

## Der Kreislauf des Stickstoffes im Pflanzenreich.

Von

Dr. Friedrich Vierhapper.

Während die Pflanzenphysiologie die Frage, wie und woher sich die Pflanze den für ihr Gedeihen nötigen Kohlenstoff verschafft, schon längst in befriedigender Weise beantwortet hat, ist ihr die Lösung des analogen Problems bezüglich des Stickstoffes erst viel später gelungen. Denn wenn es auch schon relativ lange bekannt ist, daß der Stickstoff der Luft für die grüne Pflanze vollkommen bedeutungslos ist, und daß sie ihren Stickstoffbedarf aus den im Boden befindlichen Nitraten und Ammoniakverbindungen deckt, so machte man sich doch über die Ursachen des konstanten Reichtumes des Bodens an für die Pflanze brauchbaren Stickstoffverbindungen lange Zeit unklare Vorstellungen, bis in letzter Zeit die grundlegenden, mit allen Behelfen der modernen Bakteriologie und quantitativen Analyse durchgeführten Untersuchungen Winogradsky's und anderer Forscher auch hierüber klarere Vorstellungen vermittelten.

Wenn ich es nun im folgenden unternehme, einen kurzen Überblick über den momentanen Stand der Stickstofffrage zu geben, so tue ich es nicht nur, um dem Interesse, welches die Lektüre einschlägiger Arbeiten in mir erweckte, Ausdruck zu geben, sondern auch weil ich glaube, dem sicherlich über kurz oder lang sich einstellenden Bedürfnisse, einige der im folgenden berührten Fragen in größerem Ausmaße als bisher zum Gegenstande des Mittelschulunterrichtes zu machen, in hoffentlich nicht unerwünschter Weise entgegenzukommen.

Insbesondere für einen allgemein naturwissenschaftlichen (biologischen) Unterricht scheint mir das Thema, natürlich bei entsprechender Auswahl des Gesicherten und dem Schüler Verständlichen und unter der Voraussetzung genügender — insbesondere chemischer — Vorkenntnisse ganz besonders geeignet zu sein. Gerade so wie sich durch die Tatsache, daß die grüne Pflanze durch das Sonnenlicht die Energie

gewinnt, die Kohlensäure zu spalten, dem Schüler die Beziehungen alles Belebten zu der in der leblosen Materie aufgespeicherten Energie verständlich machen lassen, kann man ihm die gegenseitige Abhängigkeit der Organismen voneinander, das gesetzmäßige Mit- und Nacheinanderleben derselben, wohl nicht anschaulicher vor Augen führen, als wenn man ihn mit den im folgenden berührten Fragen über den Kreislauf des Stickstoffes bekannt macht. Das natürliche Interesse an diesen Dingen dürfte sich noch durch die Betrachtung steigern lassen, daß ja der Mensch selbst mit ein Glied ist in diesem Kreislaufe des Kohlenstoffes und Stickstoffes, und daß es um seine Existenz gar schlecht bestellt wäre, wenn es die grüne Pflanze nicht verstünde, sich den Kohlenstoff der Luft zu eigen zu machen, und wenn es nicht Mikroben gäbe, welche den Stickstoff der Luft zu binden wissen; daß es anderseits aber auch seinem überlegenen Geiste möglich ist, sich die Tätigkeit dieser kleinen Lebewesen zunutze zu machen.

Bezüglich der Literatur sei außer auf die in den Fußnoten des Textes zitierten Abhandlungen insbesondere hingewiesen auf die Werke:

Detmer, Lehrbuch der Pflanzenphysiologie, Breslau 1883.

Sachs, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, 2. Aufl. Leipzig 1887.

Frank, Pflanzenphysiologie, Berlin 1890.

Pfeffer, Pflanzenphysiologie, 2. Aufl. I. Band, Leipzig 1897.

Wiesner, Elemente der wissenschaftlichen Botanik. I. Anatomie und Physiologie der Pflanzen, 4. Aufl. Wien 1898. III. Biologie der Pflanzen, 2. Aufl. Wien 1902.

Strasburger, Lehrbuch d. Botanik, 6. Aufl. (Noll: Physiologie), Jena 1904.

Jost, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, Jena 1904.

### 1. Normaler Stickstoffwerb bei der grünen Pflanze.

Der Satz, daß das Protoplasma mit seiner komplizierten chemischen Zusammensetzung und seiner unendlich feinen Struktur der alleinige Träger des Lebens ist, und daß es ohne Protoplasma kein Leben gibt, gehört zu den fundamentalen Stützen der modernen Biologie. Zu den integrierenden Bestandteilen des Protoplasmas gehören vor allem die Eiweißsubstanzen, sogenannte quaternäre Verbindungen, in deren großem Molekül zum Unterschiede von den nur aus Sauerstoff, Wasserstoff und Stickstoff bestehenden Kohlehydraten, Fetten, vielen organischen Säuren usw. außer diesen drei Grundstoffen der Schwefel und Stickstoff nie fehlen dürfen. Da es kein Protoplasma ohne Eiweißstoffe gibt, kann man sagen, daß es ebenso wie ohne Wasser und ohne Kohlenstoff, auch ohne Stickstoff kein Leben gibt, und daß dieser gleich dem Wasser und Kohlenstoff ein für das Bestehen aller Tiere und Pflanzen unentbehrliches Element ist.

Die Lösung der Frage, wie sich die Pflanze das zu ihrem Gedeihen erforderliche Stickstoffquantum verschafft, gehört daher zu den wichtigsten Kapiteln der Ernährungsphysiologie. Was zunächst die grüne Pflanze anbelangt, so ist der Weg, den dieselbe beim Stickstoff-erwerbe einschlägt, in gewissem Sinne gerade der umgekehrte wie der bei der Gewinnung des Kohlenstoffes. In beiden Fällen ist das Gegenteil des scheinbar Nächstliegenden verwirklicht. Während sich nämlich die Pflanze den Kohlenstoff nicht aus dem viel Kohlenstoff enthaltenden Humus, in welchem sie wurzelt, sondern aus der relativ kohlenstoffarmen Luft aneignet, gewinnt sie den Stickstoff nicht aus der an diesem Elemente so überaus reichen atmosphärischen Luft, sondern aus dem verhältnismäßig stickstoffarmen Boden. Die alte „Humustheorie“, welche annahm, daß der Kohlenstoff des Humus, in welchem ja viele Kohlenstoffverbindungen aufgestapelt sind, von den in ihm mit ihren Wurzeln befestigten Pflanzen mit den Wurzeln aufgenommen wird und ihnen dann als Nahrung dient, wurde endgiltig widerlegt durch die Untersuchungen Ingenhouss', Senebier's, Th. de Saussure's, J. Sachs' u. a., welche zeigten, daß die grüne, allerdings nur die grüne Pflanze mit dem Kohlenstoff der 0.033 Volumprozent der gesamten atmosphärischen Luft ausmachenden Kohlensäure ( $CO_2$ ) ihr Auslangen findet, indem sie dieses Gas mit Hilfe der Energie des Sonnenlichtes durch einen spezifischen grünen Farbstoff, das Chlorophyll, in Kohlenstoff und Sauerstoff spaltet, jenen wieder abgibt, diesen aber durch Bindung zu Kohlehydraten zum Aufbau ihres Leibes verwendet, ihn assimiliert. Man nennt, wie hier einschaltend bemerkt sei, die grüne, chlorophyllhaltige Pflanze infolge dieses Vermögens autotroph, die chlorophyllose, der Kohlenstoffassimilation unfähige dagegen heterotroph.

Die atmosphärische Luft enthält über 79 Volumprocente Stickstoff. Im Gegensatz zum Sauerstoff geht dieses Element nur schwer Verbindungen ein, und es ergeht nun der grünen Pflanze mit dem in der Luft in so großer Menge vorhandenen Stickstoff ebenso wie den allermeisten anderen Lebewesen: Sie ist nicht imstande ihn zu binden und zum Aufbau ihres Körpers zu verwerten. Während sie den Sauerstoff bei der Atmung gleich den atmenden Tieren zu fesseln versteht, ist sie dem Luftstickstoffe gegenüber gleich diesen vollkommen machtlos und sie ist zur Deckung ihres Bedarfes an diesem wichtigen Grundstoffe zunächst auf den im Boden in gebundener Form vorhandenen Stickstoff angewiesen. Der erste, welcher diese Tatsache in unanfechtbarer Weise feststellte, war der Pflanzenphysiologe Boussingault.<sup>1)</sup> Von den vielen Versuchen, welche Boussingault mit im Prinzipie völlig übereinstimmenden Resultaten unternahm, seien die mit einer

<sup>1)</sup> Agronomie, Bd. I 1860, Bd. II 1861.

Sonnenblume (*Helianthus argophyllus*) als Beispiel herausgegriffen.<sup>1)</sup> Er kultivierte diese Pflanze 1. in reinem Sand, ohne irgendwelche mineralische Beimengungen und mit Fernhaltung gebundenen Stickstoffes und 2. in Sandboden mit Zusatz von Aschensubstanzen und Kalisalpeter ( $KNO_3$ ). Das Ergebnis war folgendes:

	Trocken- substanz (Same = 1 ge- setzt)	Gebildete organische Substanz (in Gramm)	Gewinn an C in 86 Tagen (in Gramm)	Gewinn an N. in 86 Tagen (in Gramm)
1. Sand . . . . .	3·6	0·285	0·114	0·0023
2. Sand, Asche, Nitrat .	198·3	21·111	8·444	0·1166

Das Verhältnis der Höhen der in den beiden Versuchen kultivierten Pflanzen ist etwa  $1 : 5\frac{1}{2}$ , das Verhältnis der Trockengewichte  $1 : 60$ . Aus dem Versuche geht mit größter Bestimmtheit hervor, daß die verwendeten Pflanzen den atmosphärischen, nicht gebundenen Stickstoff nicht auszunutzen vermochten — der Gewinn von  $2\cdot3\text{ mg}$  Stickstoff im ersten Falle dürfte durch die Absorption gasförmigen Ammoniaks aus der Luft zu erklären sein — sondern ihren Stickstoffbedarf aus dem zugesetzten Stickstoffsalze, dem Kalisalpeter, deckten, und daß sie, wenn ihnen dieser vorenthalten blieb, also bei Ausschluß des gebundenen Stickstoffes überhaupt, nicht gediehen. Dem Topfe mit  $1\frac{1}{2}\text{ kg}$  Sand wurden im Verlaufe von 3 Monaten allmählich  $1\cdot4\text{ g}$  Kalisalpeter zugeführt, was zur normalen Entwicklung von zwei Pflanzen vollkommen hinreichte.

Zahlreiche von anderen Forschern in dieser Richtung unternommene Versuche haben Boussingault's Ergebnisse bestätigt und es gilt heute als vollkommen sichergestellt: 1. Daß der Stickstoff für jede Pflanze ebenso unentbehrlich ist wie der Sauerstoff, Wasserstoff, Kohlenstoff, Schwefel, Phosphor, das Kalium, Kalzium, Eisen und Magnesium; 2. daß die grüne Pflanze den Stickstoff niemals dem großen Magazin der atmosphärischen Luft zu entnehmen vermag und 3. daß vielmehr die im Boden vorhandenen Salze der Salpetersäure ( $HNO_3$ ), die Nitrate — vor allem das Nitrat des Kaliums und Kalziums — die wichtigste Stickstoffquelle der grünen Pflanze sind, und daß diese Salze gleich anderen Nährsalzen in äußerst verdünnten, wässrigen Lösungen durch das Wurzelsystem in den Pflanzenkörper gelangen. Über die Rolle, welche die Nitrite, die Salze der salpetrigen Säure ( $HNO_2$ ) bei der Ernährung spielen, ist man noch nicht ganz im klaren. Nach Molisch<sup>2)</sup> wirken sie in stärkerer Konzentration sehr giftig, werden aber aus schwacher Lösung von den Pflanzen lebhaft aufgenommen, dann jedoch nicht, wie man erwarten sollte, zu Nitraten oxydiert, sondern reduziert. Ob

<sup>1)</sup> Nach Jost a. a. O. S. 161.

<sup>2)</sup> Sitzungsber. kais. Akad. Wissensch. Wien, Math. nat. Cl. XCV, I. S. 221 (1887).

es Pflanzen gibt, welche ihre normale Entwicklung durchmachen können, wenn sie bezüglich des Stickstoffes nur auf Nitrite angewiesen sind, weiß man nicht.

Außer den Nitraten gibt es aber noch eine andere Stickstoffverbindung, welcher, wie man seit Liebig<sup>1)</sup> weiß, bei der Ernährung der grünen Pflanze eine große Bedeutung zukommt, d. i. das Ammoniak ( $NH_3$ ), ein Gas, für welches der Boden eine sehr große Absorptionskraft besitzt. Obwohl dasselbe bei vielen grünen Pflanzen weniger erfolgreich wirkt als die Nitrate, kann man doch bei alleiniger Verwendung des Ammoniaks als Stickstoffquelle im allgemeinen ganz gute Kulturresultate erzielen. Nur in größeren Konzentrationen wirken die Ammonsalze, indem sie — insbesondere das stark alkalisch reagierende, kohlen saure Ammoniak [ $(NH_4)_2 CO_3$ ] — von den Wurzeln nicht gut ertragen werden, entwicklungshemmend. Gewisse Pflanzen jedoch, wie der Mais und andere Gräser, finden mit dem Ammoniak, gleichgiltig, ob es als Sulfat, Nitrat oder Phosphat geboten wird — nur das Karbonat ist ausgeschlossen — zum mindesten eben so gut ihr Auskommen, wie mit ausschließlicher Nitraternährung. Auch der Kohl und die Lauche (*Allium*-Arten) sind Ammoniakpflanzen. Buchweizen, Kartoffeln, Rüben und viele andere bevorzugen hingegen entschieden die Salpetersäure.

Es fragt sich nun, wo sich in der Natur alle jene Stickstoffverbindungen finden, deren Vorhandensein für die Existenz der grünen Pflanze eine unerläßliche Bedingung ist. Mineralien, welche den Stickstoff in gebundener Form enthalten, sind äußerst selten. Nur in reinen nordischen Urgesteinen konnte man gebundenen Stickstoff, und auch da nur in sehr geringen Mengen (0,028% und weniger), mit Bestimmtheit nachweisen.<sup>2)</sup> Der Chile- oder Natronsalpeter, welcher mit so großem Erfolge als Stickstoffdüngemittel verwendet wird, darf hier wohl nicht erwähnt werden, da er höchstwahrscheinlich pflanzlichen Ursprunges, also kein Mineral ist. Es ist anzunehmen, daß die ganze Menge gebundenen Stickstoffes, welche auf der Erde vorhanden ist, der atmosphärischen Luft, diesem unermeßlichen Stickstoffspeicher, entstammt. Auf zweifache Weise kann der freie Luftstickstoff in gebundene Form übergeführt werden. Da der Bestand der Pflanzenwelt von dem Vorhandensein gebundenen Stickstoffes abhängig ist, muß es einleuchten, daß diese Vorgänge für die Pflanzenwelt von ausschlaggebender Bedeutung sind. Auf die Erläuterung des einen dieser Prozesse kann aber hier noch nicht eingegangen werden, weil er an die Existenz von Organismen, der später ausführlicher zu behandelnden

1) Die organische Chemie in ihrer Anwendung auf Agrikultur. 1840.

2) Erdmann in Ber. d. Chem. Ges. XXIX, S. 1710 (1896).

Stickstoffbakterien geknüpft ist. Es bleibt hier nur jener Vorgang der Stickstoffbindung zu besprechen, welcher sich heute noch in der un- belebten Natur abspielt und wohl jederzeit abgespielt hat, das ist die sich unter dem Einflusse elektrischer Entladungen und Ströme in der Luft und im Boden<sup>1)</sup> vollziehende Oxydation des Stickstoffes zu salpetriger und Salpetersäure. Daß solche Bindungen tatsächlich in der freien Natur stattfinden, hat wieder Boussingault<sup>2)</sup> gezeigt, indem er im Regen, Nebel und Schnee sogar wägbare Mengen von salpetriger und Salpetersäure nachweisen konnte. 1 l Regenwasser enthält maximal 6 mg, gewöhnlich aber nur 3 bis 1 mg oder noch geringere Mengen Salpetersäure. Man kann nicht sagen, daß das Quantum der Salpetersäure, das durch die Niederschläge zur Erde gelangt, nach Gewittern ein auffällig größeres ist als sonst. Es dürfte dies seinen Grund darin haben, daß schon geringere elektrische Entladungen, die in der Luft sehr häufig sein dürften, Stickstoffbindung bedingen, und daß ein Teil der durch das Niederschlagswasser aus der Atmosphäre der Erde zugeführten Stickstoffsäuren von dieser selbst stammt, von ihr aus mit dem Staub in die Lüfte getragen wurde und wieder sekundär zur Erde zurückkam.

Die Menge des auf die geschilderte Art gewonnenen gebundenen Stickstoffes ist eine verhältnismäßig geringe. Nach Ad. Mayer<sup>3)</sup> beträgt sie im Jahr pro 1 ha nicht einmal 1 kg, ein Quantum, das recht gering erscheint, wenn man bedenkt, daß von dieser Fläche durch eine Ernte etwa 50 kg Stickstoff gewonnen werden.

Aus diesem Mißverhältnisse zwischen der Menge des Stickstoffes, welcher durch die Elektrizität gebunden wird, und jener, welcher die grünen Pflanzen bedürfen, folgt, daß denselben noch auf andere Weise gebundener Stickstoff zur Verfügung stehen muß, als auf die eben erwähnte. Und dies ist auch wirklich der Fall. Ganz abgesehen von der später noch eingehender zu würdigenden Tätigkeit der bereits erwähnten Stickstoffbakterien wird von einer ganzen Reihe anderer Bakterien durch die Zersetzung der Leiber der zugrunde gegangenen Pflanzen- und Tiergenerationen das von diesen aufgestapelte Stickstoffkapital als Ammoniak wieder flüssig gemacht und dann in Salpetersäure verwandelt und so wieder in jene Form gebracht, in welcher es den neu heranwachsenden Geschlechtern neuerdings zugute kommen kann. Die Arbeit dieser Organismen kennen zu lernen, bleibt den späteren Zeilen vorbehalten. Es sei aber hier schon hervorgehoben,

1) Vgl. Pfeffer a. a. O. I. S. 382 und die daselbst angegebene Literatur.

2) A. a. O. S. 325.

3) Agrikultur-Chemie, 5. Auflage, Heidelberg 1901, S. 205.

daß dieselben sehr viel dazu beitragen, daß in allen Böden Ammoniak, Nitrite und Nitrate zu finden sind.

Außer jenen Vorgängen, welche eine Bindung gasförmigen Stickstoffes bewirken, was für die grüne Pflanze einen Stickstoffgewinn bedeutet, gibt es auch Prozesse, welche eine Entbindung des Stickstoffes aus seinen Verbindungen, ein Freiwerden desselben, zur Folge haben, und diese sind natürlich für die Pflanze die Ursache eines Stickstoffverlustes. Die Urheber dieser für die Landwirtschaft nichts weniger als förderlichen Stickstoffentbindung sind wiederum Bakterien, welche entweder bei der Zersetzung aus organischen Substanzen oder aber als sogenannte Denitrifikationsorganismen aus Nitraten den Stickstoff entweichen machen. Von nur lokaler Bedeutung sind die Verluste an verwendbarem Stickstoff, welche den Pflanzen durch die Wanderungen des Ammoniaks und der Salpetersäure erwachsen. Das bei der Verwesung organischer Substanzen sich bildende Ammoniak wird nur zum Teile vom Boden festgehalten. Eine nicht unerhebliche Menge entweicht im gasförmigen Zustande in die Luft, um von hier durch die Niederschläge wieder zum Boden, allerdings gewöhnlich an andere Stellen, zum Nutzen anderer Pflanzen, zurückgeführt zu werden. Die Menge des auf diese Art zur Erde gelangenden Ammoniaks beträgt durchschnittlich in einem Jahre pro 1 ha 2—3 kg.<sup>1)</sup> Auch die durch Nitrifikation im Boden entstehende Salpetersäure ist für die dort wachsenden Pflanzen nur dann von Wert, wenn sie sofort von deren Wurzeln aufgenommen wird. Ist dies nicht der Fall, so wird sie durch den Regen aus dem Boden, der sie nicht wie das Ammoniak festzuhalten versteht, ausgewaschen und in die Flüsse oder gar in die Meere transportiert, um dort anderen Pflanzen zugute zu kommen.

Diese mit- und nacheinander wirkenden Vorgänge der Stickstoffbindung und -Entbindung (Nitrifikation und Denitrifikation) bilden einen wesentlichen Teil des Kreislaufes dieses Elementes im Haushalte der belebten Natur. Zu einem vollen Verständnisse dieses Komplexes von überaus wichtigen Erscheinungen können wir erst gelangen, wenn wir die hierbei beteiligten Bakterien und ihre Wirksamkeit kennen gelernt haben werden. Es sei nur vorausgreifend bemerkt, daß das Wunderbare in diesem Kreislaufe ebenso wie in dem des Kohlenstoffes darin liegt, daß die Natur, soweit sie sich selbst überlassen bleibt, sich auch hier, wie man an den ewig grünenden Urwaldbeständen der feucht heißen Tropengürtel ebenso wie an den von Jahr zu Jahr sich in neuen Blütenschmuck kleidenden Pflanzengenossenschaften der gemäßigten Klimate sehen kann, als ausgezeichnete Rechenmeisterin bewährt, indem sie die Stickstoffbilanz niemals mit einem Zuviel oder

<sup>1)</sup> Nach Ad. Mayer a. a. O. I. S. 205. Maximal 13 kg.

Zuwenig nach irgend einer Richtung hin abschließt. Nur wenn der Mensch in den natürlichen Gang der Dinge eingreift, wenn er die Pflanzen erntet und so späteren Pflanzengenerationen die Nährstoffe entzieht, zeigen sich alsbald im kümmerlichen Gedeihen derselben die Folgen der durch das Hinwegschaffen der Pflanzen herbeigeführten Verarmung des Erdreiches. Das Thema der neuerlichen künstlichen Bereicherung des durch die Ernte geschädigten Bodens durch Zufuhr von neuen Nährstoffen, das ist der Düngung, soll uns, soweit es sich um den Stickstoff handelt, ebenfalls noch in den folgenden Zeilen beschäftigen.

Um wieder zum Stickstoffwerke der grünen Pflanze zurückzukehren, so kommt neben der Aneignung des im Boden absorbierten Ammoniaks und der Salpetersäure durch das Wurzelsystem den beiden anderen gleichfalls realisierten Arten der Gewinnung des Stickstoffes durch Aufnahme des gasförmigen Ammoniaks oder der im Wasser gelösten Stickstoffverbindungen durch die Blätter nur sehr geringe Bedeutung zu. Daß Blätter gasförmiges Ammoniak aufnehmen können, hat Schlössing<sup>1)</sup> nachgewiesen. Nach Kerner<sup>2)</sup> besitzen die Drüsenhaare vieler Pflanzen, z. B. der Pelargonien und der chinesischen Primel (*Primula Sinensis*) die Fähigkeit, Ammoniakgas aufzunehmen. Doch dürfte der Nutzen, welcher den Pflanzen aus dieser Art des Stickstoffwerbes erwächst, infolge des sehr geringen Gehaltes der atmosphärischen Luft an Ammoniak im allgemeinen ein minimaler sein. In gewissen Fällen — Kerner erzählt z. B. von Alpenmoosen, welche über Ammoniak entbindendem Schafmist auf Felsen sehr üppig gedeihen und in den Fenstern der Bauernhäuser stehenden Topfpflanzen, denen es wohl infolge der durch die nahen Düngerhaufen sehr ammoniakreichen Luft besonders gut geht — mag ja immerhin diese Art des Erwerbes des Stickstoffes mehr in den Vordergrund treten. Auch die Aufnahme gebundenen Stickstoffes, der im Regen gelöst ist, findet tatsächlich statt, ist aber nie so beträchtlich, daß hierdurch die grüne Pflanze der Notwendigkeit, sich des Bodenstickstoffes zu bemächtigen, entoben würde.

Der Gehalt verschiedener natürlicher (unkultivierter) Böden an Ammoniak geht aus folgenden von Baumann<sup>3)</sup> ermittelten Daten hervor:

In 1 kg trockener Erde	Ammoniak-Stickstoff mg
Lehmboden aus Granit . . . . .	22.27
Verwitterter Gneiß . . . . .	11.05
„ Porphyr . . . . .	17.71

1) Compt. rend. (Pariser Akademie) LXXVIII. p. 700 (1874).

2) Pflanzenleben I. S. 60 (1889).

3) In Landw. Versuchsstationen XXXIII. S. 247 (1887). Nach Jost a. a. O. S. 166.

In 1 kg trockener Erde	Ammoniak-Stickstoff mg
Verwitterter Kohlendstein . . . . .	4.43
„ Basalt . . . . .	23.37
Humusfreier Löß . . . . .	6.58
Sandboden . . . . .	2.23
Moorboden . . . . .	1.60

In größeren Tiefen nimmt der Ammoniakgehalt sehr rasch ab. Salpetersäure, welche der Boden nicht zu absorbieren vermag, kommt in noch viel geringeren, quantitativ gar nicht mehr bestimmbar Mengen vor. Man ersieht aus diesen Daten, wie wichtig für die Pflanze ihr so wundervoll eingerichtetes Wurzelsystem ist, welches, mit immens vergrößerter Fläche eine bedeutende Bodenmasse durchsetzend, keinen Kubikmillimeter des in seinem Bereiche liegenden Erdreiches ungenutzt läßt.

Auf das Schicksal der Stickstoffverbindungen in der grünen Pflanze, die Assimilation des Stickstoffes, eines der schwierigsten Kapitel der Pflanzenphysiologie, soll hier nicht näher eingegangen werden. Es sei nur darauf hingewiesen, daß das Endziel der Stickstoffassimilation in der Bildung quaternärer Verbindungen, der Synthese der Eiweißkörper besteht, daß jedoch diese Bildung keine direkte ist, sondern daß unter Mitwirkung der Kohlehydrate wahrscheinlich zunächst einfache Verbindungen, die sogenannten Amidosubstanzen (Asparagin u. a.), entstehen, deren Atomgruppen dann erst zu den komplizierten Eiweißmolekülen zusammentreten. Soviel bisher bekannt, sind die meisten Zellen einer Pflanze zur Eiweißsynthese befähigt, der größte Teil dieser Arbeit dürfte jedoch von den Zellen der Blätter geleistet werden. Während zur Assimilation des Kohlenstoffes, die sich in der Synthese der Kohlehydrate äußert, das Sonnenlicht die nötige Energiequelle bildet, kommt die Eiweißsynthese im Dunkeln, und zwar in gewissen Fällen mit Bestimmtheit unter Benutzung der bei der Oxydation der Kohlehydrate frei werdenden chemischen Energie, zustande. Während die Bildung der Kohlehydrate stets eine Photosynthese ist, muß die Eiweißsynthese wenigstens in gewissen Fällen als eine Chemosynthese bezeichnet werden. Indirekt ist sie allerdings auch, da sie die Bildung der Kohlehydrate zur Voraussetzung hat, von der Energie des Sonnenlichtes abhängig.

## 2. Besondere Arten des Stickstoffwerbes bei Saprophyten, Carnivoren und Parasiten.

Als heterotroph bezeichnet man, wie schon erwähnt, jene Pflanzen, welche die Fähigkeit, den Kohlenstoff der in der atmosphärischen Luft vorhandenen Kohlensäure zu entreißen und mit Hilfe der Energie des

Sonnenlichtes zu Kohlehydraten zu formen, verloren haben und infolgedessen darauf angewiesen sind, als sogenannte Saprophyten (Fäulnispflanzen) auf in Verwesung begriffener organischer Substanz oder aber als Parasiten (Schmarotzer) auf noch lebenden Organismen vegetierend, ihren Kohlenstoffbedarf durch Aufnahme bereits assimilierter Substanz zu decken. Es wurde auch schon darauf hingewiesen, daß die Energie des Sonnenlichtes durch die bei der Bildung der Kohlehydrate erfolgende Oxydation des Kohlenstoffes in neue chemische Energie umgesetzt wird, welche dann wieder bei der Eiweißsynthese, d. h. dem Aufbau der kompliziertesten quaternären Verbindungen aus Sauerstoff, Wasserstoff, Kohlenstoff, Stickstoff, Schwefel und meist auch Phosphor verwertet wird. Es erscheint demnach verständlich, daß, wenn diese Energiequelle nicht mehr in Betracht kommt, wie dies eben bei den Heterotrophen tatsächlich der Fall ist, die Pflanze auch dem Stickstoff gegenüber eine andere Stellung wird einnehmen müssen, als wir dies bei der grünen Pflanze gesehen haben, indem sie nicht mehr imstande sein wird, aus so einfachen Stoffverbindungen, wie es die Nitrate sind, das Eiweißmolekül aufzubauen. Es darf uns daher schon aus diesem Grunde gar nicht wundern, daß sehr viele von den in bezug auf Kohlenstoff heterotrophen Pflanzen auch bezüglich des Stickstoffes heterotroph sind, das heißt, daß sie auch dieses Element sich in bereits organisiertem Zustande verschaffen müssen. Allerdings ist, da ja auch noch andere Energiequellen in Betracht kommen können, welche die Stickstoffassimilation aus einfacheren, selbst anorganischen Verbindungen ermöglichen, diese Erscheinung keine vollkommen durchgreifende. Ja es ist sehr wahrscheinlich, daß bei gewissen Organismen, den Nitrobakterien, gerade das Umgekehrte jenes Vorganges realisiert ist, welcher bei der grünen Pflanze die Regel ist. Während bei dieser die Energie für die Eiweißsynthese durch die Oxydation des Kohlenstoffes gewonnen wird, dürfte bei jenen, wie später ausführlicher auseinander gesetzt werden wird, die Oxydation des Ammoniaks zu Nitriten und dieser zu Nitraten die Energiequelle zur Assimilation des Kohlenstoffes bilden.

Aus dieser Betrachtung geht schon hervor, daß das Verhalten der heterotrophen Pflanze, vor allem der Pilze, in bezug auf die Stickstoff-erwerbung ein sehr verschiedenes sein wird. Wir finden tatsächlich unter ihnen von den wunderbaren Formen, welche den reinen Stickstoff der Luft auszunutzen verstehen, bis zu jenen, die auf die höchstwertigen Verbindungen, welche die Chemie überhaupt kennt, angewiesen sind, alle möglichen Übergänge. Ja, es kann sogar eine und dieselbe Art unter verschiedenen Ernährungsbedingungen ein verschiedenes Verhalten zeigen.

Die saprophytischen Pilze eignen sich wegen ihrer Fähigkeit, auf sehr verschiedenartigen Substraten zu gedeihen, ganz besonders zum Studium des Wertes verschiedener Nahrungsquellen. Nach der Art der Stickstoffwerbung kann man sie nach Beijerinck<sup>1)</sup> und Fischer<sup>2)</sup> in folgenden Klassen unterbringen.

A. In bezug auf Stickstoff autotrophe Formen.

1. Stickstofforganismen. Ziehen den nicht gebundenen Stickstoff der atmosphärischen Luft allen Stickstoffverbindungen vor. Über sie wird später noch die Rede sein.

2. Nitratorganismen. Gedeihen mit Salpetersäure mindestens ebensogut wie mit anderen Stickstoffverbindungen. Von Schimmeln gehören hierher z. B. *Mucor racemosus*, *Aspergillus glaucus*; von Bakterien: Fäzesbakterien, *Bacillus pyocyaneus* und *fluorescens*. Manche, wie *Bacillus perlibratus* und ein Schimmelpilz, verarbeiten auch Nitrite.

3. Ammoniakorganismen. Auch mit Nitraten sich entwickelnd, werden sie durch Ammoniak ganz besonders gefördert. Hierher gehören u. a. *Aspergillus niger*, Hefe und *Bacillus subtilis*.

B. In bezug auf Stickstoff heterotrophe Formen.

1. Amidoorganismen. Gedeihen mit Säureamiden wie Asparagin und mit Aminosäuren besser als mit Ammoniak. Hierher sind *Bacillus perlibratus*, *B. typhi* u. a. zu stellen.

2. Peptonorganismen. Pepton bietet für diese Formen, zu denen *Bacillus anthracis*, *proteus* u. a. gehören, die besten Entwicklungsbedingungen. Asparagin oder Ammoniak bewirken fast gar kein Wachstum und auch Eiweiß vermag das Pepton nicht zu vertreten.

3. Eiweißorganismen. *Bacillus Diphtheriae* und ein pathogener *Micrococcus* sind Parasiten, welche nur mit Eiweiß ihr Auslangen finden, streng genommen jedoch nicht mehr in diese Tabelle gehören.

Durch viele Kulturversuche konnte ermittelt werden, daß ebenso wie der Kohlenstoffbedarf gewisser Organismen durch die gebotene Stickstoffquelle beeinflusst wird, umgekehrt auch die Kohlenstoffquelle Modifikationen im Stickstoffbedarfe von Pilzen bewirken kann. So hat A. Fischer gezeigt, daß z. B. *Bacillus coli*, *subtilis* und *pyocyaneus*, wenn ihnen Glukose als Kohlenstoffquelle geboten wird, mit Nitrat ihren Stickstoffbedarf decken können, während, wenn man die Glukose durch Glyzerin ersetzt, nur mehr *B. pyocyaneus* fortkommen kann, die beiden anderen jedoch jetzt auf Ammoniak als Stickstoffquelle angewiesen

<sup>1)</sup> In Bot. Zeit XLVIII. S. 766 (1890).

<sup>2)</sup> Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. 1903.

sind. Bei Gegenwart von Eiweiß, Pepton oder selbst Asparagin können manche Pilze kultiviert werden, ohne daß man noch für eine spezielle Kohlenstoffverbindung zu sorgen braucht. Die Frage, welche Kombination von Stickstoff- und Kohlenstoffverbindungen sich für das Gedeihen saprophytischer Pilze am besten eignet, läßt sich nicht in kurzer und zugleich allgemein gültiger Weise beantworten. Eine Lösung von Pepton und Glukose wird in vielen Fällen mit gutem Erfolge verwendet, schlechte Kombinationen sind die Ammoniums Salze der Essigsäure, Weinsäure u. a.

Die Schimmelpilze und biologisch ähnliche Typen verdanken ihr ubiquistisches Auftreten dem ihnen eigenen Vermögen, mit den mannigfaltigsten organischen Substanzen auszukommen und alle möglichen Konzentrationsgrade gut zu vertragen. Sie gedeihen als Saprophyten auf den Überresten abgestorbener Organismen unter der Voraussetzung saurerer Reaktion, infolge dessen also mit besonderer Vorliebe auf pflanzlichen Geweben und Pflanzensäften, die gewöhnlich sauer reagieren, seltener auf toten Tieren oder tierischen Exkrementen. Ist die Reaktion alkalisch, so überwiegen Bakterien. Diese Lebewesen bewirken die später noch ausführlicher zu schildernde Zersetzung der Pflanzen und Tierleichen und geben so häufig den Anstoß zur Bildung des Humus. In diesem gedeihen aber wieder ein ganzes Heer von höheren Pilzen, sogenannten Hutpilzen, und auch manche zum Teile heterotrophe Phanerogamen. Die ersteren können mit den im Humus vorhandenen organischen Substanzen ihr Auslangen finden, doch ist es nicht bekannt, welche Substanzen des Humus sie aufnehmen. Die eigentlichen in Alkalien löslichen Humussubstanzen dienen — nach Reinitzer<sup>1)</sup> — für die Mehrzahl der Pilze nicht als Kohlenstoff-, sondern — nach Nikitinski<sup>2)</sup> — als Stickstoffquelle.

Von größter Bedeutung für den allgemeinen Haushalt der Natur und für ihre eigene Existenz ist die Fähigkeit vieler Pilze, lösende oder spaltende Enzyme auszuschcheiden und mittels derselben bedeutende Wirkungen in der Umgebung ihres Vegetationskörpers auszuüben. Es ist ja bekannt, daß gewisse Pilze, wie der gefürchtete Hausschwamm (*Merulius lacrimans*), im Holze leben und es zu zerstören vermögen. Die Fähigkeit Zellulose zu zersetzen ist im Reiche der Pilze sehr oft anzutreffen. Es handelt sich hier aber nicht um sogenannte Reservezellulose, wie sie durch die „Cytasen“ höherer Pflanzen gelöst wird sondern um die Zellulose der Zellwand. In manchen Fällen zersetzt der Pilz die Zellulose wohl nur, um ins Innere der Zelle zu gelangen — man kann dies namentlich bei Schmarotzern sehen — in anderen

<sup>1)</sup> In Bot. Zeit. LVIII, S. 59 (1900).

<sup>2)</sup> Jahrb. für wiss. Bot. XXXVII, S. 365 (1902).

aber, um sich von der Zellulose zu nähren. Prozesse dieser Art sind deswegen von weittragender Bedeutung, weil sie es hintanhaltend, daß unsere Erde überall von dicken Zelloschichten überdeckt wird, was ein Ersticken der gesamten Vegetation zur Folge hätte. — Viele Pilze sondern sogar Diastase ab, um die als Nahrung ausersehenen Kohlehydrate direkt oder nach vorhergegangener Spaltung zu lösen und so zur Aufnahme durch die Zellwand des eigenen Leibes geeignet zu machen.

Ein besonders interessantes Verhalten in bezug auf Nahrungsaufnahme überhaupt und Stickstoffwerbung im besonderen zeigen die Carnivoren, auch insektenfressende Pflanzen genannt. Es sind diese merkwürdigen Gewächse, welche sich mittels verschiedener Einrichtungen kleiner Tiere bemächtigen, um verschiedene Substanzen ihres Körpers entweder direkt zu verdauen oder sich doch nach vorhergegangener Zersetzung durch Bakterien gewisse Stoffe derselben anzueignen. Nur in ersterem Falle können wir von eigentlicher Carnivorie sprechen, während wir es in letzterem Falle eigentlich nur mit einer speziellen Form des Saprophytismus zu tun haben. Zum Einfangen der Tiere bestehen im allgemeinen dreierlei verschiedene Einrichtungen: 1. Kannen oder ähnliche als Fallgruben wirkende Hohlräume, wie die Kannen von *Nepenthes*, *Sarraceniaceen* und *Cephalotus*, die Blasen von *Utricularia*. In weiterem Sinne gehören auch die durch die Gesamtheit der Blätter gebildeten Wasserbehälter vieler *Bromeliaceen* und die Kannen der *Asclepiadee*: *Dischidia Rafflesiana* hierher. 2. Klappfallen, das sind Organe, welche die Tiere durch aktive Bewegungen fangen: bei *Dionaea* und *Aldrovanda* und 3. Klebdrüsen (bei *Drosera*, *Drosophyllum* und *Pinguicula*). Schließlich gibt es auch Formen mit Kombinationen dieser Einrichtungen.

In all den aufgezählten Fällen handelt es sich um Pflanzen, welche aus irgend einem Grunde, entweder weil sie in sehr moorigem Boden wurzeln (*Cephalotus*, *Sarracenia*, *Drosera*, *Drosophyllum*, *Pinguicula*) oder weil sie als Epiphyten auf Bäumen leben (*Nepenthes*, *Bromeliaceen*) oder schließlich im Wasser schweben (*Utricularia*), mit ungünstigen Ernährungsverhältnissen zu kämpfen haben, insbesondere aber an Stickstoffmangel leiden. Die Stickstoffbeschaffung ist denn auch offenbar der Hauptzweck dieser bei Pflanzen so absonderlich erscheinenden Ernährungsweise.

In bezug auf den Kohlenstoff sind die Carnivoren autotroph, wie ja schon daraus hervorgeht, daß sie zumeist reichlich Chlorophyll führen. Die Heterotrophie dürfte sich vor allem auf den Stickstoff beziehen. Wie schon angedeutet wurde, gehören die Carnivoren ernährungsphysiologisch zwei ganz verschiedenen Gruppen an. Bei den Formen der ersten Kategorie, zu denen *Utricularia* gehört, gehen die

in den Behältern gefangenen Tiere schließlich durch Hunger zugrunde und werden dann offenbar durch Bakterien zersetzt und die Pflanze dürfte sich von den Exkrementen der Tiere und den Zersetzungsprodukten der Leichen derselben ernähren. Zwischen dieser Ernährungsweise und der eben besprochenen der Saprophyten besteht eigentlich nur ein gradueller Unterschied. Ähnlich wie *Utricularia* verhalten sich wohl auch die Bromeliaceen und *Dischidia Rafflesiana*, in deren mit Wasser gefüllten Behältern die Tiere ertrinken, wodurch schließlich eine jauchige Flüssigkeit entsteht, welche der Pflanze zur Nahrung dient. Ganz anders ist das Verhalten der echten Carnivoren, wie *Drosera*, *Nepenthes* etc. Von diesen Pflanzen werden das Fleisch, respektive die Eiweißstoffe der erbeuteten Tiere tatsächlich verdaut, indem von gewissen Drüsen des Blattes (*Drosera*), von der Innenseite der Kannen (*Nepenthes*) u. s. w., ganz ähnlich wie im tierischen Magen, proteolytische Enzyme (Pepsin?) oft in Verbindung mit Säuren (Ameisensäure?) bei einigen Typen konstant, bei einigen nur nach entsprechender Reizung ausgeschieden werden.

Die Mitwirkung von Bakterien ist bei dieser Art der Nahrungsaufnahme ganz bestimmt ausgeschlossen, ja es sollen sogar die Sekrete mancher insectivorer Pflanzen antiseptische Eigenschaften besitzen, welche ein Auftreten jeglicher Art von Organismen hintanhaltend. Die Absorption der Eiweißstoffe erfolgt entweder durch die das Enzym liefernden Drüsen oder es ist sogar eine Arbeitsteilung eingetreten, indem Sekretion und Absorption von gesonderten Drüsen besorgt werden. Über die Bedeutung der Fleischnahrung für die Insectivoren herrschen noch verschiedene Ansichten. Sicher ist, daß sie auch ohne Fleischkost gedeihen können, was übrigens auch ein Beweis dafür ist, daß sie in bezug auf Kohlenstoff autotroph sind. Eine fördernde Wirkung der Fleischkost, wenn sie in mäßigen Rationen verabreicht wurde, konnte mehrfach konstatiert werden. Büsgen's<sup>1)</sup> in dieser Richtung an *Drosera* durchgeführte Versuche ergaben, daß das Trockengewicht von solchen Pflanzen, welche von der Keimung an mit Fleisch gefüttert worden waren, jenes der ungefütterten um das  $1\frac{1}{2}$ - bis 3fache übertraf, daß erstere dreimal mehr Blütenstände und fünfmal mehr Kapseln entwickelten als letztere. Die Bedeutung der Fleischkost dürfte nach dem Gesagten nicht in der Quantität der zugeführten Stickstoffverbindungen, sondern wohl mehr in der Qualität liegen, indem die Carnivoren als Peptonpflanzen mit so hoch organisierten Verbindungen, wie es das aus dem Fleische der Tiere kommende Pepton ist, besser fortkommen als mit Ammoniak oder Salpetersäure. In der Stickstoffbeschaffung dürfte übrigens nicht der alleinige Zweck der

<sup>1)</sup> In Bot. Zeit. XLI. S. 569 (1883).

Fleischnahrung liegen, sondern es dürfte sich dabei auch um den Erwerb gebundenen Phosphors handeln.

Eine große Menge von in bezug auf Kohlenstoff heterotrophen Organismen führt eine parasitische Lebensweise auf lebenden Pflanzen oder Tieren, diesen den unentbehrlichen Kohlenstoff in Form von organisierten Verbindungen entziehend. Zwischen Saprophyten und Parasiten gibt es mannigfache Übergänge, indem manche für gewöhnlich saprophytisch lebende Pflanzen auch parasitisch werden können (fakultativer Parasitismus), wie *Penicillium glaucum*, der gewöhnliche Pinselschimmel, und andere Schimmelpilze und umgekehrt normalerweise parasitische Pilze, wie *Phytophthora omnivora* und manche Bakterien, sich unter gewissen Bedingungen zur saprophytischen Lebensweise entschließen (fakultativer Saprophytismus). Die Parasiten rekrutieren sich größtenteils aus den Pilzen. Zwischen Formen, welche, wie die genannte *Phytophthora omnivora*, alle möglichen Pflanzen befallen und deshalb Omnivore heißen, bis zu den Spezialisten, welche nur auf ganz bestimmten Arten ihre Existenzbedingungen finden können, gibt es alle möglichen Bindeglieder. Die Spezialisten brauchen zu ihrem Gedeihen offenbar ganz bestimmte Nährstoffe. Bei den Omnivoren ist das Umgekehrte der Fall. Man wird daher, wenn ein solcher Typus gewisse Pflanzen meidet, nicht annehmen dürfen, daß er in dieser Beziehung exklusiv ist und die ihm zusagenden Nährstoffe nicht antrifft, sondern daß er in die betreffende Pflanze nicht einzudringen vermag. Bezüglich der Deckung ihres Stickstoffbedarfes verhalten sich die parasitischen Pilze jedenfalls ähnlich wie die in bezug auf dieses Element heterotrophen saprophytischen Pilze.

Von den phanerogamischen Parasiten kommen gewisse extrem angepaßte Formen (z. B. die Rafflesiaceen) sogar äußerlich den Pilzen nahe, indem sie pilzähnliche Vegetationskörper bilden und auch in ihren Zellen kein Chlorophyll enthalten. Gleich den Pilzen sind diese Pflanzen im Erwerbe des Kohlenstoffes, Stickstoffes und der Aschen-substanzen auf einen Wirt angewiesen. Sie haben auch gar keine Organe, um sich die Nahrung aus dem Boden zu verschaffen. Bei manchen äußert sich die Abhängigkeit von der Wirtspflanze schon bei der Keimung. *Lathraea* und *Orobanche*-Samen vermögen nur in unmittelbarer Nähe einer Wurzel der Wirtspflanze zu keimen. Die Seiden (*Cuscuta*) bilden infolge ihres allerdings geringen Chlorophyllgehaltes einen Übergang zu den Halbparasiten oder kohlenstoffautotrophen Parasiten, welche ihr Chlorophyll eingebüßt haben. Hierher gehören vor allem gewisse Rhinanthaceen, von denen manche, wie *Tozzia*, schon ganz abhängig von einer bestimmten Nährpflanze, andere jedoch, wie einige Euphrasien, noch so unabhängig sind, daß sie auch ohne Wirt zur Blüte und Fruchtreife gelangen können. Außer Rhinanthaceen ge-

hören noch Typen aus der Familie der Santalaceen (*Thesium*) und Loranthaceen (*Viscum* und *Loranthus*) zu den Hemiparasiten. Aller Wahrscheinlichkeit nach assimilieren diese Pflanzen den Kohlenstoff der Luftkohlenensäure und beziehen aus dem Wirte hauptsächlich Aschenbestandteile (*K*, *Ca*, *Mg*, *Fe* usw.). Daß es bei den halbparasitischen Rhinanthaceen nicht der Stickstoff ist, welcher der Wirtspflanze entnommen wird, glaubt Heinricher<sup>1)</sup> daraus schließen zu können, daß in deren Körper oft reichliche Mengen von Nitraten auftreten können. Am unwahrscheinlichsten ist die Abhängigkeit von der Nährpflanze bezüglich des Stickstoffes bei unserer Leimmistel (*Viscum album*), einem Halbparasiten, der nur im wasserleitenden Teile der Gefäßbündel mit der Wirtspflanze verbunden ist. *Viscum* dürfte den Bäumen, auf welchen es schmarotzt, wohl nur Wasser und anorganische Salze entnehmen.

### 3. Proteolyten, Nitrit- und Nitratbildner, Denitrifikations- und Stickstoffbakterien.

Es wurde schon früher betont, daß diejenige Menge Stickstoffes, welche die Kräfte der anorganischen Natur, insbesondere elektrische Entladungen und Ströme, durch Oxydation dieses Elementes zu Salpetersäure für die grüne Pflanze disponibel machen, dem tatsächlichen Stickstoffbedarfe derselben nicht entsprechen. Es ist der Tätigkeit in überaus zweckmäßiger Weise mit- und nacheinander arbeitender organischer Wesen, vor allem Bakterien, vorbehalten, höher organisierten Pflanzen jene Nahrung zuzubereiten, welche ihnen die anorganische Natur allzu spärlich bemessen hat. Die Wirksamkeit dieser für den Gesamthaushalt der ganzen belebten Natur unendlich bedeutungsvollen Organismen, von denen man getrost behaupten kann, daß ohne sie ein höheres Pflanzenleben nicht möglich wäre, zu schildern, und ein abgerundetes Bild vom Kreislaufe des Stickstoffes zu geben, ist der Zweck der folgenden Zeilen.

Zur Erhöhung der Übersichtlichkeit empfiehlt es sich, zunächst die Arbeitsleistung von Mikroorganismen zu würdigen, welche nicht in dem angegebenen, sondern in gerade entgegengesetztem Sinne wirken, da sie den Stickstoff nicht binden, sondern entbinden und bereits die Existenz höherer Pflanzen zur Voraussetzung haben. Es sind dies die sogenannten Eiweißzersetzer oder proteolytischen Bakterien.

Die grüne Pflanze fällt nach ihrem Absterben, wie alle organisierten Wesen der Verwesung und dann der Fäulnis anheim. Verwesung

<sup>1)</sup> Jahrb. f. wissensch. Bot. XXXI. S. 77, XXXII. S. 389, XXXVI. S. 655, XXXVII. S. 264 (1897 u. f. J.).

und Fäulnis sind Vergärungsprozesse, durch Organismen veranlaßte Zersetzungen, mit Gewinn von Energie, welche den Urhebern der Gärung zum Lebensbetriebe dient. Einer solchen Vergärung unterliegen die Kohlehydrate, Fette, organischen Säuren und auch die Eiweißsubstanzen der verwesenden und verfaulenden Körper. Für uns kommen hier nur die Eiweißstoffe in Betracht. Dadurch, daß das betreffende Gärungsbakterium Enzyme ausscheidet, werden die Eiweißkörper zunächst in mehr minder einfache Verbindungen zerlegt (abgebaut) und erst diese Spaltungsprodukte fallen der eigentlichen Gärung anheim. Die Verwesung wird durch sogenannte aërobe Bakterien, d. h. Organismen, die ohne Sauerstoff nicht leben können, veranlaßt, während die nur unter Luftabschluß gedeihenden anaëroben Typen, für die der Sauerstoff schädlich ist, die Fäulnis, welche auch meistens durch das Entstehen übelriechender Verbindungen charakterisiert wird, veranlassen. Meist gehen diese beiden Prozesse Hand in Hand. Die Leichen gehen zunächst an der Oberfläche durch die Wirkung der aëroben Formen in Verwesung über, während dann später anaërobe im Innern, wohin kein Sauerstoff gelangt, die Fäulnis bewirken. Eine Reihe miteinander und nacheinander auftretender Bakterien spaltet das Eiweißmolekül in immer einfachere Verbindungen, bis dann als Endprodukte: Kohlensäure ( $CO_2$ ), Methan ( $CH_4$ ), Ammoniak ( $NH_3$ ), Stickstoff ( $N$ ), Schwefelwasserstoff ( $SH_2$ ) und Phosphorsäure ( $H_3PO_4$ ) etc. übrig bleiben. Von diesen Stoffen sind für unsere weiteren Betrachtungen natürlich das Ammoniak und der Stickstoff von besonderer Bedeutung.

Ammoniak kann außer durch die eben geschilderten Zersetzungsvorgänge auch als Nebenprodukt des Stoffwechsels von Pflanzen oder Tieren direkt oder doch durch chemische Metamorphose solcher Abscheidungen in den Boden gelangen. Pflanzen allerdings sondern nur sehr selten stickstoffhaltige Verbindungen ab, für die ihr Organismus keine Verwendung mehr hat. So gibt *Aspergillus*, wenn man ihn nur mit Pepton aufzieht, Ammoniak ab, welches durch die Verbrennung des Kohlenstoffes des Peptons zu Kohlensäure frei wird. Häufiger ist die Absonderung stickstoffhaltiger Abbauprodukte im Tierreiche, insbesondere durch den Harn in der Form von Harnstoff, Harnsäure und Hippursäure. Diese Stoffe sind zwar für autotrophe Pflanzen keine guten Stickstoffquellen, können es aber werden, indem sie im Boden durch die Wirkung der sogenannten Urobakterien in Ammoniak übergeführt werden. Diese Umwandlung wird durch ein von diesen Bakterien abgesondertes Enzym, die Urease, bewirkt.

Das Ammoniak, ob es nun als direkte Absonderung eines Organismus oder durch Zersetzung toter oder der Sekretionen lebender Organismen entstanden ist, wird vom Boden begierig absorbiert und

festgehalten, um alsbald durch die Einwirkung der Nitrobakterien zu Nitriten und schließlich Nitraten oxydiert zu werden. Diesen für das Gedeihen der grünen Pflanze so überaus wichtigen Vorgang — ist doch für dieselbe der Stickstoff in der Form von Salpetersäure ein viel besseres Nahrungsmittel als in der von Ammoniak — hielt man früher für eine einfache Oxydation auf anorganischem Wege. Erst die Beobachtung, daß sie durch äußere Umstände, Temperatur usw., wesentlich beeinflußt wird, führte zur Annahme, daß niedere Organismen dabei im Spiele stehen. Genaue Aufschlüsse über die Wirkungsweise dieser Bakterien verdanken wir den exakten Untersuchungen Winogradsky's.<sup>1)</sup> Dieser Forscher stellte zunächst fest, daß die Nitrobakterien keine organischen Nährstoffe vertragen. Die Untersuchungen früherer Beobachter waren gerade daran gescheitert, daß sie das Fortkommen der gezüchteten Bakterien mit sogenannten guten organischen Nährstoffen unmöglich machten. Winogradsky kultivierte die Bakterien mit 1000 g Wasser (vom Zürichersee), je 1 g Ammoniumsulfat und Kaliumphosphat und 5 bis 10 g basischem Magnesiumkarbonat. Erst nach vielen Versuchen gelang es ihm, in seinen Kulturen die wirklichen Nitrifikationsbakterien von anderen Bakterien zu isolieren. Eine Förderung der Nitrifikation ließ sich dadurch erzielen, daß Ammoniak nur in spärlichen Mengen zugeführt und gleich nach dem Verbrauche ersetzt wurde. Auffällig war, daß nicht die ganze Menge des nitrifizierten Stickstoffes in Nitrat, sondern ein Teil auch in Nitrit umgewandelt wurde, während nach den Beobachtungen in der Natur schließlich die gesamte Ammoniakmenge in Nitrate umgesetzt wird. Die Bildung der Nitrite erfolgte stets vor der der Nitrate. Die Erfahrung, daß, wenn man aus einer Bakterienkultur gerade im Momente der lebhaftesten Nitritbildung eine Überimpfung in eine neue Nährlösung vornimmt, in dieser nur mehr Nitrite gebildet werden, brachte Winogradsky auf den, wie es sich später herausstellte, vollkommen richtigen Gedanken, daß es sich um zwei Organismen handle, von denen der eine das Ammoniak in Nitrite, der zweite aber diese in Nitrate überführe. Die Nitritbildner bedürfen zu ihrem Gedeihen des Ammoniaks, die Nitratbildner der Nitrite. Die ersteren sind ovale, zeitweise mit einer Cilie bewegliche Formen, die letzteren dünne Stäbchen. In bezug auf Kohlenstoff stellen beide Typen dieselben Ansprüche. Beide bedürfen des Kohlenstoffes nicht in organischer Form, ja sie werden hierdurch sogar, wie schon erwähnt, geschädigt. Winogradsky konnte diese Nitrobakterien in seinen nur aus anorganischen Stoffen bestehenden Nährlösungen bei sorgfältiger Vermeidung jeglicher organischer Beimengung ebensogut, ja besser wachsen sehen, als wenn

<sup>1)</sup> Recherches sur les organismes de la nitrification. (Ann. Inst. Pasteur 1890—1891.)

er diese Vorsichtsmaßregeln nicht anwendete. Er fand in vier Kulturen im Verlaufe von drei Monaten 15·2, 19·7, 22·4 und 26·4 *mg* organisch gebundenen Kohlenstoffes. Dieser Kohlenstoff kann nur aus dem Ammoniumkarbonat oder aus der Luft stammen. Wie jedoch Godlewski<sup>1)</sup> nachwies, genügt der erstere nicht und würde überdies den Nitratbildnern schon aus dem Grunde gar nicht zugute kommen können, weil das Karbonat durch die Salpetersäure naturgemäß zersetzt werden muß. Es bleibt also nur die Möglichkeit über, daß die Kohlensäure aus der Luft aufgenommen wird, und das ist eine sehr wichtige Tatsache. Denn wir haben da einen Organismus vor uns, welcher ohne Chlorophyll oder irgendein anderes Äquivalent zu besitzen, in bezug auf Kohlenstoff autotroph ist. Während die grüne Pflanze die Energie zur Assimilation der Kohlensäure durch das Licht der Sonne erhält, stammt die analoge Energie der auch in tiefster Dunkelheit den Kohlenstoff assimilierenden Nitrobakterien aus einer ganz anderen Quelle. Es ist über jeden Zweifel erhaben, daß es eine chemische Energie ist, ausgelöst durch die Oxydation des Stickstoffes des Ammoniaks zu Nitriten und Nitraten. Durch jede Oxydation wird ja Energie frei und diese wird im vorliegenden Falle zur Kohlenstoffassimilation verwendet. Es geht dies klar aus denjenigen Versuchen Winogradsky's hervor, in welchen er konstatierte, daß zwischen der Menge des oxydierten Ammoniaks und der des assimilierten Kohlenstoffes ein ganz bestimmtes Verhältnis besteht, indem 35·4 *mg* Stickstoff verbrannt werden müssen, um 1 *mg* Kohlenstoff in organische Substanz überzuführen. Die einzelnen Daten weichen nur wenig von dieser Zahl ab:

	I	II	III	IV
N oxydiert . . . . .	722·0	506·1	928·3	815·4
C assimiliert . . . . .	19·7	15·2	26·4	22·4
Verhältnis . . . . .	36·6	33·3	35·2	36·4

Diese Zahlen hat Winogradsky zu einer Zeit gefunden, da er noch nicht zwischen Nitrit- und Nitratbildnern unterschied. Zweifellos besteht aber zwischen diesen beiden Typen in bezug auf Stickstoffoxydation ein großer Unterschied. Während z. B. bei einer Kultur von Nitritbildnern die Menge des oxydierten Stickstoffes von 3 *mg* am fünften Tag allmählich auf 20 *mg* pro Tag nach vier Wochen gestiegen war, vermochte der energischste Nitratbildner selbst nach sechs Wochen nicht mehr als 10 *mg* Stickstoff pro Tag zu oxydieren. Daraus darf man wohl schließen, daß auch die Kohlenstoffassimilation bei den Nitritbildnern bedeutender ist als bei den Nitratorganismen. Bestimmte Angaben fehlen aber leider hierüber ebenso wie über die Art des

<sup>1)</sup> Anzeiger der Akad. Krakau 1895.

Prozesses der Assimilation und auch die Frage, was das erste Produkt derselben ist, harrt noch der Beantwortung. Ja, es ist sogar zweifelhaft, ob die Kohlensäure auch wie bei den grünen Pflanzen in Kohlenstoff und Sauerstoff zerlegt wird. Auch bezüglich der Atmung fehlen sichere Resultate. Man weiß nicht, ob sich die Nitrobakterien mit der durch die Verbrennung des Ammoniaks gewonnenen Energie begnügen, oder ob sie, wie dies nach der Hypothese Pflüger's und Detmer's<sup>1)</sup> für jede Atmung charakteristisch ist, auch noch Teile ihres Protoplasmas verbrennen.

Nitrobakterien finden sich nicht nur in den an Ammoniak reichen Humusböden, sondern auch auf nackten Felsen und begnügen sich dort mit den geringen Mengen Ammoniaks, welche ihnen das Regenwasser zuführt.

Es wurde schon früher hervorgehoben, daß die Nitrobakterien gegen Nahrungsmittel organischer Provenienz ungemein empfindlich sind. Ja, organische Substanzen wirken auf sie in ähnlicher Weise als Antiseptika ein wie Karbol- oder Salizylsäure anderen Bakterien gegenüber. Die Nitrit- und Nitratbildner sind also eigentlich noch in höherem Grade autotroph als die grünen Pflanzen, die doch bei entsprechender Behandlungsweise auch aus organischen Substanzen ihren Kohlenstoffbedarf decken können, und demnach eigentlich nur als fakultativ autotroph zu bezeichnen sind. Die für die gemeinen Heterotrophen geeignetsten Nahrungsstoffe schädigen die Entwicklung der Nitrobakterien am meisten. Besonders merkwürdig ist es, daß die Nitritbildner noch viel empfindlicher gegen organische Substanzen sind, als die Nitraterzeuger, welche letztere hingegen Ammoniak nicht vertragen, das auf sie etwa eine ähnliche vernichtende Wirkung ausübt wie Sublimat auf andere Bakterien. — Erst auf Grund dieser Tatsache ist es möglich, sich eine richtige Vorstellung von dem Verlaufe der Nitrifikation im Boden zu bilden. Infolge der ungünstigen Beeinflussung der Nitritbakterien durch organische Substanzen kann ihre Tätigkeit erst einsetzen, wenn alle organische Substanz (tote Pflanzen und Tiere, Exkreme) von den Proteolyten in die früher genannten Stoffe zerlegt worden ist. Die Empfindlichkeit der Nitratbildner dem Ammoniak gegenüber bedingt es hinwiederum, daß ihre Wirksamkeit erst dann möglich ist, wenn alles durch die Proteolyten freigemachte Ammoniak in Nitrite umgesetzt ist. Diese Tatsache ist nun von größter Bedeutung für die ganze belebte Natur. Wenn wir bedenken, daß es außer den Eiweiß zersetzenden Bakterien auch solche gibt, die Nitrate zersetzen, so verstehen wir erst, wie wichtig es ist, daß die Nitratbildner ihre Tätigkeit solange hinausschieben. Denn

<sup>1)</sup> Pflüger: In Archiv für Physiol. X. S. 251 (1875). — Detmer a. a. O.

würden sie sich bereits einstellen, wenn noch nicht alle organische Substanz zersetzt ist, so würde ihrer Tätigkeit gar kein Erfolg beschieden sein, da alle gebildeten Nitrate, die ja doch für die Pflanze von größter Bedeutung sind, diesen nicht zugute kommen, sondern vorher von den Denitrifikationsbakterien zur Abgabe des für die grünen Pflanzen bekanntlich völlig indifferenten Stickstoffes gezwungen werden würden.

Während die überaus bedeutsame Aufgabe der Nitrobakterien in der Oxydation des Ammoniaks besteht, spielen die Stickstoffbakterien wohl eine noch wichtigere Rolle, indem sie den freien Stickstoff der Luft zu binden verstehen. Gleichfalls im Boden lebend, machen sie sich vor allem denjenigen Stickstoff zunutze, welchen sie in diesem Substrate vorfinden. Stickstoff kommt aber auf verschiedene Weise in den Boden. Vor allem enthält ja die Bodenluft freien Stickstoff. Daß beim Abbau des Eiweißmoleküles außer einer Reihe anderer Produkte auch freier Stickstoff gebildet wird, haben wir schon erwähnt. Schließlich wird auch durch sogenannte Denitrifikation der Boden mit Stickstoff bereichert. Unter Denitrifikation im weiteren Sinne versteht man die Reduktion der Salpetersäure zu salpetriger Säure, dieser zu Ammoniak und dieses schließlich zu freiem Stickstoff. Während die Nitrifikation als Oxydationsprozeß einen Energiegewinn mit sich bringt, ist die Denitrifikation mit einem Verluste an Energie verbunden. Am leichtesten kann man diese Erscheinung hervorrufen, wenn man eine Salpeterlösung mit frischem Pferdedünger impft. Diese Lösung beginnt alsbald zu schäumen und es entweicht freier Stickstoff. Der Vorgang dauert solange, bis die gesamten Nitrate verbraucht sind. Besonders lebhaft geht der Prozeß von statten, wenn den Bakterien lösliche kohlenstoffhaltige Körper, vor allem Pentosane, zur Verfügung stehen, wie sie sich z. B. in frischem Stroh vorfinden.

Gewöhnlich findet die Denitrifikation<sup>1)</sup> nur bei Sauerstoffmangel statt, und die sie veranlassenden (denitrifizierenden) Bakterien sollen, wenn Nitrate vorhanden sind, anaërob, sonst aber aërob sein. Manche reduzieren jedoch selbst bei Gegenwart freien Sauerstoffes die Salpetersäure. Für die Denitrifikationsbakterien selbst liegt die Bedeutung des Vorganges in der Gewinnung des Atmungssauerstoffes aus den Nitraten.

Selbstverständlich spielt die Denitrifikation, durch welche dem Boden soviel an Stickstoff entzogen wird, eine wichtige Rolle in der Landwirtschaft, und zwar keineswegs im Interesse derselben. Denn jedes Molekül frei werdenden Stickstoffes bedeutet für den Landwirt einen Verlust an Nahrungssubstanz für die Pflanzen. Besonders schädlich erweisen sich aber die Denitrifikationsorganismen dadurch, daß sie den als Düngungsmittel zugesetzten Salpeter gleichfalls reduzieren. Das

<sup>1)</sup> Man vgl. Jensen in Zentralbl. f. Bakteriologie II. 4. 401, 5. 716 (1898—99).

beste Mittel gegen die üblen Folgen der Denitrifikation hat die Natur selbst gegeben in der Form jener nützlichen Bakterien, welche den freien Stickstoff wieder zu binden vermögen.

Daß im Boden tatsächlich Stickstoffbindungen stattfinden, ergibt sich mit großer Bestimmtheit aus den Versuchen J. Kühn's,<sup>1)</sup> der auf einem Ackerboden durch 20 Jahre Winterroggen säen und ernten konnte, ohne ihn irgendwie mit Stickstoff zu düngen. Da der Roggen selbst keinen Stickstoff zu assimilieren vermag, müssen sich notwendigerweise im Boden jene Vorgänge abspielen, welche zur Bindung des freien Stickstoffes führen. Es handelt sich aber auch hier nicht um anorganische Prozesse, sondern um die Tätigkeit von Bakterien. Zu einer genaueren Kenntnis dieser in verschiedenen Gegenden auf verschiedenem Substrat (nach Behrens sogar auf nacktem Kalkfels) auftretenden Organismen gelangte man auch erst in den letzten Jahrzehnten. Es war wiederum Winogradsky<sup>2)</sup> der erste, welchem ein eingehendes Studium derselben möglich war. Als Nährflüssigkeit verwendete er eine Lösung, welche die gewöhnlichen Nährsalze nebst einem Kohlehydrate (Dextrose), aber keine Stickstoffverbindungen enthielt. Es gelang ihm wirklich auf diese Art, den fraglichen Organismus zu isolieren, da andere Bakterien, die den Stickstoff nicht binden, in der Lösung natürlich nicht gedeihen konnten. Als Folge der Impfung mit der betreffenden Ackererde zeigte sich alsbald lebhafte Buttersäuregärung und es bildeten sich rundlich-höckerige Bakterienzoozölen. Nach Neutralisation der Buttersäure nahm die Gärung einen ungestörten Verlauf, bis der gesamte Zucker verbraucht war. Daß jetzt die Flüssigkeit wesentlich verändert war, zeigte sich daran, daß sich Schimmelpilze und schließlich, nachdem diese die Buttersäure verbraucht hatten, auch grüne Algen einstellten. Diese Organismen sind aber alle stickstoffbedürftig, und es legte schon ihre Gegenwart den Gedanken nahe, daß die ursprünglich stickstofffreie Flüssigkeit jetzt Stickstoff erhalten hatte. Die chemische Analyse stellte dies sicher. Der Stickstoff konnte aber nur durch die Tätigkeit der in der Flüssigkeit vorhandenen Bakterien in dieselbe gelangt sein. In den Zoozölen fanden sich drei Bakterien, und zwar zwei Fadenbakterien und ein *Clostridium* (eine Form, die bei der Sporenbildung spindelig anschwillt). Es stellte sich nun heraus, daß die beiden Fadenbakterien zwar sehr wenig Stickstoff brauchen, ihn aber doch nicht zu binden vermögen, und daß lediglich das *Clostridium* Urheber der Stickstoffbindung und auch der Buttersäuregärung ist. Doch war es sehr schwierig, es zu isolieren, und es gelang dies nur im luftleeren Raum

<sup>1)</sup> Frühlings, landw. Zeit. 1901.

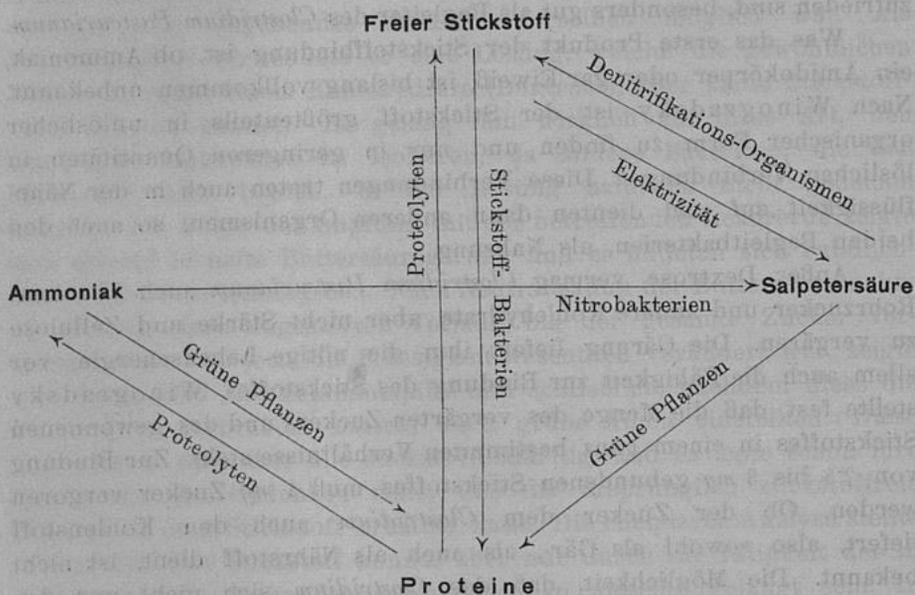
<sup>2)</sup> In Arch. sc. biol. St. Petersburg (1895).

mit Karotten als Nährboden. Wenn man es aber von dieser Reinkultur aus wieder in die ursprüngliche Nährflüssigkeit brachte, unterblieb die erhoffte Stickstoffbindung und Buttersäuregärung und trat erst wieder ein, als man die beiden anderen Bakterien zusetzte. Daraus war zu ersehen, daß das *Clostridium Pasteurianum* einzig und allein den Stickstoff bindet, aber streng anaërob ist und infolgedessen nur dann seine Wirksamkeit entfalten kann, wenn es durch die beiden anderen Bakterien vor den schädlichen Einwirkungen des Sauerstoffes geschützt wird. Die Rolle der beiden Begleiter kann auch von anderen Organismen, vor allem Schimmelpilzen, übernommen werden, unter der Voraussetzung, daß diese die genügende Menge von Stickstoff zur Verfügung haben. Dies wird aber, da *Clostridium Pasteurianum* eben dort auftritt, wo kein gebundener Stickstoff vorhanden ist, anfangs nicht der Fall sein, und infolgedessen eignen sich die beiden genannten Fadenbakterien, die schon mit den geringsten Spuren von Ammoniak zufrieden sind, besonders gut als Begleiter des *Clostridium Pasteurianum*.

Was das erste Produkt der Stickstoffbindung ist, ob Ammoniak, ein Amidkörper oder gar Eiweiß, ist bislang vollkommen unbekannt. Nach Winogradsky ist der Stickstoff größtenteils in unlöslicher organischer Form zu finden und nur in geringeren Quantitäten in löslichen Verbindungen. Diese Verbindungen traten auch in der Nährflüssigkeit auf und dienten dann anderen Organismen, so auch den beiden Begleitbakterien, als Nahrung.

Außer Dextrose vermag *Clostridium Pasteurianum* auch Lävulose, Rohrzucker und andere Kohlehydrate, aber nicht Stärke und Zellulose zu vergären. Die Gärung liefert ihm die nötige Lebensenergie, vor allem auch die Fähigkeit zur Bindung des Stickstoffes. Winogradsky stellte fest, daß die Menge des vergärten Zuckers und des gewonnenen Stickstoffes in einem ganz bestimmten Verhältnisse steht. Zur Bindung von 2,5 bis 3 mg gebundenen Stickstoffes muß 1 mg Zucker vergoren werden. Ob der Zucker dem *Clostridium* auch den Kohlenstoff liefert, also sowohl als Gär-, als auch als Nährstoff dient, ist nicht bekannt. Die Möglichkeit, daß das *Clostridium* sich nicht nur den Stickstoff, sondern auch — nach dem Vorbilde der Nitrobakterien — den Kohlenstoff aus der Luft verschafft, ist nicht von der Hand zu weisen. In der Natur findet es das zu seinem Fortkommen unbedingt nötige Vergärungsmaterial in den Abfällen der grünen Pflanzen und dann in den Stoffwechselprodukten der den Boden reichlich bevölkernden niedrigen Algen. Ja, es ist sogar nachgewiesen worden, daß zwischen solchen Algen und *Clostridium Pasteurianum* ein genossenschaftliches Verhältnis (Symbiose) besteht, indem die Algen dem *Clostridium* lösliche Kohlehydrate liefern, um selbst gebundenen Stickstoff von diesem zu erhalten.

Während Berthelot glaubte, daß viele Organismen Stickstoff zu binden vermögen, ist nach Winogradsky diese Fähigkeit auf sein *Clostridium* und ein paar ähnliche Formen beschränkt. In neuerer Zeit hat Beijerinck<sup>1)</sup> behauptet, daß ein sehr großes Bakterium, *Azotobacter* genannt, freien Stickstoff bindet, aber später<sup>2)</sup> die Behauptung zum Teile widerrufen. Nach Alfr. Koch<sup>3)</sup> dagegen fixiert *Azotobacter* den Stickstoff in beträchtlichem Maße. Auch gewisse Cyanophyceen, wie *Nostoc* und *Anabaena*, sollen nach diesem Forscher den Stickstoff assimilieren können. Nach Puriewitsch<sup>4)</sup> sind auch *Aspergillus* und *Penicillium* und nach Saida<sup>5)</sup> auch noch andere Schimmelpilze stickstoffbindende Organismen. Gottheil's *Bacillus Ellenbachensis*, dessen Reinkulturen vielfach als angeblich gutes Düngemittel unter dem Namen „Alinit“ verkauft werden, soll dagegen dem Stickstoff gegenüber ebenso harmlos sein wie die grünen Pflanzen.<sup>6)</sup> Auch im Meere wurden denitrifizierende und stickstoffbindende Organismen beobachtet.<sup>7)</sup>



Schema des Kreislaufes des Stickstoffes im Pflanzenreiche.

1) In Zentralbl. f. Bakt. II. 7. 561 (1901).

2) A. a. O. II. 9. S. 3 (1902).

3) Vgl. Verh. d. Ges. deutsch. Naturf. u. Ärzte. 74. Vers. Karlsbad I. S. 191 (1903).

4) Ber. d. deutsch. bot. Ges. XIII. S. 342 (1895).

5) Ber. d. deutsch. bot. Ges. XIX. S. 107 (1901).

6) Nach Jost a. a. O. S. 285.

7) Vgl. Brandt, In Wiss. Meeresunters. Abt. Kiel. IV. S. 215 (1899). Gran in Bergens Mus. Aarbog 1901. Baur in Wiss. Meeresunters. Abt. Kiel. VI. S. 9. (1902). Benecke u. Keutner in Ber. d. deutsch. bot. Ges. XXI. S. 333 (1903). — Denitrifizierende Bakterien bestimmen nach Brandt den Gehalt der Meere an Plankton.

Hiermit wären die wichtigsten jener Daten mitgeteilt, auf Grund derer wir mit Recht behaupten können, daß in der Natur tatsächlich ein Kreislauf des Stickstoffes existiert. Die Pflanzen spielen hierbei folgende Rolle: Die auf anorganischem Wege gebildeten Nitrate werden von der grünen Pflanze aufgenommen und zu Eiweiß verarbeitet. Nach ihrem Tode geben die grünen Pflanzen diese Eiweißsubstanzen wieder dem Boden zurück. Die proteolytischen Bakterien spalten das Eiweiß in Ammoniak, Stickstoff etc. Dieses Ammoniak, vom Boden energisch festgehalten, dient zum Teil gewissen grünen Pflanzen direkt als Nahrung, zum Teil wird es durch die Nitrobakterien in Nitrite und schließlich in Nitrate, die als wichtigste Stickstoffquelle neuen Generationen grüner Pflanzen zugute kommen, umgebildet. Der durch die Eiweißzersetzung frei werdende Stickstoff wird gleich dem durch Denitrifikation gebildeten und dem der Luft durch die Stickstofforganismen in gebundene Form übergeführt.

Daß die Natur sich im Gesamtverbrauche des Stickstoffes nie verrechnet hat, geht, wie schon erwähnt, vor allem aus dem stetigen oder doch periodisch konstant sich erneuernden Grünen und Gedeihen sich selbst überlassener natürlicher Pflanzenbestände hervor.

#### 4. Symbiose und Metabiose.

Ein Zusammenleben zweier Organismen von solcher Art, daß der eine hieraus Nutzen zieht, der andere aber geschädigt wird, bezeichnet man als Parasitismus, eine Vereinigung zweier verschiedener Lebewesen zu gegenseitigem Nutzen dagegen als Symbiose.<sup>1)</sup> Da sich die Förderung, welche die beiden Symbionten, wenn sie beide Pflanzen sind, einander angedeihen lassen, vor allem auf die Ernährung bezieht, kann man diese Form der Symbiose vom physiologischen Standpunkte als eine Ernährungsgenossenschaft ansprechen. Während in morphologischer Hinsicht diejenigen Fälle von Symbiose am meisten Interesse beanspruchen, in denen wie bei den Flechten oder — nach Zederbauer<sup>2)</sup> — bei den Myxobacteriaceen eine so innige Verbrüderung zweier verschiedener Typen stattfindet, daß die Resultanten sowohl in bezug auf den vegetativen Aufbau als auch auf die Art der Fortpflanzung — man denke an die Soredien der Flechten oder an die Zysten der Myxobacteriaceen — den Eindruck eines einheitlichen Organismus hervorrufen, haben wir es hier in erster Linie mit denjenigen zu

<sup>1)</sup> Der Ausdruck Symbiose stammt von De Bary: Die Erscheinung der Symbiose. Straßburg 1879. Er wurde von verschiedenen Forschern in verschiedenem Sinne gebraucht.

<sup>2)</sup> In Sitzungsber. Kais. Akad. Wissensch. Wien. Math. nat. Cl., CXII, I (1903).

tun, deren Ernährungsverhältnisse bereits verhältnismäßig gut bekannt sind, und zwar nur insoweit, als es sich um den Stickstoff handelt.

Es ist sehr bezeichnend für das Verhältnis der Pflanze zum Stickstoff, daß es gerade dieses Element ist, dessen Erwerbung in den meisten Fällen von Symbiose die Hauptrolle spielt. Mit keinem anderen Grundstoffe hat es die Natur der Pflanze so schwer gemacht wie mit dem Stickstoff. Es gibt nicht wenige Pflanzen, welche, unvermögend aus eigenem ihren Stickstoffbedarf zu decken, sich mit anderen, in dieser Beziehung besser ausgerüsteten Organismen symbiotisch vereinigen, um ihre Existenzbedingungen zu finden. Seit der Aufstellung des Begriffes Symbiose durch De Bary sind schon viele Pflanzenvereinigungen als Symbiose gedeutet worden, und wenn auch in vielen Fällen noch nicht so wie bei den gleich näher zu besprechenden Wurzelknöllchen bildenden Leguminosen ein strikter Nachweis erbracht ist, daß das Wesen dieser Vereinigungen in der Erleichterung der Beschaffung des Stickstoffes für die eine Komponente gelegen ist, so dürften sich doch über kurz oder lang in noch manchen anderen derselben Beziehungen zur Stickstoffernährung mit Sicherheit konstatieren lassen.

Heutzutage sind wir, wie eben angedeutet wurde, über das Wesen keiner zweiten symbiotischen Vereinigung relativ so gut informiert, als über das der Verbindung der Leguminosen mit gewissen Bakterien, und es soll daher, da die Stickstoffbeschaffung das Endziel derselben ist, ihre Betrachtung im folgenden in den Vordergrund gestellt werden.

Daß die Leguminosen im Gewächsreiche eine exzeptionelle Stellung einnehmen, weiß man schon seit langem. So teilt bereits Plinius<sup>1)</sup> mit, daß gewisse Hülsenfrüchtler (Lupinen, Wicken etc.) den Boden verbessern, ja sogar als Düngemittel verwendet werden können. Daß sich jedoch die ernährungsphysiologische Sonderstellung der Leguminosen lediglich auf ihr Verhalten dem Stickstoff gegenüber gründet, wurde erst in den letzten Jahrzehnten als unwiderrufliche Tatsache festgestellt. Insbesondere waren es die Beobachtungen eines Landwirtes, Schultz-Lupitz,<sup>2)</sup> welche den Anstoß zu einer exakten wissenschaftlichen Lösung des Leguminosenproblemles gaben. Schultz-Lupitz erzog auf sandigem Boden seines Gutes in der Mark mit bloßer Mineraldüngung, ohne Stickstoffzusatz, 15 Generationen von Lupinen, ohne ein Abnehmen im Wachsen zu bemerken und konstatierte, daß man die Getreideernte verdoppeln bis verdreifachen kann, wenn man Lupinen als Vorfrüchte baut. In einem seit 15 Jahren weder gedüngten noch geackerten, als Schafweide benützten Boden, der ursprünglich in

<sup>1)</sup> Historia naturalis. Liber XVIII.

<sup>2)</sup> In Landw. Jahrb., X, S. 777 (1881).

der Ackerkrume bis zu 6 Zoll Tiefe 0·027 und im Untergrunde 0·021% Stickstoff enthielt, konnte er, nachdem er ihn durch 15 Jahre mit Lupinen bebaut und nur mit mineralischen Stoffen gedüngt hatte, in der Ackerkrume bis zu 8 Zoll Tiefe 0·087, im Untergrunde von 8 bis 24 Zoll Tiefe 0·025% Stickstoff nachweisen. Es wird also ein ganz erheblicher Stickstoffgewinn in den oberen Schichten des Bodens erzielt.

Von botanischer Seite war indes durch Boussingault nachgewiesen worden, daß Leguminosen, wenn man sie in stickstoffreiem Boden unter Abschluß alles Stickstoffes mit Ausnahme des atmosphärischen wachsen läßt, nach längerer Zeit weder eine Zunahme noch eine Abnahme im Stickstoffgehalte erkennen lassen. Völlig klares Licht über diese Sache brachten jedoch erst die Untersuchungen Hellriegel's und Wilfarth's.<sup>1)</sup> Diese Forscher kultivierten die zu untersuchenden Leguminosen in reinem, aller mineralischen Zusätze baren, sterilisiertem Quarzsande und machten Parallelversuche mit Zerealien. Wurde der Sandboden durch Erhitzen von Mikroorganismen freigehalten, so gediehen, in Übereinstimmung mit den Versuchen Boussingault's, die Leguminosen gleich den Zerealien nur bei Zusatz von Nitraten. Ganz anders verhielt sich aber die Sache, wenn dem sterilisierten, stickstofffreien Quarzboden ein kleines Quantum eines aus einem entsprechenden Kulturboden gewonnenen Aufgusses zugesetzt wurde, indem jetzt die Ernte einen ganz bedeutenden Stickstoffgewinn ergab, der nur auf einer Verwendung des Stickstoffes der Atmosphäre beruhen konnte. Folgende von Hellriegel mitgeteilte Daten mögen dies illustrieren:

	Ohne Bodenaufguß		Mit Bodenaufguß	
	Trockengewicht <i>g</i>	Stickstoffgewinn <i>g</i>	Trockengewicht <i>g</i>	Stickstoffgewinn <i>g</i>
Serradella	0·092	— 0·022	16·864	+ 0·326
Lupine	0·919	— 0·049	44·718	+ 1·077
Erbse	0·779	— 0·025	17·616	+ 0·449

Analoge Experimente mit Hafer ergaben dagegen gar keinen Stickstoffgewinn.

Die Tatsache, daß bei derartigen Versuchen bei einer Erhöhung der Temperatur jeder Erfolg ausbleibt, läßt darauf schließen, daß bei dieser Stickstoffbereicherung Mikroorganismen im Spiele stehen. Daß es aber nicht beliebige im Boden wohnende Lebewesen sind, sondern mit den Leguminosen in ganz bestimmten Beziehungen stehende, geht daraus hervor, daß bei Getreide gar keine Wirkung eintritt. Auch konnte nachgewiesen werden, daß für verschiedene Leguminosen ver-

<sup>1)</sup> Unters. ü. d. Stickstoffnahrung der Gramineen und Leguminosen (Beil. zur Zeitschr. d. Vereines f. d. Rübenzuckerindustrie Berlin). (1888.)

schiedene Organismen in Betracht kommen, indem z. B. durch Aufgüsse, in denen nur Erbsen gut gediehen waren, immer nur das Wachstum von Erbsen, aber nie das von Lupinen gefördert wurde. Außer dem lebhaften Wachstum zeigten die Leguminosen noch die Bildung von Knöllchen an den Wurzeln. Hellriegel und Wilfarth erkannten, daß diese Knöllchen durch die Mikroorganismen gebildet werden und daß die Leguminosen nur dann in bezug auf Stickstoff gewissermaßen autotroph sind, wenn sie in ihren Wurzelknöllchen Bakterien beherbergen, oder mit anderen Worten, mit diesen in Symbiose leben. Genauere Daten über die Art dieser Symbiose und über die Wirksamkeit der Bakterien verdanken wir Beijerinck,<sup>1)</sup> Prazmowski,<sup>2)</sup> Frank<sup>3)</sup> u. a.

Nach den Untersuchungen dieser Autoren dringen stäbchenförmige Bakterien, die durch den Sammelnamen *Bacterium radicum* zusammengefaßt wurden, in die Wurzeln der Leguminosen ein und vermehren sich dort sehr lebhaft. Durch einen nach Art der Wirkung des Gallwespenstiches auf die Wurzelzelle ausgeübten Reiz veranlassen sie eine lokale Hypertrophie, die eben das Knöllchen ist. Man kann somit die Wurzelknöllchen als Bakteriengallen ansprechen. In den meisten Zellen der Knöllchen tritt das *Bacterium radicum* in großen Mengen auf, um später in eigentümlicher Weise zu degenerieren und sich in große, kugelige oder verzweigte, sehr eiweißreiche Gebilde, „Involutionen“, umzuwandeln. Diese Involutionen, auch Bakteroiden genannt, dienen der Leguminose als Eiweißreserve, indem sie verdaut und vor allem zur Bildung der bekanntlich ungemein stickstoffreichen Samen verwendet werden. Ein Teil der Bakterien verwandelt sich nicht in Involutionen, sondern parasitiert und gelangt nach dem Verwesen der Knöllchen in die Ackerkrume zurück und kann im nächsten Jahre neue Leguminosen infizieren.

Über das Wesen dieser eigentümlichen Vereinigung haben namentlich Studien über das Verhalten des von den Leguminosen isolierten *Bacterium radicum* Aufschluß gegeben. Maze<sup>4)</sup> stellte fest, daß dieser Organismus die Fähigkeit der Bindung des freien Stickstoffes nicht sofort besitzt, sondern erst erlangt, wenn man ihm vorher gebundenen Stickstoff in der Form von Eiweißsubstanzen (nach Beijerinck auch Asparagin) bietet. Außerdem bedarf er ziemlich viel Zucker. Diese beiden Stoffe, Eiweiß und Zucker, werden dem Bakterium offenbar in dem Wurzelknöllchen von der Leguminose, und zwar das erstere solange geboten, bis es selbständig Stickstoff zu binden vermag. Wenn

<sup>1)</sup> In Bot. Zeitschr., XLVI, S. 725 (1888).

<sup>2)</sup> In Landw. Versuchsstat., XXXVII, S. 161 (1890), XXXVIII, S. 5 (1891).

<sup>3)</sup> In Landw. Jahrb., XIX, S. 523 (1890).

<sup>4)</sup> In Ann. Inst. Pasteur, XI, S. 44, XII, S. 1 (1897).

auch Kulturversuche ein ganz gutes Gedeihen des Bakteriums erzielen können, so erlangt dasselbe doch erst durch Zusammenleben mit Leguminosen seine volle Leistungsfähigkeit.

Die Beweise Hellriegel's und Wilfarth's, daß *Bacterium radicicola* den freien Luftstickstoff bindet, sind eigentlich nur indirekt, indem sie direkt nur dartun, daß der Stickstoff nicht aus dem Boden stammen kann. Aber auch an direkten Beweisen fehlt es nicht. So haben Schlössing und Laurent<sup>1)</sup> quantitativ bestimmt, wieviel Stickstoff eine Erbse während mehrmonatlichen Gedeihens der Luft entnimmt, und sich überzeugt, daß dieses Stickstoffquantum dem der Erde zugeführten und in der Leguminose tatsächlich aufgestapelten vollkommen entspricht. Folgende von diesen beiden Forschern ermittelte Daten bestätigen dies:

Atmosphärischer Stickstoff ins Kulturgefäß eingeleitet . . . . .	2681·2 cm <sup>3</sup>
Atmosphärischer Stickstoff aus dem Kulturgefäß herausgeleitet . . . . .	2653·1 cm <sup>3</sup>
<hr/>	
Folglich Stickstoff assimiliert durch die Pflanze . . . . .	29·1 cm <sup>3</sup> = 36·5 mg
Stickstoff in Boden und Saat . . . . .	32·6 mg
"    "    "    "    Ernte . . . . .	73·2 mg
<hr/>	
Folglich Stickstoff assimiliert durch die Pflanze . . . . .	40·6 mg

Daß die Fixierung des atmosphärischen Stickstoffes in den Knöllchen und nicht in den Blättern stattfindet, haben Nobbe und Hiltner<sup>2)</sup> nachgewiesen und so die Behauptung widerlegt, daß durch die Infektion mit Bakterien die Leguminosen selbst die Fähigkeit erlangen, Stickstoff zu binden. Sie infizierten in stickstoffreicher Nährlösung gezogene Robinien mit *Bacterium radicicola* und beobachteten Knöllchenbildung auch unter Wasser, konnten aber das Beginnen der Stickstoffassimilation erst dann konstatieren, wenn die Knöllchen an die Luft gebracht wurden. Auch die Umwandlung der Bakterien in Bakteroiden in künstlicher Nährlösung ist manchen Autoren geglückt, ohne daß jedoch hierdurch erklärt worden wäre, wieso es kommt, daß in den Knöllchen selbst immer nur ein Teil der Bakterien in Bakteroiden übergeht.

Das Wechselverhältnis zwischen Leguminosen und Bakterien wird von vielen Forschern für einen ausgesprochenen Fall von Symbiose gehalten, unter der Annahme, daß die Leguminosen den Bakterien den Kohlenstoff, diese den Leguminosen den Stickstoff liefern. Aber es hat auch nicht an Ansichten gefehlt, nach welchen es sich um Parasitismus handelt, so zwar, daß die Leguminosen auf den Bakterien schmarotzen. Hiernach besteht zwischen Knöllchenbakterium und Leguminose ein

<sup>1)</sup> Compt. rend. Paris, CXI, S. 750 (1890).

<sup>2)</sup> In Landw. Versuchsstat., LII, S. 455 (1899).

Kampfverhältnis.<sup>1)</sup> Die Knöllchen werden als Arbeitszellen gedeutet, in welche die Bakterien gewissermaßen gelockt werden und in denen sie Lebens- und Vermehrungsbedingungen nur für den Fall finden, als sie sich der Leguminose nützlich erweisen. Der bestmögliche Effekt wird erzielt, wenn zwischen der Tätigkeit der beiden Kämpfenden, der grünen Pflanze und des Bakteriums, eine Art Gleichgewichtszustand dadurch herbeigeführt wird, daß die höhere Pflanze einerseits durch Darbietung des Optimums der Wachstumsbedingungen die größtmögliche Vegetationsenergie erhält, und die Knöllchenbakterien andererseits einen dem Maximum naheliegenden Virulenzzustand besitzen.

Die Frage, wie man zu Knöllchenbakterien größter Virulenz gelangt und wie man sie unter Erhaltung ihrer vollen Wirksamkeit vermehrt und überträgt, ist natürlich im Interesse der künstlichen Stickstoffdüngung von größter Bedeutung. Wichtig für die Beantwortung derselben ist die Tatsache, daß keineswegs alle Leguminosen durch eine und dieselbe Bakterienform infiziert werden können, sondern daß es vielmehr eine ganze Reihe von Bakterientypen gibt, die sich in Anpassung an die verschiedenen Ernährungsverhältnisse, die sie bei verschiedenen Leguminosen vorfanden, gebildet haben und erblich fixiert wurden, daß es also von den Wurzelknöllchenbakterien der Leguminosen ähnliche ernährungsphysiologische Rassen gibt, wie von der Hefe, gewissen Uredineen usw. Mit der Anpassung eines Typus an eine bestimmte Hülsenfruchtart ist immer eine zunehmende knöllchenbildende und stickstoffsammelnde Kraft des Bakteriums bei dieser Art und Abnahme der Wirksamkeit anderen Leguminosen gegenüber verbunden. Aber auch die Knöllchenbakterien derselben Rasse haben noch sehr verschiedene Virulenz. So besitzen z. B. nach Hiltner die Bakterien der zuerst entstandenen, meist an der Hauptwurzel auftretenden Knöllchen viel größere Virulenz als die später gebildeten. Je größer die Vegetationsenergie der Hülsenfruchtarten unabhängig von den Bakterien ist, um so energischer ist auch der Widerstand, welchen dieselben dem Eindringen der Bakterien in die Wurzel entgegensetzen, um so mehr beschränkt sich die Möglichkeit des Eindringens auf die besonders wirksamen Typen der letzteren. Man kann also durch Steigerung der Ernährungsbedingungen der Leguminosen gewissermaßen auch allmählich eine Reinkultur möglichst wirksamer Bakterien in diesen Leguminosen erzielen. Außerdem gelingt es, Knöllchenbakterien unter Erhaltung der bestehenden Virulenzabstufungen auch auf künstlichen Nährböden zu vermehren und überdies geschwächten Typen ihre volle Wirksamkeit wiederzugeben, wenn man sie einige Male nach-

---

<sup>1)</sup> Remy in Verh. d. Ges. deutsch. Naturf. u. Ärzte, 74. Vers. Karlsbad, I (1903), S. 200.

einander durch jugendliche Leguminosenpflanzen hindurchgehen läßt. Alle diese und noch viele andere Erfahrungen<sup>1)</sup> stehen mit der Frage der künstlichen Stickstoffdüngung<sup>2)</sup> in innigstem Zusammenhange.

Die Leguminosen sind nicht die einzigen Pflanzen, welche Wurzelknöllchen besitzen. Man hat Gebilde von ähnlichem Bau auch bei Erlen<sup>3)</sup> und *Elaeagnus* nachgewiesen. Bezüglich der ersteren hat Hiltner gezeigt, daß ihre Wurzelknöllchen ganz dieselbe Bedeutung haben wie die der Leguminosen, indem Erlen ohne Knöllchen nur bei Zugabe von Stickstoffverbindungen gedeihen, ohne solche dagegen mit dem freien Luftstickstoff ihr Auslangen finden können. Ähnlich dürfte sich *Elaeagnus* verhalten.<sup>4)</sup> Auch eine Konifere (*Podocarpus*) weist knöllchenartige Seitenwurzeln auf, welche mit den Zellen eines Pilzes erfüllt sind, und konnte gleichfalls bisher ohne diesen nicht kultiviert werden. Dagegen gelang es Nobbe und Hiltner,<sup>5)</sup> *Podocarpus* fünf Jahre lang in stickstofffreiem Quarzsande zu ziehen, wobei er trefflich gedieh, so daß es wohl ganz sicher steht, daß wir es auch hier mit einem Falle von Bindung freien Stickstoffes zu tun haben, bei welcher der Pilz, mit welchem *Podocarpus* offenbar symbiotisch vereinigt ist, eine große Rolle spielen dürfte. Auch bei dem Taumellolche (*Lolium temulentum*) herrschen vielleicht ähnliche Verhältnisse, da die Pflanze immer in Vereinigung mit einem Pilze wächst.<sup>6)</sup> Hiltner's Vermutung, daß man es überhaupt in vielen Fällen von Parasitismus mit derartigen Stickstoffbindungen, die dann auch dem Wirte zugute kämen, zu tun hätte, wurden jedoch von Brefeld<sup>7)</sup> für die Brandpilze nicht bestätigt. Frank's,<sup>8)</sup> auf Grund der Tatsache, daß es außer den Leguminosen auch noch andere Pflanzen gibt, welche sich den Luftstickstoff mittelbar zu verschaffen wissen, aufgestellte Behauptung, daß diese Fähigkeit überhaupt allen Pflanzen zukäme, wurde gleichfalls für die Mehrzahl der diesbezüglich untersuchten Phanerogamen, so für Gramineen und Kruziferen,<sup>9)</sup> als unrichtig erwiesen.

An *Podocarpus* dürften sich die Mykorrhiza-Pflanzen in ernährungsphysiologischer Hinsicht wenigstens teilweise sehr nahe anschließen.

<sup>1)</sup> Von Remy a. a. O. übersichtlich zusammengestellt.

<sup>2)</sup> Siehe Kap. 5.

<sup>3)</sup> Hiltner in Landw. Versuchsstat., XLVI, S. 153 (1896).

<sup>4)</sup> Die an Rhodophyceen vorkommenden Knöllchen dürften parasitischen Bakterien ihr Entstehen verdanken (vgl. Schmidt in Bot. Zeitschr. 1892).

<sup>5)</sup> In Landw. Versuchsstat., LI, S. 241 (1899).

<sup>6)</sup> Hiltner in Zentralbl. Bakt., II, V, S. 831 (1899).

<sup>7)</sup> In Zentralbl. Bakt., II, VIII, S. 24 (1902).

<sup>8)</sup> In Landw. Jahrb., XIX, S. 523 (1890).

<sup>9)</sup> Vgl. z. B. Aeby in Landw. Versuchsstat., XLVI, S. 409 (1896), Pfeiffer u. Franke in Landw. Versuchsstat., XLVIII, S. 455 (1897).

Unter Mykorrhiza oder Pilzwurzel versteht man eine Wurzel, welche mit Pilzen symbiotisch vereinigt ist. Man unterscheidet endotrophe und ektotrophe Mykorrhizen. Eine endotrophe Mykorrhiza wurde schon von Schleiden an *Neottia nidus avis* beobachtet und dann später durch Frank<sup>1)</sup> und Schlicht<sup>2)</sup> bei vielen Orchideen, Ericaceen und Epacrideen, von Němec<sup>3)</sup> und Golenkin<sup>4)</sup> für Lebermoose nachgewiesen. Die Pilze, die gewöhnlich steril sind, kennt man systematisch noch wenig. Bei *Neottia* dringt nach Magnus<sup>5)</sup> der Pilz von außen ein und breitet sich dann im Inneren in einiger Entfernung von der Epidermis in einer Anzahl konzentrisch gelagerter Zellschichten der Wurzel aus. Das Verhalten des Pilzes ist in verschiedenen Teilen der Wurzel ein zweifaches. In gewissen Zellen lebt er als Parasit, wächst auf Kosten des Protoplasmas heran und bildet schließlich Überwinterungsorgane, die dann im nächsten Jahre zur Infektion einer neuen Pflanze geeignet sein dürften. In anderen Zellen der Orchideenwurzel dagegen wird der Pilz zum Teile verdaut und es kommt sein reicher Gehalt an Eiweißstoffen der *Neottia* offenbar zugute, die unverdauten Reste aber werden im Inneren der Zelle zu einem Klumpen vereinigt und mit einer Zelluloseschicht bedeckt. Ähnlich wie *Neottia* verhält sich *Psilotum*.<sup>6)</sup> Zwischen *Psilotum* und *Podocarpus* ist aber nach Shibata ein geringer Unterschied und es ist daher immerhin möglich, daß auch die Bedeutung der endotrophen Mykorrhiza bei *Psilotum* und auch bei *Neottia* eine ähnliche ist wie die des Pilzes von *Podocarpus* und der Leguminosenbakterien.

Worin die Leistungen der beiden Symbionten bei der endotrophen Mykorrhiza bestehen, läßt sich vermuten. Es ist anzunehmen, daß der Pilz der Pflanze den Stickstoff — wahrscheinlich in der Form von Pepton oder dergleichen — verschafft, diese aber den Kohlenstoffbedarf des Pilzes deckt. Bei *Neottia* allerdings, die in bezug auf Kohlenstoff selbst heterotroph ist, dürfte sich die Sache anders verhalten. Nach Stahl<sup>6)</sup> führt der Pilz der grünen Pflanze überhaupt nicht Stickstoff, sondern aus dem Boden aufgenommene Aschenbestandteile in bereits verarbeiteter organischer Form zu. Die Pilze vermögen sich nämlich Aschenbestandteile sehr rasch anzueignen und würden deshalb in nährsalzarmen, humusreichen Böden für die höheren Pflanzen, die viel langsamer arbeiten, große Konkurrenten werden, wenn diese

1) In Ber. deutsch. bot. Ges., V, S. 395 (1887).

2) In Landw. Jahrb., XVIII, S. 477 (1899).

3) In Ber. deutsch. bot. Ges., XVII (1899).

4) In Flora, XC (1902).

5) In Jahrb. wiss. Bot., XXXV, S. 205 (1900).

6) In Jahrb. wiss. Bot., XXXIV, S. 539 (1900).

sich nicht die Pilze zunutze zu machen wüßten. Andererseits dürften sie dann selbst an die Pilze Kohlehydrate abgeben. Der Umstand, daß gerade in humusreichen Böden Mykorrhizen sehr häufig sind, spricht für die Annahme Stahl's.

Die ektotrophe Mykorrhiza wurde zuerst von Kamienski<sup>1)</sup> bei *Monotropa* entdeckt. Bald darauf hat Frank<sup>2)</sup> gezeigt, daß viele unserer Waldbäume (Cupuliferen, Betulaceen, Koniferen) ektotrophe Mykorrhizen besitzen. Die Pilzmycelien, großen Tuberaceen oder Agaricineen angehörend, dringen hier nicht in das Innere der Wurzel ein, sondern bilden eine aus dicht verflochtenen Fäden bestehende Hülle um die Wurzeln und lassen selbst den Vegetationskegel nicht frei. Nur selten dringen Hyphen ins Innere des Wurzelgewebes ein, aber auch dann beschränken sie sich auf die Interzellularen. Die Wurzeln solcher Gewächse weisen naturgemäß gewisse morphologische und histologische Eigenschaften auf, von denen insbesondere das Fehlen der Wurzelhaare auffällig ist. Die Aufnahme der Nährsalze ist nur durch den Pilz möglich. Trotzdem ist die Bedeutung der ektotrophen Mykorrhizen bisher noch viel weniger aufgeklärt als die der endotrophen, da nicht einzusehen ist, warum der Pilz, der die Aschen-substanzen viel leichter erwirbt als der Baum, diese Substanzen nach erfolgter Assimilation weitergibt.

Für viele der grünen, mit Mykorrhizen versehenen Pflanzen ist diese symbiotische Vereinigung kein unbedingtes Erfordernis. So ist es Frank gelungen, Bäume, die für gewöhnlich eine Mykorrhiza haben, durch 25 Jahre in reinem, völlig humusfreien Quarzsande mit bestem Erfolge zu kultivieren. Man kann überhaupt zwischen obligatorischer und fakultativer Mykotrophie<sup>3)</sup> unterscheiden. Während die Vereinigung des Pilzes mit dem Wurzelsystem der höheren Pflanze in manchen Fällen wirklich ein für das Leben beider Komponenten gleich wichtiger Fall von Symbiose ist, wird sie in anderen Fällen wohl nur durch den Zufall bedingt und besitzt für die beiden Organismen nur geringen oder gar keinen Wert.

Über das ernährungsphysiologische Verhalten derjenigen Organismen, welche Anlaß zur Schaffung des Begriffes Symbiose gegeben haben, der Flechten, hat man erst in letzter Zeit einige Klarheit gewonnen. So haben Beyerinck<sup>4)</sup> und Artari<sup>5)</sup> gezeigt, daß gewisse Flechtengonidien Peptonpflanzen sind, und es dürfte ihnen der Pilz das Pepton liefern, während sie sich hierfür durch Abgabe der durch

1) In Botan. Zeitschr., XXXIX, S. 457 (1881).

2) In Ber. deutsch. bot. Ges., III, S. 125 (1885).

3) Stahl unterscheidet zwischen mykotrophen und endotrophen Pflanzen.

4) In Bot. Zeit. XLVIII, S. 725 (1890).

5) In Bull. nat. Mosc., I (1899).

Kohlensäureassimilation gewonnenen Produkte revanchieren. Übrigens ist auch die Meinung, daß es sich bei den Flechten um Parasitismus handelt, weit verbreitet. Das gute Gedeihen der Algen im Konsortium der Flechte spricht nicht gegen diese Ansicht, denn es gibt viele Parasiten, welche in ihrem eigenen Interesse ihren Wirt nicht nur nicht töten, sondern sogar in gewissem Sinne ein scheinbar besseres Gedeihen desselben herbeiführen, um ihn desto [mehr ausnützen zu können.

Als Symbiose im weitesten Sinne ist auch die von Winogradsky<sup>1)</sup> konstatierte, bereits früher<sup>2)</sup> genauer besprochene Vereinigung des Stickstoffbakteriums *Clostridium Pasteurianum* mit zwei aëroben Bakterien zu einer formlosen Zoogloea sowie das von Beyerinck<sup>3)</sup> untersuchte Zusammenleben von *Azotobacter* mit anderen Bakterien zu bezeichnen. Beyerinck glaubte nämlich zunächst, daß *Azotobacter* den Stickstoff selbständig assimiliere, fand aber später, daß es nur in Vereinigung mit anderen Formen, die an und für sich kein Stickstoffbindungsvermögen besitzen, erhebliche Stickstoffquantitäten sich anzueignen und zu speichern befähigt würde, deutete infolgedessen diese Vereinigung als Symbiose und gelangte auf Grund der gesammten Befunde zu einer Theorie, die er selbst für das wichtigste Ergebnis seiner Arbeiten hält, daß nämlich die Stickstoff assimilierenden Bakterien zunächst eine lösliche, in die umgebende Flüssigkeit diffundierende Stickstoffverbindung produzieren sollen, welche von anderen Bakterien und sonstigen Organismen, auch Leguminosen, aufgenommen werden kann. Auch das von Zederbauer<sup>4)</sup> als Symbiose gedeutete Verhalten der Myxobacteriaceen dürfte vielleicht auf ähnliche Beziehungen zwischen den Komponenten dieser Vereinigung zurückzuführen sein. Ferner kann man wohl auch sagen, daß diejenigen Meeresalgen, welche, wie Benecke und Keutner<sup>5)</sup> nachgewiesen haben, an ihrer Oberfläche reichlich mit *Azotobacter* behaftet sind, mit diesem Bakterium in Symbiose leben, denn es gelang zu zeigen, daß diese *Azotobacter*-Typen den in ungeheuren Mengen im Meerwasser absorbierten freien Stickstoff assimilieren können, und es ist anzunehmen, daß dieser dann in gebundener Form den Algen zugute kommt, wie denn auf der anderen Seite diese dem *Azotobacter* einen Teil seiner Nahrung liefern dürften. Ähnliches gilt auch für Algen des Süßwassers (*Volvox*), welche nach Reinke<sup>6)</sup> mit *Azotobacter* symbiotisch vereinigt sind. Als eine noch

1) A. a. O.

2) Vgl. S. 24.

3) A. a. O.

4) A. a. O.

5) A. a. O.

6) In Verh. deutsch. bot. Ges., XXI, S. 482 (1903).

losere Form von Symbiose ist schließlich das ernährungsgenossenschaftliche Verhältnis gewisser Cyanophyceen des Bodens mit Stickstoffbakterien anzusehen, dessen schon Erwähnung getan wurde.<sup>1)</sup> Vielleicht dürfte auch die von Treub<sup>2)</sup> und Gräbner<sup>3)</sup> konstatierte Tatsache, daß Cyanophyceen auf sterilen, jeglichen Pflanzenwuchses baren Böden, als erste Pflanzen sich einstellen, darauf beruhen, daß diese Organismen in Symbiose mit Bakterien vegetieren.

Während man das gleichzeitige Zusammenarbeiten verschiedener Organismen Symbiose genannt hat, bezeichnet man als Metabiose<sup>4)</sup> die Erscheinung des gesetzmäßigen Nacheinanderauftretens von Organismen, welche einander insofern fördern, als immer der eine dem nächstfolgenden den Nährboden vorbereitet. Einen besonders schönen Fall von Metabiose bildet das sukzessive Auftreten der Proteolyten, Nitrit- und Nitratbildner. In gewissem Sinne ist eigentlich der ganze Kreislauf des Stickstoffes nichts anderes als eine Summe von symbiotischen und metabiotischen Erscheinungen. Ohne Metabiose wäre ein solcher Kreislauf und überhaupt ein fortwährend sich erneuerndes Leben gar nicht möglich. Denn wenn es nur Organismen gäbe, die nur für sich leben und deren Zerfallsprodukte anderen nicht zugute kämen, so würde die Außenwelt alsbald durch die kontinuierliche Befriedigung der einseitigen Ansprüche dieser Lebewesen gewisser Stoffe beraubt sein, so daß sie selbst nicht mehr zu existieren vermöchten.

### 5. Stickstoffdüngung.

Wenn die Natur sich selbst überlassen bleibt, äußert sich der Kreislauf der Stoffe in einem ununterbrochenen Vergehen der alten und Entstehen neuer, diesen an Kraft und Fülle ebenbürtiger Geschlechter. Wenn dagegen der Mensch in den natürlichen Gang der Dinge eingreift, zeigt sich alsbald eine Störung dieses wunderbaren Gleichgewichtszustandes. Die bedeutsamsten dieser Eingriffe wiederholen sich von Jahr zu Jahr im Mähen des Grases der Wiesen, Schneiden des Getreides der Felder, Fällen der Bäume des Waldes etc. und Hinwegführen des gewonnenen Gutes. Durch diese Tätigkeit beraubt der Mensch den Boden eines sehr großen Kapitals an Nährstoffen, die sonst durch Verwesung der Pflanzenleichen diesem zugute gekommen wären, und die Folgen der Verarmung des Bodens äußern sich alsbald in einem kümmerlichen Gedeihen der Vegetation der ge-

<sup>1)</sup> Vgl. S. 25.

<sup>2)</sup> In Ann. med. bot. Buitenzorg, VII, S. 213 bis 224 (1888).

<sup>3)</sup> In Engler, Jahrb., XX, S. 505 (1895) u. „Die Heide Norddeutschlands”. In Engler u. Drude, „Die Vegetation der Erde”, V. S. 88 (1901).

<sup>4)</sup> Ward in Ann. of Bot. XIII, S. 52 (1899).

schädigten Bestände. Jahrhundertelange Erfahrungen haben den Menschen lange schon, bevor es eine wissenschaftliche Agrikulturchemie gab, gelehrt, daß man den durch das Hinwegführen der Pflanzen geschädigten Boden wieder für neue, ihren Vorgängern gleichwertige Generationen brauchbar machen muß. Diese künstliche Bereicherung des Bodens mit Nährstoffen, ein Verfahren, ohne welches eine rationelle Landwirtschaft nicht möglich wäre, nennt man Düngung. Wir wollen in den folgenden Zeilen die wichtigsten Arten der Stickstoffdüngung betrachten.

Die allverbreitete Mistdüngung, durch welche dem Boden tierische Exkremente zugeführt werden, versorgt die Pflanzen auch mit Stickstoff, doch ist sie diesbezüglich, namentlich anspruchsvolleren Gewächsen gegenüber, bei weitem nicht ausreichend. Denn im Mist kommt der Stickstoff in höherwertigen (Eiweiß)-Verbindungen vor, und wird durch die bereits geschilderte Tätigkeit der Proteolyten und ähnlicher Organismen in die Form von Ammoniak gebracht, das dann zum Teile entweder direkt oder nach erfolgter Nitrifikation als Salpetersäure der grünen Pflanze zugute kommt, ohne aber (in vielen Fällen) deren Bedürfnisse auch nur annähernd zu decken, zum Teile aber den Pflanzen dadurch entzogen wird, daß es verdunstet oder aber nach der Umwandlung in Salpetersäure ausgewaschen wird. Ein Teil der Eiweißverbindungen des Mistes kann überdies durch Denitrifikationsorganismen zur Abgabe freien Stickstoffes gezwungen werden.

Die Verwendung anderer Stickstoffdüngemittel ist demnach ein unabweisbares Bedürfnis. Vor allem kommen anorganische Stickstoffverbindungen in Betracht und unter diesen stehen naturgemäß die Nitrate an erster Stelle, und zwar eignen sich diejenigen am besten, welche als metallischen Bestandteil eines jener Elemente enthalten, welches gleichzeitig mit dem Stickstoff für die Pflanze ein Nahrungsmittel ist. Über den großen Wert des Kalisalpeters — einer Verbindung, welche auf natürlichem Standorte als Auswitterungsprodukt des Bodens in Ungarn und Ostindien (Kehrsalpeter) vorkommt, in Ungarn und Schweden aber aus Jauche, Erde, Kalk und Pottasche künstlich dargestellt wird<sup>1)</sup> — sind schon längst alle Stimmen einig. Für die rationelle, mit dem großen Faktor Geld rechnende Landwirtschaft hat er nur einen schwerwiegenden Nachteil, daß er nämlich relativ sehr kostspielig ist. Man verwendet daher schon seit langem andere Düngemittel; so z. B. den in einem ausgedehnten Lager von 40 bis 80 cm Mächtigkeit in Peru an der chilenischen Grenze auftretenden Natron (Chili-)Salpeter, der, wie schon erwähnt, wahrscheinlich pflanzlichen Ursprunges ist<sup>2)</sup> und das Ammoniumsulfat

<sup>1)</sup> Aus Krug: Leitf. anorg. Chem. Münster 1878.

[(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>], ein Kunstprodukt, das man bei der Leuchtgaserzeugung durch Sättigung des Ammoniakwassers mit Schwefelsäure erhält.<sup>1)</sup> Doch auch diese Verbindungen sind nicht allzu billig und in betreff der ersteren steht überdies zu befürchten, daß die großen Vorräte des chilenischen Lagers doch einmal zu Ende gehen können.

Es hat daher in neuester Zeit nicht an Bemühungen gefehlt, den Stickstoff der Luft auf künstliche Weise zu binden. Den Weg hierzu hat die Natur selbst, welche durch den elektrischen Funken den Stickstoff zu oxydieren weiß, gewiesen. Experimente, welche die Firma Siemens und Halske in diesem Sinne unternimmt, sind allerdings noch zu keinem endgiltigen Abschlusse gekommen, dürften aber immerhin, wie Alfred Koch der 74. Versammlung der Gesellschaft deutscher Naturforscher und Ärzte in Karlsbad<sup>2)</sup> mitteilte, schließlich zu einem günstigen Resultate führen. Auch die Bemühungen, den Stickstoff auf chemischem Wege zu binden, sind bisher noch nicht von Erfolg gekrönt gewesen.

Damit sind aber die Möglichkeiten der Entstehung gebundenen Stickstoffes noch keineswegs erschöpft. Wie wir früher gehört haben, hat ja die Natur auch gewissen Organismen, den Stickstoffbakterien, die Fähigkeit verliehen, das Azot zu binden, und es verdanken beispielsweise die Leguminosen dem Zusammenleben mit diesen Lebewesen ihre bevorzugte Stellung als Stickstoff speichernde Pflanzen. Es war daher sehr naheliegend, die Leguminosen direkt als Düngemittel zu benützen. Dieses Gründüngung genannte Verfahren wurde bereits von den alten Römern angewendet. Plinius tut des Vermögens gewisser Leguminosen, ohne Düngung zu gedeihen und den Boden zu verbessern, im 18. Buche seiner „Historia naturalis“ Erwähnung.<sup>3)</sup> Die Römer verwerteten denn auch schon diese Erfahrung, indem sie Bohnen und vielleicht auch Lupinen zur Gründüngung benutzten. Gustav Freytag sagt in dem Roman „Die verlorene Handschrift“ (1864) über dieses Verfahren: „Endlich blieb der Landwirt vor einem Flurstück stehen, sah liebevoll darauf und erzählte, daß er dies Stück durch Unterpflügen grüner Lupinen — einer damals neu eingeführten Kultur — gedüngt habe. Der Professor hielt überrascht an. Er erzählte dem Landwirt, wie das Unterackern der grünen Hülsenfrucht einst bei den Römern bräuchlich gewesen, und wie er erfreut sei, daß jetzt nach anderthalb Jahrtausenden dieser Fund in unseren Wirt-

<sup>1)</sup> Aus Krug a. a. O.

<sup>2)</sup> A. a. O.

<sup>3)</sup> „Pinguescere hoc satu (lupinorum) arva vineasque diximus. (Hist. nat. lib. XVIII, cap. XXXVI.) „Et vicia pinguescunt arva, nec ipsa agricolis opiosa: uno sulco sata, non sarritur, non stercoratur, nec aliud quam deocatur“ (l. c. cap. XXXVII).

schaften wiederum entdeckt sei." Die zur Gründung zu verwendenden Lupinen, Wicken etc. braucht man nicht auf gutem Boden zu kultivieren, sondern sie gedeihen, wie schon hervorgehoben, auch auf völlig an gebundenem Stickstoffe freiem Substrate, unter der Voraussetzung, daß sie die ihnen zusagenden Stickstoffbakterien vorfinden. Ist dies nicht der Fall, so ist immer noch an eine Impfung des Bodens mit den Bakterien zu denken. In den letzten Jahren sind nämlich in dieser Hinsicht große Fortschritte gemacht worden. Es hat sich herausgestellt, daß, wie ja zum Teil schon erwähnt wurde,<sup>1)</sup> keineswegs alle Leguminosen für alle Bakterien gleich empfänglich sind, daß vielmehr für verschiedene Leguminosengattungen ganz verschiedenartige Bakterienrassen existieren, daß die Wirkungsfähigkeit eines Bakteriums nach der gesammten Lebensenergie der zu infizierenden Leguminose eine sehr verschiedene ist und man durch Steigerung der letzteren die virulentesten Bakterien im Boden isolieren kann, daß die Virulenz geschwächter Bakterienformen durch fortgesetzte Überimpfung der aufeinanderfolgenden Generationen in immer neue jugendliche Leguminosenpflanzen sich erhöhen läßt, daß man die Bakterien unter annähernder Erhaltung ihrer Virulenz vermehren kann u. s. w.<sup>2)</sup> Mit diesen Erfahrungen ausgerüstet, wird man vielleicht in der Folge die Leguminosen selbst auf den ungünstigsten Böden zu einer ganz beträchtlichen Steigerung in der Stickstoffansammlung zwingen und sie so noch zu viel vortrefflicheren Gründungsmitteln und auch Körner- und Futterpflanzen machen können, als sie es ohnehin schon sind.

In den letzten Jahren ist man auch an die Lösung des Problems geschritten, die Stickstoffbindung im Boden durch Impfung mit Stickstoffbakterien zu erhöhen. Der Einwand, daß in einem Boden, der für Bakterien geeignet ist, diese ohnehin schon vorhanden sind, während in einem für dieselben nicht tauglichen auch die Impfung nichts nützt, scheint nach neueren Untersuchungen nicht gerechtfertigt zu sein. Wenn auch die Versuche Caron's mit den Alinit genannten Reinkulturen von *Bacillus Ellenbachensis*<sup>3)</sup> Fiasko erlitten haben, so muß dies nicht in der Verfehltheit des Prinzipes liegen, sondern kann auch in der Unzulänglichkeit der dermaligen Kenntnisse über die Lebensbedingungen dieser Bakterien seinen Grund haben. Allerdings wird man sich, da *Clostridium Pasteurianum* und *Azotobacter* weit verbreitete Bakterien sind, von einer Impfung des Bodens mit Stickstoffbakterien nur dann Erfolg versprechen dürfen, wenn man an bestimmten Orten nicht

<sup>1)</sup> Vgl. S. 32.

<sup>2)</sup> Nach Remy a. a. O.

<sup>3)</sup> Es ist übrigens mehr als zweifelhaft, daß *B. Ellenbachensis* wirklich Stickstoff assimiliert. Vgl. S. 26.

allgemein verbreitete, besonders stark stickstoffassimilierende Bakterien vorfindet, und diese an solchen Organismen armen Feldern einimpft. Man wird dabei natürlich auch darauf achten müssen, daß man den Bakterien, die für ein gedeihliches Wirken entsprechenden Lebensbedingungen bietet.

Eine andere, viele praktische Erfolge versprechende Art der Bereicherung des Bodens mit Stickstoff besteht darin, daß man, selbständig in den Kreislauf des Stickstoffes eingreifend, die Tätigkeit und Vermehrung der schon in den Böden vorhandenen Bakterien fördert. Nur ist bei solchen, in den natürlichen Gang der Dinge eingreifenden Versuchen größte Vorsicht geboten, da ja jedes geringfügige Zuviel in einer Richtung ein Zuwenig in einer anderen zur Folge hat. Es ist Sache eines rationellen Betriebes, dieses Zuwenig, wenn das Zuviel Nutzen bringen soll, zu einem indifferenten oder doch möglichst wenig schädigenden Faktor zu gestalten. Nach Caron soll die vorteilhafte Wirkung der Brache zum Teil darauf beruhen, daß durch diese Art der Kultur das Leben und Wirken der stickstoffbindenden Bodenbakterien begünstigt wird.<sup>1)</sup> Tatsächlich kann nach den neuesten Erfahrungen durch Brache wesentlich an Stickstoffdünger gespart werden, und selbst auf besseren Böden läßt sich durch diese Maßregel der Reinertrag steigern. In den Wäldern ist bekanntlich Düngung nicht so notwendig. Obwohl mit dem Holze beträchtliche Quantitäten von Stickstoff hinweggeführt werden, erhalten sich die Wälder doch in frischer Jugendkraft. Der Grund dieser Erscheinung liegt auch in der Tätigkeit im Waldesgrunde arbeitender Bodenbakterien. In Fällen nun, in welchen sich dennoch Bodenmüdigkeit einstellt, wäre zu untersuchen, ob ein Zurückgehen der Bakterien die Schuld hat und eine entsprechende Impfung mit neuen Formen könnte vielleicht dem Bestande zu seinem alten Glanze verhelfen.

Die Frage, welche Art der Stickstoffdüngung, gleiche Kosten vorausgesetzt, die beste ist, läßt sich in Anbetracht der unendlich mannigfachen Ansprüche, welche diverse Pflanzen in bezug auf den Stickstoff stellen und der großen Verschiedenheit der einzelnen in verschiedenen Fällen in Betracht kommenden Faktoren überhaupt wohl kaum jemals generell beantworten. Die Landwirtschaft kann zufrieden sein, wenn sie einmal in der Lage sein wird, in jedem Einzelfalle die richtige Antwort zu geben. Dies zu erreichen ist aber eines der wichtigsten Ziele der vereinigten bakteriologischen und agrikulturnchemischen Forschungsrichtung. Gerade hierin liegt die eminente Bedeutung des Studiums der Stickstofffrage in nationalökonomischer Beziehung.

---

<sup>1)</sup> Nach Alfr. Koch a. a. O.

