© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Ohne dass die chemischen Betrachtungen über Proteinstoffe des Protoplasmas hiermit erschöpft wären will ich doch schliessen, es war mir nur darum zu thun Beispiele dafür anzuführen, welche Vortheile die chemisch-mikroskopische Untersuchung gewährt. Die chemische Differenzirung des Protoplasmas verdient dasselbe Interesse als die morphologische Differenzirung.

---

11. B. Frank: Ueber die Mikroorganismen des Erdbodens.

Eingegangen am 26. Oktober 1886.

Der Vorstellung, dass der Erdboden der Träger von Keimen niederer Organismen ist, begegnen wir neuerdings auf verschiedenen wissenschaftlichen Gebieten: in der Pathologie und Hygiene, wo es sich um die pathogenen Organismen der infectiösen Krankheiten handelt, und in der Bodenkunde, wo man gewisse chemische Umsetzungen im Erdboden auf die Thätigkeit solcher Organismen zurückführen zu müssen geglaubt hat. Der letztere Punkt hat ein hervorragendes Interesse für die Physiologie, insbesondere für die pflanzliche Ernährungslehre, denn er betrifft erstens die Nitrification der Ammoniaksalze im Boden, die zuerst mit Bestimmtheit von Schlösing und Münz[1]), für eine durch Organismen veranlasste Gährung erklärt wurde, und zweitens auch die Ueberführung ungebundenen atmosphärischen Stickstoffes in Stickstoffverbindungen, einen Vorgang den wir im Erdboden annehmen müssen[2]), und der von Berthelot[3]) neuerdings als eine Wirkung der Thätigkeit niederer Organismen bezeichnet wurde.

Die Existenz solcher Bodenorganismen ist meist nicht durch Beobachtung festgestellt, sondern gefolgert worden aus dem Umstande, dass die betreffenden chemischen Umsetzungen unterblieben, wenn der Boden in einer Weise behandelt worden war, wodurch in der Regel Organismen getödtet zu werden pflegen. Gesehen worden sind z. B. die vermeintlichen Nitrificationsorganismen von den Forschern, die von ihrer Existenz sprachen, niemals, geschweige denn dass sie botanisch irgend näher beschrieben wären. Meine Absicht war daher, mit Hülfe der

1) Compt. rend. 1873, p. 203 u. 353; 1877, p. 301 u. 1018; 1879, p. 1074.
2) Vergl. meinen Aufsatz im 7. Hefte dieses Jahrganges dieser Berichte.
3) Compt. rend. 1885, p. 775.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

jetzt üblichen Pilzkultur-Methoden mich zu überzeugen, ob wirklich im Erdboden gewisse niedere Pilze allgemein verbreitet sind und wenn dies der Fall, sie durch Reinkulturen zu züchten, um sie dann auf die Fähigkeit gewisse chemische Umsetzungen zu vollziehen, prüfen zu können. Bei Prozessen, die allgemein im Boden stattfinden, sind selbstverständlich die höheren Pilze, welche nur stellenweise vorkommen, ausgeschlossen; die Aufmerksamkeit war vielmehr auf niedere Pilzformen zu lenken und auf das Vorhandensein derselben in kleinsten Bodenmengen. Die angewendeten Bodenarten wurden daher zerkleinert und durch ein Sieb geschüttet, welches nur sehr kleine Partikel durchliess. Die Kulturen wurden theils im hängenden Tropfen unter dem Mikroskop vorgenommen, theils in verdünntem Pflaumendecoct. Ein wenig des zerkleinerten Bodens wurde mit ausgekochtem destillirten Wasser angerührt, dann mit der Spitze eines Glasstabes ein Minimum dieser Flüssigkeit in den Tropfen des Deckglases gebracht, so dass derselbe dann meist einige feine Bodenpartikel enthielt. Ausserdem wurden immer auch die jetzt gebräuchlichen Gelatineculturen angewendet, indem auf sterilisirte in Schalen befindliche Gelatine mittelst des vorher sterilisirten Siebes möglichst wenige Stäubchen des zu prüfenden Bodens aufgebracht wurden, was durch eine möglichst sanfte Erschütterung des Siebes zu erzielen war. Die Gelatineschalen wurden vor und nach dem Besäen durch Glasglocken abgesperrt. Um zu controlliren, wie weit die bei diesen Kulturen auftretenden Pilze aus dem Boden oder aus unvermeidlichen Verunreinungen durch die Luft stammen, wurden Schalen mit derselben sterilisirten Gelatine, die aber nicht mit Boden besät waren, auf gleiche Weise behandelt. In letzteren traten entweder gar keine Pilze oder nur vereinzelt Individuen von *Penicillium* oder *Mucor* auf, die sich in manchen der mit Boden beschickten Kulturen auch zeigten, aber immer ohne Beziehung zu den eingesäeten auf der Oberfläche sichtbaren Bodentheilchen waren, dagegen niemals diejenigen Pilzformen, die sich ausnahmlos um jedes Bodenpartikelchen auf der Gelatineoberfläche entwickelten. Andererseits wurden auch gleiche Aussaaten mit sterilisirtem Boden im hängenden Tropfen sowie auf Gelatine angestellt, und in diesem Falle blieb stets die Entwickelung der characteristischen Pilzformen, die der unsterilisirte Boden lieferte, aus. Dies beweist, dass die im Folgenden zu beschreibenden Pilzformen, die bei diesen Kulturen erhalten wurden, wirklich aus dem Erdboden stammen.

Bei der Auswahl der zunächst zu untersuchenden Bodenarten leitete mich die Ueberlegung, dass die von Natur im Boden einheimischen Pilzformen um so weniger rein zur Entwickelung kommen würden, je mehr der Boden der Beeinflussung des Menschen ausgesetzt ist, weil in einen solchen durch die Veruneinigungen und durch die Zufuhr von allerhand Düngemitteln eine Menge dem Boden fremde

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Pilzkeime einwandern müssen. Es kann nicht genug betont werden, dass der Erdboden ein sehr complicirtes mixtum compositum und in jedem Einzelfalle anders geartet ist. In solchen Fragen von Boden schlechthin zu sprechen, hat keinen Sinn, und der Experimentator würde sich einer sehr unklaren Fragestellung schuldig machen, wenn er im Begriffe die Organismen des Erdbodens zu studieren sich nicht überlegen wollte, dass unter diesen zwischen den natürlichen Autochthonen und den durch Zufälligkeiten Eingewanderten unterschieden werden muss. Durch diesen Fehler haben manche der bisherigen diesbezüglichen Untersuchungen an Brauchbarkeit verloren. Ich habe daher zunächst folgende Naturböden geprüft. 1) einen sehr humusreichen schwarzen Kalkboden aus den Buchenrevieren im südlichen Hannover, der seit Jahrhunderten nur Waldkultur getragen hat, 2) einen humösen Sandboden aus der Nähe Berlins, aus einem Kiefernbestande, wo nachweislich mindestens zwei Jahrhunderte nur Kiefernkultur betrieben wurde, 3) einen schweren Flusslehm aus dem Marschlande an der Unterelbe, 4) einen bislang noch unberührten Wiesenmoorboden aus der Nähe Berlins, 5) Boden vom Gipfel der Schneekoppe im Riesengebirge.

Die Kulturen im hängenden Tropfen und die Gelatinekulturen ergaben im Wesentlichen mit einander übereinstimmende Pilzentwickelungen. Die auftretenden Pilzformen lassen sich unterscheiden in solche, welche in ihrem Erscheinen oder Fehlen wechselten, und in solche, welche mit ausnahmsloser Constanz sich entwickelten. Die ersteren bestanden aus verschiedenen Hyphomyceten, namentlich zeigte sich ein *Cephalosporium*, eine einfache *Botrytis*form, eine *Torula*form, ein *Oidium*, in einem Falle auch eine Mucorinee, sowie endlich eine Hefeform mit fast kugeligen Sprosszellen. Dagegen kam mit regelmässiger Constanz ein bestimmter Spaltpilz zum Vorschein, und dieser war auch in allen untersuchten Böden ein und derselbe. Auch zeigte er in der Succession seiner Entwickelungsformen stets und in allen Böden im Allgemeinen ein und dasselbe Bild. Ungefähr am zweiten Tage erscheint der Spaltpilz zuerst in der Form von *Leptothrix*, deren Fäden man aus den Bodenpartikelchen herauswachsen sieht. Auf der Gelatine zeigt er sich als ein zunächst schmaler, aber peripherisch sich immer weiter ausbreitender, weisslichgrauer Saum um jedes Stäubchen von Bodensubstanz; er verflüssigt die Gelatine, so dass die Stelle als eine seicht grubenartige Vertiefung der Oberfläche erscheint, mit welcher sich der Pilz bald kreisförmig bald mehr strahlig ausbreitet. In Folge lebhaften Wachsthums, welches in allen Theilen der Fäden stattfindet, krümmen und verbiegen sich dieselben vielfach und bilden oft regellos durcheinander gewirrte Massen, in denen bald an vielen Stellen Einknickungen der Fäden bemerkbar werden. Letzteres ist aber schon ein Zeichen des Herannahens der zweiten Entwickelungsform, die bald früher bald später eintritt, nämlich die

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Bacillusform. Während anfangs die *Lepthothrix*fäden gänzlich homogen ohne jede Gliederung erscheinen, bilden sich bald, zunächst an einzelnen Stellen, dann häufiger gliederartige Einschnürungen in den Fäden, wodurch diese bald in längere Fadenstücke, bald in kürzere Stäbchen oder Bacillen zerfallen. Man kann dabei an den geraden oder zickzackförmigen Reihen, in denen zunächst die Bacillen liegen, noch den ursprünglichen *Leptothrix*faden erkennen, aus welchem sie entstanden sind. In der *Bacillus*form pflegt sich nun der Spaltpilz meist stark weiter zu vermehren, wobei er theils diese Form beibehält, theils in Folge rascherer Zweitheilung in die dritte oder *Bacterium*form übergeht, wo er also die Form sehr kurzer Stäbchen oder ovaler Zellen bekommt. Regelmässig endigt die Entwickelung mit der Sporenbildung. Es enstehen in der gewöhnlichen Weise innerhalb der Zellen kurzovale sehr stark lichtbrechende Zellen, in jedem Stäbchen eine oder zwei gewöhnlich in der Nähe des Endes. Sie entwickeln sich sowohl in den isolirten Bacillen als auch wenn dieselben noch zu Reihen oder Fäden verbunden sind, in letzterem Falle oft das Bild perlschnurförmiger, durch einandergewundener Ketten darbietend. Nach der Entwickelung der Sporen tritt Desorganisation der Stäbchen unter Vergallertung der Membran derselben ein, wodurch die Sporen in Freiheit treten. Ist der Spaltpilz in dichter Masse angehäuft, so ergiebt sich in Folge der allgemeinen Vergallertung der Membranen die *Zoogloea*form, indem in einem Gallertstock die Sporen, die wegen zunehmender Quellung der Gallerte auseinanderrücken, regellos zerstreut liegen. In diesem Zustand kann man auch die Wiederauskeimung der Sporen beobachten, wobei aus ihnen wieder ein neues Stäbchen hervorwächst. Diese neue Stäbchengeneration vermehrt sich nun wieder durch Zweitheilung, wobei durch allmähliche Verflüssigung der Gallerte die Individuen sich isoliren; und selbst eine abermalige Sporenbildung in diesen Stäbchen habe ich beobachten können. In den Kulturen im hängenden Tropfen kann man an günstigen Präparaten diese ganze Entwickelung an einem und demselben Objecte verfolgen. Der hier beschriebene Entwickelungsgang ist, was die Aufeinanderfolge der Formen anlangt, in allen Fällen in der Hauptsache der gleiche; nur kann bald einmal diese, bald einmal jene besonders vorwalten, während dafür eine andere mehr zurücktritt. Wohl aber kommen in anderen Beziehungen Variationen vor, welche Beachtung verdienen. Diese beziehen sich auf folgende Momente: 1) die Beweglichkeit. Dies lässt sich am besten an den Kulturen im hängenden Tropfen studieren. Ebenso gut wie die Formen oft ganz bewegungslos sind, können sie verschiedene Grade von Beweglichkeit zeigen. Bisweilen sieht man schon die ersten *Leptothrix*fäden in langsamen schwingenden Bewegungen. Gliedern sie sich zunächst in längere Fadenstücke, so sind die letzteren bisweilen flexil. Die Bacillen können alle Abstufungen von träge taumelnder bis zu lebhaft

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

durcheinanderwimmelnder Bewegung zeigen. 2) Die Dicke der Individuen. Ich habe im Obigen über diese bekanntlich für die Charakteristik der Spaltpilzformen wichtige Eigenschaft noch keine Angaben gemacht, weil dieselbe als ein variabeles Moment hier besprochen werden soll. Beim Beginn der Kultur, also vorzüglich in der Form der *Leptothrix* ist der Spaltpilz und zwar gleichmässig bei allen Bodenarten von kräftigem Bau, nämlich 1,2 bis 1,8 μ stark. Bei weiterer Vermehrung pflegt er zunächst noch eine Zeitlang diese Stärke beizubehalten, auch in der Bacillen- und selbst noch in der Bacterienform. Im Allgemeinen ist aber die Neigung bemerkbar allmählich in dünnere Formen, und zwar bis zu 0,9 und selbst 0,6 μ Stärke, überzugehen, ein Umstand, der vielleicht mit der allmählichen Erschöpfung der Nahrung in den Kulturen zusammenhängt, wiewohl sehr häufig schon die dünneren Formen mit den dickeren gleichzeitig angetroffen werden. Es ist dann oft nicht schwer an den freilebenden Bacillen alle Uebergänge der Dickegrade von den starken zu den dünnen Formen aufzufinden. Dass es sich hier nicht um spezifisch differente Formen handelt, wird besonders deshalb unzweifelhaft, weil man oft in der Continuität eines und desselben Fadens den Uebergang von stärkeren Stäbchen in die dünneren sehen kann, denn hier stammen unzweifelhaft die Zellen genetisch von einander ab. 3) Die Gestalt der Zellen, insofern namentlich die Bacillen bald gerade gestreckt, bald in verschiedenem Grade gekrümmt erscheinen, so dass sie sogen. Kommabacillen darstellen. Es beruht dies nur auf einer ungleichstarken Streckung der beiden Längshälften beim Wachsthum des Stäbchens, wodurch das letztere gekrümmte Gestalt bekommt, während es gerade bleibt, wenn sein Wachsthum allseitig gleichmässig stattfindet. Das Wachsthum des Stäbchens geht der Vermehrung desselben durch Zweitheilung voraus; man sieht daher bei den Kommabacillen die zur Zweitheilung führende Einschnürung an der Stelle der stärksten Krümmung eintreten, so dass die beiden zunächst noch ziemlich geraden Tochterzellen gegeneinander geneigt stehen, während sie bei den geradebleibenden Stäbchen in einer geraden Linie liegen.

Die hier mitgetheilten Beobachtungen lehren, dass der Bodenspaltpilz eine Entwickelung durchläuft, die von der Spore ausgeht und immer wieder zur Sporenbildung zurückkehrt, und dass zwischen diesen festen Punkten eine vegetative Entwickelung in einer reichen Entfaltung von Formen verläuft, und zwar von Formen, die man nach den noch bis in die neuere Zeit gültigen Anschauungen als Typen bestimmter Gattungen unter den Spaltpilzen auffasste. Es hat daher durch diese Beobachtung die von Zopf schon für eine Anzahl Spaltpilze nachgewiesene Polymorphie, welche die Verwerthung dieser morphologischen Typen für Gattungs- und Artunterscheidung verbietet, eine weitere Bestätigung erhalten. Will man nun den Bodenspaltpilz naturhistorisch benennen, so würde er nach der jetzigen Terminologie

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

heissen können *Leptothrix terrigena* oder *Bacillus terrigenus* oder *Bacterium terrigenum*, weil jede dieser Formtypen für ihn zutrifft, oder man könnte beliebig einen dieser Gattungsnamen ein für allemal wählen, vielleicht *Bacillus*, da man auch von anderen Bacillen Leptothrix- und Bacteriumzustände kennt. Es könnte noch die Frage aufgeworfen werden, ob der Bodenbacillus vielleicht identisch ist mit einer schon anderweitig beobachteten und benannten Spaltpilzform, da er doch in der Natur so allgemein verbreitet ist. In der That zeigen besonders der Heupilz und der Milzbrandpilz in ihren Eigenschaften eine ganz Anzahl von Analogien mit dem Bodenbacillus. Indessen wäre es gewagt auf blosse morphologische Uebereinstimmungen hin eine Identität von Spaltpilzarten behaupten zu wollen, und muss ich diese Frage späterer Entscheidung überlassen.

Gelatine und Pflaumendecoct sind äusserst wirksame Nährmittel für Spaltpilze. Die üppige Entwickelung, in der man den Pilz hier beobachtet, ohne weiteres auf sein Verhalten im Erdboden zu übertragen, wäre ein unvorsichtiger Schluss. Die üblichen Gelatinekulturen sind überhaupt nur künstlich getriebene Parforcekulturen, die uns die betreffenden Pilze in einer Ueppigkeit zeigen, die dem Verhalten in ihrem natürlichen Substrate meistens fremd ist. Wenn man frischen Erdboden in Wasser zerrührt unter dem Mikroskop in seinen kleinsten Formelementen durchmustert, so findet man unter den letzteren wohl welche, die einem *Bakterium* oder einer Spaltpilzspore ähnlich sind und eine solche sein könnten, aber in der Fülle ganz ähnlicher kleinster Bodenfragmente hört jede Unterscheidung auf. Weiter kommt man, wenn man im hängenden Tropfen minimale Mengen von frischem bis dahin ziemlich trocken gehaltenen Boden statt in Pflaumendecoct in ausgekochtes destillirtes Wasser bringt und die weitere Entwickelung verfolgt. Dann allerdings entwickelt sich oft der Spaltpilz, jedoch gegenüber den nährstoffreichen Kulturen in sehr dürftiger Weise, nämlich in wenigen Individuen und diese in den dünnsten Formen, 0,8—0,6 μ stark. Aber morphologisch erscheint er wieder als derselbe Pilz, d. h. er tritt oft in einigen schwachen *Leptothrix*fäden auf, die sich jedoch bald in Bacillen gliedern und gewöhnlich sehr rasch zur Sporenbildung übergehen. Wir werden also nicht fehlgreifen, wenn wir annehmen, dass der Bodenbacillus im Erdboden hauptsächlich im Zustande von Sporen vorhanden ist, und dass er aus diesen in die Vegetationsformen von *Leptothrix*, *Bacillus* und *Bacterium* mit nachfolgender erneuter Sporenbildung jederzeit übergehen kann, sobald günstige Bedingungen eintreten, die schon in einer reichlicheren Zufuhr von Regenwasser gegeben sein können.

Wenn man so den in den verschiedensten Erdböden vorkommenden Spaltpilz kennt und ihn rein zu züchten vermag, so ist nun auch die Möglichkeit gegeben ihn vom Erdboden befreit für sich allein

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

auf seine chemische Thätigkeit zu prüfen. In dieser Beziehung erstrecken sich meine Untersuchungen zunächst nur auf die Nitrifikation, d. h. auf die im Boden stetig stattfindende Umsetzung von Ammoniaksalzen in Nitrite und weiterhin in Nitrate. Denn wie schon Eingangs erwähnt, sind bei diesem Oxydationprozess als das Wirksame lebende Organismen, nach Analogie gewisser anderer Fermentationen, bei welchen Spaltpilze als Sauerstoffübertrager fungiren, zuerst von Schlösing und Münz angenommen worden, freilich nur auf Grund von Beobachtungen, bei denen diese Forscher keine Nitrifikation gefunden haben wollen, wenn der Boden höherer Temperatur oder Chloroformdämpfen ausgesetzt, also einer organismentödtenden Behandlung unterworfen worden war. Ich habe zu meinen diesbezüglichen Untersuchungen zunächst immer eine und dieselbe Bodenart benutzt, nämlich den humusreichen Kalkboden der hannoverschen Buchenreviere, von dessen hoher Nitrifikationskraft ich mich vorher überzeugt hatte. Um die natürlichen Verhältnisse möglichst zu treffen, habe ich den Pilzen eine sehr verdünnte Lösung von Ammoniaksalz gegeben, nämlich 0,008 *g* Chlorammonium auf 100 *ccm* destillirtes Wasser, eine Concentration, in welcher, wie Vorversuche lehrten, der genannte Boden rapide Nitrifikation bewirkte. Um zugleich die nöthigen Pilznährstoffe zu bieten, wurden dieser Lösung noch zugesetzt entweder eine sehr geringe Menge sauren weinsauren Kali's, phosphorsauren Kali's und Kalkkarbonat, oder statt dieser Mischung ein wenig frischen Pflaumendecocts, welches bekanntlich ein kräftiges Pilznährmaterial ist, aber wie Prüfung mit Diphenylamin bewies, keine Spur Nitrit oder Nitrat enthält. Die Flüssigkeit wurde in Kolben gegossen, diese mit Baumwollepfropf verschlossen, und dann unter diesem Verschluss eine Zeit lang gekocht; nach dem Erkalten wurde mittelst ausgeglühter Platindrahtöse ein wenig der reingezüchteten Spaltpilzmasse in die Gefässe eingeführt, wobei der Baumwollepfropf nur wenige Augenblicke geöffnet zu werden brauchte. Die besäeten Gefässe blieben dann bei gewöhnlicher Sommertemperatur, vor Licht geschützt, stehen. Die Entscheidung, ob Nitrifikation stattgefunden hatte oder nicht, wurde auf doppeltem Wege erbracht: einmal indem mittelst des Nessler'schen Reagens geprüft wurde, ob das Ammoniak noch vorhanden oder verschwunden sei, und andererseits indem durch Diphenylamin die Reaktion auf etwa gebildetes Nitrit oder Nitrat gemacht wurde.

Um eine Vorstellung und einen Massstab der Energie der nitrifizirenden Wirkung des Versuchsbodens zu gewinnen, brachte ich in verschiedene Kolben zusammen mit der gleichen Menge der nämlichen Flüssigkeit, wie sie für die Pilzkulturen verwendet wurde, verschiedene Mengen dieses Bodens, und zwar je 100 *g* (A), 50 *g* (B), 10 *g* (C), 1 *g* (D), 0,1 *g* (E) und 0,01 *g* (F). Schon nach 5 Tagen war in A

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

die Umsetzung vollständig beendet, indem keine Spur Ammoniak mehr nachzuweisen war; in B war nur noch eine verschwindende Spur, in C eine sehr geringe Menge Ammoniak vorhanden, in D war der Niederschlag ungefähr auf die Hälfte vermindert, während E und F noch keine merkliche Abnahme zeigten. Nach weiteren 5 Tagen war auch in B und C alles bis auf die letzte Spur verschwunden, in D war bedeutende, in E nur geringe Verminderung, in F keine bemerkbare Abnahme eingetreten. Erst nach weiteren 10 Tagen hatte D sämmtliches Ammoniak umgesetzt, E zeigte nur noch geringe Menge, aber F liess immer noch keine merkbare Abnahme des Ammoniaks konstatiren. Selbst nach 4 monatlicher Dauer hatte das Ammoniak in der nur mit 0,01 *g* Boden beschickten Flüssigkeit sich nicht nachweisbar vermindert, und bei Wiederholung dieses Versuches mit minimalen Mengen frischen Bodens wurde immer das nämliche Resultat gefunden, welches also der Annahme einer fermentativen Wirkung von Organismen nicht sehr günstig erscheint, weil es bekannt ist, dass organisirte Fermente auch wenn sie in geringen Mengen eingeführt werden, die Fermentwirkung auslösen, und weil meine Pilzkulturen gelehrt hatten, dass der Bodenspaltpilz in den kleinsten Partikelchen des Erdbodens vorhanden ist.

Die Versuche mit dem aus dem Boden durch Reinkultur befreiten Spaltpilz des hannöverschen Buchenkalkbodens ergaben in allen Fällen negative Resultate, d. h. das zugesetzte Ammoniak verschwand nicht, und keine Spur von Nitrit und Nitrat war durch Diphenylamin nachzuweisen, auch nicht nach vierwöchentlicher, achtwöchentlicher und noch längerer Dauer. Allerdings hatte der eingeimpfte Spaltpilz in den Flüssigkeiten, wo die oben genannten Salze als Nährstoffe gegeben waren, entweder keine bemerkbare oder doch nur eine schwache Weiterentwickelung erfahren, aber wo etwas Pflaumendecoct zur Ernährung gegeben war, hatte er sich ungleich besser entwickelt; doch auch in diesem Falle war keine Nitrifikation erfolgt. Ich vermuthete nun, der Misserfolg möchte an dem Mangel gewisser natürlicher Bedingungen liegen, die nur erfüllt zu sein brauchten, um den Pilz in Thätigkeit zu setzen. Zunächst dachte ich an reichlichere Luftzufuhr, wiewohl die Versuche mit Erdboden, der auch wenn er unter einer mehrere Centimeter tiefen Flüssigkeitsschicht lag, kräftig nitrifizirte, diesen Einwand schon widerlegen mussten. Ich leitete mehrere Wochen lang mittelst Aspirator durch einige Kolben, welche lebhaft vegetirenden Bodenspaltpilz in Chlorammoniumlösung enthielten, einen durch Baumwolle filtrirten Luftstrom, fand aber darnach auch negatives Resultat. — Soviel man weiss, gehört zu den der Nitrifikation im Erdboden günstigen Bedingungen besonders ein Reichthum an Kalk. Daher wurden Kulturen des Bodenspaltpilzes angestellt in den nämlichen Lösungen, nachdem vorher ein Quantum sterilisirtes reines Kalkkarbonat in die

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Flüssigkeiten geschüttet worden war. Aber auch unter diesen Umständen versagten die Bodenspaltpilze den ihnen zugeschriebenen Dienst. — Man weiss ferner, dass die Medien, in denen Nitrifikation am lebhaftesten erfolgt, lauter solche sind, in denen schon mehr oder weniger vorgebildetes Nitrat vorhanden ist, was ja für alle Böden zutrifft. Ich habe desshalb die Versuche auch so variirt, dass ich in die Flüssigkeiten zugleich einen Tropfen einer Kaliumnitratlösung brachte. Aber auch dann trat keine Umsetzung des Chlorammoniums durch den Pilz ein. Ja die Wirkung blieb sogar dann aus, wenn ich den Kulturflüssigkeiten einen Tropfen einer Lösung zusetzte, die über Erdboden stand und in lebhafter Nitrifikation begriffen war.

Auch die Hyphomyceten, welche, wie ich oben bemerkte, zwar nicht constant, doch häufig bei Pilzkulturen des Erdbodens von mir gefunden wurden, habe ich zum Theil in der gleichen Weise auf ihre Fähigkeit oder Unfähigkeit zu nitrificiren geprüft, namentlich die *Oïdium*- und die *Torula*form, aber auch bei ihnen nur negative Resultate erhalten.

Nachdem diese Versuche beendigt waren, erhielt ich Kenntniss von einer soeben erschienenen Arbeit von Heräus: Ueber das Verhalten der Bakterien im Brunnenwasser[1]). Dieselbe beschäftigt sich zwar hauptsächlich mit den Mikroorganismen der Gewässer, namentlich im Spree- und Brunnenwasser, aus welchen eine Reihe von Formen gezüchtet wurden, die auch alle keine Nitrificationskraft zeigten; aber es sind auch aus „Erde“ ohne nähere Angabe „Stäbchen“ gezüchtet worden, die bei Nitrificationsversuchen ebenfalls negatives Resultat ergaben, was also eine Uebereinstimmung mit meinen Beobachtungen bedeutet. Andererseits hat Heräus aber aus „Gartenerde“ zwei Spaltpilzformen isolirt, welche bei Reinkultur in ammoniakhaltiger Flüssigkeit Oxydation des Ammoniaks zu salpetriger Säure bewirkten; und das Gleiche wurde auch beobachtet an einer Spaltpilzform und einer Hefenart, welche aus Harn gezüchtet worden waren, der von selbst beim Stehen an der Luft salpetrige Säure gebildet hatte. Die weiteren Versuche, bei denen Heräus beliebig gewählte Spaltpilzformen in Reinkulturen auf die Fähigkeit zu nitrificiren prüfte, fielen widersprechend aus, indem zwar manche stets entweder Fähigkeit oder Unfähigkeit an den Tag legten, bei manchen aber, so beim Pneumoniepilz und bei den Millerschen Bakterien einmal positives, ein andres Mal negatives Resultat eintrat. Nun soll ja auch nicht bestritten werden, dass es unter den überhaupt existirenden Bakterienarten welche geben kann, zu deren chemischen Thätigkeiten unter geeigneten Umständen auch die Fähigkeit Ammoniak zu oxydiren gehören mag. Aber das hat nichts mit unserer Frage zu thun, wo es sich um die von Natur im normalen Erdboden wohnenden

1) Zeitschrift f. Hygiene 1886.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Spaltpilze handelt, die nach meinen bisherigen Untersuchungen durch kein Mittel zu einer nitrificirenden Wirkung zu bewegen sind.

Nach den obigen Ergebnissen war ich begierig das Verhalten dieses Bodens im sterilisirten Zustande kennen zu lernen. Es wurden je 50 *g* frischen feuchten Humuskalkbodens in Kolben gebracht und diese im Dampfsterilisirungsapparat 4 Stunden lang den Wasserdämpfen in der Siedehitze ausgesetzt, dann wurde die gewöhnliche Versuchsflüssigkeit aufgegossen, die Kolben mit Baumwollepfropf verschlossen und nun noch einige Zeit gekocht, ohne dass der Pfropf nach dem Kochen früher entfernt wurde als die erste Probe der Flüssigkeit behufs Analyse entnommen werden sollte. Ich fand bei diesen Versuchen stets, dass auch der sterilisirte Boden das Chlorammonium ungefähr ebenso rasch zum Verschwinden bringt, wie der unsterilisirte bei einer angewandten Menge von 50 *g*. Es war auch ohne Einfluss, ob die Erhitzung im Dampfsterilisirungsapparate oder mit trockenem Boden im Trockenschrank vorgenommen wurde. Ich habe endlich auch gleiche Quantitäten des nämlichen Bodens bis zur Zerstörung aller organischen Substanz und bis zum Verschwinden aller Kohle geglüht, wobei derselbe in Folge seines Eisengehaltes eine hellrothbraune Farbe annimmt, und die Masse dann dem gleichen Versuche unterworfen. Auch selbst in diesem Falle verschwand das Chlorammonium, und zwar nicht merkbar langsamer, nur mit dem einen Unterschied, dass sobald es bis auf gewisse kleine Mengen aufgebraucht war, die letzteren meist weit langsamer verschwanden und selbst nach Wochen noch zurückblieben. Es würde dies darauf hindeuten, dass bei der Energie der Wirkung gewisse chemische oder physikalische Eigenschaften des Bodens betheiligt sind, welche beim Erhitzen verändert werden. Bei den eben erwähnten Versuchen bedurfte es aber noch des Nachweises, dass das zugesetzte Ammoniak nicht etwa auf andere Weise als durch Oxydation dem Reagens sich entzogen hatte, nämlich dadurch, dass es durch die Absorptionskraft des Bodens der Flüssigkeit entrissen worden und ohne chemische Veränderung vom Boden festgehalten wurde. Es wurde daher nach der bei Bodenuntersuchungen üblichen Methode der Ammoniakbestimmung der Boden, der zum Versuche gedient hatte, mit überschüssiger Salzsäure versetzt, die Flüssigkeit nach eintägigem Stehen abgenommen und nach Ausfällung durch Kalilauge mit dem Nessler'schen Reagens geprüft, wobei sich jedoch ebenfalls kein Ammoniak mehr finden liess.

Nach diesen Erfahrungen hat folgerichtig die Annahme, dass die Oxydation des Ammoniaks zu Salpetersäure im Erdboden ein durch Organismen hervorgerufener Fermentationsprozess ist, an Wahrscheinlichkeit bedeutend verloren. Wir sind gezwungen anzunehmen, dass unbeschadet der zugestandenen Möglichkeit, dass gewisse Bakterienarten, wo sie gerade vorhanden sind und Gelegenheit dazu haben, nitrificirende

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Wirkung äussern können, doch die thatsächlich im Boden allgemein stattfindende Oxydation des Ammoniaks zum ausgiebigsten Theile ein anorganischer Prozess ist, wobei chemische oder physikalische Kräfte die wirkenden Factoren sind, vergleichbar der nitrificirenden Wirkung, welche Platinschwamm zeigt, wobei auch die Thätigkeit von Organismen ausgeschlossen ist. Zunächst würde die Frage liegen, inwieweit die physikalischen Eigenschaften des Platinschwammes, welche hierbei den Ausschlag geben, auch dem Erdboden zukommen, wobei namentlich seine Porosität und seine Absorptionskraft in Betracht kommen müssen. Dass diese und andere physikalische, aber auch chemische Eigenschaften bei der Nitrification thatsächlich eine Rolle spielen, ist bereits durch verschiedene Forscher erkannt worden. Allerdings ist damit noch immer keine Erklärung des Vorganges gegeben. Aber ein theoretischer Grund gegen die Möglichkeit, dass anorganische Kräfte eine Oxydation des Ammoniaks im Boden bewirken, liegt nicht vor. Zudem wissen wir durch die Untersuchungen Falk's[1]), dass unter einer ziemlich grossen Zahl von ihm studirter anderweiter chemischer Umsetzungen im Erdboden mehrere sich finden, die auch im geglühten Boden vor sich gehen, nämlich die Zersetzung des sulfokarbonsauren Natrons, dessen Lösung bei Filtration auch durch geglühten Boden in Folge der Oxydation zu Schwefelsäure ihren Geruch verliert; ferner die Zerstörung der fermentativen Wirkung des Emulsins bei Filtration durch geglühten Boden, drittens die Wirkung des Glycerinextractes aus tuberkulösem Sputum, welches nach Einspritzung in die Haut Temperaturerhöhung veranlasst; endlich auch die Desinfection von faulem Fleischinfus. Wir haben auch hierin positive Fälle oxydirender Wirkungen im Erdboden ohne Organismenbetheiligung vor uns.

1) Vierteljahrschrift für gerichtliche Medicin und öffentliches Sanitätswesen 1877 und 1878.

Pflanzenphysiologisches Institut der Königl.
Landwirthschaftlichen Hochschule
zu Berlin.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft

Jahr/Year: 1886

Band/Volume: 4

Autor(en)/Author(s): Frank B.

Artikel/Article: Ueber die Mikroorganismen des Erdbodens. CVIII-CXVIII