

26. W. Ruhland: Aktivierung von Wasserstoff und Kohlensäureassimilation durch Bakterien.

(Eingegangen am 20. Februar 1922. Vorgetragen in der Märzszitzung 1922.)

Im folgenden sollen in aller Kürze einige wichtigere Ergebnisse mitgeteilt werden, die während der beiden letzten Jahre bei einer durch die Württembergische Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften unterstützten Arbeit über die für die allgemeine Physiologie so interessanten wasserstoffoxydierenden autotrophen Bakterien erhalten wurden. Da die Arbeit bald an anderer Stelle in ausführlicher Form veröffentlicht werden wird und dort auch alles Nähere über die Apparatur, die Untersuchungsmethoden, ferner die zahlenmäßigen Versuchsprotokolle und Kurven mitgeteilt werden sollen, kann ich mich hier auf einige wichtige, den bisherigen Literaturangaben gegenüber erreichte Fortschritte unter Weglassung alles Theoretischen begnügen. Eine morphologisch-biologische Ergänzung meiner experimentellen Arbeit wird Herr stud. GROHMANN in absehbarer Zeit ebenfalls an anderer Stelle vorlegen.

1. Die Fähigkeit, die chemische Energie des freien Wasserstoffs zur Kohlensäureassimilation auszunützen, ist bei Bakterien recht verbreitet. Als typisch-heterotroph allbekannte Formen finden sich unter ihnen. Ihre Verbreitung in den höheren Bodenschichten und anderen Substraten ist eine ganz allgemeine.

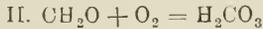
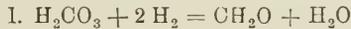
2. Alle neu aufgefundenen und studierten (aeroben) Formen sind, ebenso wie die wenigen bisher bekannten, und im Gegensatz zu den übrigen autotrophen Bakterien auch zu heterotropher Lebensweise befähigt, und deshalb leicht zu kultivieren.

3. Bezüglich der Kohlensäureassimilation ergeben die Versuche folgendes Bild: Im Gegensatz zu der Auffassung von KASERER, der die ersten Versuche über diese Organismen machte, sowie zu der von NIKLEWSKI, dem wir die letzte einschlägige und ausführliche Arbeit verdanken, wird die Kohlensäure nicht zunächst mit Hilfe des aktivierten Wasserstoffs reduziert und das Reduktionsprodukt (KASERER dachte an Formaldehyd, Kohlenoxyd oder Ameisensäure) z. T. sofort wieder zu Kohlensäure verbrannt, z. T.

synthetisch weiterverarbeitet¹⁾, sondern es liegt offenbar eine typische, langsame, direkte Wasserstoffverbrennung (Knallgasreaktion) vor, welche als die energieliefernde Reaktion für die Kohlensäurereduktion anzusehen ist. Letztere geschieht, wie bei grünen Pflanzen, unter Ausscheidung freien Sauerstoffs. Ein weiterer, sehr wichtiger Befund war folgender: Neben der Wasserstoffverbrennung und durch den antagonistischen Gaswechsel hinter ihr versteckt findet eine, bisher ganz übersehene langsame, freien und z. T. gebundenen Sauerstoff verzehrende, Kohlensäure produzierende Atmung statt. Sie dürfte es auch sein, welche die heterotrophe Kultur unserer Organismen ermöglicht, im Gegensatz zu den anderen autotrophen (nitrifizierenden, Schwefel-, Eisen- etc.) Bakterien, wo sie anscheinend fehlt.

4. Eisen, das hinsichtlich seiner Notwendigkeit umstritten ist, ist für die Assimilation unbedingt erforderlich und kann durch kein anderes Schwermetall ersetzt werden. Es muß als Ferrobikarbonat zur Verfügung stehen. Andere Ferro- oder Ferrisalze sind ebenso unwirksam wie „maskiertes“ Eisen. Es genügen die Spuren von Eisen, welche sich selbst in den reinsten Handelspräparaten der Nährsalze vorfinden. Schließt man das Eisen weiter bis zu einer für heterotrophe Ernährung noch voll genügenden Menge aus, so findet, wie leicht nachgewiesen werden konnte, niemals das

1) Wenigstens hierzu sei aus dem Beweismaterial ein kurzes Beispiel angeführt. Verliefe der Prozeß in den angedeuteten zwei Etappen (etwa nach KASERER):



so könnte, wenn der Quotient Q verbrauchter $\frac{\text{H}_2}{\text{O}_2}$ sich dem Wert 2 stark nähert, organischer kohlenstoffhaltiger Baustoff nicht entstanden sein. In Versuch 37 des Protokolls waren z. B. verbraucht 97,24 ccm H_2 und der gesamte Sauerstoffvorrat; 46,51 ccm O_2 (760 mm Hg-Druck, 0° C) Analysenfehler = 1,1 Volumpromille des Gesamtgases, gemessen an der Bilanz des freien Stickstoffs. Daraus folgt rund $Q = 2,09$. Bei der totalen Verbrennung der gebildeten Körpersubstanz ergaben sich, volumetrisch umgerechnet, 18,2 ccm Kohlendioxyd. (Verbrennung nach dem verbesserten MESSINGERSchen Verfahren, Titration im CO_2 -freien Luftstrom mit $\text{Ba}(\text{OH})_2$ in 2 gekoppelten WALTERSchen Flaschen nach O. WARBURG.) Diesem Volum Kohlensäure müßte ein gleiches Volum nicht zur Oxydation verbrauchten Sauerstoffs entsprechen, so daß sich, wie leicht zu berechnen, der unsinnige Wert $Q =$ ungefähr 3,4 ergeben haben müßte. Ein Gleiches lehrt die Kohlensäurebilanz, worauf hier nicht eingegangen sei. Für die Annahme einer doppelten Oxydation, d. h. des hypothetischen ersten Reduktionsproduktes neben der Veratmung eines Assimilatanteils, liegen keine Anhaltspunkte vor.

geringste Wachstum in autotropher Kultur statt, das dagegen sofort bei Eisenzusatz eintritt.

5. Der für grüne Algen von WARBURG aus Narkoseversuchen mit Blausäure gezogene Schluß, daß bei der Assimilation (Umwandlung der Kohlensäure in den Akzeptor) eine Eisenkatalyse an Oberflächen vorliegt, gilt offenbar auch für die Knallgasbakterien. Das wird insofern hier noch besonders gestützt, als sich bei Darbietung verschiedener Fe-Mengen zeigen läßt, daß dann proportional mit ihnen auch die zur Herabdrückung der Assimilation um denselben prozentualen Betrag erforderliche Blausäurekonzentration variiert.

6. Während Blausäure weit energischer als ihrer Adsorption entspricht, also wohl chemisch wirkt, hemmen andere Narkotika, unter denen besonders eine Reihe von Urethanen studiert wurde, ungefähr gemäß ihrem Adsorptionskoeffizienten.

7. Wird Kohlensäure in der Gasatmosphäre anorganischer Kulturen dauernd ausgeschlossen, so findet auch bei günstigstem pH der Lösung (Punkt 13) keine oder nur sehr langsame und oft schließlich stillstehende Wasserstoffverbrennung statt. Kräftige, Kohlensäure ausatmende Kalmhäute sind die Vorbedingung für das Gelingen dieses Versuchs. Knallgasverarbeitung erfolgt also nach Maßgabe der zur Verfügung stehenden Kohlensäure. Vielleicht entspricht hier dem nach WARBURG bei der Photosynthese in umkehrbarer Reaktion erzeugten energiereichen „Primärprodukt“ eine durch Anhäufung hemmbare chemische Umlagerung im Plasma. Möglich bleibt auch, daß die Kohlensäureatmung die der Dissoziationswärme entsprechende Energie bei der Wasserstoffaktivierung zu liefern hat.

8. Das Verhältnis des verbrauchten Wasserstoffs zum verbrauchten Sauerstoff ist in jüngsten Kulturen kleiner, später immer etwas größer als 2.

9. Die Bildung von Assimilationssauerstoff, der sogleich wieder in die Wasserstoffverbrennung hineingerissen wird, kann also keinem Zweifel unterliegen. Die Inkonstanz des Quotienten rührt von der Kohlensäureatmung her, die ebenfalls, je nach ihrem (z. B. durch den pH der Lösung und Narkotika geringer als die Assimilation) beeinflussten Ausmaß Sauerstoff verbraucht. Mit der Atmungsintensität wächst die Annäherung an den Quotienten 2.

10. Die meisten studierten Bakterien (besonders *Bacillus pycnoticus* n. sp., peritrich, Sporenbildner) können reines, elektrolytisches Knallgas verarbeiten und vertragen ausgezeichnet selbst noch

höhere Sauerstoffspannungen. Der Sauerstoff verschwindet bei genügender Wasserstoffmenge bis auf den letzten Rest.

11. Zu einer Denitrifikation von dargebotenem KNO_3 scheinen nur wenige Formen befähigt zu sein, welche, wie schon NIKLEWSKI zeigte, in sehr eigenartiger Weise, teils aerob, teils anaerob, oder unter beiden Bedingungen ausgeführt wird. Diese Fähigkeit wurde von LEBEDEFF trotz des Auftretens erheblicher Mengen freien Stickstoffs ganz übersehen, der deshalb aus seinen, mit KNO_3 als N-Quelle angestellten Versuchen Schlüsse aus dem beobachteten Quotienten $\frac{\text{H}_2}{\text{O}_2}$ nicht ziehen konnte. Dagegen wird das erste Sauerstoffatom des KNO_3 allgemein für die Atmung sowohl bei autotropher wie heterotropher Kultur in ansehnlichem Maße (Nitritbildung), ebenso wie auch sonst locker gebundener Sauerstoff verbraucht.

12. Elementarer Stickstoff wird nicht assimiliert. NH_4 -Salze und KNO_3 sind gleich gute N-Quellen.

13. Vergleichende Versuche mit pufferartigen Nährlösungen (System $\text{NaHCO}_3 + \text{NaH}_2\text{PO}_4$) in besonderen Gefäßen und bei verschiedenem pH zeigten, daß die maximale Wasserstoffverarbeitung bei sehr schwach alkalischer Reaktion erfolgt und in ziemlich steilem Abfall beiderseits bis etwa $\text{pH} = 5,3$ bzw. $\text{pH} = 9,1$ reicht. Bei heterotropher Ernährung werden auch extremere H-Konzentrationen auf lange Zeit gut vertragen.

14. An der Säuregrenze ist praktisch in der Lösung nur noch freie Kohlensäure, an der alkalischen vor allem sekundäres Salz vorhanden. An der letzteren verschwinden auch allmählich die Fe'' -Ionen. Bei Änderung der H-Konzentration ändert sich in berechenbarer Weise neben dem Verhältnis primäres: sekundäres Phosphat auch dasjenige von freier Kohlensäure zu Bikarbonat-anionen. Der Vergleich der Abhängigkeit der Wasserstoffverbrennung und des Quotienten $\frac{\text{H}_2\text{CO}_3}{\text{NaHCO}_3}$ von der H-Konzentration führte zu der Auffassung, daß nur das reaktionsfähigere Bikarbonat assimiliert wird.

15. Die von NIKLEWSKI konstatierte, den Wasserstoff „schützende“ Wirkung mancher organischer Stoffe beruht darauf, daß sie (z. B. Glukose) zu rascher Säurebildung Veranlassung geben. (Verschwinden der HCO_3' -Ionen.)

16. Der Atmungsquotient $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ von autotroph erzeugten Kahlhäuten bei wasserstofffreier Atmosphäre und in anorganischer Nähr-

lösung (Hungerkultur) wurde nur annähernd gleich 1 gefunden. Organische Säuren werden nicht gebildet. Das gespeicherte und veratmete Material dürfte z. T. die prozentuale Zusammensetzung eines Kohlenhydrats haben. Junge, 1—2 Tage alte Bakterien, aus autotrophen Kulturen abzentrifugiert, zeigen noch stundenlang in solchen Hungerkulturen erhebliche Atmung, während Individuen aus älteren Kahmhäuten 10—500fach geringere Atmungsbeträge liefern. (Zeitversuche, gemessen an der Änderung des pH der Lösung.)

17. Der Nutzeffekt der Wasserstoffverbrennung, dargestellt durch den „ökonomischen Quotienten“ $\frac{\text{produz. organ. Substanz}}{\text{verbrauchtes Knallgas}}$ (wobei die organische Substanz durch vollständige Verbrennung als CO_2 bestimmt wurde), variiert ziemlich stark, vorzüglich nach dem jeweiligen pH, und ist bei annähernd neutraler Reaktion am größten. Bei gleichem pH und sonst gleichen Bedingungen fällt er annähernd proportional der verarbeiteten Knallgasmenge aus.

18. Der gasverzehrende Gesamtprozeß, manometrisch und gasanalytisch verfolgt, folgt dem van't'HOFFschen Temperaturgesetz. Ob bei der Assimilation Teilprozesse im Spiel sind, die anderen Temperaturgesetzen folgen, konnte nicht ermittelt werden.

Literatur.

- KASERER, H., Zeitschrift f. d. landwirtsch. Versuchswesen in Oesterreich, VIII, 1905, S. 789—793.
 — —, Bakteriol. Centralbl., II. Abt., XVI, 1906, S. 681.
 NABOKICH, A. J. und A. F. LEBEDEFF, Bakteriol. Centralbl., II. Abt., XVII, 1907, S. 350—355.
 LEBEDEFF, A. J., Diese Berichte, XXVII, 1910, S. 598—602.
 — —, Biochem. Zeitschr., VII, 1908, S. 1—10.
 NIKLEWSKI, B., Jahrb. f. wiss. Botanik, XLVIII, 1910, S. 113—142.
 — —, Bakteriol. Centralbl., II. Abt., XL, 1914, S. 430—433.
 WARBURG, O., Biochem. Zeitschr., C, 1919, S. 230—270; ebenda, CIII, 1920, S. 188.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1922

Band/Volume: [40](#)

Autor(en)/Author(s): Ruhland Wilhelm Otto Eugen

Artikel/Article: [Aktivierung von Wasserstoff und Kohlensäureassimilation durch Bakterien. 180-184](#)