

# Biologie der Knöllchenbakterien der Leguminosen im Lichte neuerer Forschung.

Vortrag, gehalten in der botanischen Sektion des Naturwissenschaftlichen Vereines für Steiermark am 6. März 1907

von

Dr. Franz Fuhrmann,  
Privatdozent an der Technischen Hochschule zu Graz.

---

Es ist eine längst bekannte Tatsache, daß bei der Ernte des Klees eine Düngung der betreffenden Felder überflüssig ist und daß Klee und kleeartige Pflanzen auch auf Äckern üppig zu gedeihen vermögen, die nicht nur nicht gedüngt wurden, sondern vorher durch längere Zeit mit Getreidearten bepflanzt waren. Nachdem noch durch die Untersuchungen von Lawes und Gilbert bekannt wurde, daß gerade die Kleearten den Boden mit Stickstoff bereichern, trennte man die Kulturpflanzen in zwei große Gruppen, indem man die Vertreter der Familie Schmetterlingsblütler als Stickstoffmehrer den übrigen Kulturpflanzen, wie Halmfrüchten, Ölsaaten etc. gegenüberstellte und letztere als Stickstoffzehrer bezeichnete.

Diese praktischen Erfahrungen konnten allerdings über den Vorgang der Stickstoffmehrung im Boden durch die Leguminosen keinen Aufschluß geben. Dazu bedurfte es der Entdeckung besonders organisierter Gebilde an der Leguminosenpflanze selbst und der richtigen Erkenntnis deren Funktion auf Grund exakter Experimente.

Knöllchenartige Gebilde oder, besser gesagt, Gallen, beschrieb schon Malpighi im Jahre 1687 an den Wurzeln von Leguminosen. Von der krankhaften Natur dieser Gebilde war auch noch de Candolle im Jahre 1825 überzeugt. Erst Treviranus sah in den Knöllchen der Leguminosen normale Gebilde, deren feineren Bau erst die Untersuchungen von Wor-

nin aus dem Jahre 1866 aufdeckten. Der genannte Forscher konnte feststellen, daß die Knöllchen von allseits geschlossenen Zellen aufgebaut sind und daß diese Zellen eine große Menge von Bakterien beherbergen. Diese gewiß höchst bedeutende Tatsache fand erstmals in den Untersuchungen von Frank insofern eine Stütze, als der genannte Forscher allerdings ebenfalls in den Zellen Mikroorganismen nachwies, die er aber für pilzartige sporenbildende Organismen hält, was mit den Angaben von Woronin im Widerspruch steht. Eine mächtige Anregung und wenigstens eine vorläufige Klärung der Ansichten über die Natur der Leguminosenknöllchen brachten die schönen Untersuchungen von Hellriegel, deren Ergebnis äußerst kurz gefaßt folgendes war: die Leguminosen decken ihren Stickstoffbedarf nicht nur aus den Stickstoffverbindungen des Bodens, sondern machen sich auch den elementaren Stickstoff der Atmosphäre nutzbar und gebrauchen diese Stickstoffquelle in ausgiebiger Weise. Die Möglichkeit der Aufnahme des elementaren Stickstoffes ist aber an das Vorhandensein der Wurzelknöllchen gebunden, die wieder durch bestimmte Bakterien des Erdbodens verursacht werden. Noch mehr, die Bakterien müssen in den Knöllchen tätig sein und nur unter Mitwirkung beider kann die Pflanze elementaren Stickstoff aufnehmen, beziehungsweise assimilieren. Es bedurfte harter Kämpfe, ehe diese biologische Auffassung der Bedeutung der Knöllchen sich durchrang und allgemeine Aufnahme und Anerkennung fand. Unmittelbar vor Bekanntwerden der Hellriegelschen Untersuchungen und der weiteren Ausgestaltung durch seinen Mitarbeiter Wilfarth brachten Brunhorst und Tschirch eine andere Ansicht über die Ursache der Knöllchenbildung bei Leguminosen. Es sollte sich nach den negativen Resultaten bei den Reinzüchtungsversuchen der fraglichen Knöllchenerreger auf den üblichen künstlichen Nährsubstraten durch die genannten Forscher gar nicht um lebende Mikroorganismen, Bakterien, handeln, vielmehr wären die in den Knöllchen auffindbaren Gebilde nur in ihrer Form den Bakterien ähnlich, in Wahrheit aber nichts anderes als Produkte eiweißartiger Natur der Pflanze selbst. Brunhorst bezeichnete diese Gebilde entsprechend der Ähnlichkeit derselben mit Bakterien als Bakterioiden, ein

Name, der auch auf die echten Bakterien der Knöllchen überging und ihnen noch bis heute blieb. Es schlossen sich die meisten Botaniker dieser neuen Theorie an, unter ihnen auch Frank, von dem dieser Schritt noch wunderlicher erscheint, da ja gerade er einer von den ersten war, die seinerzeit für die Tätigkeit, zumindest Anwesenheit von pilzartigen Organismen in den Knöllchen eintraten.

Diese Brunhorst-Tschirsch'sche Theorie wurde erst im Jahre 1888 endgiltig durch die von Beijerinck das erste mal mit Erfolg ausgeführte Reinzucht der Erreger der Knöllchen abgetan. Beijerinck gelang es nämlich, auf einer bestimmt zubereiteten Gelatine aus frischen Knöllchen Bakterienkolonien zu erhalten, deren Bakterien mit den in den Knöllchen wachsenden identisch waren. Der vollständig beweisende Infektionsversuch wurde aber erst von Prazmowski an der Erbse ausgeführt. Der erstgenannte Forscher benützte zur Reinzucht eine Abkochung von Papilionaceenblättern, die er mit 7 proz. Gelatine,  $\frac{1}{4}$  proz. Asparagin und  $\frac{1}{2}$  proz. Rohrzucker versetzte. Dieses Nährsubstrat mußte eine saure Reaktion besitzen und es stellte sich heraus, daß die für das Wachstum optimale Säuremenge  $0.6 \text{ cm}^3$  Normalsäure in  $100 \text{ cm}^3$  Nährsubstanz betrug. Wenn nun Beijerinck frische Leguminosenknöllchen in Wasser mechanisch reinigte und dann in Alkohol kurze Zeit desinfizierte, um die aus dem Erdboden stammenden, außen ansitzenden Bakterien zu vernichten, endlich den Alkohol durch Äther verdrängte und diesen verdunsten ließ, dann mit einem sterilisierten Messer die äußerlich keimfreien Knöllchen zerschnitt und von dem austretenden Saft auf die oben beschriebene Papilionaceengelatine verimpfte, erhielt er kleine schleimige und Gelatine nicht verflüssigende Kolonien, die später Prazmowski treffend mit Stearintröpfchen verglich. In den von solchen Kolonien hergestellten Hängetröpfchen konnte nun Beijerinck zwei verschiedene Zellgestalten unter dem Mikroskope beobachten. Einmal zeigten sich winzig kleine Formen, deren Länge kaum den tausendsten Teil eines Millimeters betrug und deren Breite nur ungefähr den vierten Teil der Länge ausmachte. Er bezeichnete sie als Schwärmer, denn sie waren ausgezeichnet beweglich. Daneben fand er größere

Bakterien von Stäbchenform, deren Länge das 4—5fache der Schwärmer betrug und die ungefähr eintausendstel Millimeter breit waren. Er benannte sie einfach Stäbchen. An beiden konnte eine Sporenbildung nicht beobachtet werden. Sie waren auch gegen höhere Temperaturen sehr wenig widerstandsfähig, denn eine kurze Erwärmung auf 70° C. tötet sie ab. Schon Beijerinck konnte die Beobachtung machen, daß in alten Reinkulturen ganz ähnliche Wuchsformen entstehen, wie wir sie in dem Inhalt der Knöllchen zu finden gewohnt sind.

Es galt nun zunächst, die Frage zu lösen, wie die Erreger der Knöllchen in die allseits geschlossene Wurzel der Leguminosen einzudringen vermögen. Daß der Erdboden sehr reich an diesen Bakterien ist, haben die bezüglichen Untersuchungen von Hiltner, Nobbe, Schmid und Hotter ergeben. Daß eine Infektion damit in der Tat geschieht, hatten schon die Infektionsversuche von Ward ergeben, der zeigen konnte, daß an *Vicia faba* jede Knöllchenbildung ausblieb, wenn sie in sterilisierter Nährlösung in Form einer Wasserkultur aus dem Samen gezogen wurde. Sobald er aber nachträglich frische zerschnittene Knöllchen von dieser Pflanze, die in gewöhnlichem Boden wuchs, zwischen die Wurzelhaare brachte, trat alsbald Knöllchenbildung ein. Außerdem ergaben die exakten Untersuchungen Hellriegels und Wilfarths die Tatsache, daß die jungen Pflanzen einer Infektion mit diesen Bakterien unterworfen sind und daß dieselben tatsächlich in die Wurzel eindringen und sich in ihr verbreiten. Beijerinck sprach nun die Ansicht aus, daß die Schwärmer wegen ihrer geringen Dimensionen die Poren der Zellmembranen passieren können und so in das Innere der Wurzel gelangen. Prazmowski gelangte bei seinen gelungenen Impfversuchen der Erbsenpflanze mit Reinkulturen der Erreger der Knöllchen zu wesentlich anderen Ergebnissen, deren Richtigkeit nicht zu bezweifeln ist. Der genannte Autor züchtete seine Leguminosen in sterilen Sand- oder Wasserkulturen und infizierte mit Reinkulturen der Knöllchenbakterien. Nach einigen Tagen untersuchte er die Wurzeln, besonders die Wurzelhaare. Er fand unmittelbar unter der hirtentabartig gekrümmten Wurzelhaarspitze bereits Bakterienkolonien. An dem gekrümmten Ende konnte er Wand-



verdickungen mit tüpfelartigen Stellen beobachten. Gerade diese Verdickungen mit angehäuften Bakterien erwiesen sich als untrügliches Zeichen der stattgehabten Infektion. Im nächsten Stadium umgibt sich die Bakterienanhäufung mit einer derben glänzenden Membran, die mit der Zellmembran verwächst. Aus dieser Anhäufung wächst nun ein glänzender Schlauch gegen die Basis des Wurzelhaares, der mit Bakterien vollständig erfüllt ist. Nach Durchsetzung des ganzen Haares dringt der Bakterienschlauch in die Rindenzellen ein und durchsetzt sie ebenfalls und gelangt durch fortwährendes Durchbohren der Zellwände weiter. So dringen die Bakterien in tiefere Schichten der Wurzelrinde ein und durch den dabei ausgeführten Reiz auf die betroffenen Zellen werden diese zur Teilung angeregt, wodurch ein Zellkomplex entsteht, der aus kleinen dünnwandigen Zellen besteht. Auch in diese neugebildeten Zellen treten Ausläufer des Bakterienschlauches ein und verbreiten sich in denselben. Dadurch ist die Grundlage für das entstehende Knöllchen gegeben, das sich durch weitere forbierte Teilungen der Zellen aufbaut. Durch diese Ergebnisse der Untersuchungen von Prażmowski ist auch eine Klärung der Frage über die Natur der schlauchartigen Bildungen in den Wurzelhaaren der Leguminosen gegeben. Frank sah ja schon viel früher die von Prażmowski richtig gedeuteten Fadenbildungen und hielt sie für das Myzel eines höheren Pilzes. Baijerinck erblickte in den Bakterienschläuchen „Überbleibsel der Kerntonnen, welche nach beendigter Zellteilung nicht vollständig zum Cytoplasma und dem Zellkerne zurückwandern“, und bezeichnete sie als „Schleimfäden“ oder „Kerntonnenfäden“.

Sobald sich die Bakterien im jungen Knöllchengewebe angesiedelt haben, erleiden sie eine Reihe von Veränderungen, die sie nur mehr bakterienähnlich erscheinen lassen; sie werden in Bakterioiden umgewandelt. Wenn man nun den Inhalt der Knöllchen von verschiedenen Leguminosen untersucht, so findet man bei den verschiedenen Vertretern derselben sehr verschiedene Formen, die den Gedanken nahe legen, daß die Erreger der Knöllchen nicht einheitlicher Art sind. Mit der Artenfrage haben sich besonders in neuerer Zeit Nobbe, Schmid, Hiltner und Hotter beschäftigt. Schon Beijer-

inck hatte auf Grund der sowohl in künstlichen Nährsubstraten auftretenden Formen der Knöllchenbakterien als auch der in den Knöllchen entstehenden Gestalten derselben zwei Gruppen aufgestellt. Obzwar die erstgenannten Forscher auf Grund sehr eingehender und genauer Untersuchungen zum Schlusse kamen, daß die verschiedenen Erreger nicht verschiedene Arten vorstellen, vielmehr nur Anpassungsformen an die einzelnen Wirtspflanzen, so konnten doch einige Erscheinungen, die dagegen sprechen, nicht außer acht gelassen werden. Hiltner und Nobbe konnten ja die *Pisum*- und *Phaseolus*-Bakterien durch fortdauernde Impfungen in einander überführen. Doch machte Kirchner die Erfahrung, daß trotz der Anwesenheit von ungefähr 100 Leguminosenarten, die alle Knöllchen bildeten, die mit ihnen wachsenden Sojapflanzen nur dann Knöllchenbildung aufwiesen, wenn der Boden mit japanischer Sojaerde geimpft wurde. Dem gegenüber bemerkt aber Ferdinand Cohn, daß die im botanischen Garten von Breslau wachsenden Sojapflanzen immer Knöllchen aufweisen, ohne der Impfung mit japanischer Erde zu bedürfen. Wir finden dafür eine Erklärung in den Untersuchungen von Hiltner und Störmer, denen es bis zu einem gewissen Grade gelang, die einheimischen Lupinenbakterien in Sojabakterien überzuführen. Zur Klärung dieser Frage trugen nun die Untersuchungen von Hiltner wesentlich bei, aus denen hervorgeht, daß sich die Lupinen- und Seradellabakterien in ihren Ansprüchen an die künstlichen Nährsubstrate ganz anders verhalten, als die Bakterien der meisten übrigen Leguminosen. Später unternahmen Hiltner und Störmer neuerlich Untersuchungen zur Klärung der Artenfrage, die nun zu dem wesentlichen Ergebnisse führten, daß man zur Zeit berechtigt ist, zwei gesonderte Gruppen von Knöllchenenerregern aufzustellen, die sich nicht nur in morphologischer, sondern auch in physiologischer und biologischer Hinsicht scharf unterscheiden lassen. Diese Gruppen wurden von den genannten Forschern jedoch mit der Beschränkung aufgestellt, daß sie nur solange gelten, als es nicht erwiesen ist, daß sie sich in einander überführen lassen. Demnach unterscheidet man zur Zeit die Art: „*Rhizobium radicola*“ und „*Rhizobium Beijerinckii* H. et St.“ Der

augenfälligste Unterschied beider liegt darin, daß sich die erstere Art auf gelatinösen Nährböden verhältnismäßig leicht züchten läßt und die Anpassungsformen der meisten Leguminosenbakterien umfaßt mit Ausnahme der Erreger der Lupinen-, Serradella- und Soja-Knöllchen, die eben in der Art *Rhizobium Beijerinckii* H. et St. zusammengefaßt sind. Die letzteren sind überdies auf Gelatine-Nährsubstraten gar nicht oder nur sehr schwierig zu züchten, dafür aber auf besonderem Nähragar. Auf die morphologischen Unterschiede kommen wir noch eingehender zurück.

Wir wollen uns nun zunächst genauer mit den Wachstumseigentümlichkeiten der Knöllchenbakterien in den verschiedenen künstlichen Nährsubstraten befassen und besonders die Einflüsse jener Stoffe auf die Knöllchenbakterien berücksichtigen, die in der Natur bis zu einem gewissen Grade ebenfalls auf die Bakterien zur Wirkung gelangen können. Wie wir bei der Besprechung der Reinzuchtversuche von Beijerinck bereits erfahren haben, wachsen die Knöllchenbakterien auf der Papilionaceengelatine als Stäbchen und Schwärmer, welch' letztere Form sozusagen die Grundgestalt vorstellt. Unter den gegebenen Ernährungsbedingungen und bei fortwauernder Überimpfung dürfte es zur Ausbildung der übrigen Formen des Entwicklungskreises oder zur Bildung von Bakterioiden überhaupt nur schwer kommen. Nur in älteren Kulturen oder, besser gesagt, unter dem Einfluß gewisser Stoffe treten die Bakterioiden auch in künstlichen Kulturen in den Vordergrund. Die ersten diesbezüglichen Mitteilungen verdanken wir Stutzer, der den Nachweis erbrachte, daß gewisse organische Säuren im Nährsubstrat die Bildung von Bakterioiden ganz wesentlich förderten. Es wurde dagegen zwar von Hartleb der Einwand erhoben, Stutzer hätte überhaupt keine Knöllchenbakterien gehabt und gerade saure phosphorsaure Salze seien die Ursache der Bakterioidenbildung in den Kulturen. Doch dagegen konnten wieder Hiltner und Störmer experimentell nachweisen, daß Hartleb irrte, wenn er gerade den sauren phosphorsauren Salzen bei der Bakterioidenbildung eine Rolle zusprach.

Hiltner und Störmer untersuchten nun eine Reihe



von stickstofffreien und stickstoffhaltigen Verbindungen genau auf ihre Fähigkeit, die Bakterioidenbildung zu fördern oder zu hemmen. Vor allem zogen sie in den Bereich ihrer Experimente den Einfluß der Samenauscheidungsstoffe auf Knöllchenbakterien. Der Einfachheit halber wollen wir diesbezüglich je einen Vertreter der ersten Gruppe, *Rhizobium radicicola*, und der zweiten, *Rhizobium Beijerinckii*, wählen. Für die erste Gruppe diene als Beispiel das Erbsenknöllchenbakterium, für die zweite das Sojabakterium. Es wurden nun ganze, unverletzte oder zermahlene Samen der genannten Pflanzen in destilliertem Wasser quellen gelassen und in die klar filtrierte Flüssigkeit etwas von jungen Reinkulturen der Knöllchenbakterien eingebracht. Nach einiger Zeit entnahmen die genannten Forscher Proben und untersuchten im Präparat unter dem Mikroskop die Veränderungen der eingesäeten Bakterien in Bezug auf ihre Form. Aus allen diesen Versuchen Hiltners und Störmers geht hervor, daß das Quellwasser von Leguminosensamen Stoffe enthält, die die Bildung von Bakteroiden im allgemeinen fördern. Es soll sich hier insbesondere um pektinartige Stoffe handeln, die nicht direkt das Wachstum der Bakterien hemmen, sondern im Gegenteil unterhalten und nur die Bildung normaler Bakteroiden auslösen. Die gequollenen Samen verlassen aber auch lösliche Eiweißstoffe, die ebenfalls eine Förderung des Wachstums zur Folge haben. Daneben war aber auch ein Körper nachweisbar, der mit Platinchlorid einen Niederschlag gibt und sicherlich ein Kaliumsalz ist. Dieser Körper und noch einige andere vorläufig unbekannter Natur hemmen direkt das Wachstum und bewirken einen körnigen Zerfall der Bakterien, sobald sie in größerer Menge anwesend sind und nicht durch die gleichzeitige Gegenwart genügender Mengen von Eiweißstoffen sozusagen unschädlich gemacht werden.

Bei den in den Knöllchen wohnenden Bakterien spielt für die Ernährung gewiß die Stärke eine hervorragende Rolle, freilich nicht als Stärke, sondern als das Umwandlungsprodukt Traubenzucker. Es lag nahe, daher zuerst die Wirksamkeit dieses Monosaccharides auf den Einfluß der Bakterioidenbildung zu untersuchen. Zu dem Ende benützten Hiltner und Störmer



eine Auflösung von 1 g Traubenzucker in 100 ccm Leitungswasser. Wurden nun in diese sterilisierte Lösung junge Erbsenbakterien aus Reinkulturen eingepft, so wiesen diese nach verschiedenen Zeiten folgende Veränderungen auf: Nach 7tägigem Wachstum zeigte das mit Karbolfuchsin gefärbte Ausstrichpräparat eine ausgesprochene Differenzierung des Bakterienplasmas. Dabei waren die Zellen sowohl in der Länge als auch in der Breite ganz bedeutend vergrößert. Das Plasma ließ deutlich zwei verschiedene Bestandteile erkennen, wovon sich der eine mit Karbolfuchsin besonders intensiv färbte und so ordentlich hervorleuchtete. Mitunter zeigte auch das ganze vergrößerte Bakterium eine stärkere Tinktion. Gewöhnlich sammelte sich aber die stärkerfärbbare Substanz an einer Stelle des Bakterienleibes und zeigte in seltenen Fällen Aussprossungen. Nach 14 Tagen traten diese Erscheinungen noch auffallender in den Vordergrund. Schon von Beginn an hatte die stärker tingierbare Substanz noch die Eigenschaft, sich mit Jodtinktur braunrot zu färben zum Unterschied von dem übrigen Inhalt, der sich nur reingelb mit Jodtinktur färbt. Hiltner und Störmer führten auch für diese beiden Substanzen Namen ein und bezeichnen die starklichtbrechenden, sich mit Jodtinktur rotbraun färbenden Partien als „Kernplasma“, das sie der übrigen Zellsubstanz dem „Ernährungsplasma“ gegenüberstellen. Es wäre nur noch zu erwähnen, daß vorher schon Prażmowski, Frank und Möller die mit Jod sich dunkel färbende Substanz gesehen hatten, darüber aber keine eingehenden Studien anstellten.

Wurden nun die Sojabakterien in gleiche Lebensbedingungen gebracht und nach gleichen Zeiten untersucht, wiesen sie wesentlich andere Formen auf. Es fand keine Vergrößerung der Zellen in allen Dimensionen statt, sondern sie waren hauptsächlich verlängert und nur gering verdickt. Allerdings wiesen sie ebenfalls beide Substanzen, das Kernplasma und Ernährungsplasma getrennt auf. Doch ersteres zeigte die Tendenz, sich besonders an einem Ende der Zelle, wo sich eine leichte Auftreibung bilden kam, zu sammeln und die Zelle dort zu verlassen, auszusprossen, wie sich Hiltner und Störmer ausdrücken. Wir finden dann an tiefrotgefärbten kugelförmigen Gebilden die

schwach gefärbten, wenig verlängerten und kaum verbreiterten Stäbchen hängend.

Aus Versuchsreihen mit verschiedenen Konzentrationen der Traubenzuckerlösung zwischen 5 und 0·01 % ergab sich die Tatsache, daß für die Bildung der Bakterioiden oder bzw. der oben beschriebenen Formen eine Konzentration zwischen 0·1 und 1 % Dextrose am geeignetsten erscheint.

Schon früher hatte Hiltner nachzuweisen versucht, daß für das Ausbleiben der Knöllchenbildung in stickstoffreichen Nährböden nicht die leichte Zugänglichkeit des Stickstoffes in diesen Verbindungen für die Pflanze die Ursache ist, sondern daß vielmehr der Salpeter selbst auf die Knöllchenbakterien direkt einwirkt. Hiltner und Störmer führten diese Versuche weiter und benützten Lösungen von Salpeter in Konzentrationen von 0·02—2 %. Schon nach dreitägigem Wachstum der verimpften Pisumbakterien zeigten sich bei einem Gehalte von 0·1—0·5 % Salpeter ganz auffallende Veränderungen, die besonders in einer Verlängerung und Verzweigung der eingesäeten Bakterien bestanden. Die Verlängerung betrug ungefähr das Zehnfache der ursprünglichen Länge. Karbolfuchsinpräparate zeigten noch keine Scheidung in ein stark und schwach färbbares Plasma. Wurden dagegen Sojabakterien in den gleich konzentrierten Salpeterlösungen gezüchtet, so trat ebenfalls eine bedeutend stärkere Verlängerung der Zellen ein, doch fanden sich die Verzweigungen nur seltener. Hier erwies sich für die Bildung der ebenfalls protoplasmatisch nicht differenzierten Bakterioiden eine Konzentration von 0·05 % am wirksamsten. Höhere Konzentrationen über 0·5 % zeigten sich zwar für das Wachstum der Bakterien günstig, nicht aber für die Bildung von Bakteroiden.

Auch Lösungen von Asparagin in der Konzentration von 0·1 % erwiesen sich für die Bakterioidenbildung beider Gruppen als brauchbar. Es fand sich auch eine Differenzierung in Kern- und Zellplasma. Ersteres zeigte sogar Aussprossungen, also Verhältnisse, die wir schon bei der Traubenzuckerzucht kennen lernten.

Auch 1 %ige Peptonlösungen wurden versucht, wobei sich aber herausstellte, daß Sojabakterien darin sehr gut wuchsen,

daß aber weder bei diesen noch Vertretern der Gruppe *Rhizobium radicum* Bakterioidenbildung eintrat.

Wir wollen nun sehen, wie die aus Traubenzucker und besonderen Stickstoffverbindungen kombinierten Nährlösungen wirken. Züchtet man Erbsenbakterien in einer Lösung von 1 % Traubenzucker und einem Gehalt von 0.02 bis 2 % Salpeter durch 14 Tage, so ergeben mit Karbolfuchsin tingierte Ausstrichpräparate folgende Verhältnisse: Bei einem Gehalt von 0.02 bis 0.5 % Salpeter finden sich mächtige Bakterioiden, die sich nur schwach färben, Stäbchen und Kugelgestalt zeigen und oft drei bis vier kurze Verzweigungen aufweisen. Nach dreiwöchentlichem Wachstum trat in den Kulturen neben der starken Vermehrung der Bakterioiden eine Schleimbildung in den Vordergrund, die eine milchige Trübung der Zuchten bewirkte. Die in 0.02 % Salpeter-Traubenzuckerlösung angegangenen Bakterioiden zeigten eine schöne Differenzierung des Protoplasmas, dessen netzartige Struktur auffallend war. Zu dieser Zeit fanden sich nur mehr Spuren von Salpeter in den Kulturen. Nach Hiltner und Störmer ergaben diese Versuche die interessante Tatsache, daß auf Erbsenbakterien der Einfluß des Salpeters auch in Traubenzuckerlösungen unverkennbar hervortritt. „Sie ist namentlich gekennzeichnet durch das Auftreten von Verzweigungen, netzige Struktur des Plasmas und außerordentliche Größe der Bakterioiden. In dem Maße, als der Salpeter in den schwächeren Lösungen von den Organismen verbraucht wird, macht sich die Wirkung des Traubenzuckers durch das Hervortreten stärker sich tingierender, durch Jodtinktur rotbraun erscheinender Gebilde geltend, die viel größer werden, als in reiner Traubenzuckerlösung.“

Bringt man die Sojabakterien in die gleichen Nährlösungen, so findet eine viel geringere Vermehrung derselben statt und die Schleimbildung tritt sehr zurück. In den Lösungen mit 0.02 % Salpeter haben sich sehr lange Fäden gebildet, deren Plasma sich nur wenig färbt, die aber sich besonders stark tingierende große Aussprossungen tragen, welche mit zunehmen-

dem Salpetergehalt der Nährlösung kleiner werden. Dieses Verhalten deutet an, daß hier deshalb die Traubenzuckerwirkung in den Vordergrund tritt, weil die Sojabakterien den Salpeter nur wenig verarbeiten. Letzteres erweist die einfache Reaktion mit Diphenylamin, die immer sehr stark ausfällt, weil eben fast kein Salpeter aufgespalten wurde.

Ganz ähnliche Resultate geben Zuchtversuche mit Traubenzucker als Kohlenstoff und Asparagin als Stickstoffquelle. Erst dann, wenn der größte Teil des Asparagin aufgezehrt ist, beginnt die Plasmadifferenzierung in die mit Jodtinktur gelb und braunrot färbbare Substanz.

Hiltner und Störmer untersuchten noch den Einfluß von Peptonlösungen mit 1 % Traubenzuckergehalt und konnten auch für diese Stickstoffquelle dieselben Verhältnisse nachweisen. Erst nach ausgiebigem Verbrauch des Peptons trat die Plasmadifferenzierung bei allen daraufhin untersuchten Knöllchenbakterien ein.

Die beiden Forscher erbrachten auch den Beweis, daß saure phosphorsaure Salze auf die Bakterioidenbildung keinen Einfluß haben, sofern nicht gleichzeitig eine besondere Kohlenstoffquelle zugegen ist, was eben die Angaben Hartlebs widerlegt. Für diese Versuche wurde Mono- und Dikaliumphosphat verwendet.

Hartleb und Störmer untersuchten noch zehn verschiedene Kohlehydrate auf ihren Einfluß auf die Bakterioidenbildung von Pisum, Robinia und Sojabakterien. Sie verwendeten Lösungen von Raffinose, Maltose, Mannit, Galaktose, Arabinose, Xylose, Stärke, Saccharose, Laktose und Laevulose. Die stickstofffreien Lösungen dieser Kohlenhydrate zeigten eine erheblich geringere Wirkung als die mit einem Zusatz von 0.1 % Asparagin. Es stellte sich noch die bedeutsame Tatsache heraus, daß in erster Linie Laevulose wirksam ist und daß dieser Zucker wieder am intensivsten auf die Sojabakterien wirkte, während davon die Erbsenbakterien nur wenig beeinflusst wurden.

Die Untersuchungen Hiltners und Störmers über den



Einfluß verschiedener organischer Säuren hatten das Ergebnis, daß von solchen die Bakterioidenbildung in der Tat gefördert wird und daß hiebei besonders die Bernsteinsäure wirkt, während die Zitronensäure fast wirkungslos ist.

Wir haben also dargetan, daß die Bakterioidenbildung auch in künstlichen Kulturen außer dem Leguminosenknöllchen statthaben kann und daß sich dabei die gleichen Formen bilden wie im Knöllchen. Auch besteht ein auffallender Unterschied in der Form dieser Bildungen zwischen den Vertretern der von Hiltner und Störmer aufgestellten Gattungen *Rhizobium radicicola* und *Rhizobium Beijerinckii*.

Tatsache ist es, daß man in Reinkulturen und auch in den Knöllchen Bakterien findet, deren Protoplasma eine Scheidung in zwei wohldifferenzierte Substanzen erkennen läßt. Schon die einfache Reaktion mit Jodtinktur zeigt, daß sich nicht etwa der Inhalt der Zelle in bestimmten Gebieten zusammengezogen hat, denn in der hellgelb gefärbten Bakterienzelle liegt eben der rotbraune Körper. Noch deutlicher wird dies im gefärbten Präparat, wo auch die schwach tingierten Plasmapartien Differenzierungen in Vakuolen und Netze mitunter noch recht gut erkennen lassen. Die nähere Untersuchung des sich rotbraun färbenden Körpers durch Hiltner und Störmer hat nun ergeben, daß es sich nicht um eine einheitliche Substanz handelt, sondern um eine eiweißartige Grundsubstanz, der selbst das Vermögen, auszusplassen, innewohnt und um einen eingelagerten Körper, der eben die Jodreaktion gibt und anscheinend im normalen Knöllchen verarbeitet und wieder regeneriert werden kann. Denn schon die beiden genannten Autoren sahen sowohl in Reinzuchten als auch im Knöllcheninhalt zahlreiche, in der Form typisch veränderte Bakterien, deren Inhalt die Rotbraunfärbung bestimmter Teile nicht gab, so beispielsweise Aussprossungen, die sich in Jodtinktur nur gelb färbten. Frank bekräftigt diese Tatsache noch durch die Beibringung der Befunde von zweierlei Knöllchen an der Erbse, deren Inhalt wesentlich verschiedene Bakterioiden enthält. Der genannte Forscher spricht daher von Amylodestrinknöllchen und Eiweißknöllchen. Die Bakterien der ersteren zeigen in ihrem Inhalt den mit Jod sich rotbraun

färbenden Körper, während die Bakterioiden der letzteren nur eine Gelbfärbung ihrer Verzweigungen aufweisen. Nur die stärker lichtbrechenden Gebilde der letzteren sollen das Vermögen besitzen, sich mit Anilinfarblösungen intensiv zu tingieren. Übrigens konnte Möller bereits zeigen, daß der mit Jod sich rotbraun färbende Körper nicht Amylodextrin ist, sondern dem Glykogen nahe steht. Möller tritt auch der Anschauung Franks von dem Bestehen zweier verschiedener Arten von Knöllchen entgegen. Wie sich nachher durch die Untersuchungen von Hiltner und Störmer herausstellte, waren eingedrungene Hyphen eines fremden Pilzes die Ursache für das differente Aussehen des Inhaltes dieser Knöllchen. Außerdem bewirken Unterbrechungen in den Leitungswegen zwischen Knöllchen und übrigen Wurzeln eine bedeutende Ansammlung von der sich mit Jod rotbraun färbenden Substanz, die nach Wiederherstellung normaler Verhältnisse verschwindet. Hiltner und Störmer konnten nun bezüglich der chemischen Natur der Aussprossungen von Sojabakterien im Knöllchen vorläufig den Nachweis erbringen, daß eine protoplasmatische Grundsubstanz mindestens zwei Körper bildet, von denen der eine die Glykogenreaktion mit Jod gibt und von Heinze direkt als Glykogen angesprochen wurde, während der andere sich mit Chloroform ausziehen läßt und nach dem Verdunsten des Lösungsmittels als guttaperchaähnliche Masse zurückbleibt. Beide Stoffe erwiesen sich als völlig stickstofffrei.

Hiltner und Störmer bringen weiters gerade diesen mit Jodtinktur sich rotbraun tingierenden Körper in einen ursächlichen Zusammenhang mit der Stickstoffassimilation im Knöllchen der Pflanze. Da zum Beispiel bei der Sojapflanze gerade im Anfangsstadium des Stickstoffhungers diese Substanz in großer Menge gebildet wird und dann nach dem Ergrünen der Blätter rasch verschwindet, schließen die genannten Autoren auf eine Aufzehrung derselben durch die Pflanze. Hand in Hand damit geht aber das Verschwinden des Stickstoffhungers und das weitere Gedeihen der Pflänzchen. Außerdem geht aus den Frank'schen Versuchen hervor, daß in abnormen, vom Stoffaustausch mit der Pflanze abgeschnittenen Knöllchen der Erbse eine reichliche Ansammlung des glykogen-

artigen Stoffes (chromatische Substanz) statt hat, der nach Herstellung normaler Verhältnisse wieder verschwindet.

Nach Hiltner und Störmer kann also die Leguminose erst dann elementaren Stickstoff gewinnen, wenn die Bakterioiden in den Knöllchen die mit Jodtinktur braunrot sich färbenden Körper ausbilden. Dies geschieht nun nach den früheren Ausführungen besonders dann, wenn die Kohlenhydratnahrung überwiegt und die sonst zugänglichen Stickstoffquellen fast vollständig aufgebraucht sind. „Nicht die Bakterioiden selbst werden also in normal tätigen Knöllchen von den Pflanzen resorbiert, sondern nur gewisse, durch einseitige Ernährung mit Kohlenhydraten in großer Menge entstehende Plasmateile derselben, die entweder schon selbst das Produkt einer Stickstoffsammlung darstellen oder die erst bei ihrer Vereinigung mit von der Pflanze herrührenden Stoffen Stickstoff binden,“ wie Hiltner im II. Kapitel „Die Bindung von freiem Stickstoff durch das Zusammenwirken vom Schizomyceten und von Eumyceten mit höheren Pflanzen“ in Lafars Handbuch der technischen Mykologie, II. Band, auf Seite 52 schreibt.

Aus den Untersuchungen von Hiltner und Störmer geht allerdings hervor, daß mit dem Abnehmen des sich mit Jod rotbraun färbenden Körpers in der Tat die Assimilation des elementaren Stickstoffes Hand in Hand geht, doch über den dabei waltenden Vorgang sind wir nicht imstande, zu urteilen. Bei der modernen Auffassung der weitverbreiteten Tätigkeit von Enzymen bei den verschiedensten Lebensvorgängen liegt der Gedanke nahe, auch die Übertragung des elementaren Stickstoffes durch ein Enzym bewirken zu lassen, das von den Knöllchenbakterien gebildet wird, und zwar hauptsächlich dann, wenn die nötige Stickstoffquelle in Form von aufnehmbaren löslichen Verbindungen mangelt. Es tritt ja der gewisse oder die gewissen Stoffe, von denen einer die Glykogenreaktion mit Jod gibt, erst dann in nennenswerter Weise oft diffus über das Protoplasma verteilt auf, wenn die gelösten Stickstoffverbindungen verbraucht sind. Im übrigen muß ein direkter Zusammenhang zwischen Stickstoffernährung und braunrot färbbarem Körper gar nicht bestehen, wenn man den ganzen Prozeß

auf enzymatische Tätigkeit zurückführt. Wie mir gegenüber Prof. Reinitzer äußerte, wäre auch daran zu denken, daß dieses Stickstoff übertragende Enzym von den Knöllchenbakterien in die umgebenden Zellen des Knöllchens abgegeben werden könnte und extrazellulär durch das Knöllchen die Pflanze mit Stickstoff in einer Form versehen könnte, die vielleicht ein Oxydationsprodukt desselben darstellt und von der Pflanze direkt verwertbar wäre. Die Ansicht Stoklasas geht ja auch dahin, daß von den Knöllchenbakterien ein Enzym erzeugt würde, das aber der Saftstrom der Pflanze in alle oberirdischen Teile entführt und hauptsächlich in den Blättern deponiert, wodurch diese befähigt würden, elementaren Stickstoff zu binden. Dies ist aber zumindest höchst unwahrscheinlich und erscheint zum Teil dadurch widerlegt, daß die Pflanzen nach Entfernung der Knöllchen sofort Stickstoffmangel zeigen, wie es Hiltner experimentell nachwies. Mir scheint damit allerdings nur bewiesen, daß die Auffassung Stoklasas insofern falsch ist, als er meint, daß die Leguminose nach reichlicher Enzymbildung in den Knöllchen dieselben entbehren könnte, da ja das in den oberirdischen Teilen der Pflanze aufgestapelte Enzym für die Stickstoffbindung durchs ganze Leben ausreichen müßte.

Bisher haben wir die Bakterioidenbildung nur in Bezug auf die Formveränderungen und auf den Einfluß bei der Aufnahme des elementaren Stickstoffes besprochen. Es erscheint mir aber zumindest zweifelhaft, daß die dabei genannten Bildungen lediglich zum letztgenannten Zweck entstehen, vielmehr meine ich, daß mindestens ein Teil derselben auch für die weitere Erhaltung der Art von Wichtigkeit ist. Schon im Jahre 1898 hat Hiltner den Ausspruch getan, daß die Bakterioiden der Leguminosenknöllchen unvollkommene Sporangien darstellen, nachdem schon Brunhorst und Moeller bei den Erregern der Knöllchen von Erlen in gewissen Entwicklungsstadien derselben Sporangien erblickten. Hartleb geht in der Beschreibung der sich an den Zellen der Leguminosenbakterien abspielenden Vorgänge noch viel weiter. Er beschreibt ganz richtig die Bildung von Kugeln in den Ästen und Verzweigungen der Bakterioiden, die sich durch besonderes Lichtbrechungs-



vermögen auszeichnen. In diesen Kugeln sieht Hartleb Sporen, deren Plasma in kleinere Gebilde zerfallen kann, die dann als Schwärmer austreten. Diese Zoosporen können auch in der Spore verbleiben, dort zu Stäbchen auswachsen und nach Platzen der Sporenmembrane frei werden und in Bakterioiden übergehen. Sie sind jedenfalls bewegungslos und können sich auch durch Spaltung vermehren. Nach Hartleb soll es sogar zu Kopulationsvorgängen und zur Ausbildung von Zygoten kommen, Dinge, die Nachuntersucher noch nicht zu bestätigen vermochten. In dieser Frage muß ich ebenfalls den Standpunkt Hiltners einnehmen und erklären, daß es sich bei den Auftreibungen der Bakterioiden, bzw. bei den mit Anilinfarben stark tingierbaren, kondensierten Plasmateilen um eine Art von Sporangium handelt, sofern ich die an anderen Bakterien gefundenen Ergebnisse auf die Knöllchenbakterien übertragen kann. Es handelt sich hier um Ergebnisse, die ich an *Pseudomonas cerevisiae* erhielt, einer Bakterienart, die in ihrer Begeißelung und ihrer Formenbildung im Entwicklungskreis dem *Rhizobium Beijerinckii* H. et. St. nahe steht. Moore vereinigt geradezu alle Knöllchenbakterien in einer Art „*Pseudomonas radiclecola*.“ Mein *Pseudomonas cerevisiae* bildet nun bei der Zucht in anorganischen Nährlösungen unter Zusatz von Traubenzucker als Kohlenstoffquelle und Chlorammonium oder Kaliumnitrat als Stickstoffquelle analoge Formen wie die Sojabakterien. In endständigen Auftreibungen sammeln sich stärker lichtbrechende Kügelchen, die sich mit wässrigen Anilinfarben intensiv färben und beispielsweise mit wässriger Methylenblaulösung eine rote Farbe annehmen, während das übrige Plasma blau erscheint. An den Abbildungen kann man sofort die große Ähnlichkeit feststellen. Außerdem verlassen einzelne Kügelchen die Bakterienzelle und diese können sich in kleinste Gebilde zerteilen, die nun in der Flüssigkeit umherschweben. Ihre Größe entspricht ungefähr der für Schwärmer der Knöllchenbakterien von Beijerinck angegebenen. Leider ist es mir bisher nicht gelungen, diese kleinsten Gebilde weiter zu verfolgen und ihr Schicksal festzustellen. Die großen Kugeln finden wir aber im Detritus alter Kulturen wieder und aus ihnen bilden sich durch einfaches Auswachsen in die Länge

neue Generationen von beweglichen Stäbchen. Für diese Formen konnte ich nun eine beträchtliche Resistenz gegenüber erhöhten Salzkonzentrationen und Austrocknung feststellen. Wir sehen in ihnen jene Gebilde, die für die Erhaltung der Art von der größten Bedeutung sind. Nun meine ich, daß wir in den im Bakterioid sich herausdifferenzierenden, stark färbbaren Kügelchen ebensolche Gebilde erblicken können. Ich glaube, daß gerade diese Formen beim Zerfall der Knöllchen die Erhaltung der Art besorgen. Leider sind über die Resistenz dieser Gebilde gegen Austrocknung keine Angaben zu finden. Jedenfalls sind wir berechtigt, im Verein mit den meisten Autoren die Deutung der Bakterioiden als Involutionenformen zurückzuweisen. Erst jüngst begegnete man der Involutionenformtheorie wieder in einer Untersuchung von Stefan über Knöllchenbakterien. Der genannte Untersucher schließt auf die Natur von Involutionenformen einfach daraus, daß Blau in seinen Sporenarbeiten auf einen Fall hinweist, wo *Bacillus cylindricus* in seinem Inneren Kugeln enthält, die sich als Plasmaanhäufungen entpuppten und nicht keimungsfähig waren. Wenn Stefan am Schlusse dieses Absatzes sagt: „Ebensolche Involutionenformen, welche weiterer Teilung unfähig sind, stellen die Bakterioiden vor“, so ist dies ein durch nichts gestützter Schluß, da von ihm unter dem Mikroskop gewiß das Nichtkeimungsvermögen nicht beobachtet wurde.

Ganz allgemein gilt die Regel, daß die Dauerformen eines Bakteriums dann entstehen, wenn die Ernährungsbedingungen mangelhaft werden. In den von Hiltner und Störmer ausgeführten Zuchtversuchen in Traubenzuckerlösungen mit einfach zusammengesetzten Stickstoffquellen stellten sich die eigenartigen Plasmadifferenzierungen dann ein, wenn die Stickstoffquelle sozusagen aufgebraucht war. Das Gleiche gilt von meinen an *Pseudomonas* ausgeführten Versuchen. In der Pflanze finden wir auch ähnliche Bedingungen. Nicht reaktionslos wird die Pflanze die Infektion durch die Knöllchenbakterien hinnehmen. Dies deuten schon die Membranbildungen um den sogenannten Infektionsschlauch Franks an. Es geschieht das Gleiche, als wenn ein anderer Fremdkörper in

gesundes Gewebe eindringt. Wie wir später sehen werden, besitzt die Pflanze auch Stoffe, die den Bakterien direkt schädlich sind und die man allgemein als Antikörper bezeichnet. Dadurch nun, daß diese schädigenden Agentien einwirken, werden Formen von den Bakterien ausgebildet, die widerstandsfähiger sind und diesen ungünstigen Bedingungen trotzen. Erhält die Pflanze nun die Überhand, so kann es sogar zu einer Vernichtung der Eindringlinge kommen und wir erhalten sterile Knöllchen, die ebenfalls schon beobachtet wurden. Weiters ist es eine bekannte Tatsache, daß nur gewisse Vegetationsformen des parasitischen Bakteriums für den Wirt schädliche Substanzen produzieren oder auf ihn direkt schädlich einwirken. In der Medizin kennt man dies schon lange und weiß, daß Bakterien nur dann virulent sind, wenn sie von einer jungen Kultur stammen und sich in ihrer vegetativen Entwicklungsperiode befinden. Bei den Knöllchenbakterien mögen ähnliche Verhältnisse walten und die Bakterioiden sind eben jene Formen, die für die Pflanze nicht mehr schädlich sind und mehr der Erhaltung der Art dienen. Deshalb erscheint es auch einleuchtend, daß eine Schädigung der Pflanze eintreten kann, wenn die Knöllchenbakterien nicht in kurzer Zeit in Bakterioiden übergehen. Es sind tatsächlich Fälle bekannt geworden, wie Hiltner berichtet, wo die Knöllchenbakterien sich als reine Parasiten der Pflanze gegenüber verhielten, wobei sie sich aber nicht in Bakterioiden umwandelten.

Damit sind wir aber bereits zur Erörterung des Verhältnisses zwischen eingedrungenen Knöllchenbakterien und Wirtspflanze gelangt.

Bisher war man ganz allgemein gewohnt, das Zusammenleben von Knöllchenbakterien und Leguminosen als besonders schönes Beispiel von Symbiose darzulegen, die so weit geht, daß schließlich der kleinere Mitbewohner, das Bakterioid, in den meisten Fällen von der Pflanze aufgefressen wird zum Dank für die Brauchbarmachung des elementaren Stickstoffes. In seiner Pflanzenphysiologie vergleicht Jost die Leguminosen mit fleischfressenden Pflanzen und läßt die pilzfressenden Pflanzen, also die Leguminosen mit noch raffinierteren Mitteln

arbeiten als die erstere. Sie ziehen die Symbionten groß, nachdem sie sie in ihr Protoplasma gelockt. Nachdem diese ihr Möglichstes an Aufstappeln von Eiweißstoffen geleistet hätten, würden sie einfach verzehrt und so behandelt, wie ein anderer stofflicher Bestandteil der Pflanze, der im Stoffwechsel schließlich verbraucht wird. Nach den Untersuchungen von Hiltner liegen die Dinge wesentlich anders. Die Knöllchenbakterien verhalten sich bei der Infektion der Leguminose wie echte Parasiten. Nachdem sie wahrscheinlich mit Hilfe eines Enzyms die Membran der Scheitelzelle des Wurzelhaares gelöst haben, dringen sie ein und der so einstürmenden Bakterien sucht sich die Pflanze mit allen Mitteln zu erwehren. Bei jungen, kräftigen Pflanzen kommen die Bakterien in eine schlimme Lage, denn bevor sie sich noch in anscheinend widerstandsfähigere Bakterioiden umgewandelt haben, verfallen sie der Resorption. Dies trifft besonders dann zu, wenn die Knöllchenbakterien der betreffenden Leguminose nicht genügend angepaßt sind, bezw. gegen die Immunkörper der Pflanze nicht selbst genug gefestigt sind. In der Anpassung der Knöllchenbakterien können wir mit gutem Grund eine verschieden starke Immunisierung der Bakterien selbst gegen die pflanzlichen Schutzstoffe erblicken. In der Größe dieser Anpassung haben wir die sogenannte Virulenz gemessen. Hiltner hat nun auf diese Virulenzverhältnisse hingewiesen und eine große Reihe diesbezüglicher Versuche angestellt. Ganz eigenartig ist beispielsweise das Verhalten der Zellkerne der Pflanzenzellen. Diese ziehen den Infektionsschlauch sozusagen an, denn man sieht ihn innier den Kernen genähert. Bei der nun folgenden Bekämpfung der eingedrungenen Bakterien scheint auch der Kern eine hervorragende Rolle zu spielen, und wenn er Sieger bleibt, dann wandeln sich die Bakterien sofort in Bakterioiden um. Nobbe, Hiltner und Störmer vermochten auch nachzuweisen, daß eine Virulenzsteigerung der an eine Leguminose angepaßten Knöllchenbakterie für diese möglich ist. Nach Hiltner kann man nun den Virulenzgrad folgendermaßen abstufen:

1. Die Bakterien vermögen überhaupt nicht in die Wurzel einzudringen, wobei zu bemerken ist, daß dabei das passende Angriffsenzym für die entsprechende Leguminosenart fehlt.



Es kann aber bei der Anpassung langsam gebildet werden. Dies spricht für eine Wandelbarkeit dieses Enzyms.

2. Die Bakterien vermögen in das Wurzelhaar einzudringen, verfallen aber bei den Weiterwanderungsversuchen in kürzester Zeit der Resorption. Hierbei kann es zu geringen Wurzelanschwellungen kommen, die aber alsbald wieder verschwinden.

3. Es glückt den Bakterien das Eindringen und Erzeugen der Knöllchen vollständig, doch werden sie früher resorbiert, bevor sie sich in ihre Schutzform, die Bakterioiden, umzuwandeln vermögen. Dann haben wir sogenannte unwirksame Knöllchen vor uns, wie sie von Nobbe und Hiltner an Lupinen und verschiedenen anderen Leguminosen gesehen wurden.

4. Die eingedrungenen Bakterien erzeugen das Knöllchen und wandeln sich dann in wirksame Bakterioiden um, mit anderen Worten, sie haben wenigstens vorübergehend die Oberhand über die Pflanze gewonnen.

5. Die Umwandlung der eingewanderten und nun im gebildeten Knöllchen sitzenden Bakterien in Bakterioiden geht nur sehr langsam vor sich, wodurch die Pflanzen eine länger andauernde Schädigung erfahren.

6. Die Bakterien bleiben dauernd Parasiten der Pflanzen und schädigen sie fortwährend, weil sie sich nicht in den avirulenten Bakterioidenzustand begeben. Es kommt so zu einer schon von Beijerinck beobachteten Bakterienüberwucherung der Wurzel.

Wir sehen also, daß der Pflanze die Infektion keineswegs willkommen erscheint, sondern daß sie entsprechend den geschilderten Virulenzstufen verschieden reagiert. Weiters konnte Hiltner eine Immunität der befallenen Pflanzen indirekt höchstwahrscheinlich machen. Es zeigte sich nämlich, daß eine nachträgliche Infektion bereits infizierter Leguminosenwurzeln nur dann gelingt, wenn dazu virulentere Bakterien verwendet werden als zur ersten Infektion. Gleich virulente Bakterien bewirken dagegen keine weitere Knöllchenbildung. Außerdem erblickt Hiltner in der Stellung der Knöllchen an der Wurzel einen Beweis für seine Immunitätstheorie. In Wasserkulturen, wo die Wurzeln gleichmäßig eintauchen, zeigt es sich,

daß sie alle ziemlich regelmäßig mit Knöllchen versehen sind, die auch alle annähernd gleich groß werden. Sobald knöllchentragende Wurzelteile aus dem Wasser herausragen, vergrößern sich die Knöllchen an ihnen bedeutend und es werden in der Tiefe keine neuen mehr gebildet, man mag infizieren so oft man will. Auch die Erscheinung des Auftretens von Knöllchen an bestimmten Örtlichkeiten der Wurzel im Boden scheint dafür zu sprechen, denn wenn die Keimwurzel bereits infiziert wurde, erscheinen die übrigen Wurzeln dagegen gefeit. Wenn nun große Mengen für die Pflanze verfügbarer Stickstoffverbindungen vorhanden sind, so wird dieselbe bereits gut gedeihen und wegen ihres guten Ernährungszustandes dem Eindringen der Bakterien Einhalt tun. Ich halte diese Erklärung für zweckmäßiger und richtiger als die Annahme Hiltners, daß der Salpeter des Bodens direkt die Bakterien beeinflusst.

Dieser von Hiltner aufgestellten Immunitätstheorie trat nun Süchting entgegen und vertritt die Anschauung, daß die Pflanze selbst ohne Zutun einer Immunisierung imstande ist, sich bis zu einem gewissen Grade gegen die Infektion zu schützen. Die Infektion erfolge nur in dem Maße, als der gestörte Gleichgewichtszustand zwischen vorhandenen Antikörpern der Pflanze und Infektionsmenge es zuläßt. Herrscht wieder Gleichgewicht, ist jede Infektion unmöglich. Die Virulenzsteigerung gibt Süchting allerdings zu und ist auch geneigt anzunehmen, daß die Bakterioiden von der Pflanze dauernd beeinflusst werden.

Am Schlusse meiner Ausführungen angelangt, möchte ich nur noch eine Ansicht wiedergeben, die für die Stellung der Knöllchenbakterien im System von Bedeutung ist. Stefan berichtet darüber in einer im vorigen Jahr erschienenen Abhandlung. Der genannte Autor glaubt, im Infektionsfaden ein Entwicklungsstadium eines Myxobakteriums erblicken zu müssen, und erklärt dessen Gestaltung eben dem Plasmodiumzustand entsprechend. In der Myxobakterienstudie von Zukal äußert sich letzterer sehr ermutigend für die Anhänger dieser Anschauung, indem er selbst den Infektionsschlauch des *Rhizobium Leguminosarum* in den Bereich seiner Erörterungen zieht. Stefan sieht in den Anschwellungen des Infektionsfadens die

Anfänge der Konidiphörenbildung. Diese Erklärung hat nun gewiß manches für sich und ist einer eingehenden Nachuntersuchung gewiß wert, doch zur Zeit kann aus diesen spärlichen Angaben Stefans noch kein bindender Schluß gezogen werden.

Ich möchte Ihnen die Ansichten von Jamieson, soweit ich sie aus einem Referat kenne, noch kurz mitteilen, aber gleich bemerken, daß mit der experimentell erwiesenen Richtigkeit derselben sofort die ganzen bisherigen Anschauungen auf diesem Wissensgebiete stürzen müßten. Nach ihm gehören die Leguminosenknöllchen zu den pathologischen Gebilden, die ein echter Pilz hervorruft, der aber keineswegs für die Stickstoffbindung irgendwie in Betracht kommt. Da nun die Aufnahme von elementarem Stickstoff nur bei niederen Pflanzen mit Sicherheit nachgewiesen ist, die einen grünen Farbstoff besitzen, wie die Algen, und nicht bei den Pilzen und Bakterien, und da alle höheren Pflanzen ebenfalls diesen Farbstoff besitzen, so sind sie auch befähigt den elementaren Stickstoff gerade mit jenen Organen zu assimilieren, die das Chlorophyll führen. Die Blätter der höheren Pflanzen vermögen aber nur dann den Luftstickstoff aufzunehmen und zu verarbeiten, wenn die Epidermis dünn ist. Dies gilt namentlich für spezifisch ausgebildete Haare von Blättern, Blattstielen und Stengeln, in denen der genannte Autor die Assimilationszentren aufgefunden haben will. Mit Hilfe der üblichen Eiweißreaktionen will er in den Scheitelzellen von zellig aufgebauten Haaren Eiweiß in großen Mengen nachgewiesen haben, das ebendort entstanden sein soll. Er bezeichnet diese Haare als Albumingeneratoren. Daß das Eiweiß der Scheitelzellen nur mit dem elementaren Stickstoff gebildet worden sein soll, will der genannte Untersucher damit erhärten, daß dort im Scheitel zuerst im Haare Eiweiß nachweisbar wird und dann erst in die Pflanze wandert. Wir stehen hier einer neuen Theorie gegenüber, ohne uns irgendwie äußern zu können, wenn sie uns auch zum Teil vollständig unverständlich und mit unseren bisherigen theoretischen und praktischen Erfahrungen unvereinbar erscheint. Nur bezüglich exakte Nachuntersuchungen können sie erhärten oder für immer abtun.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen des naturwissenschaftlichen Vereins für Steiermark](#)

Jahr/Year: 1908

Band/Volume: [44](#)

Autor(en)/Author(s): Fuhrmann Franz

Artikel/Article: [Biologie der Knöllchenbakterien der Leguminosen im Lichte neuerer Forschung. 34-56](#)