

Mitteilungen.

41. G. Bredemann: Regeneration der Fähigkeit zur Assimilation von freiem Stickstoff des *Bacillus amylobacter* A. M. et Bredemann und der zu dieser Spezies gehörenden bisher als *Granulobacter*, *Clostridium* usw. bezeichneten anaeroben Bakterien.

(Vorläufige Mitteilung.)

(Eingegangen am 4. Juni 1908.)

Seit 1905 im Botanischen Institute der Universität Marburg unter der Leitung des Herrn Prof. ARTH. MEYER mit einer eingehenden Untersuchung der anaeroben bisher als *Amylobacter*, *Granulobacter*, *Clostridium* oder ähnlich bezeichneten Bakterien beschäftigt, möchte ich hier vorläufig kurz einige Ergebnisse dieser Untersuchungen mitteilen, da sich die Drucklegung der vollständig fertig gestellten umfangreichen Arbeit etwas verzögern wird.

Da es uns zunächst darauf ankam, zu entscheiden, wieweit die bisher in der Literatur erwähnten sich ähnelnden Formen, die man als *Amylobacter*, *Granulobacter*, *Clostridium* usw. bezeichnet hatte, verschiedene Spezies wären, und wieweit solche sich ähnelnde Spezies in der Natur vorkämen, habe ich mir zuerst eine möglichst große Anzahl von Original-„Spezies“ beschafft und dann auch selbst eine größere Anzahl von „Stämmen“ auf verschiedene Weise und aus verschiedenem Materiale, besonders aus Erde, welche ich mir aus allen Weltteilen besorgt hatte, isoliert.

Von diesen haben meinen Untersuchungen zugrunde gelegen:

A. Original-„Spezies“:

1. *Clostridium Pasteurianum* von WINOGRADSKI¹⁾;
2. *Clostridium Americanum* von PRINGSHEIM²⁾;

1) Arch. d. sciences biolog. T. III 1895 u. Centr. f. Bakt. II. Abt. 1902. IX.

2) Centr. f. Bakt. II. Abt. 1906. XVI. u. 1908. XX.

3. *Clostridium* α von HASELHOFF und BREDEMANN¹⁾;
4. *Clostridium* β von HASELHOFF und BREDEMANN¹⁾;
5. *Bac. amylobacter I* von GRUBER²⁾;
6. *Bac. saccharobutyricus* von v. KLECKI³⁾;
7. Ein sog. Gasphlegmonebazillus aus Säuglingskot;
8. *Granulobacter butyricum* von BEIJERINCK⁴⁾;
9. *Granulobacter pectinovorum* von BEIJERINCK und van DELDEN⁵⁾;
10. Buttersäurebazillus aus altem und
11. Buttersäurebazillus aus jungem Schabziegerkäse von v. FREUDENREICH und JENSEN⁶⁾.

B. Selbst isolierte Stämme, welche aus von folgenden Orten stammendem Materiale isoliert wurden:

12. Aus einer der Oberfläche einer Reispflanzung bei Buitenzorg vor dem Ackern entnommenen Erde;
13. aus derselben Erde;
14. aus einer Wiesenerde bei Pritzwalk (Brandenburg);
15. aus einer Erde von einer jungen Kakaopflanzung bei Soppo im Kamerungebirge;
16. aus einer Erde von einer jungen Kakaopflanzung bei Moliwe im Kamerungebirge;
17. aus einer Urwalderde bei Amani (Deutsch-Ostafrika);
18. aus einer vom Ufer eines stehenden Gewässers bei Kotapad in Brit.-Ostindien entnommenen Erde;
19. aus Erde des Botanischen Gartens in Marburg;
20. aus Weideland in Illinois (Nordamerika);
21. aus Ackerland des Gutes Buchholz bei Pritzwalk (Brandenburg);
22. aus Marschboden bei Husum;
23. von Möhren aus Marburg;
24. aus einem Termitenhaufen bei Kotapad (Brit.-Ostindien);
25. aus den Abhängen des Signalberges bei Tsingtau (Kiautschou);
26. aus einem Acker bei Hammerfest in Norwegen;
27. aus Reismehl von Marburg.

Die eingehend durchgeführte vergleichende morphologische und physiologische Untersuchung dieser Original-„Spezies“ und der selbst isolierten „Stämme“ führte zu dem überraschenden Ergeb-

1) Landw. Jahrbücher. 1906. XXXV.

2) Centr. f. Bakter. I. Abt. Bd. I. 1887.

3) Centr. f. Bakter. II. Abt. Bd. II. 1896.

4) Verhandl. d. Kgl. Akad. van Wetensch. Amsterdam II. Sectie. 1893
Deel I. No. 10.

5) Arch. Néerland sc. exact. et nat. (2) IX.

6) Centr. f. Bakt. II. Abt. 1906. XVII.

nisse, daß sie alle identisch waren und deshalb zu der Spezies *Bacillus amylobacter* A. M. et BREDEMANN zusammengefaßt werden mußten. Der Speziesname *Bac. amylobacter* A. M. et BREDEMANN ist aus später mitzuteilenden Gründen gewählt worden.

Bei den bislang im botanischen Institute ausgeführten Arbeiten über Bakterienspezies ist immer der Grundsatz festgehalten worden, daß Speziesdiagnosen und Bestimmungen von Bakterienspezies nur an solchem Materiale ausgeführt werden durften, welches einen längeren Zeitraum hindurch unter bestimmten Kulturbedingungen gehalten worden war; es hatte diese Behandlung den Zweck, die zu vergleichenden Stämme durch Einwirkung gleicher Verhältnisse möglichst gleichartig zu machen. Bei meinen Untersuchungen stellte sich heraus, daß die mir vorliegenden anaeroben Formen einer verhältnismäßig langwährenden teilweise auch speziellen Behandlung bedurften. Letzteres bezieht sich besonders auf die Original-„Spezies“. Diese waren durch die Vorbehandlung meist stark verändert, teilweise geschwächt, so daß nur durch besondere Behandlung die Normaleigenschaften wieder hervorgerufen werden konnten. Zu diesen vor der konstanten Behandlung wieder herzustellen Eigenschaften gehörte z. B. vorzüglich die Sporenbildungsfähigkeit und die Gärfähigkeit in stickstofffreier Nährlösung. Die Verschiedenartigkeit der von den verschiedenen Autoren gegebenen Beschreibungen ihrer „Spezies“ ist teilweise auf die verschiedenartige Behandlung dieser Spezies zurückzuführen.

Also erst nachdem eine Kräftigung und eine gleichartige Züchtung stattgefunden hatte, wurde zu einer Vergleichung aller „Spezies“ und Stämme geschritten. Dieselbe ergab dann, daß die an sich nicht großen Verschiedenheiten, welche die einzelnen Stämme und „Spezies“ untereinander zeigten, für alle charakteristischen Eigenschaften nicht größer waren, als die Variationen, die innerhalb ein und desselben Stammes vorkamen. Von diesen Eigenschaften seien als relativ konstante Eigenschaften genannt: Form und Größe der Sporen, Beweglichkeit, Färbbarkeit, Reservestoffe, Entwicklung bei verschiedenen Temperaturen, Kardinalpunkte der Temperaturen, Kardinalpunkte der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung, Sporenbildung und Oidienwachstum, Entwicklung auf verschiedenen Nährböden, wie Agar verschiedener Zusammensetzung, Gelatine mit und ohne Dextrose, Tötungszeiten der Sporen bei 100°, 80° und bei hohen Sauerstoffkonzentrationen; als relativ variable Eigenschaften seien genannt: Form und Größe der Oidien und Sporangien, Vorhandensein und Fehlen der Sporangien-

reste um die Spore („Sporenkapsel“), Verwertbarkeit der verschiedenen Kohlenstoffquellen, Menge und Zusammensetzung der Gärungsprodukte, Gas, Alkohole und flüchtige Säuren, Fähigkeit in stickstofffreier Nährlösung zu wachsen und Fähigkeit der Assimilation des freien Stickstoffs; bei der Assimilation des Stickstoffs selbst ist sehr variabel die Menge des auf 1 g verbrauchter Dextrose gebundenen Stickstoffs, der Einfluß der Kultur im Stickstoffstrome oder im offenen Kolben, Einfluß der Darreichung von verschiedenen stickstoffhaltigen Verbindungen auf die Größe der Stickstoffassimilation, Beziehungen zwischen Zuckerverbrauch, Säurebildung und Stickstoffbindung usw. Da, wie gesagt, in allen diesen Punkten bei einer gleichartigen Behandlung der Original-„Spezies“ und der von mir selbst isolierten „Stämme“ absolut kein durchgreifender Unterschied zwischen den einzelnen „Spezies“ und „Stämmen“ zu beobachten war, erschien es also geboten, die von mir untersuchten 11 „Spezies“ anderer Autoren und 16 von mir selbst isolierten, aus den verschiedensten Regionen der Erde stammenden „Stämme“ als zu einer Spezies gehörig zu betrachten.

Durch diese hier zum ersten Male scharf durchgeführte vergleichende Untersuchung sehr vieler unter verschiedenen Umständen erwachsenen Stämme einer Spezies wurde der exakte Beweis erbracht, daß die Variationsfähigkeit einer Bakterienspezies nicht größer zu sein braucht als die einer höheren Pflanzenspezies. Dabei ist es bemerkenswert und besonders hervorzuheben, daß die Spezies durch den Einfluß der verschiedenartigen Standorte nicht wesentlich verändert worden ist, in der Tat ein interessantes Resultat, wenn man bedenkt, daß die Stämme aus den verschiedensten Gegenden der Erde stammten.

Ferner ist bewiesen, daß eine Bakterienspezies über die ganze Erde verbreitet sein kann, so daß zu erwarten ist, daß die Bakterienflora der verschiedenen Gegenden doch nicht eine so große Mannigfaltigkeit an Spezies aufzuweisen braucht, als man vielleicht anzunehmen geneigt sein könnte.

Zu den von den verschiedenen Autoren als besonderes Speziesmerkmal in den Vordergrund gestellten Eigenschaften ihrer „Spezies“ gehört die Fähigkeit der Bindung des atmosphärischen Stickstoffs, die also auch für alle „Spezies“ und „Stämme“ nachgewiesen werden mußte, ehe wir dieselben als identisch betrachten durften. Die in unsere Hände gelangenden Original-„Spezies“ hatten, wie früher schon angedeutet, diese Fähigkeit nicht mehr, auch diejenigen nicht, bei denen ihre Autoren früher Stickstoffbindung beobachtet hatten;

von den von mir selbst isolierten Stämmen besaßen einige Stickstoffbindungsvermögen, andere nicht. Es gelang mir nun, bei allen Original-„Spezies“ und bei allen meinen „Stämmen“, bei welchen kein Stickstoffbindungsvermögen beobachtet werden konnte, dasselbe wieder hervorzurufen, und es zeigte sich, daß dann alle die Fähigkeit in gleichem Maße und ebenso besaßen, wie die „Spezies“, bei der WINOGRADSKY dieses Vermögen zum ersten Male gezeigt hatte.

Unsere Versuche ergaben, daß die Regeneration des Stickstoffbindungsvermögens bei allen Stämmen gleich leicht durchzuführen war, auch bei denjenigen „Spezies“, die sich schon sehr lange in künstlicher Kultur befanden und für die bislang eine Fähigkeit der Assimilation des freien Stickstoffs noch nicht festgestellt war.

Als besonders günstiges Mittel zur Regeneration hat sich die Kultur auf Erde enthaltenden Substraten erwiesen. Man kann sowohl in steriler Erde als auch in stickstofffreien WINOGRADSKYScher Nährlösung, welche mit nicht zu geringen Mengen steriler Erde versetzt ist, züchten. Die besten Resultate wurden nach dem ersteren Verfahren in folgender Weise erhalten: Reagenzgläser wurden ca. 6—8 cm hoch mit getrockneter und gesiebter Gartenerde gefüllt, diese mit Wasser gleichmäßig durchfeuchtet und ca. $\frac{3}{4}$ Stunden bei 150° im Autoklaven sterilisiert. Diese **absolut sterile** Erde wurde dann mit reichlichen Mengen des *Bac. amylobacter* geimpft. Ich verfuhr im allgemeinen so, daß ich von einer jungen morphologisch kräftigen aus allen Morphoden — lebhaft bewegliche Oidien und Sporangien und freie Sporen — bestehenden Kultur, die auf Dextrose-Agar im Vakuum bei einem Sauerstoffgehalt von 1 mg im Liter und bei 28° entstanden war, mehrere Ösen voll in sterilem Wasser verteilte, diese Aufschwemmung auf die sterile Erde aufgoß und letztere dann noch mit sterilem Wasser kräftig gleichmäßig durchfeuchtete. Diese geimpften Erdröhrchen wurden dann meist mehrere Wochen entweder im Vakuum oder auch bei völligem Luftzutritt bei Zimmertemperatur oder 28° sich selbst überlassen. Wurden dann kleine Mengen dieser Erden, etwa 1—2 g, in mit WINOGRADSKYScher stickstofffreier Nährlösung ca. 6—8 cm hoch gefüllte Reagenzgläser übertragen, so begann meist schon nach 12—24 Stunden eine kräftige Gärung; übertrug ich von dieser lebhaft gärenden Kultur nicht zu kleine Mengen in neue stickstofffreie Nährlösung, so trat auch in dieser bald Gärung und, wie sich durch die spätere Analyse herausstellte, auch Stickstoffbindung ein, die sich auch nach vielen Überimpfungen erhielt.

Eine nicht immer so prompt eintretende Wirkung konnte nach dem zweiten Verfahren erzielt werden durch einfachen Zusatz von absolut steriler Erde zur stickstofffreien Nährlösung und Einimpfen von nicht zu kleinen Mengen einer an sich in stickstofffreier Nährlösung keine Gärung hervorrufenden, aber morphologisch kräftigen jungen Kultur.

Kam es in einer stickstofffreien Nährlösung zu einem lebhaften Wachstum und einer lebhaften Gärung, so war mit dieser auch stets eine Stickstoff-Assimilation verknüpft, wie durch sehr zahlreiche Bestimmungen, deren genaue Zahlen später mitgeteilt werden sollen, bewiesen wurde. Die erhaltenen Stickstoffgewinne schwanken, wie das ja für alle bislang bekannten stickstoffansammelnden Organismen auch bekannt ist, in ziemlich weiten Grenzen. So wurden bei ca. 50 Versuchen Zunahmen von 0,35 bis 6,6 mg Stickstoff auf 1 g verbrauchter Dextrose gefunden, wobei die Verschiedenheiten bei einem und demselben Stamme ebenso groß waren als bei verschiedenen „Stämmen“ und „Spezies“, so daß von einer größeren oder geringeren stickstoffbindenden Kraft des einen oder anderen Stammes nicht die Rede sein kann.

Es muß zuletzt noch erwähnt werden, daß auch alle meine selbst isolierten „Stämme“, die anfangs Stickstoffbindung durchführten, sie nach einiger Zeit verloren, und daß ich sie danach alle wieder durch Erdbehandlung zur Stickstoffassimilation bringen konnte. Die regenerierte Fähigkeit war ebenso beständig und ebenso unbeständig wie die der frisch isolierten Stämme.

42. M. Mücke: Zur Kenntnis der Eientwicklung und Befruchtung von *Achlya polyandra* de Bary.

(Mit Doppeltafel VI.)

(Eingegangen am 5. Juni 1908.)

Über die Befruchtungsvorgänge, sowie über die cytologischen Verhältnisse bei den *Saprolegniaceen* sind in den letzten Jahren von drei Autoren Arbeiten erschienen, welche den Gegenstand eingehenden Untersuchungen unterziehen: von TROW (II), DAVIS und CLAUSSEN. TROWS Arbeiten haben *Achlya*-, die der beiden letzteren

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft](#)

Jahr/Year: 1908

Band/Volume: [26a](#)

Autor(en)/Author(s): Bredemann Gustav

Artikel/Article: [Regeneration der Fähigkeit zur Assimilation von freiem Stickstoff des Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann und der zu dieser Spezies gehörenden bisher als Granulobacter, Clostridium usw. bezeichneten anaeroben Bakterien. 362-367](#)