sowohl bei Luftzutritt, als auch bei Luftabschluss (fakultative Anaërobionten), während wieder andere Arten sich nur bei vollständigem Luftabschluss zu entwickeln vermögen. Es sind dies die obligatorischen Anaërobionten. Die meisten Bakterien kann man auf künstlichen Nährböden züchten, die sich in ihrer Zusammensetzung möglichst den natürlichen Ernährungsverhältnissen des zu züchtenden Organismus nähern müssen. Man unterscheidet flüssige und feste Nährböden. Mit der Einführung der letzteren und der Plattenkultur durch Robert Koch war eine brauchbare Methode zur Reinkultur geschaffen und der Grundstein zur erfolgreichen, wissenschaftlichen bakteriologischen Forschung gelegt. Diejenige Temperatur, bei der ein Organismus am besten gedeiht, ist sein Wachstumsoptimum, diejenige niederste oder höchste Temperatur, bei welcher er gerade noch wächst, sein Minimum resp. Maximum. Bei einigen Arten treten in der künstlichen Kultur unter besonderen Umständen abweichende Gestalten auf, die wir als Degenerations- oder Involutionsformen bezeichnen. (Vergl. die Fig. 7 v. x. y.)

Von hohem wissenschaftlichem Interesse und grosser praktischer Bedeutung sind die Bakterien in physiologischer Beziehung.



Fig. 1.

*Bacillus subtilis* Ehrenberg. (Heubazillus).

- a. Schwärmende Stäbchen mit Geisseln,  
 b. Sporen bildende Fäden,  
 500fache Vergr. Nach Migula.

Einige vermögen sich vollständig autonom zu ernähren, sich ausschliesslich mit anorganischen Nährsubstanzen begnügend; die meisten aber sind auf organische Verbindungen angewiesen, verschiedenartige und oft weitgehende, als Gärungen bezeichnete Zersetzungen ihres Nährsubstrates hervorrufend. Unter Gärungen verstehen wir hier in des Wortes weitester Bedeutung alle unter Mitwirkung von Mikroorganismen verlaufenden chemischen Vorgänge. Wir unterscheiden hauptsächlich Oxydations-, Reduktions-, hydrolytische und synthetische Gärungen. Eine vollständige bis zur Mineralisierung, d. h. bis zur Bildung von Kohlensäure, Wasser und Ammoniak gehende Oxydationsgärung organischer Substanzen nennen wir Verwesung, während wir als Fäulnis solche biologische Prozesse bezeichnen, die bei Luftabschluss oder bei ungenügendem Luftzutritt unter Bildung von übelriechenden Gasen verlaufen. Neuerdings versteht man unter Fäulnis auch speziell die komplizierten Gärungserscheinungen der Eiweisskörper. Vermoderung nennt man eine noch nicht genügend aufgeklärte, im Boden besonders bei Gegenwart von pflanzlichen, stickstoffarmen, cellulosehaltigen Stoffen auftretende, durch die Bildung von Huminsubstanzen charakterisierte Zersetzung. Die meisten dieser chemischen Prozesse werden, wie man annimmt, durch von den Bakterien erzeugte Enzyme ausgelöst. Über die chemische Konstitution und den Wirkungsmechanismus dieser in den Organismen weitverbreiteten, in der Regel ausserordentlich leicht zersetzlichen Enzyme wissen wir zurzeit noch nichts Sicheres. Ihre Wichtigkeit für die lebende Bakterienzelle besteht in erster Linie in der Umbildung der Nährmedien in für dieselbe assimilierbare Verbindungen und in der Energieerzeugung durch Oxydationsprozesse oder durch Wärme erzeugende exothermische Spaltungsvorgänge. Die Bakterien sind, wie wir wissen, mit einigen wenigen Ausnahmen bei ihrer Ernährung auf organische Verbindungen angewiesen. Viele derselben leben von toten Körpern, andere dagegen auf resp. in lebenden Organismen. Die ersteren begnügen sich gleichsam damit, sich in Häusern, die von ihren Bewohnern verlassen wurden, anzusiedeln, dieselben einzureissen, dabei das für sie Brauchbare verwendend, und der Natur Bausteine für neue Bauten zu liefern. Wir nennen solche Arten Saprophyten. Andere aber dringen, um bei dem Bilde zu bleiben, auch in bewohnte Häuser ein, wo sich dann ihr Verhältnis zu deren

Bewohnern bald freundlich, bald feindlich gestaltet. Im ersteren Falle sprechen wir von Symbiose. Ein schönes Beispiel dafür werden wir später bei den Knöllchenbakterien der Leguminosen kennen lernen. Wirt und Gast vertragen sich hier sehr gut und sind sich in ihrem Fortkommen durch gegenseitige Leistungen behilflich. Aber nicht immer gestalten sich die Dinge so friedlich; oft fällt der Eindringling über seinen Wirt in räuberischer Absicht her, ihn aussaugend und schliesslich tötend. Wir sprechen dann von Parasitismus. Zwischen diesen beiden Extremen gibt es viele Zwischenstufen, wo sich das Verhältnis zwischen Wirt und Gast mehr oder weniger günstig für den ersteren gestaltet.

Interessant ist die Erscheinung, dass manche Arten sowohl als Saprophyten, wie auch als Parasiten auftreten können. Wir bezeichnen solche Arten als fakultative Saprophyten resp. Parasiten, während wir die Bakterien, die nur als Saprophyten oder als Parasiten zu leben im stande sind, obligatorische Saprophyten resp. Parasiten nennen. Von besonderer Wichtigkeit ist die Frage, auf welche wir später noch einmal zurückkommen werden, welche Saprophyten vermögen parasitäre Eigenschaften anzunehmen und unter welchen Umständen tun sie dies? Sehr verschieden und mannigfaltig sind die Stoffwechselprodukte der Bakterien. Nach der Art derselben hat man die Schizomyceten auch in zymogene, chromogene und pathogene eingeteilt, eine Einteilung, die mehr auf empirischen Beobachtungen, als auf wissenschaftlichen Grundlagen beruht. Die zymogenen, die Erreger der gewöhnlichen Gärungen, erzeugen hauptsächlich Kohlensäure, Alkohole, fette Säuren etc., die chromogenen bilden Farbstoffe, die pathogenen Ptomaine, Toxine und Toxalbumine. Unter Ptomainen verstehen wir ungiftige, unter Toxinen giftige Stoffwechselprodukte der Bakterien von ähnlicher chemischer Konstitution, wie die Alkaloide. Von ganz anderer chemischer Zusammensetzung und von hervorragender Giftigkeit sind die Toxalbumine, die eine ähnliche molekulare Konstitution, wie die Eiweisstoffe haben, denen sie ausserordentlich nahe stehen und von denen sie wahrscheinlich abstammen.

Die Bakterien, über deren Abgrenzung die Ansichten zum Teil noch auseinandergehen, hat man in verschiedener Weise eingeteilt. Am meisten Verbreitung und Anerkennung haben in den letzten Jahren das System von Alfred Fischer und dasjenige

von Walther Migula gefunden. Die Hauptgruppen des letzteren seien hier mitgeteilt:

1. Ordnung: Eubacteria.

1. Familie Coccaceae (Kugelbakterien) (Fig. 8).
2. „ Bacteriaceae (Stäbchenbakterien) (Fig. 1, 2, 3, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 b).
3. „ Spirillaceae (Schraubebakterien) (Fig. 18 a).
4. „ Chlamydobacteriaceae (Scheidenbakterien) (Fig. 19 und 20).

2. Ordnung: Thiobacteria (Schwefelbakterien).

1. Familie Beggiatoaceae (Farblose Schwefelbakterien) (Fig. 18 c).
2. „ Rhodobacteriaceae (Rote oder violette Schwefelbakterien) (Fig. 18 a und b).

Bei den Chlamydobacteriaceen sind die cylindrischen Zellen zu Fäden angeordnet, die von einer mehr oder weniger deutlich sichtbaren scheidenartigen Membran umgeben sind. Die Schwefelbakterien unterscheiden sich von ihren Kollegen in erster Linie in physiologischer Beziehung; es scheint, dass bei denselben der Schwefelwasserstoff bei der Atmung dieselbe Rolle spielt, wie bei den übrigen Organismen die Kohlenstoffverbindungen. Die zweite Familie ist durch einen Bakteriopurpurin genannten Farbstoff, über dessen Funktion noch keine zuverlässigen Untersuchungen vorliegen, ausgezeichnet.

Betrachten wir zunächst jetzt den Boden als Träger von Bakterien. Ausser diesen finden wir im Boden noch mancherlei andere Mikroorganismen, die für die biologischen Prozesse in demselben von Bedeutung sind. Die wichtigsten Vertreter dieser kleinen Lebewesen gehören zu den Schimmelpilzen und zu den Hefearten; auch tierische Organismen sind von Bedeutung; ferner verdienen die den Bakterien nahe verwandten Spaltalgen hier besondere Erwähnung.

Schon in der Mitte des 8. Dezenniums des vergangenen Jahrhunderts haben Birch-Hirschfeld und von Fodor, allerdings mit ungenügenden Hilfsmitteln den Boden auf seinen Bakteriengehalt untersucht. Sie fanden, dass schon in wenigen Milligrammen der oberflächlichen Bodenschichten Bakterien enthalten sind, während die in einer Tiefe von vier Metern entnommenen Proben meist

steril waren. Sie beobachteten auch schon, dass die im Boden vorkommenden Spaltpilze meistens zu den Stäbchenbakterien gehören. In die Tiefe gelangen die Bakterien unter normalen Umständen, wie bereits von Fodor durch Versuche nachgewiesen hat, sehr schwer. Um Bodenproben vollständig rein aus beliebiger Tiefe zur bakteriologischen Untersuchung, die zur Erzielung sorgfältiger Resultate sofort nach Entnahme ausgeführt werden muss, holen zu können, sind verschiedene Instrumente konstruiert worden. Das bekannteste ist wohl das von E. Fränkel angegebene. Dieser sogenannte Röhrenbohrer hat unten einen circa 12 cm langen, 2 cm tiefen mit einer Hülse verschliessbaren, löffelförmigen Ausschnitt zur Aufnahme der Erdprobe. Die Hülse ist so konstruiert, dass sie sich bei Linksdrehung schliesst, bei Rechtsdrehung öffnet.

Um die Zahl der in einer Bodenprobe vorhandenen Bakterienkeime zu bestimmen, geht man in der Regel in der Weise vor, dass man eine abgemessene, kleine Quantität ( $\frac{1}{50}$  ccm) des Materials in ein Reagenzröhrchen mit geschmolzener Nährgelatine einfüllt, die Probe dann gründlich in der Gelatine verteilt und die letztere durch Drehung des Röhrchens in geeigneter Lage an dessen Wandungen nach der Esmarch'schen Methode ausrollt. Bei sehr keimreichen Erdproben empfiehlt es sich, eine grössere Menge in einer bestimmten Quantität Wasser durch Schütteln zu verteilen und davon erst einen Bruchteil in die Gelatine zu bringen. Diese letztere wird nach der vielfach variierten Vorschrift von Robert Koch in folgender Weise dargestellt. In Fleischwasser, das man durch 24stündiges Macerieren von feingehacktem, möglichst fettfreiem Rindfleisch mit seinem doppelten Gewicht Wasser und vorsichtiges Auspressen gewonnen hat, löst man 10% Gelatine, 1% Pepton und  $\frac{1}{2}$ % Kochsalz. Neuerdings verwendet man auch mit Bodeninfus hergestellte Nährböden. Aber sowohl diese wie die gewöhnliche Nährgelatine haben den Nachteil, dass viele Bodenbakterien auf denselben nicht wachsen. Wir werden in den sog. Nitrifikationsorganismen z. B. Bakterien kennen lernen, die auf Nährböden mit löslichen organischen Verbindungen überhaupt nicht zu gedeihen vermögen. Wenn auf diese Weise die quantitative bakteriologische Bodenuntersuchung auf Schwierigkeiten stösst, so ist dies bei der qualitativen noch mehr der Fall, da es bei sehr vielen Kolonien

oft ausserordentlich schwierig ist, eine sichere Diagnose zu stellen. Neuerdings hat Gottheil in allerdings richtiger Erkenntnis, dass die Systematik der Bodenbakterien noch sehr mangelhaft ist, in dankenswerter Weise versucht, etwas mehr Sicherheit und Klarheit in die Verhältnisse zu bringen. In wie weit ihm dies gelungen ist, wird die Zukunft zeigen.

Wie bereits erwähnt, nimmt die Zahl der Bakterien nach der Tiefe rasch ab, und zwar ist diese Abnahme zuerst eine allmähliche bis etwa  $1\frac{1}{4}$  m. Dort wird dieselbe plötzlich eine sehr rapide, so dass schon wenig Decimeter tiefer der Boden fast vollständig keimfrei angetroffen wird. Die Schichte des Grundwassers ist gewöhnlich keimfrei. Im allgemeinen finden sich an der Oberfläche mehr aërobe, der Tiefe zu mehr anaërobe Arten. Folgende im Jahre 1886/87 von E. Fränkel mit Boden aus der Umgebung von Potsdam erhaltenen Zahlen mögen hier mitgeteilt sein.

Tiefe der Boden- schicht	Menge der in 1 ccm etwa vorhandenen Bakterienkeime								
	24. April	27. Mai	12. Juni	9. Juli	14. August	4. Sept.	2 Oktober	3. Nov.	16. März
Oberfläche . .	—	150000	110000	—	300000	95000	130000	55000	80000
$\frac{1}{2}$ Meter . .	70000	200000	90000	—	240000	65000	100000	75000	85000
$\frac{3}{4}$ " . .	250000	—	—	—	40200	3000	—	8000	—
1 " . .	1000	2000	2000	4300	80000	600	40000	7000	3000
$1\frac{1}{2}$ " . .	200	15000	2000	400	500	700	600	200	300
2 " . .	—	2000	600	300	400	—	700	100	200
$2\frac{1}{2}$ " . .	250	500	700	—	100	—	150	—	150
3 " . .	—	3000	100	—	—	150	—	1500	100
$3\frac{1}{2}$ " . .	—	—	800	—	—	100	1400	50	700
4 " . .	—	—	150	300	—	—	600	—	—

Die Zahlen, die natürlich keinerlei Anspruch auf absolute Zuverlässigkeit haben, zeigen uns ferner, dass der Bakteriengehalt des Bodens zu verschiedenen Jahreszeiten bedeutend wechselt, dass also das Klima einen nicht zu verkennenden Einfluss auf die Entwicklung der Bodenmikroorganismen hat. Ausserdem sind für den Gehalt an Art- und Individuenzahl noch andere Umstände von Bedeutung. Schon die Art, die Beschaffenheit und die Reaktion des Bodens spielen hierbei eine grosse Rolle; in sauren und nassen Moorböden z. B. treten die Bakterien überhaupt den Schimmelpilzen gegenüber zurück. Eine interessante Studie über das Vorkommen von Bakterien in verschiedenen Böden hat Fülles in der Nähe von Freiburg i. B. ausgeführt; er suchte neben der Zahl der vorhandenen Keime auch die Art derselben nach Möglichkeit festzustellen. Dabei zeigte es sich, dass die verschiedenen untersuchten Wiesen- und Walderden das bunteste Gemenge von Bakterien enthielten, regelmässiger waren die Verhältnisse bei Weinberg- und bei Ackererde. In verschiedenen Tiefen fand Fülles einen deutlichen Unterschied der Arten. Eine auffallende Regelmässigkeit und Einfachheit zeigte die Bakterienflora auf grösseren Höhen des Schwarzwalds. Fülles beobachtete bei Bodenproben von dem Gipfel des Rosskopfs und des Schauinsland fast stets nur ein Gemenge des Heubazillus (*Bacillus subtilis*) (Fig. 1) und des Wurzelbazillus (*Bacillus mycoides*). Im allgemeinen zeigte sich der Waldboden am ärmsten an Bakterien; es folgte dann die Weinbergerde, hierauf der Wiesengrund und schliesslich der Ackerboden. In stark verschmutzten Böden in der Nähe von Wohnungen sind die Bakterien in der Regel überaus zahlreich vorhanden. So fand A. Maggiora in einem Gramm einer Bodenprobe, die er einem Turiner Strassendamm entnommen hatte, 78 Millionen Bakterien. Im allgemeinen dürfte der Bakteriengehalt des Bodens proportional seinem Gehalt an organischer Substanz sein.

Besondere Erwähnung verdient die in ihren Ursachen nicht genügend aufgeklärte Tatsache, dass gewisse Arten plötzlich in grosser Menge auftreten und ebenso rasch wieder verschwinden, um entweder dem gewöhnlichen Bakteriengemisch zu weichen oder aber durch eine andere stark verbreitete Art ersetzt zu werden. Diese Erscheinung ist besonders in epidemiologischer Beziehung von grossem Interesse.

Über den Einfluss des Pflanzenbestandes auf die Bakterienflora des Bodens unter sonst gleichen Bedingungen sind die Ansichten geteilt. Während Caron auf Grund von Untersuchungen auf seinem Gut Ellenbach angibt, dass der Bakteriengehalt am grössten ist nach der Schwarzbrache, der die Hackfrüchte und dann der Klee folgen und die Halmfrüchte mit dem geringsten Bakteriengehalte am Schluss stehen, behauptet Remy gestützt auf diesbezügliche Versuche, dass sich nirgend ein bestimmter Einfluss der angebauten Pflanzen auf die Bakterienflora des Bodens nachweisen lasse. Neuerdings hat man auch versucht, aus dem Bakteriengehalte des Bodens auf dessen Fruchtbarkeit Schlüsse zu ziehen. Remy, der diese Frage näher verfolgt hat, ist zur Ansicht gelangt, dass aus dem Bakteriengehalt ein einigermaßen sicheres Urteil über den Zustand eines Bodens nicht gewonnen werden könne. Ein zahlreicher Bakterienstand, meint Remy, sei wohl als ein erwünschtes Symptom zu betrachten, welches im Gefolge, bzw. als Begleiterscheinung sorgsamer Bodenkultur aufzutreten pflege; doch die Frage, inwieweit der grossen Bakterienzahl Bedeutung als Ursache der Bodenfruchtbarkeit zukomme, lasse sich an der Hand von Zählungen natürlich nicht entscheiden.

Wie gelangen nun die Bakterien in den Boden?

Von aussen her durch die Luft, durch das Wasser, durch die Dungstoffe, durch Tiere und Pflanzen, bei letzteren hauptsächlich mit den Samen. Auch in sogenannten jungfräulichen Boden gelangen Bakterien und andere Mikroorganismen auf diese Weise. Bei der Bildung der Böden durch Verwitterung und der Umwandlung von nacktem Sand in Heide spielt die Übertragung von Bakterien eine wichtige Rolle. Es wurde bereits einmal darauf hingewiesen, dass Luft, Wasser und Boden in bakterieller Beziehung in steter Wechselwirkung mit einander stehen. Der Haupt- und Stammsitz der meisten Bakterien ist aber stets der Boden; von ihm aus werden sie durch das Wasser und besonders durch die Luft überall hin verbreitet. Im praktischen Leben finden wir deshalb die Bakterien bald bei erwünschter, bald bei unerwünschter Tätigkeit. Bei der Bereitung von Brot, Butter, Käse, Getränken, Essig, in unsern Nahrungsmittelkonserven, bei der Fermentation des Tabaks, bei der Selbsterhitzung und der eventuellen Selbstentzündung von aufgehäuften Pflanzenstoffen, wie Heu, Baumwolle, Hopfen, in der Gerberei, bei der Zucker-

fabrikation, überall finden wir die Bakterien bald als angenehme oder unentbehrliche Helfer, bald als sehr unangenehme und schädliche Gäste. Auf die schlimmsten der letzteren, auf die pathogenen Bakterien, soweit sie im Boden vorzukommen pflegen, werden wir später noch besonders einzugehen haben. Hier wollen wir zunächst die Tätigkeit der Bakterien im Boden selbst verfolgen, die wir in eine physikalische, die Bodenstruktur beeinflussende und in eine chemische einteilen können. In ersterer Richtung hat Suringar interessante Beobachtungen gemacht, die sich allerdings auch auf andere Bodenmikroorganismen erstrecken. Er nimmt auf Grund seiner Versuche an, dass die sogenannte Krümelstruktur des Bodens in erster Linie das Produkt biologischer Vorgänge ist. Bereits vor Suringar hatte J. Behrens an die Wahrnehmung, dass Schimmelpilze in trockenem Tabakpulver eine krümelartige Struktur, wie sie der Ackerkrume eigen ist, erzeugten, die Vermutung geknüpft, dass die Gare des Bodens wenigstens zum Teil das Werk von Schimmelpilzen und Bakterien ist, welche die kleinsten Bodenteilchen untereinander zu grösseren Krümeln verbinden. Auch die Untersuchungen von Gräbner über die Entstehung der norddeutschen Heide, welche in der von Engler und Drude herausgegebenen Sammlung pflanzengeographischer Monographien veröffentlicht sind, haben in dieser Beziehung beachtenswerte Resultate ergeben. Gräbner geht nämlich bei Erörterung der Probleme der Heideforschung auch auf die Bedeutung der Mikroorganismen bei der Bildung der Heide aus nacktem Sand ein. Es kommt hierbei nach seinen Ausführungen ausschliesslich die Tätigkeit niederer Organismen in Frage, namentlich die von blaugrünen Algen (Schizophyceen), welche als Pioniere der Vegetation die losen Sandkörner fest verbinden, dadurch allmählich eine Bodendecke schaffend, die auch andere Pflanzen aufzunehmen vermag.

Von Bedeutung für die physikalische Beschaffenheit des Bodens sind die Mikroorganismen auch durch ihren Gasaustausch und die günstige Wirkung des Stalldüngers auf die Beschaffenheit des Bodens, dürfte nicht in letzter Linie auf dieser Ursache beruhen; unter Umständen dürften sie ferner bis zu einem gewissen Grad Einfluss auf die Bodentemperatur haben.

Wenden wir uns nun zur chemischen Tätigkeit der Bakterien im Boden; sie erstreckt sich sowohl auf dessen anorganische,

wie auf dessen organische Bestandteile, vorwiegend aber auf die letzteren. Bei dem organischen Kreislauf der Natur sehen wir die Bakterien überall als Helfer und Vermittler und der Kreislauf des Stickstoffs ist, wie wir nach den bisherigen Untersuchungen wenigstens annehmen müssen, ausschliesslich ihr Werk. Dass das Absorptionsvermögen des Bodens für organische Stoffe und seine Bindekraft durch einen hohen Bakteriengehalt erhöht wird, ist bekannt. Die Einwirkung der Bakterien auf die anorganischen Bodenbestandteile erstreckt sich hauptsächlich auf die Karbonate, Phosphate, Sulfate des Calciums und des Magnesiums sowie auf die Silicate der Alkalimetalle. Diese Fähigkeit der Bakterien macht dieselben, es sei dies hier nebenbei bemerkt, auch zu Mitarbeitern bei manchen geologischen Vorgängen unserer Erde.

• Weitgehend und tief eingreifend ist ihre Einwirkung auf die organischen Bestandteile des Bodens. Fällt ihnen doch vor allem die Aufräumung und Mineralisierung der tierischen und pflanzlichen Leichen zu, ohne welche der organische Kreislauf alsbald ins Stocken geraten müsste. Wir werden die hier in Betracht kommenden organischen Verbindungen in stickstoffhaltige und in stickstofffreie einteilen und die einzelnen Körperklassen mit den entsprechenden Bakteriengruppen nach Möglichkeit einzeln verfolgen.

Zuerst wollen wir die Bodenbakterien in ihrer gewaltigen und wichtigen Arbeit beim Kreislauf des Stickstoffs näher betrachten. Dabei können wir fünf Bakteriengruppen unterscheiden, von welchen die Angehörigen der ersten Gruppe insofern die grösste Bedeutung haben, weil fast sämtlicher gebundener Stickstoff unseres Planeten durch sie festgelegt wird und die bei den übrigen vier Gruppen in Betracht kommenden Stickstoffverbindungen den Vertretern der ersten ihre Entstehung verdanken.

Erste Gruppe: Die stickstoffbindenden Bakterien; sie vermögen den freien Stickstoff der Atmosphäre zu assimilieren und den Kulturpflanzen nutzbar zu machen.

Zweite Gruppe: Die Ammoniakbildner; sie liefern bei ihrem Lebensprozess aus stickstoffhaltigen organischen Substanzen Ammoniak.

Dritte Gruppe: Die Nitrosobakterien; sie oxydieren das Ammoniak zu salpetriger Säure; man nennt sie zusammen mit der nächstfolgenden Gruppe Nitrifikationsorganismen.

Vierte Gruppe: Die Nitrobakterien; sie oxydieren die salpetrige Säure zu Salpetersäure.

Fünfte Gruppe: Die Denitrifikationsbakterien; sie reduzieren Salpeter und salpetrige Säure unter Ausscheidung von Stickstoff.

Wenden wir uns nun zu den Vertretern unserer ersten Gruppe, die den sonst so schwer zugänglichen und so passiv sich verhaltenden elementaren Stickstoff der Atmosphäre, dieser unerschöpflichen Stickstoffquelle bei ihrem Stoffwechsel festzulegen imstande sind. Wir kennen bisher nur einen rein anorganischen Vorgang in der Natur, bei welchem freier Stickstoff in nennenswerter Menge in gebundenem Zustand übergeführt wird, nämlich beim Durchschlagen des elektrischen Funkens durch ein Gemisch von Stickstoff, Sauerstoff und Wassergas wie dies bei Gewittern der Fall ist und wobei salpetrigsaures und salpetersaures Ammonium gebildet wird, das mit den atmosphärischen Niederschlägen auf den Boden fällt. Die auf diese Weise in den Boden gelangenden Stickstoffverbindungen sind indes so gering, dass sie in keiner Weise genügen würden, den Stickstoffbedarf unserer Kulturpflanzen zu decken. Auch das natürlich vorkommende Kalium-, Natrium- und Calciumnitrat ist auf biologischem Wege entstanden. Neuerdings hat sich die Technik mit dem Problem, den Luftstickstoff auf elektrischem Wege in gebundenem Zustand zu gewinnen, beschäftigt. Inwieweit dieser Weg zu dem heiss ersehnten Ziele führen und inwieweit die Elektrizität den Bodenbakterien Konkurrenz zu machen imstande ist, darüber lässt sich bei den noch im Versuchsstadium befindlichen Bemühungen zur Zeit noch nichts sagen. Erwähnt sei indes noch, dass sich in Amerika in der Atmospheric Products Company eine Gesellschaft gegründet hat, welche einen Teil der Kräfte des Niagara zur Oxydation des Luftstickstoffs auf elektrischem Wege auszunützen sucht. Zu diesem Zwecke wird die atmosphärische Luft durch einen zylinderförmigen Apparat getrieben, der 414 000 elektrische Funken in der Minute erzeugt. Ein Teil des Stickstoffs wird oxydiert und durch Auffangen in Soda- oder Pottaschelösung als Nitrit oder Nitrat gewonnen. Neuerdings wird das Reaktionsprodukt in Schwefelsäure aufgefangen und in Form von Nitroschwefelsäure gewonnen. Nach den in letzter Zeit veröffentlichten Versuchen über die Oxydation des Stickstoffs in der elektrischen Flamme von W. Muthmann und H. Hofer ist die Menge des oxydierten

Stickstoffs ungefähr proportional der Geschwindigkeit des Luftstroms und dem Druck, unter welchem dieser Luftstrom steht, umgekehrt proportional der Entfernung der Elektroden infolge der höheren Temperatur der elektrischen Flamme und dem rascheren Wechsel des Stromes.\*

Bei den stickstoffbindenden Bakterien haben wir frei im Boden lebende und in Gemeinschaft (Symbiose) mit andern höheren Pflanzen lebende (Knöllchenbakterien) zu unterscheiden. Betrachten wir zunächst die ersteren.

Der Nachweis, dass in unbebautem Boden eine Bindung und Festlegung des Stickstoffs der Luft und zwar durch Mikroben stattfindet, ist das Verdienst von Berthelot, der im Jahre 1885 die ersten diesbezüglichen Beobachtungen machte. Der Beweis, dass es sich hierbei um biologische Vorgänge handelt, lieferte die einfache Operation der Sterilisation, nach welcher eine Stickstoffzunahme im Boden ausblieb. Sehr interessant war sodann ein Versuch von Déhérain, welcher zeigte, dass in einem kräftig nitrifizierenden Boden, dessen Stickstoffgehalt in sieben Monaten von 1,72 g auf 2,29 g pro 1 kg bei richtiger Versuchsanstellung stieg. Dass in der Ackererde von den Bodenmikroorganismen nur die Bakterien die Fähigkeit, den Luftstickstoff zu binden, besitzen, haben zuerst Berthelot und Kossowitz nachgewiesen. Ersterer

---

\* In letzter Zeit hat sich in Berlin eine Gesellschaft unter der Leitung der Firma Siemens und Halske zur technischen Gewinnung von Stickstoffverbindungen aus der Luft gebildet. Durch Pressen von Luft, die durch Leiten über metallisches Kupfer zum grössten Teil von ihrem Sauerstoffgehalt befreit ist, in geschmolzenes Calciumcarbid bildet sich Calciumcyanamid (CN.N.Ca). Die gleiche Verbindung, der man den Namen Kalkstickstoff gegeben hat, entsteht, wenn man in die mittelst des elektrischen Stromes geschmolzene Mischung von Kohle und kohlensaurem Kalk, das Ausgangsmaterial des Carbids, Stickstoff leitet. Der Kalkstickstoff, der nach den Versuchen von M. Gerlach und P. Wagner bereits selbst einen hohen Wert als Stickstoffdünger für unsere Kulturpflanzen hat, liefert bei der Behandlung mit überhitztem Wasserdampf Ammoniak, so dass nach der Ansicht der beiden Forscher auf diese Weise die Gewinnung von Ammoniakverbindungen in unbegrenzter Menge ermöglicht ist. Es sei hier auch noch an die Nitride erinnert, die bei der Zersetzung ebenfalls Ammoniak liefern und die vielleicht einmal Bedeutung für dessen technische Darstellung gewinnen können. Besonders das Stickstoffmagnesium  $Mg_3N_2$ , das sich leicht durch Leiten von Stickstoff über Magnesiumfeile bei Rotglut als grünlichgelbes Pulver darstellen lässt und das mit Wasser in Ammoniak und Magnesiumoxydhydrat zerfällt, hat bereits die Aufmerksamkeit auf sich gelenkt.

war es auch, der zuerst die Arten zu ermitteln suchte, welche diese merkwürdige Eigenschaft besitzen. Während er aber diese Fähigkeit verschiedenen Bodenbakterien zuschreibt, kam später Winogradsky, welchem genialen Forscher wir die bedeutendsten Untersuchungen auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie verdanken, auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Schlusse, dass nur das von ihm isolierte und als *Clostridium Pasteurianum* bezeichnete Bakterium dies zu tun vermag. Doch scheint es nach den neuesten Untersuchungen von Beyerinck, von Gerlach und Vogel und von Winogradsky selbst, dass *Clostridium Pasteurianum* nicht der einzige Organismus im Boden ist, der zur Stickstoffassimilation befähigt ist. Die wichtigsten Arbeiten Winogradskys über diesen Mikroorganismus sind in den Jahren 1895 bis 1900 erschienen. Seine schwierige Reinkultur gelang dem Forscher mit Hilfe der von ihm geschaffenen elektiven Kultur. Das Prinzip derselben besteht nach der Definition seines Schülers Omeliansky darin, dass man zunächst Bedingungen ausfindig macht, bei welchen der gewünschte Prozess am sichersten hervorgerufen und durch eine Reihe von Generationen mit den Eigenschaften und Intensität zu erhalten ist. Sind die Bedingungen richtig getroffen, so bewirkt die Kultur eine Auslese oder Selektion in dem Ausgangsmaterial in dem Sinne, dass die gesuchte Art bald die Oberhand gewinnt und die übrigen, denen das Substrat schlecht bekommt, bald verdrängt. Die Kulturen werden dann an der spezifischen Art so reich, dass es kaum Schwierigkeiten bietet, dieselben aufzudecken und ihre Eigenschaften zu studieren. Erst dann sucht man sie weiter zu reinigen und schliesslich zu isolieren.

Das *Clostridium Pasteurianum* ist ein streng anaërober, sporenbildender, mit geringer Bewegungsfähigkeit ausgestatteter, zu den Buttersäurefermenten gehörender Organismus. Er vermag in stickstoffreien Nährmedien zu leben unter Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs, indem er Zucker in einem gewissen Verhältnis zur Stickstoffassimilation vergärt. Dabei dient ihm als Kraftquelle zur Assimilation des Stickstoffs die bei der Gärung des Zuckers frei werdende Energie.

Bemerkenswert ist, dass das, wie bereits erwähnt, streng anaërobe *Clostridium Pasteurianum* auch aërob gezüchtet werden kann, doch nur bei Gegenwart von andern aëroben, den Sauer-

stoff absorbierenden Mikroorganismen, ein Verhältnis, das wohl den natürlichen Bedingungen im Boden entspricht.

Im verflossenen Jahre hat Winogradsky eine genaue Darstellung der Morphologie der *Clostridium Pasteurianum* und seiner Eigenschaften als Buttersäureferment gegeben. Als beste Nährlösung verwendet Winogradsky eine solche von folgender Zusammensetzung:

Kaliumphosphat 1,0,  
Magnesiumsulfat 0,2,  
Chlornatrium, Eisensulfat, Mangansulfat sehr geringe Spuren,  
Dextrose 20,0,  
Destilliertes, ammoniakfreies Wasser 1 l.

Dieser Lösung wird frisch gewaschene Kreide im Überschuss zur Neutralisation der bei der Gärung entstehenden Säuren zu-

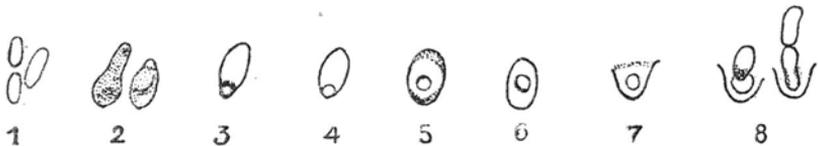


Fig. 2.

*Clostridium Pasteurianum* Winogradsky.

Schematische Figuren. Nach Winogradsky. Erklärung im Text.

gegeben. In einer solchen Nährlösung werden für 1 g vergorenen Zuckers  $2\frac{1}{2}$ –3 Milligramm Stickstoff gebunden.

Die Wichtigkeit und das grosse Interesse, welches das *Clostridium Pasteurianum* für Theorie und Praxis hat, rechtfertigt es wohl, dass wir dasselbe etwas näher betrachten, umso mehr, als dieser Bazillus nach Winogradskys Angaben einen der höchst differenzierten bakteriellen Organismen darstellt.

Winogradsky unterscheidet acht Stadien seines Entwicklungszyklus, die durch die beistehenden schematischen Figuren 1–8 illustriert werden; er beschreibt dieselben folgendermassen:

„Stadium 1. Junge Bazillen meistens  $1,2$ – $1,3 \mu$  ( $1 \mu = \frac{1}{1000}$  mm) dick,  $1,5$ – $2 \mu$  lang; bleiben bei günstigen Bedingungen gewöhnlich kurz infolge der wiederholten lebhaften Teilungen; sie sind meistens gerade, zylindrisch, mit abgestutzten Enden; färben sich rasch und intensiv mit gewöhnlichen basischen Anilinfarben. Jod lässt sie gelb. Das ist das Stadium der Vermehrung des Mikrobiums, das eigentliche Propagationsstadium. Dies dauert,

durch immerwährende Zweiteilungen neu entstehend, bis die Vermehrung und auch die Gärung ihren Höhepunkt erreicht hat. Mit dem Aufhören der Teilungen wird das nächste Stadium eingeleitet.

Stadium 2. Die verlängerten Stäbchen, statt sich zu teilen, haben sich zur Spindelform aufgebläht (daher die Bezeichnung Clostridium vom griechischen *κλωστήρ*, Spindel), in dem gleichzeitig ihr Plasma das charakteristische körnige Aussehen bekommt. Anilinfarben färben jetzt schwächer, durchsichtiger, dagegen ruft Jod die intensive violettbraune Färbung hervor.

Stadium 3. Es tritt an einem Pole der Spindel ein sporogenes Korn (in Einzahl) auf, das gleich bei seinem Auftreten die ovale Form der fertigen Sporen besitzt, doch kleiner ist; Methyleneblau färbt es fast schwarz, die übrigen Teile der Zelle dagegen hellblau. Umgekehrt wird durch Jod der durch Methyleneblau hell gefärbte Teil ganz dunkel violettbraun, das sporogene Korn fast farblos.

Stadium 4. Das sporogene Korn wird grösser und wendet sich ab; es färbt sich jetzt nur schwer mit gewöhnlichen Anilinfarben, behält aber schon etwas die Ziellsche Färbung. Die Mutterzelle färbt sich noch mit Jod, aber schwächer.

Stadium 5. Die Spore bekommt ihre endgültige Grösse und liegt meistens nicht mehr polar, sondern mehr in der Mitte der Mutterzelle und ist mit einem hellen Hof umgeben. Jod gibt nur noch in der Peripherie einen schwachen violetten Saum oder gibt der Zelle ein eigentümliches marmoriertes oder gesprenkeltes Aussehen.

Stadium 6 beginnt mit dem Verschwinden der charakteristischen Jodfärbung. Die Spore ist reif und trotzdem zeigt die dieselbe umschliessende Mutterzelle keine Zeichen der Verquellung oder Zerstörung, wie man das so allgemein bei der endogenen Sporenbildung der Bazillen beobachtet; sie ist nunmehr mit einer hyalinen Substanz (um die Spore herum) gefüllt, immer aber scharf konturiert; die hyaline Substanz dagegen kaum. Nun wird, höchst wahrscheinlich durch die aufquellende „hyaline Substanz“ die Membran der Mutterzelle an einem Pole gesprengt und weit geöffnet.

Stadium 7. Die reife Spore, 1,6  $\mu$  lang, 1,3  $\mu$  breit, liegt jetzt in einem abgerundet dreieckigen Gallertpolsterchen, der

„Sporenkapsel“ eingebettet, das an zwei Seiten scharfe und an der dritten — der Öffnung — verwachsene Konturen zeigt. Am schärfsten treten die Verhältnisse hervor, wenn man die reifen Sporen nicht in Flüssigkeit, sondern in feuchter Luft untersucht, indem man also das Wasser von unten unter dem Deckglase wegsaugt oder fast austrocknen lässt. Es kann selbstverständlich kein Zweifel aufkommen, dass diese Sporenkapsel ein Produkt der Metamorphose der Mutterzelle ist. Sobald man frisch gereifte, sowie mehrere Jahre alte Sporen in frische, zuckerhaltige Nährlösung unter anaëroben Bedingungen bringt, beginnt sofort die Keimung, welche in ganz charakteristischer Weise erfolgt. Die Spore schwillt bedeutend an und wird als erstes Zeichen der beginnenden Keimung, durch wässriges Methylenblau oder Gentiana färbbar. Dann wird die Sporenwand an dem gegen die Kapselöffnung gerichteten Pole der Spore durchlöchert und das junge Stäbchen tritt, die Sporenwand zurücklassend, aus dieser und der Sporenkapsel heraus.

Stadium 8. Es ist bemerkenswert, dass die polare Keimung immer in der Richtung gegen die Kapselöffnung erfolgt, woraus zu erhellen scheint, dass diese Richtung von dem Bau der Sporenkapsel bestimmt wird. Manchmal beginnt das noch in der Kapsel teilweise steckende Stäbchen sich sofort zu teilen und auf diese Weise entstehen Bazillenpaare, sowie kurze Ketten, auf deren einem Ende die Sporenkapsel wie ein Fingerhut noch aufsitzt.“

Wie diese Beschreibung zeigt, steht das *Clostridium Pasteurianum* den *Amylobacter*- und den *Granulobacter*-Arten morphologisch sehr nahe, nur in der Bildung und der Keimung der Sporen unterscheidet er sich von diesen so nahverwandten Formen. Das *Clostridium Pasteurianum* besitzt nach den Angaben Winogradskys zweifellos eine allerdings sehr begrenzte Schwärmfähigkeit. Wird der Organismus auf Kartoffeln oder Mohrrüben im Vacuum oder im sauerstofffreien Raume gezüchtet, so treten Involutionsformen, vermutlich infolge der gebildeten Fettsäuren auf. Setzt man die Kultur auf den bezeichneten Nährböden fort, so wachsen die Stäbchen immer mehr zu Fäden heran, während die *Clostridium*-Bildung und mit ihr die Sporenbildung zurücktritt. Endlich wird das Mikrobium gänzlich asporogen und es gelingt nicht wieder, die Fähigkeit Sporen zu erzeugen zu restituieren, es entsteht gleichsam eine asporogene Varietät. Nicht weniger interessant

ist, wie Winogradskys Untersuchungen zeigen, der Organismus in physiologischer Beziehung. Wie wir bereits erörtert, ist es ein obligat anaërobes Buttersäureferment mit der uns hier besonders wichtigen Eigenschaft, ohne gebundenen Stickstoff als Nahrung zu benötigen, den atmosphärischen Stickstoff assimilieren zu können.

*Clostridium Pasteurianum* gehört zu den am wenigsten polyphagen Buttersäurefermenten; es vermag nur Dextrose, Laevulose, Rohrzucker, Inulin, Galactose und Dextrin zu vergären. Dabei wird das Kohlehydrat unter fast ausschliesslicher Bildung von Buttersäure, Essigsäure, Kohlensäure und Wasserstoff gespalten. Auf die Fettsäuren entfallen dabei 42—45 % des Zuckers, wie sich Winogradsky ausdrückt, der Rest wird vergast. Als unbeständige Nebenprodukte treten geringe Mengen von verschiedenen Alkoholen und Spuren von Milchsäure auf. Eigentümlich ist, dass *Clostridium Pasteurianum* unter den gewöhnlichen Bedingungen eines anaëroben Gärversuchs gegen die Qualität der Stickstoffnahrung sehr empfindlich ist. In Gegenwart von Ammon als einziger Stickstoffquelle werden nur Dextrose, Rohrzucker und Inulin angegriffen.

Von den verschiedenen von Winogradsky ausgeführten Gärversuchen sei der folgende hier erwähnt:

40,0 Dextrose in 1000 ccm der oben angegebenen Salzlösung gelöst ergaben im Stickstoffstrome innerhalb 20 Tagen:

53,6 mg Gewinn an Stickstoff, davon entfallen auf den abfiltrierten Bodensatz 42,3 mg, auf das Filtrat selbst 11,3 mg. An flüchtigen Säuren, die nach Duclaux bestimmt wurden, waren 3,714 g Essigsäure und 14,164 g Buttersäure, insgesamt also 17,878 g erzeugt worden. Das Verhältnis der bei der Gärung auftretenden Gase, der Kohlensäure und des Wasserstoffs wechselt während deren Verlauf. So bestand das Gasgemisch bei einem Versuch am Anfang der Gärung aus 11,00 % Kohlensäure und 89,00 % Wasserstoff, während der Mitte aus 40,2 % Kohlensäure und 59,8 % Wasserstoff und am Schlusse aus 54,9 % Kohlensäure und 45,10 % Wasserstoff. Die Gärprodukte sind indes nicht konstant in den gegenseitigen Verhältnissen, sondern auch bei genau der gleichen Versuchsanstellung nach der Ausdrucksweise Winogradskys aus inneren Gründen verschieden. Auch über die Verbreitung des *Clostridium Pasteurianum* im Boden sind im Winogradskyschen

Institut Untersuchungen angestellt worden. Nach diesen findet man dasselbe nicht in jedem Boden. So konnte der Organismus in 18 aus verschiedenen Teilen Russlands stammenden Bodenproben nicht konstatiert werden. An seiner Stelle aber trat in diesen ein ähnliches, stickstoffassimilierendes Buttersäureferment auf, das Winogradsky ebenfalls als eine Clostridium-Art bezeichnet. Dieselbe konnte bisher nur unvollständig untersucht werden, da sie noch auf keinem festen Nährsubstrat gewachsen und deshalb ihre Reinkultur bis jetzt noch nicht gelungen ist.

Winogradsky ist der Ansicht, dass die beiden von ihm beobachteten Clostridium-Arten die einzigen Bodenbakterien sind, welche die Fähigkeit der Stickstoffassimilation besitzen. Im Gegensatz zu ihm schreibt Beyerinck diese Eigenschaft noch andern Missorganismen zu, diese als oligonitrophyle bezeichnend. Darunter versteht Beyerinck solche Mikroben, welche in freier Konkurrenz mit der übrigen Mikrowelt sich in Nährmedien entwickeln ohne absichtlich zugefügte Stickstoffverbindungen, aber auch ohne Entfernung der letzten Spuren derselben. Sie haben nach Beyerinck das Vermögen, den freien atmosphärischen Stickstoff binden und zu ihrer Ernährung verwenden zu können; es werden als solche Organismen nicht nur Bakterien, sondern auch niedere Algen bezeichnet. Beyerinck hat aus Gartenerde zwei oligonitrophyle Bakterien isoliert; den einen Organismus hat er als *Azotobacter chroococcum*, eine nach seinen späteren Ausführungen sehr variable Art, den andern als *Azotobacter agilis* bezeichnet.

Gerlach und Vogel haben aus verschiedenen Böden grosse Bazillen isoliert, welche die Eigenschaft der Stickstoffassimilation besitzen und die sie zur *Azotobacter*-Gruppe Beyerincks stellen. Ob diese eventuell mit den von Winogradsky aufgestellten stickstoffassimilierenden beiden Clostridium-Arten, von denen die zweite allerdings der näheren Untersuchung noch harret, identisch sind oder ob es sich wirklich um verschiedene Organismen handelt, dürften erst eingehende Untersuchungen zeigen. Beyerinck hat dem bereits erwähnten *Azotobacter chroococcum*, den die Figur 3 in Reinkultur zeigt, zusammen mit A. van Delden eine grössere Studie gewidmet. Die beiden Forscher kommen zu dem Ergebnis, dass *Azotobacter chroococcum* in Reinkultur in einer stickstoffarmen Nährlösung nicht zu einer beträchtlichen Stickstoff-

assimilation befähigt ist und dass dessen Wachstum und Vermehrung darin, trotzdem die Kohlenstoffquelle noch lange nicht erschöpft ist, bald aufhört. Sie ziehen daraus den Schluss, dass die Vermehrung des Organismus in sogenannten Rohkulturen, d. h. zusammen mit andern Bodenmikroorganismen, die mit dem vollständigen Verbrauch der Kohlenstoffnahrung und Stickstoffbindung begleitet ist, auf der Symbiose mit anderen Mikroben beruhe. Die Symbionten werden in sporenbildende, zur Gattung *Granulobacter* gehörende, und in sporenlose unterschieden, wovon *Aërobacter aërogenes* und *Bacillus radiobacter*, eine als neu und als formenreich bezeichnete Art, in ihrem Verhalten weiter verfolgt werden.

Alle *Granulobacter*-Arten, sowohl die aëroben, wie die anaëroben besitzen nach der Angabe von Beyerinck an und für sich schon die Fähigkeit, den freien Stickstoff zu binden; doch zeigen sie erst bei der Symbiose mit *Azotobacter chroococcum* ihre Fähigkeit in dieser Beziehung in Vollendung. *Aërobacter aërogenes* und *Bacillus Radiobacter* dagegen können in Reinkultur keinen Stickstoff binden, erlangen diese Fähigkeit aber bei der Symbiose mit *Azotobacter chroococcum*. Über die Symbiose von *Granulobacter*-Arten und *Azotobacter chroococcum* bemerken die Forscher, dass die Anzahl der *Granulobacter*-Bazillen, welche in der Nährlösung zum üppigen Wachstum von *Azotobacter* genügen, so gering sei, dass man sie zwischen den Tausenden *Azotobacter*zellen mikroskopisch nur schwierig finden könne. Daraus schliessen sie: „Es scheint ausgeschlossen, dass die Bedeutung der Symbiose mit *Azotobacter chroococcum* für die stickstoffbindenden Bakterien ausschliesslich in einer Herabsetzung des Sauerstoffdrucks durch das intensive Wachstum der letzteren gelegen sein kann, obschon es feststeht, dass diese Herabsetzung für die Stickstoffbindung, wenigstens für *Granulobacter* sicher günstig ist.“

Man müsste daraus die Folgerung ziehen, dass das erste Assimilationsprodukt des freien Stickstoffs eine Stickstoffverbindung ist, welche in der Flüssigkeit ausserhalb der erzeugenden Bakterien in freiem Zustand vorkommt und für alle diejenigen



Fig. 3.

*Azotobacter chroococcum*  
Beyerinck.

Bakterien aus einer jungen Kultur  
nach 24 Stunden; nach dem Photo-  
gramm Beyerincks gezeichnet.  
1000fache Vergr.

Mikroben oder andere Organismen erreichbar ist, welche damit ihr Stickstoffbedürfnis befriedigen können, so dass hier der eine Organismus (Bakterie) die Leguminose vertreten würde. Welcher Art dieses Stickstoffassimilationsprodukt ist, kann man sich zur Zeit nur in beweislosen Vermutungen ergehen.

Aus diesen Untersuchungen, deren Richtigkeit vorausgesetzt, müssen wir den wichtigen Schluss ziehen, dass die sogenannten oligonitrophylen Mikroorganismen das von den Buttersäurebakterien, denen Beyerinck ganz allgemein das Stickstoffbindungsvermögen zuschreibt, erzeugte Stickstoffassimilationsprodukt in sich aufnehmen, während die stickstoffbindenden Organismen dies selbst gar nicht oder nur in ganz bescheidenem Masse zu tun vermögen. Nur das *Clostridium Pasteurianum* soll hierin eine wesentliche Ausnahme machen, indem es sein Stickstoffassimilationsprodukt selbst aufzunehmen vermag. Diese Eigenschaft soll nun *Azotobacter chroococcum*, das im Boden nach Beyerinck und van Delden ganz allgemein vorkommt, in ganz hervorragender Weise besitzen und zwar soll der gebundene Stickstoff in *Azotobacter chroococcum* in der Hauptsache als Protoplasma gegenwärtig sein. Im Boden soll nun nach den weiteren Ausführungen von Beyerinck und van Delden „dieses Bakterieneiweiss durch andere Bakterien zu Ammonsalz abgebrochen werden,“ das dann durch die Nitrifikationsorganismen in Nitrat übergeführt würde; auf diese Weise würde also in kurzer Zeit der freie atmosphärische Stickstoff in Nitrat verwandelt.

Für die Stickstoffgabe ist aber nach den allerdings sehr hypothetisch erscheinenden Ausführungen der *Azotobacter chroococcum* und seine Analogen zu uns unbekanntem Gegendiensten den stickstoffbindenden Bakterien gegenüber verpflichtet, so dass also nur in dieser Symbiose und in der dazu nötigen Akkomodation der beiden Organismen die Stickstoffestlegung stattfinden kann und damit ein ähnliches Verhältnis existiert wie bei den Knöllchenbakterien der Leguminosen.

Diesen Angaben und Schlussfolgerungen Beyerincks und van Delden haben Gerlach und Vogel widersprochen. Sie sind auf Grund ihrer Beobachtungen wieder zu dem bereits oben angeführten Ergebnis gelangt, dass *Azotobacter chroococcum* in Reinkultur zur Stickstoffassimilation befähigt ist. Diese soll nach der Ansicht der beiden Forscher im Innern des Bakterienleibes

durch direkte Anlagerung des elementaren Stickstoffs an organische Kohlenstoffverbindungen erfolgen. Die auf diese Weise gebildeten stickstoffhaltigen Stoffe sollen dann in der Zelle in Eiweiss übergeführt werden, das erst nach dem Absterben der Bakterien in gewöhnlicher Weise abgebaut und in Verbindungen übergeführt würde, die auch unseren Kulturgewächsen bei ihrer Ernährung zugänglich sind.

Wenden wir uns jetzt zur Stickstoffbindung durch die Knöllchenbakterien der Leguminosen. Schon die alten Römer wussten, dass Hülsenfrüchte den Boden verbessern und der bekannte und verdiente Schultz-Lupitz hat in richtiger Erkenntnis der grossen Bedeutung derselben, speziell für die Kultur leichter Böden die Gründung mit Leguminosen in sein Wirtschaftssystem mit bestem Erfolg eingeführt. Es war sodann das grosse Verdienst von Hellriegel und Willfahrt, gezeigt zu haben, dass die Hülsenfrüchte betreffs der Stickstoffernährung sich anders verhalten, wie die Halmfrüchte, dass die ersteren im Gegensatz zu den letzteren den Stickstoff der Luft zu ihrer Ernährung zu verwenden vermögen und dass sie an ihren Wurzeln normal kleinere oder grössere Anschwellungen, Knöllchen besitzen (vergl. Fig. 4 und 5) von deren Zahl und Ausbildung das Gedeihen der ganzen Pflanze abhängt. Die diesbezüglichen klassischen Untersuchungen sind in den Jahren 1884—1886 ausgeführt. Woronin hatte 1866 zuerst erkannt, dass im Innern der Zellen dieser Knöllchen massenhaft Bakterien leben, deren erste Reinkultur Beyerinck 1888 auf Leguminosenblätterabsud-Gelatine gelang. Prazmowski, dem wir wichtige Untersuchungen über das Eindringen der Bakterien in die Wurzel und über die Entwicklung der Knöllchen verdanken, erzeugte einige Jahre später mit Reinkulturen an Hülsenfrüchten typische Wurzelknöllchen. Dass diese, die bereits von Malpighi im Jahre 1687 erwähnt werden, in sterilisiertem Boden nicht erscheinen, hat zuerst Frank konstatiert. Es ist nicht möglich, hier weiter auf die vielseitige und interessante Literatur über die Wurzelknöllchen der Leguminosen einzugehen. Eine verdienstliche Zusammenstellung derselben, sowie über die Assimilation des freien elementaren Stickstoffs überhaupt hat E. Jacobitz im VII. Bande (1901) der zweiten Abteilung des Zentralblattes für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten Seite 783 u. f. gegeben.

Die in den Wurzelknöllchen der Hülsenfrüchte lebenden Bakterien dürften, wie zuerst Beyerinck angenommen hat, wohl alle der von diesem als *Bacillus radicola* bezeichneten Stammart angehören. Vielfach ist diese Frage erörtert und verfolgt worden, besonders Nobbe und Hiltner haben sich eingehend damit beschäftigt. In letzter Zeit hat Buhler diesbezügliche Untersuchungen mit folgendem Ergebnis ausgeführt:

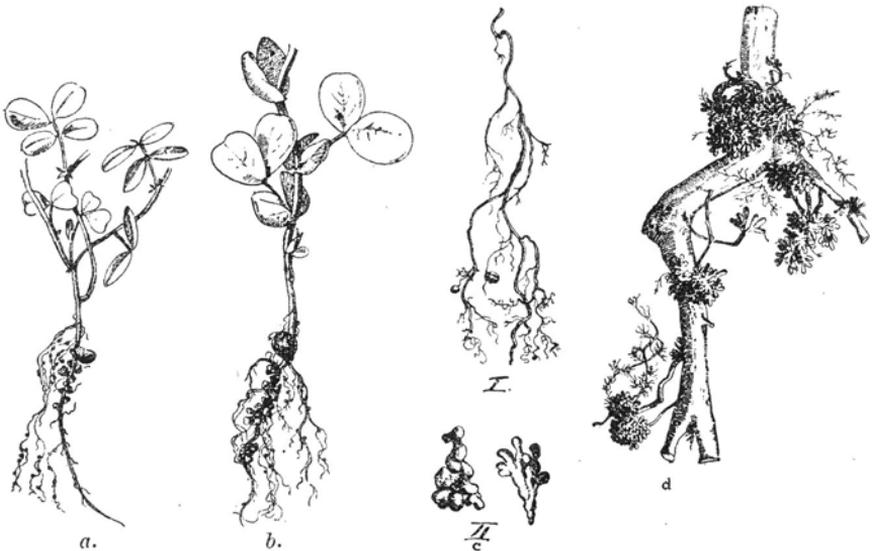


Fig. 4.

## Wurzeln mit Bakterienknöllchen.

a. Keimpflanze der Futterwicke (*Vicia sativa*).b. Keimpflanze der Erbse (*Pisum sativum*).c. Robinie (*Robinia Pseud-Acacia*)

I. Wurzel mit jungen Knöllchen.

II. Alte Knöllchen.

d. Schwarz-Erle (*Alnus glutinosa*). $\frac{1}{2}$  der natürl. Grösse. Nach der Natur gezeichnet von Rudolf Dittmann.

1. Die Bakterien der Leguminosenknöllchen gehören sämtlich einer Art *Bacillus radicola* Beyerinck an.

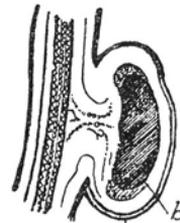
2. Die aus den Knöllchen einer bestimmten Leguminosenspecies stammenden Bakterien sind gerade dieser Art scharf angepasst.

3. Wegen dieser Anpassung an die Art kann eine gegenseitige Vertretung der Bakterien, die von der Arteinheit abgeleitet werden müsste, nicht ohne weiteres statthaben.

Demnach würden wir also die den einzelnen Leguminosenspezies angepassten Bakterien als Rassen einer Stammart auffassen müssen. Allerdings fehlt es nicht an Forschern, die auf Grund von Untersuchungen dieser Ansicht widersprechen. So behauptet Déhérain, dass die Wurzelknöllchen der gelben Lupine von nur für diese spezifischen, von denen der blauen und weissen Lupine verschiedenen Bakterien erzeugt werden, aus welchem Grunde die Einführung der Kultur der gelben Lupine auf Böden, die noch nie vorher damit bebaut gewesen, auf grosse Schwierigkeiten stosse. Auch Thiele zieht aus der Beobachtung, dass in demselben Boden perennierende Lupinen unter normaler Knöllchenbildung sich gut entwickelten, während einjährige Lupinen nicht gedeihen, den Schluss, dass die für die letzteren spezifischen von denen der mehrjährigen Lupine verschiedenen Bakterien nicht vorhanden waren. Es ist also trotz der vielen, über die Knöllchenbakterien ausgeführten Arbeiten die Frage noch nicht als gelöst anzusehen.

Im Boden sind die Organismen, wie wir aus dem Gedeihen der Hülsenfrüchte in den meisten Böden schliessen müssen, jedenfalls sehr weit verbreitet; wo sie nicht vorhanden sind, gedeihen auch keine Leguminosen. Man kann diesem Übelstand durch Übertragung von Erde, der sogenannten Impferde aus Feldern, auf denen Leguminosen gut gedeihen und die man als leguminosensicher bezeichnet, oder durch Impfung der betreffenden Äcker mit Wurzelknöllchen-Reinkulturen in der Regel abhelfen.

Verfolgen wir nun diese überaus wichtigen und merkwürdigen Organismen und ihr Verhalten bei künstlicher Kultur und im Boden, soweit die Verhältnisse in letzterer Beziehung erforscht sind; allerdings harret hier trotz der vielen Untersuchungen über diese Bakterien noch mancher Punkt der Aufklärung. Wie bereits erwähnt, gedeihen die Mikroben auf künstlichen Nährböden von passender Zusammensetzung; am besten hat sich hier ein Absud von Leguminosenblättern mit 7% Gelatine  $\frac{1}{2}$ % Rohr-



Kar Kork

Fig. 5.

Längsschnitt eines jungen  
Lupinenknöllchens  
mit Bakteriengewebe (b).

Kar: Gefässbündel,  
Kork: Korkgewebe.

(Nach Tschirch.)

zucker und  $\frac{1}{4}\%$  Asparagin bewährt. Die Kolonien sind nach Migula ziemlich gross, trübe, weiss, durchscheinend feucht, rundlich oder unregelmässig umrandet von wenig charakteristischem Aussehen. Unter dem Mikroskop sind sie glatt, fast strukturlos erscheinend; die Kolonien verflüssigen Gelatine nicht. Beyerinck beobachtete in diesen künstlichen Kulturen zweierlei Gebilde,

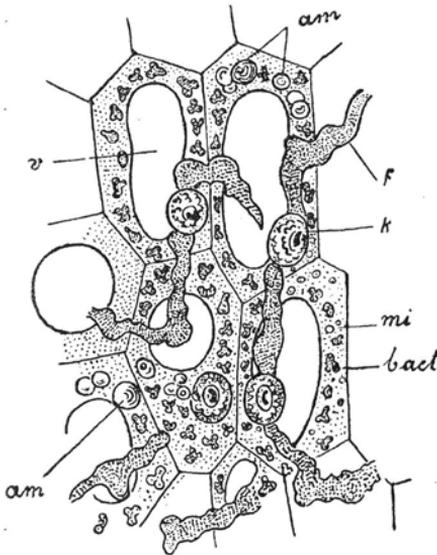


Fig. 6.

Schnitt durch das Bakteroiden-Gewebe  
von *Lathyrus silvestris*.

k. Zellkerne mit Kernkörperchen, am. Stärkekörner,  
mi. Mikrosomen, v. Vacuole, f. Infektionsfäden, bact.  
Bakterioiden, 400fache Vergr. Nach Beyerinck.

kleine, sehr bewegliche, die er als Schwärmer bezeichnet, die jedoch von andern Forschern in der Kultur nicht gefunden werden konnten, und grosse Stäbchen. Diese letzteren haben nicht immer die regelmässige Stäbchenform, häufig zeigen sie gelappte Formen und verschiedenartige, gabelige Verzweigungen, wie sie in den Zellen der Wurzelknöllchen lebenden Bakterien eigen sind. (Vergl. Fig. 7 v, x, y.) Man hat sie als Bakteroiden bezeichnet und als Involutionsformen aufgefasst. Ihre Bildung soll nach den Beobachtungen von Hiltner und Stutzer durch Zusatz von Leguminosenwurzelextrakt sowie von organischen

Säuren und sauren phosphorsauren Salzen begünstigt werden. Im Boden sollen nun die bereits erwähnten Schwärmer angelockt durch von den Wurzelhaaren ausgeschiedene Stoffe sich an den letzteren ansammeln, sie ihrerseits alsbald durch Ausscheidungen zu eigentümlichen Verkrümmungen und Verzerrungen veranlassend. Die Schwärmer gelangen dann durch die so gelockerte Membran der Wurzelhaare in dieselben, wo sie sich alsbald vermehren und die sogenannten Infektionsfäden (vergl. Fig. 6) erzeugen. Diese stellen Stränge von schleimhüllten Bakterienkolonien dar, die

durch Verschmelzung der gequollenen äusseren Membranschicht der an der Aussenseite dieser fadenförmigen Kolonien befindlichen Bakterien gebildet wird. Der Infektionsfaden dringt nach Durchwachsung des Wurzelhaars in die Rindenzellen der Wurzeln ein, unter eigener Vermehrung diese zu lebhafter Vermehrung anregend, deren Produkt die bekannten Wurzelknöllchen darstellen. In den grossen Zellen des sogenannten Bakteroidengewebes (vergl. Fig. 6 und 7) nehmen die Bakterien die uns bereits bekannten als Bakteroiden bezeichneten Involutionsformen an. Bei manchen Leguminosen erfolgt die Knöllchenbildung ohne Infektionsfaden durch einzelne direkt nach dem Eindringen in die Wurzelhaare vorwärts dringende Bakterien.

Wie gestaltet sich nun das Verhältnis zwischen Wirt und Gast, zwischen der Leguminose und den Bakterien? Die erstere liefert den ihre Gastfreundschaft geniessenden Spaltpilzen Zucker und wahrscheinlich noch andere Nährstoffe zu ihrer Ernährung, die Bakterien verwenden die bei der Zersetzung des Zuckers freiwerdende Energie zur Fixierung des Stickstoffs, von dem die Wirtspflanze einen grossen Teil in für sie brauchbarer Form als

Gegengabe empfängt. Bei diesem Verhältnis gedeihen beide Symbionten sehr gut und der Boden kann auf diese Weise eine schätzenswerte Stickstoffbereicherung erfahren.

Ausser bei den Leguminosen, von welchen bisher nur *Gleditschia* frei von Wurzelknöllchen gefunden wurde, hat man solche Gebilde noch bei der Erle, bei den Ziersträuchern *Elaeagnus* und *Hippophaë*, sowie bei *Podocarpus*, einer Konifere gefunden. Neuerdings hat dann A. Trotter noch bei der im Orient heimischen *Datisca cannabina* solche Wurzelanschwellungen beschrieben. Die Knöllchenpilze dieser Pflanzen sollen von denen der Leguminosen verschieden sein. Kurz berührt sei hier die vielfach diskutierte

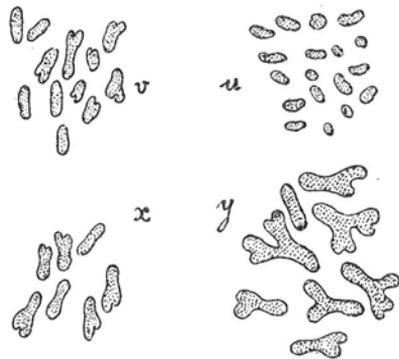


Fig. 7.

Bakterien und Bakteroiden aus einem Wurzelknöllchen von *Vicia sativa*.

700fache Vergr. Nach Beyerinck.

Frage, ob ausser bei den erwähnten Pflanzen noch bei andern der freie atmosphärische Stickstoff durch die Vermittlung von Mikroorganismen in irgend einer Form nutzbar gemacht werden könne. Man hat vielfach die Anschauung vertreten, dass die Stickstoffassimilation mittels Symbiose zwischen Bakterien oder Fadenpilzen und höheren Pflanzen in der Natur sehr verbreitet sei. Besonders die von Frank zuerst beobachtete, von ihm als Mykorrhiza bezeichnete Umhüllung der feinen Wurzeln vieler Waldbäume, des Heidekrautes u. s. w. soll eine derartige Symbiose sein, bei welcher das Verhältnis zwischen Pilz und höherer Pflanze ähnlich sei dem von Knöllchenbakterien und Leguminosenpflanzen. Einwandfreie, diese hochinteressante Frage in positivem oder negativem Sinne sicher entscheidende Untersuchungen liegen zur Zeit leider nicht vor.

Man hat versucht die stickstoffsammelnden Bakterien in Reinkultur zu züchten und den Boden damit zu impfen. Nitragin und Alinit stellen solche Bakterienkulturen vermischt mit ihren Nährböden dar. Das Nitragin, welches Nobbe und Hiltner seinen Namen und seine Anwendung verdankt, ist eine solche Reinkultur von Knöllchenbakterien; sie soll die bereits erwähnte Impferde ersetzen und den Anbau von Leguminosen in Böden, wo diese sonst nicht gedeihen, ermöglichen. Das Alinit sind die Sporen einer Reinkultur eines von Caron aus dem Boden seines Gutes Ellenbach gezüchteten Stäbchenbakteriums, vermischt natürlich mit dem Nährboden, das die Fähigkeit der Stickstoffbindung besitzen soll. Die damit gemachten Erfahrungen sind widersprechend. Neuerdings hat die chemische Fabrik Bayer & Co. in Elberfeld, welche die Darstellung des Impfdüngers betreibt, zur Erhöhung der Wirksamkeit des Alinit einen Alinit-Bacillus  $\beta$  in den Handel gebracht, der zugleich mit dem erwähnten, als Alinit-Bacillus  $\alpha$  bezeichneten stickstoffbindenden Stäbchenbakterium dem Boden eingepflanzt wird und der eine ähnliche Rolle spielen soll, wie nach Beyerincks Auffassung *Azotobacter chroococcum* gegenüber *Granulobacter*-Arten und *Radiobacter* oder auch umgekehrt. Die Frage, ob die Alinitbakterien als selbständige Art aufzufassen sind oder nicht, hat zahlreiche Untersuchungen veranlasst, die vor allem das wenig erfreuliche Resultat hatten, zu zeigen, wie überaus schwierig zur Zeit noch die sichere Bestimmung vieler Bodenbakterien ist. Heinze, der sich in letzter Zeit mit dieser

Frage beschäftigt hat, gelangt, wie vor ihm Kolkwitz, zur Ansicht, dass die Alinitbakterien auf Grund ihres morphologischen und physiologischen Verhaltens als selbständige Art *Bacillus Ellenbachensis*  $\alpha$  Caron in die Gruppe der Heubacillen einzurechnen seien. Es verdient hier noch erwähnt zu werden, dass die Bestrebungen in der Bodenbakteriologie neuerdings auch darauf gerichtet sind, das bei andern Pflanzen mit so gutem Erfolge angewandte Züchtungsprinzip auch bei den stickstoffbindenden Bakterien in Anwendung zu bringen, um auf diese Weise Rassen mit erhöhter Leistungsfähigkeit zu erhalten.

Der Stickstoff, den die bisher behandelten Bakterien in den organischen Kreislauf einführen, ist nach dem Stande unserer pflanzenphysiologischen Kenntnisse unseren Kulturpflanzen mit Ausnahme der Leguminosen oder der andern Wirtspflanzen von Knöllchenbakterien nicht direkt zugänglich. Die ersteren beziehen ihre Stickstoffnahrung in erster Linie und fast ausschliesslich in Form von Nitraten, deren Bildung aus organischen stickstoffhaltigen Substanzen die nächsten drei Bakteriengruppen vollziehen.

In der Form des Ammoniumsalzes ist zwar der Stickstoff unsern Kulturgewächsen zugänglich, jedoch ist diese Form nicht die gewöhnliche. Sehr interessante Beobachtungen über die Stickstoffernährung des Schimmelpilzes *Aspergillus niger*, die hier aus Rücksicht für das Interesse, das sie für unsere Ausführungen über die Eiweisszersetzung haben, teilweise kurz erwähnt sein mögen, hat Czapek veröffentlicht, der auf diesem Wege der Eiweiss-synthese der Pflanze näher zu kommen sucht. Ausser den ersten Eiweisspaltungsprodukten haben sich vor allem die Aminosäuren, sowie die leicht in solche übergehenden Amide und Diamide als zum Aufbau des Eiweissmoleküls geeignete Substanzen erwiesen. Es folgen dann die Ammoniumsalze der Oxyfettsäuren; weniger geeignet sind die Säureamide bis zum Buttersäureamid, welches selbst bereits wie seine höheren Homologen unbrauchbar ist. Nur sehr wenig geeignet sind die Säurenitrile und die Ammoniumsalze der Fettsäuren. Czapek hat diese Skala nach den Gewichtsverhältnissen des bei Ernährungsversuchen mit den erwähnten Substanzen geernteten und getrockneten Pilzes aufgestellt.

Das Ausgangsprodukt für die Salpeterbildung im Boden ist das Ammoniak, das seinerseits das Produkt der sogenannten ammoniakbildenden Bakterien ist.

Bei diesen unterscheiden wir zwei Gruppen:

1. Bakterien, die amidartige Stickstoffverbindungen, deren wichtigste Vertreter der Harnstoff, die Harnsäure und die Hippursäure sind, unter Bildung von Ammoniaksalzen zu zersetzen vermögen. (Harnstoffvergäher.)

2. Bakterien, welche die kompliziert zusammengesetzten Eiweisskörper und deren Spaltungsprodukte unter Ammoniakbildung abbauen. (Peptonisierende Bakterien.)

Geringe Ammoniakmengen können auf biologischem Wege dann noch bei dem später zu behandelnden Denitrifikationsvorgang aus dem Oxydationsprodukt des Ammoniaks, dem Nitrat, zurückgebildet werden, was der Vollständigkeit halber hier erwähnt sei. In der Regel entweicht bei dem erwähnten Prozess der Stickstoff in elementarer Form, doch kann die Reduktion auch bis zur Bildung von Ammoniak gehen.



Fig. 8.

*Micrococcus ureae* Cohn.

Nach Migula.

Die ammoniakbildenden Bakterien sind in der Natur sehr verbreitet; dem Ackerboden werden sie ausserdem bei der Düngung mit tierischen und menschlichen Auswurfstoffen stets in reicher Menge zugeführt. Beim Lagern des Düngers können dieselben durch ihre Tätigkeit dessen Wert bedeutend schädigen, indem das von ihnen gebildete Ammoniumkarbonat sich sehr leicht in Ammoniak und Kohlensäure dissoziiert. Die längst bekannte, als ammoniakalische Harngärung bezeichnete Zersetzung des Harnstoffs, dieses Endproduktes des menschlichen und tierischen Stoffwechsels, wurde als ein chemischer Vorgang angesehen, dessen Wesen in der Aufnahme von Wasser und in der Umlagerung der Atome zu Ammoniumkarbonat bestehe. Im Jahre 1862 erkannte Pasteur, dass die Harnstoffgärung ein biologischer Prozess ist, als dessen Erreger er einen *Micrococcus* entdeckte. Cohn hat diesen später *Micrococcus ureae* (vgl. Fig. 8) genannt.

Miquel zeigte dann, dass die Fähigkeit der Harnstoffvergärung gegen 60 verschiedenen, zum Teil sehr verbreiteten Bakterienarten und sogar einigen höheren Pilzen zukommt. Die Leistungsfähigkeit der einzelnen Arten ist sowohl was die Gärumschnelligkeit als auch was die Masse des vergärten Harnstoffs betrifft, sehr verschieden. In beiden Beziehungen steht der allenthalben anzutreffende *Urobacillus Pasteurii* (Fig. 9) oben an, welcher in einer

zweiprozentigen Harnstoffpeptonbouillon 3 g Harnstoff in der Stunde vergärt. Er vermag bis 140 g Harnstoff im Liter in Ammoniumkarbonat überzuführen. Der Vorgang wird durch ein von den Bakterien ausgeschiedenes, äusserst empfindliches Enzym, das Miquel als Urase bezeichnet hat, ausgelöst. Seine Existenz

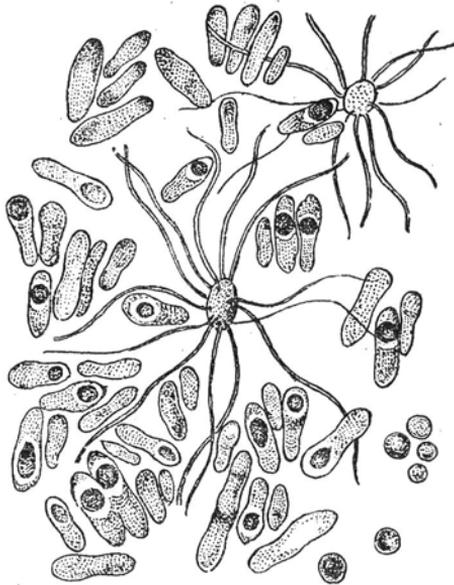
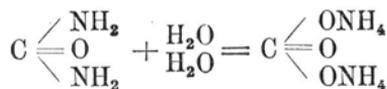


Fig. 9.

*Urobacillus Pasteurii* Miquel.

In der Mitte und oben rechts sind die Cilien in ihrer wahrscheinlichen Gestalt am lebenden Bakterienkörper dargestellt. Alles übrige genau nach dem Leben. Rechts unten sechs vereinzelt kugelige Sporen. 2580fache Vergr. Nach Beyerinck.

und Wirkung hat zuerst Musculus im Jahre 1874 in dem Harn eines an Blasenkatarrh erkrankten Menschen beobachtet. Die Überführung des Harnstoffs in kohlen-saures Ammonium möge folgende Formel veranschaulichen:



Auch die Harnsäure und ihre Verwandten sowie die Hippur-säure liefern bei der Zersetzung durch Bakterien Ammonium-karbonat. Am schnellsten erfolgt dessen Bildung beim Harnstoff,

weniger schnell bei der Harnsäure und am langsamsten bei der Hippursäure, die unter Wasseraufnahme zuerst in ihre beiden Komponenten Benzoësäure und Glycocoll zerfallen soll.

Wenden wir uns nun zur zweiten, noch sehr wenig erforschten Gruppe unserer Ammoniakbildner, deren Vertreter das grosse Eiweissmolekül zu spalten vermögen. Diese Spaltung scheint ein überaus komplizierter Prozess zu sein, dessen Produkte von der Art des Eiweisskörpers, den spezifischen Eigenschaften der einzelnen Bakterien, der Anwesenheit oder dem Mangel von Sauerstoff, der Zusammensetzung des Nährbodens überhaupt, der Temperatur u. s. w. abhängig sind. Schon der grosse Liebig hat das Problem der bakteriellen Eiweisspaltung zur Erforschung der Konstitution des Eiweissmoleküls zu lösen versucht. Er und sein Schüler Popp erhielten auf diese Weise als Zersetzungsprodukte des Eiweiss Leucin, freie Fettsäuren, Phenol, Tyrosin, Indol, Scatol, Schwefelwasserstoff und Ammoniumsulfhydrat. Viele Forscher haben solche Versuche, aber nur wenige mit Reinkulturen, angestellt. Ausser den bereits erwähnten Spaltungsprodukten seien noch folgende erwähnt: Valeriansäure, Ortho- und Parakresol, Scatolessigsäure, Hydrocumarsäure, Methylmercaptan; als letzte gasförmige Produkte treten Kohlensäure, Wasserstoff, der bereits erwähnte Schwefelwasserstoff und das uns hier am meisten interessierende Ammoniak auf. Auch müssen wir hier noch an die Ptomaine, Toxine und Toxalbumine erinnern. Betreffs der die Eiweisspaltung auslösenden Bakterienarten liegen bis jetzt verhältnissmässig wenig sichere Beobachtungen vor. Auch die Frage, ob die einzelnen Arten die Eiweisspaltung bis zur Mineralisierung durchführen oder ob mehrere Arten daran beteiligt sind, ist noch nicht mit wünschenswerter Sicherheit gelöst. Es scheint, dass die Fähigkeit der Eiweisszersetzung, die man auch als Fäulnis bezeichnet hat, sehr vielen Bakterienarten zukommt.

Früher hat man die sogenannten Fäulnisbakterien unter dem die verschiedensten Arten vereinigenden Kollektivnamen *Bacterium termo* zusammengefasst. Zu den bekanntesten eiweiss-spaltenden Bakterien gehört der verbreitete *Proteus vulgaris* (Fig. 10), eine noch nicht genügend untersuchte Sammelart, *Tyrothrix*, der das Kasein spaltet und der bei dem Reifungsprozess des Käses eine wichtige Rolle spielt, *Bacterium coli commune* (Fig. 11), der bekannte Bazillus der Darmfäulnis. Die

Spaltung des Eiweissmoleküls, die Nencki als eine Hydratation bezeichnet, erfolgt durch die von Bakterien erzeugten sogenannten proteolytischen Fermente.

Sehr wenig bekannt sind bis jetzt die bakteriellen Zersetzungen der Glycoside, die als ebenfalls kompliziertere Stickstoffverbindungen hier erwähnt sein mögen; das Indican, das Glycosid der Indigopflanzen, soll durch Bakterien in Zucker und Indigoweiss gespalten werden.

Durch die Bildung des Ammoniaks aus den stickstoffhaltigen organischen Stoffen ist das Ausgangsmaterial für die als Nitri-

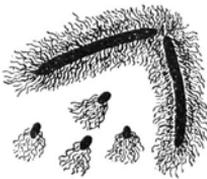


Fig. 10.

*Proteus vulgaris* Hauser.  
(*Bacillus vulgaris* Migula.)

Fäden und einzelne Zellen. 500fache Vergr.  
Nach Migula.

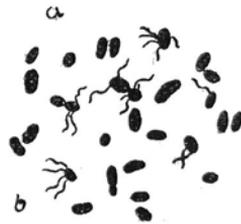
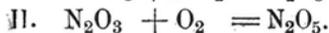
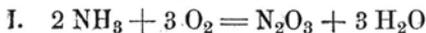


Fig. 11.

*Bacterium coli commune* Escherich.

730fache Vergr.  
Nach Weichselbaum.

fikation bezeichnete Salpeterbildung im Boden geschaffen, welche die beiden nächsten Bakteriengruppen vollziehen. Chemisch betrachtet ist die Nitrifikation ein durch Mikroorganismen zur Energieerzeugung ausgelöster Oxydationsvorgang, dessen Verlauf durch folgende hypothetische Formel angedeutet sei:



Die längst bekannte Nitrifikation hielt man für einen rein chemischen Oxydationsvorgang, bis im Jahre 1873 Alexander Müller die Vermutung aussprach, dass dieselbe ein biologischer Prozess sei. Seine Ansicht wurde vier Jahre später durch die Versuche von Schlössing und Müntz bestätigt, die auch bereits zeigten, dass das Minimum der Nitrifikation bei 5°, das Maximum bei 55° und das Optimum bei 37° liegt. Dass die Nitrifikation im sterilisierten Boden ausbleibt, hat zuerst Plath festgestellt. Allerdings gelang es den drei Forschern, wie manchen andern

trotz aller Anstrengungen nicht, die beteiligten Mikroorganismen zu züchten. Erst Winogradsky war es nach langem Bemühen und nach Schaffung der uns bereits bekannten elektiven Kultur vergönnt, die Nitrifikationsorganismen in Reinkultur zu erhalten und zu beobachten. Die bedeutenden und epochemachenden Untersuchungen Winogradskys sind in den Jahren 1890—1899 ausgeführt. Dabei bediente er sich der bekannten Kochschen Nährgelatine in ganz besonderer Weise. Die Wahrnehmung, dass in der bei den Züchtungsversuchen angewandten, im folgenden angegebenen mineralischen Nährlösung die Mikroorganismen sich hauptsächlich um die Magnesiumkarbonatteilchen entwickelten, veranlasste Winogradsky, die Nährgelatine mit einer solchen Kultur zu impfen und auf Platten auszugiessen. Er impfte dann wieder gerade von denjenigen Magnesiumkarbonatteilchen, um welche sich keine Keime entwickelt hatten, in die erwähnte mineralische Nährlösung ab.

Winogradsky stellte auf Grund seiner Untersuchungen fest, dass die Oxydation des Ammoniaks im Boden durch zwei von einander verschiedene Bakteriengruppen erfolgt: die Vertreter der einen oxydieren das Ammoniak zu salpetriger Säure, während die Angehörigen der anderen, durch eine grosse Empfindlichkeit gegenüber Ammoniak ausgezeichneten Gruppe die erzeugte salpetrige Säure zu Salpetersäure oxydieren. Winogradsky konstatierte dann ferner die hochwichtige Tatsache, dass die Nitrifikationsorganismen die Oxydation des Ammoniaks bei genügendem Sauerstoffzutritt am besten in einem nur aus anorganischen Substanzen zusammengesetzten Nährmedium vollziehen und dass selbst Spuren organischer Substanzen von den Bakterien sehr schlecht vertragen werden. Diese Beobachtung brachte Winogradsky auf den Gedanken, die Kochsche Nährgelatine, deren Anwendung bei den vielen Züchtungsversuchen der Nitrifikationsorganismen natürlich nicht zum Ziele führen konnte, in der angedeuteten Weise zur Erzielung von Reinkulturen anzuwenden. Da die an den Magnesiumkarbonatteilchen befindlichen Nitrifikationsorganismen in der Gelatine wegen ihrem Gehalt an löslichen organischen Stoffen sich nicht entwickeln konnten, so durfte man die gesuchten Bakterien an scheinbar keimfreien Partikeln des Magnesiumsalzes ohne Verunreinigung erwarten. Winogradsky bediente sich zur Reinkultur der zuerst von W. Kühne angegebenen Kieselsäure-

gallerte, die er bei den Nitritbildnern, die wir zuerst betrachten wollen, mit folgender Nährlösung tränkte: 1,0 Ammoniumsulfat, 1,0 Dikaliumorthophosphat, 5,0 Magnesiumkarbonat, 1 l Züricher Seewasser. Später hat Beyerinck die schwierig darzustellende Kieselsäuregallerte durch Agar ersetzt, der durch eine besondere Behandlung von allen löslichen organischen Bestandteilen befreit ist. Winogradsky hatte Agar bereits vorher zur Reinkultur der gegen lösliche organische Stoffe nicht in dem Grade, wie die Nitrosobakterien empfindlichen Nitrobakterien in Anwendung gebracht. Später bediente sich Omeliansky mit mineralischer Nährlösung getränkter Gipsmagnesiumplatten mit gutem Erfolg. Neuerdings hat der gleiche Forscher ebenfalls mit einer solchen Lösung angefeuchtetes Filtrierpapier, das er nach dem Vorgang von Beyerinck von löslichen Stoffen befreit, mit Erfolg zur Reinkultur des Nitritfermentes benutzt.

Die Nitritbildner oder Nitrosobakterien sind im Boden sehr

verbreitet. In Europa fand Winogradsky überall die gleiche Art, von ihm *Nitrosomonas europaea* (Fig. 12) genannt. Der Organismus stellt kurze, dicke, schwärmende oder zu festen Zoogloeen vereinigte Stäbchen von  $1\ \mu$  Breite und  $1,5-2\ \mu$  Länge mit einer kurzen, polaren Geißel dar. Sporenbildung ist bisher noch nicht beobachtet worden. Auf den festen Nährböden bilden die Bakterien sehr langsam wachsende kleine weissliche Kolonien. Sehr ähnlich, wenn nicht mit *Nitrosomonas europaea* identisch, sind die aus japanischen (Tokio) und nordafrikanischen (Tunis, Algier) Böden gezüchteten Nitritbildner. Bedeutend kleiner wie sein europäischer Kollege und mehr kugelig ist die aus japanischer

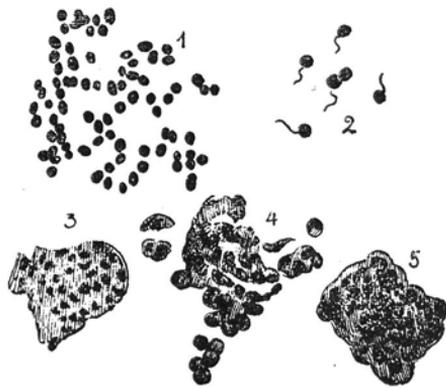


Fig. 12.

*Nitrosomonas europaea* Winogradsky  
aus Züricher Erde.

1. Mikroben in Minerallösung kultiviert. 2. Mikroben im Schwärnzustande. 3-5 Zoogloeenformen.

1, 2, 3, 5: 1000fache Vergr., 4: 125fache Vergr.

Nach Winogradsky.

Erde erhaltene *Nitrosomonas javanensis* (Fig. 13); die Zellen haben einen Durchmesser von  $0,5-0,6 \mu$ , besitzen dagegen eine sehr lange Geißel, die oft die Länge von  $30 \mu$  erreicht. Die aus südamerikanischen und aus australischen Böden isolierten Nitrosobakterien sind unbegeißelte, keine Zoogloeen bildende Coccen, von Winogradsky als *Nitrosococcus* bezeichnet, von  $1,5-2 \mu$  Durchmesser. Es ist wohl anzunehmen, dass es im Boden ausser den angeführten, mehr als biologische, systematisch nicht ein-

heitliche Arten zu betrachtenden Nitrosobakterien noch andere Ammoniak zu salpetriger Säure oxydierende Bakterien gibt.

Die von den Nitrosobakterien erzeugte, in freiem Zustande unbeständige und giftige salpetrige Säure, die in den Kulturen durch das zugesetzte Magnesiumkarbonat, im Boden hauptsächlich durch Calciumkarbonat zu Nitriten abgesättigt wird, oxydieren die Nitrosobakterien weiter zu Nitraten. Diese von Winogradsky als *Bacterium Nitrobacter* zusammengefassten Organismen finden sich in allen kultivierten Böden, und zwar nach der Angabe des Forschers stets in der



Fig. 13.

*Nitrosomonas javanensis* Winogradsky  
aus Erde von Java.

1. Mikroben aus einer nitrifizierenden Flüssigkeit.  
2. Mikroben im Schwärmzustande. 3. Zoogloea  
im Zustand des Zerfalls. 1000fache Vergr.  
Nach Winogradsky.

gleichen Art. Es sind ausserordentlich kleine, mit den gewöhnlichen Farbstoffen sehr schwer färbbare, geißel- und sporenlöse, unbewegliche, länglich ovale, öfters linsenförmige Bakterien von  $0,5 \mu$  Länge und  $0,15-0,25 \mu$  Breite, die in einen zarten Schleim eingebettet sind. Winogradsky gibt folgende Nährlösung an: 2,0 reines Natriumnitrit, 1,0 wasserfreies Natriumkarbonat, eine Messerspitze Kaliumphosphat, 1000 ccm Flusswasser. In dieser Kulturflüssigkeit bilden die Bakterien dünne, schleimige, den Gefässwandungen fest ansitzende Häutchen. Auf Kieselsäuregallerte oder auf Nitritagar bilden sie ganz ausser-

ordentlich kleine, erst bei stärkerer Vergrößerung sichtbare Kolonien. Zur Züchtung der Nitratbildner geht man nach Winogradsky am besten in der Weise vor, dass man von einer Erdprobe mehrere Agarplatten, und zwar mit verschiedenen Bodenmengen, herstellt und dieselben etwa vier Wochen in der feuchten Kammer bei etwa 30° hält. Ist nach dieser Zeit das Nitrit in Nitrat verwandelt, was sich leicht nachweisen lässt, so impft man von den typischen Kolonien in die angegebene mineralische Nährlösung ab, um dann weiter in der oben beschriebenen Weise vorzugehen.

Die Nitrifikationsbakterien sind ausserordentlich wichtige und in wissenschaftlicher Beziehung hochinteressante Organismen. Wichtig, weil sie das Ammoniak in die für die Pflanzenernährung so wichtige Nitratform überführen. Dabei kann keine Gruppe die andere vertreten (im Boden sind stets beide Gruppen nebeneinander vorhanden), die Nitrosobakterien vermögen das Ammoniak nur bis zur salpetrigen Säure zu oxydieren, während die Nitratbildner gegen Ammoniak sehr empfindlich und nur im stande sind, Nitrite in Nitrate überzuführen. Die oxydierende Wirkung der Organismen ist eine ganz spezifische und erstreckt sich nur auf die angegebenen Verbindungen des Stickstoffs. So vermögen die Nitratbildner nach den Untersuchungen von Omeliansky weder phosphorige noch schweflige



Fig. 14.

Bacterium  
Nitrobacter  
Winogradsky.

1000fache Vergr.  
Nach Winogradsky.

Säure weiter zu oxydieren. Eine ganz besondere Stellung, die bis jetzt vielleicht nur bei den Schwefel- und Eisenbakterien, auf die wir später noch zurückkommen werden, ein Analogon hat, nehmen die Nitrifikationsorganismen in ernährungsphysiologischer Beziehung ein. Wir haben bereits gesehen, dass sie organische Verbindungen, stickstoffhaltige nicht ausgeschlossen, verschmähen und sich wie chlorophyllbesitzende Pflanzen vollständig von mineralischen Substanzen ernähren. Des Chlorophylls entbehren sie und assimilieren die Kohlensäure im Dunkeln ohne die Energie der Sonnenstrahlen zu benützen. Die Energie liefert ihnen gerade die Oxydation des Stickstoffs, der vermutlich in oxydierter Form zugleich ihren eigenen Stickstoffbedarf deckt. Den zum Aufbau des Zelleibes nötigen Kohlenstoff entnehmen sie, wie wir durch die Untersuchungen von Godlewski wissen, der atmosphärischen Kohlen-

säure. Diese Kohlensäureassimilation steht in einem bestimmten Verhältnis zur Stickstoffoxydation, der Energiequelle. Nach Winogradskys Untersuchungen genügt im Mittel die Oxydation von 35,4 mg Stickstoff zur Assimilation von 1 mg Kohlenstoff. Dabei entweicht ein Teil des Stickstoffs in elementarer Form, wobei es sich wahrscheinlich um eine chemische Umsetzung der Stickstoffoxydationsprodukte mit Ammoniak handelt. Über den Mechanismus der bakteriellen Stickstoffoxydation sind wir noch vollständig im Dunkeln. Die Frage, ob die Bakterien vielleicht ein oxydierendes Ferment, eine Oxydase ausscheiden, wurde von Omeliansky bei den sich den Nitratbildnern gegenüber durch ihr energisches Oxydationsvermögen auszeichnenden Nitritbildnern mit negativem Erfolge geprüft. Auch die Möglichkeit, dass mehrere Oxydationsstufen aufweisende Schwermetalle eine Rolle bei der Oxydation spielen, fand Omeliansky bei seinen Versuchen nicht bestätigt. Es ist bekannt, dass solche Schwermetalle an der Oxydation von komplizierten organischen Verbindungen beteiligt sein können, wie man z. B. auch dem Eisen im Hämoglobin eine derartige Wirkung zuschreibt. Omeliansky ging bei seinen Untersuchungen von einer Beobachtung Gabriel Bertrands aus, der bei der Lackase einen engen Zusammenhang zwischen dem Grade der oxydierenden Wirkung und ihrem Gehalte an Aschenbestandteilen, besonders an Mangan, das auch Omeliansky in seinen Versuchen benützte, erkennen liess.

Die Nitrifikationsbakterien führen, wie wir gesehen, den Ammoniakstickstoff in die zur Aufnahme durch den Organismus der grünen Pflanzen geeignetste Nitratform über. Aber nicht immer kommt aller im Boden vorhandene Salpeter wirklich den Pflanzen zu gut. Die fünfte Gruppe unserer Bakterien, die sogenannten Denitrifikationsbakterien, reduzieren das Nitrat unter Bildung von freiem Stickstoff und während wir bisher Organismen kennen gelernt haben, welche bei ihrem Stoffwechsel entweder den elementaren, atmosphärischen Stickstoff festlegen, ihn in den organischen Kreislauf einführend, oder solche, welche bereits gebundenen Stickstoff bei ihrer Lebenstätigkeit weiter verwenden und für seine Brauchbarmachung zur Pflanzenernährung tätig sind, haben wir uns jetzt mit solchen Organismen zu beschäftigen, die Nitrate reduzieren oder auch den Salpeterstickstoff ganz frei machen, ihn in die Atmosphäre zurücksendend und so den Kreislauf des Stickstoffs schliessend.

Der Vorgang der Denitrifikation ist bereits längere Zeit bekannt, wurde aber ebenso, wie die bereits behandelten, anderen biologischen Vorgänge im Boden für einen ohne jede Mithilfe von Organismen verlaufenden, rein chemischen Reduktionsprozess gehalten. Erst im Jahre 1882 wurden durch Gayon und Dupetit bestimmte Bakterien als spezifische Erreger der Denitrifikation ermittelt. Durch die Beobachtung von Paul Wagner im Jahr 1895, dass bei Versuchen mit künstlicher Stickstoffdüngung die gleichzeitige Anwendung von Stalldünger den Effekt bedeutend verminderte, wurde die Denitrifikation als ein wissenschaftlich hoch interessanter, für unsere Landwirtschaft aber schädlicher Vorgang vielfach Gegenstand der Untersuchung. Dabei zeigte es sich, dass es zahlreiche und darunter gemeine und verbreitete Bakterien gibt, die entweder für sich oder gemeinschaftlich mit andern Spaltpilzen die Stickstoffentbindung hervorrufen können. Aber nicht nur im Boden, auch im Wasser und im Meere hat man derartige Organismen tätig gefunden, wie man auch Nitrifikationsbakterien im Grunde des Meeres beobachtet hat. So hat Erwin Bauer bei seinen auf Veranlassung der Kommission zur Untersuchung der deutschen Meere ausgeführten Forschungen zwei Denitrifikationsbakterien aus der Ostsee isoliert und als neue Arten *Bacterium Aktinopelte* und *lobatum* beschrieben. Als Kulturflüssigkeit verwandte Bauer Muschelbouillon aus frischen Miesmuscheln mit 2% Pepton und 0,25% Calciumnitrit. *Bacterium Aktinopelte* ist nicht im stande, für sich allein in reiner Nitritbouillon zu denitrifizieren, sondern nur in Gegenwart von andern Bakterien, oder nach deren Abtöten durch Sterilisation in Anwesenheit ihrer Stoffwechselprodukte, sowie in Nitritbouillon, der bestimmte Kohlehydrate zugesetzt wurden. Der Organismus vermag unter diesen Bedingungen sowohl Nitrate wie Nitrite unter starkem Aufschäumen und unter Bildung von elementarem, gasförmigem Stickstoff zu zerlegen. Kulturen, die längere Zeit rein gezüchtet wurden, verloren allmählich die Fähigkeit Nitrat zu Nitrit zu reduzieren, konnten aber noch Nitrit zerlegen, wenn auch in verschieden hohem Grade. *Bacterium lobatum* vermag überhaupt nur Nitrit zu zersetzen und auch diese Fähigkeit soll es in der Reinkultur nach wenigen Wochen fast stets verlieren. Das Optimum liegt für beide Organismen zwischen 20—25°.

Interessante Beobachtungen über das Vorkommen von deni-

trifizierenden Bakterien im Meerwasser liegen ferner von Gran aus Beyerincks Laboratorium vor.

Wie bereits betont wurde, finden sich die Denitrifikationsorganismen in grosser Verbreitung; man fand sie in der Luft, im Wasser, im Boden, am Stroh, im Stalldünger, besonders im Pferdekot, kurz allenthalben und manchmal kann ihre Gegenwart und ihre Tätigkeit recht lästig werden. So hat F. Schönfeld als Ursache des sogenannten „chlorigen“ Geruches des Bieres solche nitratreduzierende Bakterien ermittelt, die sich aber natürlich nur dann entwickeln können, wenn das Brauwasser Nitrate enthält. In der Melassebrennerei sind sie verschiedentlich als die Erreger der sogenannten Salpetersäuregärung aufgetreten, wobei an der Luft sich zu rotbraunen Dämpfen von  $\text{NO}_2$  oxydierendes Stickoxyd entweicht. Die Rübenmelasse enthält bekanntlich stets geringere Mengen Nitrate. Im Stalldünger und im Boden kann die Entbindung des für die Ernährung unserer Kulturpflanzen so wichtigen Nitratstickstoffs unter den Denitrifikationsorganismen zusagenden Bedingungen bedeutenden Schaden anrichten. Doch kann man wohl sagen, dass die diesbezüglichen, auf Grund von Versuchen ausgesprochenen Befürchtungen glücklicherweise zu weit gingen, da speziell bei Versuchen in Kulturgefässen leicht gerade die Tätigkeit von salpeterreduzierenden Bakterien begünstigende Verhältnisse sich vorfinden, die denen in einem richtig bearbeiteten Ackerboden nicht ganz entsprechen. Die Frage, ob die im Stalldünger und im Boden sich vorfindenden Denitrifikationsbakterien identisch sind und ob die letzteren auch in ungedüngtem Boden längere Zeit sich zu erhalten vermögen, ist öfters mit verschiedenem Resultat geprüft worden. So ist Künnemann der Meinung, dass die denitrifizierenden Bakterien des Bodens verschieden seien von denen des Stalldüngers. H. Jensen vertritt die gegenteilige Ansicht, dass die Organismen mit dem Stalldünger auf das Feld gebracht werden und dass sie in ungedüngtem Boden nicht längere Zeit leben können. Als Beweis dieser Behauptung führt Jensen an, dass er nur mit gedüngter Erde Denitrifikation erhalten konnte. Karl Höflich, der neuerdings diese Frage einer Prüfung unterzogen hat, spricht sich dahin aus, dass die im Boden vorhandenen Denitrifikationsbakterien sich auch ohne alljährliche Düngung lebensfähig erhalten können und

dass die Bakterien des Bodens die gleichen sind, wie die des Stalldüngers.

Die Zahl der Bakterienarten, die den Salpeter zu reduzieren vermögen, ist sehr gross. Wir haben hier mit Absicht den Ausdruck reduzieren gebraucht. Wenn wir unter der Erscheinung der Denitrifikation eigentlich nur die Vorgänge zu besprechen haben, die mit der Entbindung von freiem Stickstoff abschliessen, so müssen wir bei dieser Gelegenheit doch auch der Tätigkeit derjenigen Bakterien gedenken, die Nitrat nur bis zum Nitrit zu reduzieren vermögen.

Unter diesen salpeterreduzierenden Bakterien gibt es nun also solche, die nur Nitrate zu Nitriten desoxydieren können, dann solche, die nur Nitrite unter Stickstoffentbindung reduzieren. Diese letzteren können also nur in Symbiose mit den ersteren oder mit Angehörigen der folgenden Gruppe den Salpeterstickstoff in Freiheit setzen. Als dritte Klasse gibt es dann noch Bakterien, die den Salpeter vollständig reduzieren können. Die Reduktion des Salpeters kann unter Umständen bis zur Ammoniakbildung gehen; mitunter entweicht der Stickstoff aber auch in Form von Stickoxyd.

Eine grosse Zahl von Mikroorganismen hat in letzter Zeit Albert Maassen auf ihre Fähigkeit, Salpeter zu reduzieren, untersucht. Von 109 zur Prüfung herangezogenen Arten besaßen 85 die Fähigkeit, Nitrat zu Nitrit, 50 das Vermögen, Nitrit zu Stickstoff zu reduzieren. Die Leistungsfähigkeit der einzelnen Arten ist bei beiden Gruppen sehr verschieden. Unter den salpeterreduzierenden Bakterien sind sehr bekannte gemeine und auch pathogene Arten: *Bacterium coli commune*, der vielseitige Darmfäulnisreger (vergl. Fig. 11), der *Typhusbacillus*, der *Cholerabacillus*, der Erreger des blauen Eiters (*Bac. pyocyaneus*), die Erreger der Hühnercholera (*Bac. cholerae gallinarum*), des Rotzes (*Bac. mallei*), der Schweineseuche (*Bac. suisepiticus*), der gelatinverflüssigende, fluoreszierende *Bacillus* (*Bac. fluorescens liquefaciens*), die gelbe Sarcine (*Sarcina flava*), der *Wurzelbacillus* (*Bac. mycoides*) u. s. w. Wie bereits erwähnt wurde, sind die salpeterreduzierenden Bakterien fakultative Anaërobionten; doch vermögen die meisten derselben die Desoxydierung des Nitrats bei Gegenwart von andern aërobiotischen Bakterien in Symbiose mit denselben auch bei Sauerstoffanwesenheit zu vollziehen. Es sei hier

als Beispiel das *Bacterium coli commune* genannt. Neben ihm findet sich in den Pferdefaeces regelmässig ein von Burri und Stutzer als *Bacillus denitrificans* I bezeichneter Spaltpilz (Fig. 15). Wird nun *Bacterium coli commune* allein in nitrathaltigen Nährsubstraten bei Luftabschluss gezüchtet, so vermag es den Salpeter nur bis zum Nitrit zu reduzieren. Wird der Organismus aber mit dem obligat aëroben *Bacillus denitrificans* I im gleichen Nährmedium bei Luftzutritt kultiviert, so tritt bei dieser Symbiose energische Entbindung von elementarem Stickstoff unter Aufschäumen auf.

Das Optimum der denitrifizierenden Tätigkeit der Bakterien ist bei den einzelnen Arten verschieden; bei dem sehr energisch



Fig. 15.

*Bacillus denitrificans* I.

1000fache Vergr.  
Nach Burri.

wirkenden *Bacillus pyocyaneus* z. B. liegt es zwischen 35—37°, bei dem *Bacillus fluorescens liquefaciens* zwischen 26—30°, im allgemeinen zwischen 30—40°. Fördernd auf die Tätigkeit der salpeterreduzierenden Bakterien wirken Kohlehydrate, mehrwertige Alkohole, die Salze organischer Säuren, besonders die der Milchsäure und die Gegenwart geringer Mengen von Alkali. Salzmann, der auf Veranlassung von A. Stutzer die zwei denitrifizierenden Bakterien *Bacillus Stutzeri* und *Hartlebi* in dieser Beziehung untersucht hat, fand,

dass die Organismen in 0,5% Peptonlösung bei Zusatz von 1% Milchsäure in Form des Kaliumsalzes 98% des gebotenen Salpeters unter Stickstoffentbindung reduzierten und A. Maassen beobachtete, dass manche Bakterien überhaupt nur bei Gegenwart der erwähnten chemischen Verbindungen die Fähigkeit der Salpeterreduktion zeigen. Hemmend auf den Denitrifikationsvorgang wirkt reichliche Sauerstoffzufuhr.

Über den Chemismus der Denitrifikation sind die Ansichten zurzeit noch geteilt. Zwei grundsätzlich verschiedene Theorien stehen sich gegenüber, nach der einen sind es Stoffwechselprodukte der Bakterien, welche die Stickstoffreduktion bewirken, nach der andern entreissen die Bakterien den Sauerstoff den ihn enthaltenden Molekülen, um ihn für sich zu benutzen analog dem Vorgang der intramolekularen Atmung. Die erstere Ansicht glaubt Curt Wolf dadurch bewiesen zu haben, dass er Analysen über den Sauerstoffverbrauch von denitrifizierenden Bakterien aus

der in den Kulturgefäßen zur Verfügung stehenden Luft beim Vorhandensein und bei Abwesenheit von Salpeter ausführte. Dabei soll in beiden Fällen der Sauerstoffverbrauch derselbe sein, während bei Gegenwart von Nitraten weniger Sauerstoff aus der Luft entnommen sein müsste, wenn die Bakterien ihren Sauerstoffbedarf aus dem Salpeter decken würden. Man hat besonders die Hypothese vertreten, dass der bei vielen Bakterien als Stoffwechselprodukt auftretende Wasserstoff die Salpeterreduktion bewirke.

Die Annahme, dass die Reduktion der Nitrate zu freiem Stickstoff auf direkte Sauerstoffentnahme zurückzuführen sei, haben bereits Gayon und Dupetit ausgesprochen; H. Jensen, H. Weissenberg und andere Forscher sind dieser Auffassung beigetreten. Weissenberg sagt: „Die denitrifizierenden Bakterien besitzen die Fähigkeit, bei Mangel oder erschwelter Aufnahme von atmosphärischem Sauerstoff diesen aus Nitraten des Nährsubstrates zu entnehmen, so das Nitritmolekül zu spalten, was sich unter Entweichen von Stickstoff als Gärung zu erkennen gibt.“

Wir ersehen aus dem über den chemischen Vorgang der Denitrifikation Angeführten, dass dieses Problem trotz der vielen über dasselbe ausgeführten Untersuchungen in seinem Wesen noch sehr wenig aufgeklärt ist. Es ist nicht als ausgeschlossen zu betrachten, dass eine Stickstoffentbindung aus dem Salpeter auf verschiedene Weise zu stande kommen kann. Auch die Reaktion des Nährsubstrates ist von grosser Bedeutung für den Verlauf der chemischen Prozesse. So hat Curt Wolf bei saurer Reaktion mit den verschiedensten Spalt-, Spross- und Schimmelpilzen die Zerstörung von Nitraten bei Zuckerzusatz beobachtet. Er meint deshalb, dass bei jeder Gärung, gleichviel durch welche Organismen dieselbe hervorgerufen werde, das in der Zuckerlösung vorhandene Nitrat zerstört werde. Indess handelt es sich nach den Ausführungen von H. Weissenberg hierbei nur um ganz geringe Salpetermengen, die auf diese Weise unter Stickstoffentbindung reduziert werden. Ganz anders verhalten sich aber die Bakterien, welche wir als denitrifizierende bezeichnet haben. Diese vermögen auch bei Gegenwart von Alkali die Salpeterreduktion zu bewirken und die Alkaleszenz nimmt im Verlauf des Vorgangs noch erheblich zu. Ferner bedürfen sie nicht absolut eines Zuckerzusatzes zur Auslösung der Stickstoffentbin-

dung und vermögen, wie wir gesehen haben, ganz bedeutende Nitrattmengen zu zerstören.

Mit der Denitrifikation ist der Kreislauf des Stickstoffs beendet; der Stickstoff kehrt in das unerschöpfliche Luftmeer zurück, um von neuem seine Wanderung zu beginnen. Das Werk der Bakterien aber ist es, dass das Verhältnis von freiem und gebundenem Stickstoff auf unserem Planeten in ewigem Gleichgewicht erhalten wird.

Aber nicht nur bei dem Kreislauf des Stickstoffs sind die Bodenbakterien tätig, sondern auch bei der steten Wanderung der in den organischen Verbindungen in erster Linie vertretenen Elemente des Kohlenstoffs, Sauerstoffs und Wasserstoffs sind sie beteiligt; im Boden und im Wasser fällt ihnen auch hierbei der Hauptanteil der Arbeit zu. Wir haben bisher bei der Betrachtung des Stickstoffkreislaufes die diesbezüglichen Leistungen der Spaltpilze nur nebenbei berücksichtigt und wollen wir jetzt deshalb zur näheren Orientierung die bakteriellen Zersetzungen der stickstofffreien \* organischen Verbindungen verfolgen. Hier steht infolge des massenhaften Auftretens der Cellulose die Gärung der Cellulose oben an.

Im Jahre 1850 beobachtete Mitscherlich, dass beim Weichen von Kartoffeln in Wasser die Zellhüllen zerstört werden, während die Stärke sich am Boden des Gefäßes ansammelt. Als Ursache dieser Erscheinung glaubte er Vibrionen, die massenhaft im Substrat vorhanden waren, ansehen zu müssen. Über die Bacillenformen bei der Maceration pflanzlicher Gewebe veröffentlichte im Jahre 1865 Trécul eine Untersuchung; die Bakterien besaßen alle die Eigenschaft, durch Jod blau gefärbt zu werden; Trécul bezeichnete sie deshalb als *Amylobacter*-Arten. Diesen widmete sodann van Tieghem in den letzten Jahren des 8. Decenniums des vergangenen Jahrhunderts verschiedene Studien; er schrieb ihnen als hervorragendste Eigenschaft die Fähigkeit zu, Cellulose zu zersetzen, eine Schlussfolgerung, die sich für die van Tieghemschen Bakterien nicht aufrecht erhalten liess, indem dieselben gerade nicht im stande sind, auf sogenannte typische Faserzellulose einzuwirken.

---

\* Eine Zusammenstellung der wichtigsten Tatsachen der hier in Betracht kommenden bakteriellen Gärungen hat O. Emmerling gegeben. (Emmerling, O., Die Zersetzung stickstofffreier organischer Substanzen durch Bakterien. Braunschweig, F. Vieweg u. Sohn, 1902)

Vom rein chemischen Standpunkte ohne Rücksicht auf die dabei tätigen Bakterienarten wurde sodann die Cellulosegärung von Popoff, Tappeiner und Hoppe-Seyler näher verfolgt, die bei ihren Untersuchungen zum Teil schwedisches Filtrierpapier, also reine Cellulose verwandten. Als wichtigstes Resultat dieser Arbeiten ist die Erkenntnis anzusehen, dass bei der Cellulose zwei verschiedene Gärungen, eine Wasserstoffgärung und eine Methan-gärung auftreten. Das Zerfallen von Zellwänden unter der Einwirkung von Mikroben aus Flusschlamm beobachtete im Jahre 1890 zuerst van Sensus direkt unter dem Mikroskop. Seit dem Jahre 1895 hat sich Omeliansky, ein Schüler Winogradskys, in einer Reihe von Arbeiten mit der Cellulosegärung und ihren Erregern eingehend beschäftigt. Wir verdanken diesem Forscher wichtige Aufschlüsse über die letzteren und die durch dieselben ausgelösten Vorgänge. Mit bestem Erfolg bediente sich Omeliansky bei seinen Untersuchungen der von Winogradsky geschaffenen, uns bereits bekannten elektiven Kultur. Zur Impfung diente frischer Pferdekot und Flusschlamm. Die bereits erwähnten chemischen Untersuchungen über die Cellulosegärung, insbesondere diejenige von Hoppe-Seyler, liessen keinen Zweifel darüber, dass es sich bei der Cellulosegärung um eine typische anaerobe Gärung handelt und dass diese letztere jahrelang in einem an löslichen organischen Substanzen äusserst armen Medium veranstaltet werden kann. Diese Beobachtung diente Omeliansky als Fingerzeig für die elektive Kultur. Als Cellulosesubstrat benützte er Filtrierpapier, als Nährlösung eine solche von folgender Zusammensetzung:

Kalium phosphoricum 1,0, Magnesium sulfuricum 0,5, Ammonium sulfuricum oder phosphoricum 1,0, Natrium chloratum Spuren, destilliertes Wasser 1000,0 und Kreide im Überschuss, um die bei der Gärung entstehenden Fettsäuren zu neutralisieren, da sie sonst schliesslich die Bakterien vernichten würden. Die Kulturen wurden entsprechend der Tatsache, dass es sich um eine anaerobe Gärung handelt, vorsichtig vor Luft geschützt. Omeliansky beobachtete nun, dass bei gleicher Aussaat bald Methan-, bald Wasserstoffgärung auftrat. Es zeigte sich aber bald, dass sich das Einsetzen der einen oder der andern Gärung durch äussere Einwirkung bestimmen lässt. Nimmt man die Abimpfungen ohne Erwärmung vor, so setzt sich als Regel in der folgenden

Generation die Methangärung fest. Erhitzt man dagegen bei einer der ersten Abimpfungen die Kultur 15 Minuten lang auf  $75^{\circ}\text{C}$ , so sind hierdurch Bedingungen zur Entwicklung der Wasserstoffgärung geschaffen. Die Inkubationszeit beträgt bei der Methangärung in der Regel eine Woche, bei der Wasserstoffgärung dagegen drei bis vier Wochen. Wir wollen nun zuerst den Erreger der letzteren betrachten. Der Cellulose-Wasserstoffvergärer (Fig. 16), ein sporenbildender Bazillus, ist ein Beispiel eines Mikroorganismus mit streng spezialisierter Funktion, welche sich in bemerkenswerter Weise auf die Zersetzung eines unlöslichen, in chemischer Beziehung besonders widerstandsfähigen

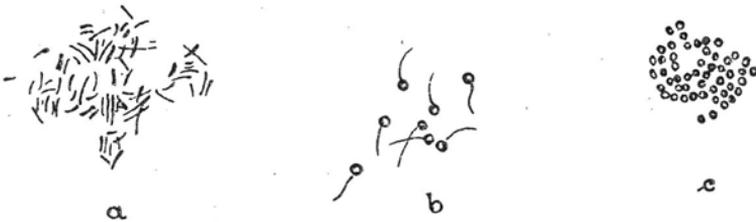


Fig. 16.

Bazillus der Cellulose-Wasserstoffgärung von W. Omeliansky.

a. Junge Stäbchen, b. Trommelschlegelform zur Zeit der Sporenbildung, c. Sporen.  
1000fache Vergr.

Die Figuren sind nach den Photographen Omelianskys gezeichnet.

Stoffes beschränkt und sich nicht auf die von der grossen Mehrzahl der Organismen gesuchten Nährstoffe erstreckt. Der Bazillus färbt sich mit den gebräuchlichen Anilinfarben gut, dagegen bringt Jod in keinem Entwicklungsstadium eine Blaufärbung hervor; es hat also dieser Spaltpilz nichts mit dem *Amylobacter* van Tieghems (vergl. Fig. 17) gemein. Über die Produkte der Wasserstoffgärung gibt der nachstehende Versuch Omelianskys Aufschluss. 3,3471 g Cellulose lieferten:

2,2402 g Fettsäuren (Essigsäure, Buttersäure,  
Spuren von Valeriansäure),  
0,9722 g Kohlensäure,  
0,011388 g Wasserstoff.

Vergleichen wir hiermit die Produkte der zweiten Art der bakteriellen Cellulosezersetzung, der Methangärung. Es lieferten z. B. 2,0065 g Cellulose:

1,0223 g Fettsäuren (Essigsäure und Buttersäure),  
 0,8678 g Kohlensäure,  
 0,1372 g Methan.

Der Erreger dieser Gärung ist dem Bacillus der Wasserstoffgärung morphologisch ausserordentlich nahe verwandt und lässt sich nur durch seine physiologische Leistung mit Sicherheit von seinem Kollegen unterscheiden. Im allgemeinen ist der Methanvergärer etwas kleiner, ebenso seine Sporen. In der Natur verlaufen die beiden Cellulosegärungen wohl in der Regel nebeneinander.

Wenden wir unsern Blick jetzt auf die übrigen in der Natur verbreiteten Kohlehydrate, sowie auf die ihnen chemisch sehr nahe stehenden mehratomigen Alkohole. Wenn auch speziell bei der Zersetzung dieser Verbindungen Hefe- und Schimmelpilze eine bedeutende Rolle im Boden spielen, so ist doch die Tätigkeit der Bakterien auch in dieser Beziehung eine sehr wichtige und vielseitige. Schon bei der Besprechung des Clostridium Pasteurianum wurde erwähnt, dass dieser Organismus Dextrose, Lävulose, Rohrzucker, Inulin, Galactose und Dextrin unter Bildung von Buttersäure, Essigsäure, Kohlensäure und Wasserstoff zu spalten vermag. Die Produkte der bakteriellen Gärung der Kohlehydrate und der mehratomigen Alkohole, deren Erreger sich in der Natur in ausserordentlicher Verbreitung finden, sind je nach der chemischen Natur dieser Körper, nach der Art der auf sie einwirkenden Bakterien, nach der Temperatur, nach dem Zutritt oder dem Mangel der Luft, nach der Anwesenheit anderer Substanzen etc. verschieden, worauf ebenfalls bereits bei den physiologischen Leistungen des Clostridium Pasteurianum hingewiesen wurde. Mehratomige Alkohole werden mitunter durch die Bakterien zuerst durch Oxydation in die nahverwandten Zuckerarten übergeführt. Die wichtigsten Zersetzungsprodukte sind fette Säuren, besonders Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Milchsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Bernsteinsäure, ferner Kohlensäure und Wasserstoff; weniger häufig treten einatomige Alkohole, wie der Aethylalkohol, Propylalkohol, Butylalkohol, Amylalkohol, ferner Aceton auf. Wir bezeichnen eine solche Gärung nach dem in grösster Menge dabei auftretenden Zersetzungsprodukt als Essigsäuregärung, als Milchsäuregärung u. s. w. Die häufigsten und wichtigsten der bakteriellen Gärungen der Kohlehydrate und der mehratomigen

Alkohole sind die Milchsäure- und die Buttersäuregärung. Milchsäure entsteht durch eine ganze Reihe von Bakterien aus Milchsücker, Rohrzucker, Glucose, Lävulose, Galactose, Maltose, Stärke, Dextrin, Raffinose, Trehalose, Melecitose, Mannit, Sorbit, Inosit, Dulcitol und Glycerin. Das oft erwähnte vielseitige Bacterium coli (vergl. Fig. 11) z. B., das übrigens nicht zu den sogenannten typischen Milchsäurebakterien gehört, spaltet nach A. Harden die Glucose im Sinne folgender Gleichung:

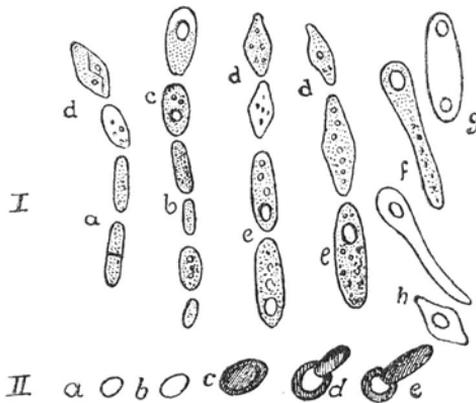
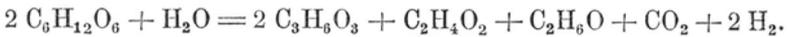


Fig. 17.

*Bacillus amylobacter* van Tieghem (*Clostridium butyricum* Prazmowski).

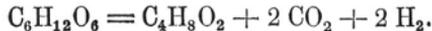
I. Dauersporenbildung. a, b, c. Stäbchen vor, d, e. während, f, g, h. nach der Sporenbildung.

II. Keimung der Dauersporen.

1020fache Vergr. Nach Prazmowski.

Die Buttersäuregärung, die wir bei der Bindung von elementarem Stickstoff durch Bakterien im Boden schon kennen gelernt haben, tritt ebenfalls sehr häufig auf. Ihre bekanntesten und verbreitetsten Erreger sind ausser dem *Clostridium Pasteurianum* (Fig. 2) der *Bacillus amylobacter* van Tieghem (Fig. 17), von Prazmowski *Clostridium butyricum* genannt, *Bacillus butylicus* Migula identisch mit Beyerincks *Granulobacter butylicus* und *Bacillus butyricus* Hueppe. Auch pathogene Arten besitzen die Fähigkeit der Buttersäureerzeugung, wie z. B. der Erreger des malignen Ödems und des blauen Eiters. Die Buttersäurebakterien sind meist fakultative Anaerobionten, doch gibt es auch

solche, die nur bei Sauerstoffanwesenheit zu gedeihen vermögen. Buttersäure wird durch Bakterien erzeugt aus Glucose, Rohrzucker, Milchzucker, Stärke, Glycogen, Glycerin, Mannit, Erythrit, Quercit, Sorbinose, Arabinose; einige Bakterienarten vermögen auch milchsäuren und glycerinsäuren Kalk in Buttersäure überzuführen. Die Spaltung der Glucose z. B. geht bei den meisten sie vergärenden Bakterien in der Hauptsache im Sinne folgender Gleichung vor sich:



Manche Bakterien erzeugen indes aus bestimmten der hier in Betracht kommenden Nährmedien so grosse Mengen von Butylalkohol oder Isobutylalkohol, dass man z. B. bei der Maltosegärung durch *Bacillus butylicus* Migula von einer Butylalkoholgärung spricht. Dass Beyerinck den typischen Buttersäurebakterien im Boden ganz allgemein das Stickstoff-Fixationsvermögen zuschreibt, wurde schon früher erwähnt.

Die bei der Spaltung der Kohlehydrate und der mehratomigen Alkohole auftretenden fetten Säuren und Alkohole teilen im Boden das Schicksal der in Fetten und Ölen vertretenen, in der Regel mehratomigen Fettsäuren und mehratomigen Alkohole. Es sind allerdings verhältnissmässig wenig Untersuchungen über die Zerstörung von Fetten und Ölen im Boden bis jetzt ausgeführt worden. Zu erwähnen sind vor allem die zwölfjährigen grundlegenden Versuche Rubners über die Spaltung und Zersetzung von Fetten und Fettsäuren im Boden und in Nährlösungen, wobei allerdings die dabei tätigen Arten nicht näher berücksichtigt sind. In sterilisiertem Boden trat wohl eine geringe Fettspaltung, aber keine Fettgärung ein. Unter natürlichen Bedingungen wird das Neutralfett im Boden gespalten und dann unter sehr schnellem Verschwinden des Glycerins aufgezehrt und zu Kohlensäure und Wasser verbrannt. Dabei sind neben Bakterien auch Schimmelpilze in ganz hervorragender Weise beteiligt. Beschleunigt wird die Fettzersetzung durch das Vorhandensein passender Bakteriennährstoffe, sowie durch Zugabe von Kalk. Von den Bakterien, welche im stande sind, Fette und Öle zu spalten, sind nach den Untersuchungen von Duclaux, Krüger, Riemann, Reissmann, O. Laxa, Orla Jensen u. a. *Bacillus fluorescens liquefaciens*, *Bacillus fluorescens non liquefaciens* und *Bacillus prodigosus* die verbreitetsten.

Ausser den Bakterien sind es dann besonders *Oidium lactis*, *Cladosporium butyri*, sowie *Mucor*- und *Penicillium*-Arten, deren Tätigkeit hier in Betracht kommt. Neuerdings hat J. König im Verein mit A. Spickermann und W. Brenner anschliessend an die Arbeiten von Hebebrand, Welte und Scherpe, Reitmayer, von Rothausen und Baumann die Fettzersetzung und Fettzehrung durch Mikroorganismen in Futtermitteln beim Aufbewahren näher verfolgt. Die dabei beobachteten Spaltpilze gehören sämtlich zur Gruppe der Heu- und Kartoffelbazillen. Bei einem Wassergehalt unter 14% trat keine Fettzehrung ein, bei einem solchen zwischen 14% und 30% entfalteten die Mycelpilze eine rege Tätigkeit, während bei einem Wassergehalt von über 30% die Bakterien die Oberhand bei der Fettzerstörung gewannen. Die der Fettzehrung, wie es scheint, stets vorausgehende Spaltung in Glycerin und freie Fettsäuren wird durch Enzyme, die sogenannten Lipasen, ausgelöst.

Es erübrigt uns jetzt noch, der Tätigkeit der Bodenbakterien bei der Zersetzung der Knochen kurz zu gedenken. In dieser Beziehung hat Stoklasa einige Beobachtungen mit Knochenmehl angestellt. Er verwandte zu seinen Versuchen *Bacillus megatherium*, *fluorescens liquefaciens*, *proteus vulgaris*, *butyricus* Hueppe, *mycoides* und *mesentericus*. Er konstatierte einen bedeutenden Unterschied bei den einzelnen Arten betreffs ihrer Energie bei der Transformation des in den Knochen enthaltenen Stickstoffs in die Amidform und bei der Auflösung der Phosphorsäure. Am raschesten arbeitete *Bacillus megatherium*, den Stoklasa irrümlicherweise für identisch mit dem *Alinitbazillus* hält; sodann *Bacillus mycoides*. Von deutlichem beschleunigendem Einfluss auf die knochenzersetzende Tätigkeit der hier in Betracht kommenden Bodenbakterien ist nach Stoklasa die Gegenwart von Kohlehydraten.

Bisher haben wir bei der Betrachtung der Bakterientätigkeit beim organischen Kreislauf nur die Elemente Stickstoff, Kohlenstoff, Sauerstoff und Wasserstoff berücksichtigt. Die Arbeit der Bodenbakterien erstreckt sich indes dank der staunenswerten Vielseitigkeit der Spaltpilze in ihren physiologischen Leistungen auch auf die für das organische Leben wichtigen Elemente des Schwefels und Eisens und wir können auch hier von einem Kreislauf dieser Elemente sprechen, der durch die sogenannten Schwefel-

resp. Eisenbakterien ausgelöst wird. Die hier in Betracht kommenden chemischen Verbindungen Schwefelwasserstoff und Ferrobicarbonat können natürlich sowohl tellurischen wie organischen Ursprungs sein. Die Schwefel- und Eisenbakterien leben zwar fast ausnahmslos in schwefel- resp. eisenhaltigen Wässern, doch können sie zum Teil, wie wir später noch sehen werden, unter bestimmten Umständen auch in gewissen Böden vorkommen.

Die Schwefelbakterien stellen eine aus den verschiedensten Arten zusammengesetzte physiologische Gruppe dar, die wir be-

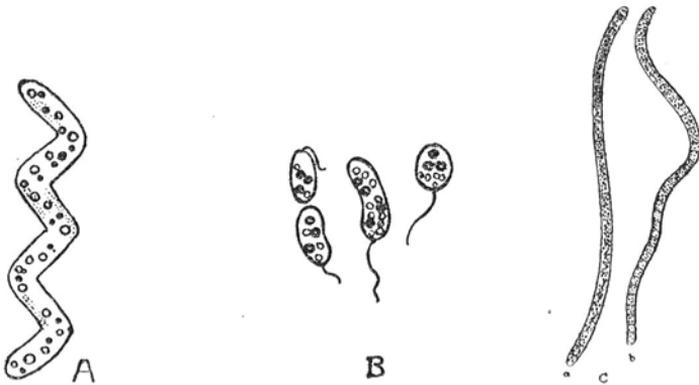


Fig. 18.

Verschiedene Schwefelbakterien.

- A. *Spirillum sanguineum* (Ehrenb.) Cohn. Eine Purpurschwefelbakterie mit Schwefelkörnchen. 1000fache Vergr. Nach Migula.  
 B. *Pseudomonas Okonii* Cohn. Eine Purpurschwefelbakterie mit Schwefelkörnchen. 660fache Vergr. Nach Warming.  
 C. *Beggiatoa alba* (Vauch.) Trev. a. Lebender Faden mit Schwefelkörnchen, b. Faden nach Behandlung mit Schwefelkohlenstoff. 300fache Vergr. Nach Migula.

reits bei der Einteilung der Spaltpilze kurz kennen gelernt haben (vergl. Fig. 18 A, B und C). Sie besitzen die auffallende Eigenschaft, des sonst sehr giftigen Schwefelwasserstoffs als unentbehrlichen Nährstoffs zu bedürfen. Dieser findet sich, abgesehen von natürlichen Schwefelwässern, überall da, wo Eiweisstoffe zersetzt werden. Die Schwefelbakterien verbrennen, vermutlich zur Energiegewinnung, den Schwefelwasserstoff zunächst zu Schwefel, der in Form von Körnern oder Tröpfchen in den Zellen aufgespeichert, sodann aber weiter zu Schwefelsäure oxydiert wird; diese wird ausgeschieden und durch anwesende Karbonate der alkalischen

Erden zu Sulfaten abgesättigt, die wiederum von den Pflanzen bei ihrer Ernährung verwendet werden.

Die zur Gruppe der Scheidenbakterien gehörenden, den Wassertechnikern genügsam bekannten Eisenbakterien oxydieren, wahrscheinlich ebenfalls zur Energieerzeugung, Ferrobikarbonat zu Ferrihydroxyd, das sich in den Scheiden ablagert. Das Ferrobikarbonat findet sich ausser in den sogenannten natürlichen Eisenwässern, besonders in sumpfigen und stehenden Gewässern, wo organische eisenhaltige Stoffe zersetzt werden.

Gleichfalls zu den Scheidenbakterien, deren Bau die Figuren 19 und 20 erläutern mögen, gehören einige Organismen, deren hier noch gedacht sei: der von Kullmann entdeckte und beschriebene Erreger des Erdgeruches *Streptothrix odorifera* und einige der sogenannten thermophilen Bakterien. P. Salzmann, welcher in letzter Zeit der *Streptothrix odorifera* eine physiologisch-chemische Studie gewidmet hat, beobachtete, dass dieser eigentümliche Geruch nur beim Vorhandensein bestimmter chemischer Verbindungen auftritt. Während die Salze der Oxalsäure, der Mono- und Monoxykarbonsäuren überhaupt nicht verwendet werden, benützt der Organismus zwar

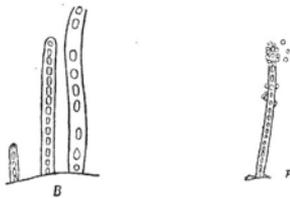


Fig. 19.

Scheidenbakterien.

B. Festsitzende Fäden von *Streptothrix epiphytica* Migula.

F. Conidienbildender Faden von *Streptothrix fluitans* Migula.

500fache Vergr. Nach Migula.

die Dikarbonsäuren, welche neben den beiden Karboxylgruppen noch die  $\text{CH}_2$  oder  $\text{CH OH}$ -Gruppe enthalten, wie die Bernsteinsäure, Apfelsäure, Weinsäure, Citronensäure, der charakteristische Geruch tritt jedoch nur bei den drei letzten Säuren auf.

Die sogenannten thermophilen Bakterien, von denen, wie soeben erwähnt, ein Teil gleichfalls zu den Scheidenbakterien gehört, finden sich sehr verbreitet in den oberflächlichen Bodenschichten. Sie besitzen die Eigentümlichkeit, noch bei Temperaturen von  $50-70^\circ$  zu gedeihen; sie sind nicht pathogen, meist fakultativ anaërob und sporenbildend.

Nachdem wir die Bodenbakterien in ihren Leistungen im Boden selbst kennen gelernt haben, wollen wir zum Schluss noch die hygienische Bedeutung der Bodenbakterien streifen.

Bekanntlich schreibt man dem Boden vielfach eine bedeu-

tende Rolle für das Zustandekommen und die Verbreitung von Epidemien zu. Aber so vielfach diese Frage auch studiert worden ist und wie viele Theorien über die Beziehung des Bodens zu den Infektionskrankheiten aufgestellt worden sind, das überaus wichtige Problem harret noch einer befriedigenden Lösung.

Die bemerkenswerte Tatsache, dass manche Bakterien unter ungenügend bekannten Umständen, im Boden plötzlich in grosser Menge auftreten, um ebenso rasch wieder zu verschwinden, wurde bereits früher erwähnt. Für die pathogenen Bakterien scheint der Boden indes im allgemeinen mehr als Konservierungs- wie als Vermehrungsstätte in Betracht zu kommen. In grosser Verbreitung finden sich in gedüngter Erde die Erreger des malignen Ödems und des Tetanus, während andere pathogene Bakterien, denen man im Boden einmal ausnahmsweise begegnet, bei Versuchen nach kürzerer oder längerer Zeit im Boden schliesslich zu Grunde gingen. Eine Ausnahme machen hier, wie wir aus verschiedenen Tatsachen schliessen müssen, bis jetzt nur der Typhus —, Rauschbrand — und Milzbrandbazillus und wahrscheinlich auch der Choleravibrio. So hat man z. B. schon öfters die Wahrnehmung gemacht, dass unter Arbeitern, die mit Erdarbeiten in als verseucht zu betrachtenden Böden beschäftigt waren, Abdominaltyphus ausgebrochen ist. Ferner wissen wir von dem Milzbrandbazillus, dass er als fakultativer Parasit auch ausserhalb seines lebenden Wirtes unter gewissen Umständen auf saprophytische Weise von toten Stoffen sich ernähren und eventuell sogar vermehren kann. Sporen bildet er überhaupt nur bei der letzteren Lebensweise. So kommt es, dass bestimmte Weiden z. B. immer wieder Milzbrand erzeugen können, da die Tiere mit dem Futter die Milzbrandbazillen oder Milzbrandsporen in sich aufnehmen. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei dem Rauschbrandbazillus. In letzter Zeit hat man

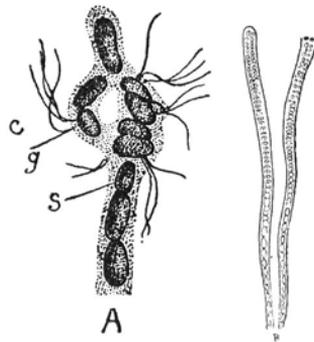


Fig. 20.

A. *Cladothrix dichotoma* Cohn.Spitze eines gonidienbildenden Fadens (s),  
g. die aufgelockerte Scheide, c. die Goni-  
dien mit Geisseln.

1000fache Vergr. Nach Alfred Fischer.

B. *Crenothrix polyspora* Cohn.

Gonidienbildung.

300fache Vergr. Nach Migula.

beobachtet, dass auch niedere Tiere im Boden von Infektionskrankheiten betroffen werden. So beschreibt Cavara ein Bakterium, das die Larven der Saateule *Agrotis segetum* infiziert, bis zur Mumifikation durchwuchert und deformiert. Die getöteten Larven werden braun und brüchig.

Wenden wir uns jetzt noch zu den phytopathogenen Bakterien des Bodens. Die Existenz von pflanzeninfizierenden Bakterien ist vielfach bestritten worden. Wir kennen jetzt aber mit Sicherheit verschiedene bakterielle Pflanzenkrankheiten, die man als Bakteriosen bezeichnet, so z. B. die Nassfäule der Kartoffeln, der Rotz der Hyazinthen, die Bakteriosis der Kohlrabi, der weissen Rüben und der Möhren u. s. w. Auch die dem Boden anvertrauten Samen und Früchte können durch manche noch nicht genügend bekannte Bakterien und andere Mikroorganismen unter Umständen getötet werden, wie dies Hiltner für Leguminosensamen nachgewiesen hat.

Neuerdings hat man beobachtet, dass bei solchen Pflanzenkrankheiten gemeine, sonst nicht pathogene Arten sich beteiligen können. Es führt uns diese Tatsache zu der ganz allgemein überaus wichtigen Frage, welche gemeinen saprophytischen Bakterien vermögen eventuell parasitäre Eigenschaften anzunehmen und unter welchen Umständen tun sie dies? E. Laurent gibt an, dass *Bacterium coli commune* und *Bacillus fluorescens putidus* durch eine Reihe von Passagen auf Kartoffeln und Möhren diesen und andern Knollengewächsen gegenüber parasitäre Eigenschaften erlangen, die durch künstliche Verminderung der Acidität des Zellsaftes sichtlich gefördert werden. Dasselbe hat L. Lepoutre für *Bacillus fluorescens liquefaciens*, *B. mycoides* und *B. mesentericus* behauptet. Er bemerkt noch, dass die mineralische Ernährung eine deutliche Einwirkung auf die Widerstandsfähigkeit knolliger Gewächse gegenüber der Bakterieninfektion habe. So prädisponierte bei seinen Versuchen mit Steckrüben und Karotten ein Übermass von Stickstoff oder Kalkdüngung zur bakteriellen Fäulnis, während die Phosphate den Widerstand dieser Pflanzen gegenüber den virulenten Bakterien erhöhte.

Über das Verhalten des Heubazillus (*Bac. subtilis*) und des zur Gruppe der Kartoffelbakterien gehörenden *Bacillus vulgatus* als Pflanzenparasiten hat C. J. J. van Hall eine Studie veröffent-

licht. Darnach sollen diese Spaltpilze bei höherer Temperatur sehr toxische Eigenschaften für viele Pflanzen annehmen und als virulente Fäulnisserreger auftreten. Bei dem Heubazillus soll dies bei Temperaturen über 23°, bei der Kartoffelbakterie bei solchen über 30° der Fall sein.

Eine bekannte Erscheinung ist es auch, dass auf manchen Böden bei fortwährender oder zu oft wiederholter Kultur derselben Pflanzen diese nicht mehr gedeihen; wir sprechen z. B. von Leguminosenmüdigkeit, Rebenmüdigkeit, Zuckerrübenmüdigkeit des Bodens. Auch hierfür hat man vielfach die bakteriellen Verhältnisse der betreffenden Böden verantwortlich gemacht. Auch die sogenannten Wurzelfäuleböden, wie sie besonders in den Tropen bei den Zuckerrohrfeldern auftreten, sollen durch Bakterien bedingt sein. Kamerling hat einen solchen typischen Wurzelfäuleboden untersucht und in diesem Eisenbakterien, die in gesunden Böden nicht angetroffen werden, in grosser Verbreitung gefunden, während Schimmelpilze dabei sehr zurücktraten. Die Ursache der untersuchten Wurzelfäule sieht Kamerling in durch anaerobe Bakterien ausgelösten Reduktionsprozessen, die zur Bildung von Eisenoxydul und Schwefelwasserstoff führen.

Auch die Frage, ob für Menschen und Tiere pathogene Bakterien als Pflanzenparasiten auftreten können, ist von eminenter Wichtigkeit. Denn auf diesem Wege könnten sie dann leicht zu Infektionen Veranlassung geben. Die bisherigen diesbezüglichen Untersuchungen haben zu widersprechenden Resultaten geführt. Doch scheint es, dass die Gefahr in dieser Beziehung glücklicherweise nicht sehr gross ist.

Überblicken wir zum Schlusse nochmals unsere Ausführungen über die mannigfaltige teils nützliche, teils schädliche Tätigkeit der Bodenbakterien, so sehen wir, dass es wichtige und bedeutungsvolle Probleme sind, welche die Bodenbakteriologie schon gelöst hat und noch zu lösen hat. Aber bunt und verworren ist das Leben und Treiben der Mikroorganismen im Boden und wenn auch das Auge des Forschers manches in diesem wechsellvollen Treiben geschaut und beobachtet hat, so gibt es doch noch so manche dunkle Ecke in dessen weitem Bereich, deren Aufhellung für Wissenschaft und Praxis von grossem Nutzen sein würde.

Aber gerade dieser Umstand ist es, der das Studium der Bodenbakteriologie trotz der grossen Schwierigkeiten zu einem besonders reizvollen und genussreichen macht. Gibt es doch keine höhere Befriedigung für die wissenschaftliche Forschung, als das erhabene Bewusstsein, Hand in Hand mit der Praxis für das Wohl der Menschheit tätig zu sein.

---

---

Druck der G. Braunschen Hofbuchdruckerei in Karlsruhe.

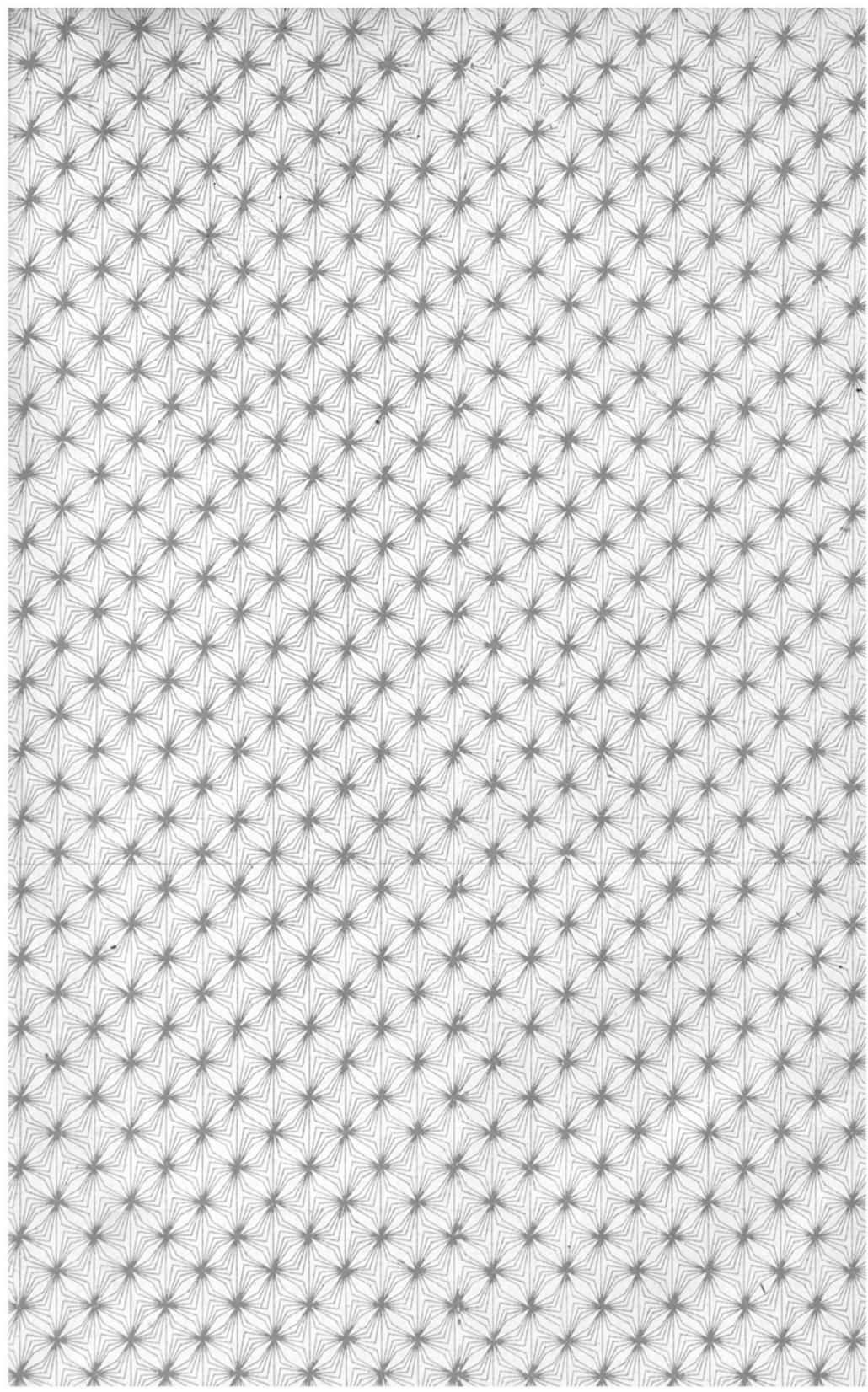
---

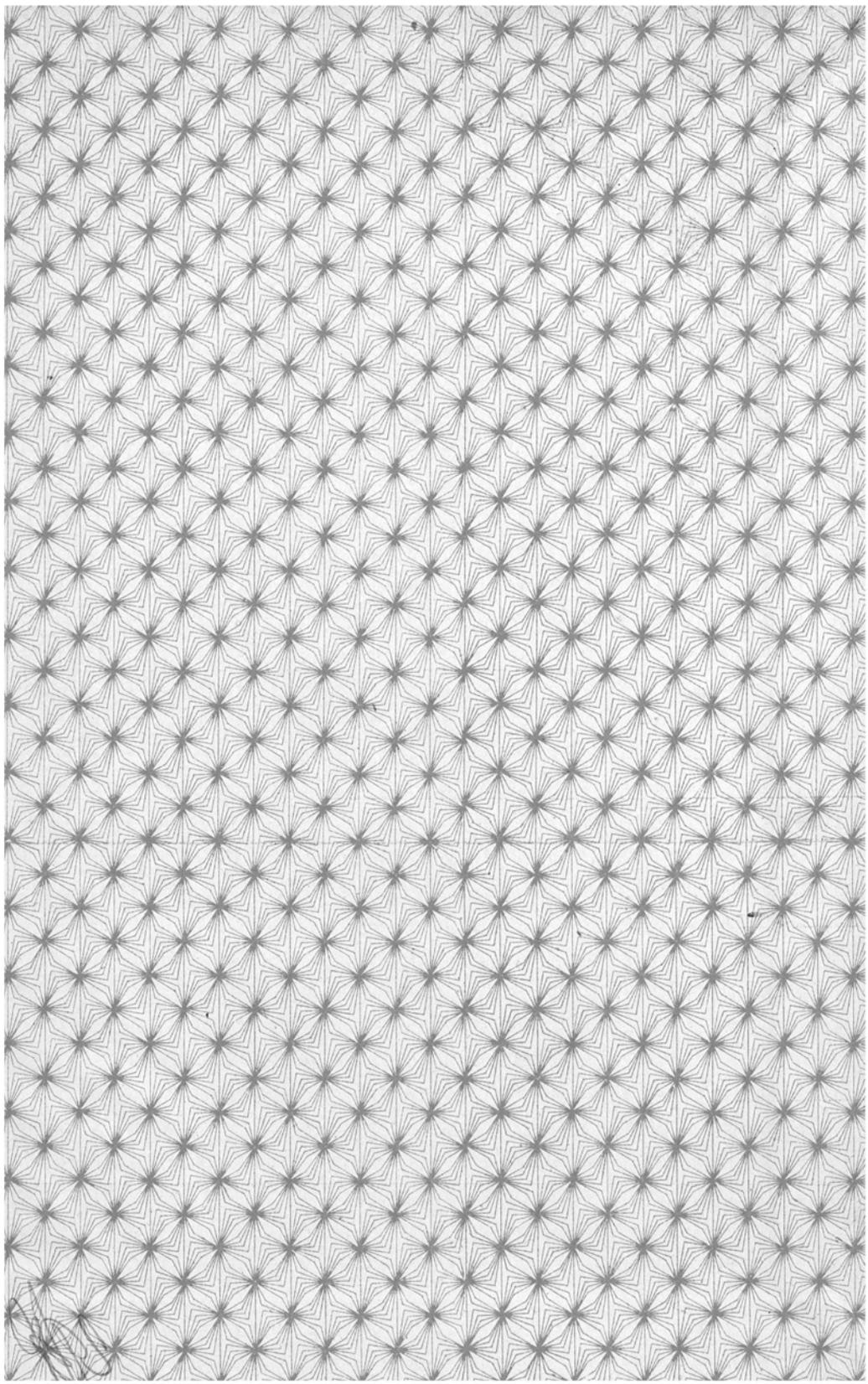












UNIVERSITY OF CHICAGO



73 643 639