

Erklärung der Abbildungen.

- Fig. 1. *Melosira undulata*. Faden von 3 Zellen, Anfangszelle mit 4 Stielen. Vergr. 550.
- „ 2. *M. undulata*. Einzelne Zelle mit überragendem Gürtelbande, die obere Schale mit Randverdickung. Vergr. 550.
- „ 3, 4. *M. undulata*. Schalen, welche die gasige Injection der Porenkanäle zeigen. Vergr. 327.
- „ 5, 6, 7, 10, 11. Gestielte Zellen von *M. undulata*. Vergr. 198.
- „ 8. *M. undulata*. Stiele mit Haftscheiben. Vergr. 820.
- „ 9. *M. undulata*. Haftscheibe von oben. Vergr. 820.
- „ 12. *M. undulata*. Auxospore nach Ausscheidung der Erstlingsschalen. Perizonium noch vollständig vorhanden. Vergr. 550.
- „ 13. *M. undulata*. Auxospore nach erfolgter erster Theilung. Perizonium gesprengt. Vergr. 550.
- „ 14. *Eunotia Tschirchiana*. Schalenseite. Vergr. 850
- „ 15. *Eunotia Tschirchiana*. Gürtelbandseite. Vergr. 680.
- „ 16. *Eunotia Tschirchiana*. Primordiale Zelle mit 8 Chromatophoren. Vergrößerung 825.
- „ 17. *Eunotia Tschirchiana*. Theil der Gürtelbandseite, einen Endknoten mit dem Kanal, die Eingliederung des Zwischenbandes und des Gürtelbandes zeigend. Vergr. 1680.
-

36. B. Frank und R. Otto: Untersuchungen über Stickstoff-Assimilation in der Pflanze.

Eingegangen am 22. November 1890.

Während die Thatsache, dass elementarer Stickstoff von den Pflanzen assimiliert werden kann, bereits durch viele neuere Versuche als festgestellt gelten muss, herrscht über das Wie dieses Processes noch beinahe völliges Dunkel.

Auf der einen Seite berechtigte der Umstand, dass die Verarbeitung freien Stickstoffes bei sehr verschiedenartigen Pflanzen und selbst bei den einfachst gebauten, wie den einzelligen Algen, sich nachweisen lässt, zu der Vorstellung, dass es eine zu den einfachen und elementaren Lebensthätigkeiten gehörige, vielleicht den meisten lebenden Pflanzen-

zellen bis zu gewissem Grade zukommende Function sei. Andererseits hat uns die den Leguminosen eigenthümliche Pilzsymbiose gelehrt, dass hier Fälle vorliegen, wo eine sehr energische Erwerbung freien Stickstoffes für Ernährungszwecke durch die symbiotische Gemeinschaftlichkeit zwischen der Pflanze und dem Knöllchenpilze bedingt ist, was zu der von HELLRIEGEL ausgesprochenen Hypothese Veranlassung gab, wonach die Assimilation des freien Stickstoffes für die Ernährung der Pflanze überhaupt nur von den betreffenden Pilzen ausgeübt werde.

Wir wollen im Nachstehenden über einige auf diese Frage bezügliche Versuche berichten, welche wir in diesem Sommer angestellt haben.

Die eine Reihe dieser Versuche beschäftigt sich mit der Frage, inwieweit die grünen Blätter der Pflanze an der Stickstoff-Assimilation theilhaftig sind. Wir gingen aus von dem Bekannten, was über die Ernährungsthätigkeit des grünen Blattes schon feststeht: letzteres ist das Organ, in welchem unter dem Einflusse des Lichtes die aus der Luft direct in das Blatt aufgenommene Kohlensäure in kohlenstoffhaltige organische Verbindungen (Stärkemehl) umgewandelt wird. Wir dachten nun daran, ob im Blatte eine solche stete Neubildung vielleicht auch hinsichtlich der stickstoffhaltigen organischen Substanz vor sich gehen möchte.

Das Endziel bei der Bildung stickstoffhaltiger Substanz in der Pflanze ist die Gewinnung von Eiweissstoffen. Nun wissen wir aber, dass als Vorstufe bei der Bildung der Eiweissstoffe Amidverbindungen auftreten. In der Physiologie sieht man die letzteren nicht als Endproducte des Stoffwechsels, sondern als Durchgangsbildungen an, welche wegen ihrer Löslichkeit besonders auch die Form darstellen, in welcher das stickstoffhaltige organische Material in der Pflanze wandert, um erst am Zielpunkt seiner Wanderung zu Eiweissstoffen regenerirt oder umgewandelt zu werden. Es leitete uns nun die Erwägung, dass wenn in den grünen Blättern auch stickstoffhaltige Substanz erzeugt und von dort aus der Pflanze zugeführt werden sollte, dies wohl auch in der Form einer steten Neubildung und Auswanderung von Amidverbindungen im Blatte sich kundgeben würde.

Eine Bestätigung dieser Vermuthung fanden wir nun zunächst in der Beobachtung, dass thatsächlich in den vollkommen erwachsenen und ausgebildeten Blättern auffallend viel Asparagin enthalten ist. Wir konnten dasselbe mikrochemisch an vollkommen erwachsenen Blättern von *Trifolium pratense*, *Robinia Pseudacacia* und *Carum Carvi* nachweisen, wenn nach den bekannten Asparaginreactionen von PFEFFER¹⁾ und BORODIN²⁾ zu Längsschnitten mässiger Dicke, welche unter dem

1) PRINGSHEIM's Jahrb., Bd. VIII, p. 533.

2) BORODIN, l. c., p. 804,

Deckglase lagen, absoluter Alkohol gesetzt wurde. Es schieden sich dann die charakteristischen in absolutem Alkohol unlöslichen Asparaginkristalle sehr zahlreich aus. Besonders war dieses der Fall bei den Blättern von *Carum Carvi*, bei denen es uns auch gelang, makrochemisch aus einer grösseren Quantität (circa 10 g) mittelst der Methode von E. SCHULZE¹⁾, nach der Extraction der fein gepulverten Trockensubstanz mit warmem Wasser, Kochen des Extractes zur Entfernung der Eiweissstoffe etc., aus dem so erhaltenen concentrirten Filtrate eine Menge kleiner prächtiger Asparaginkristalle, welche bei schwacher Vergrößerung die Form von grossen, orthorhombischen Säulen zeigen, zu isoliren.

Besonders aber wird ein reichlicher Asparagingehalt der Blätter durch die nachstehenden, von beliebig herausgegriffenen Pflanzen gemachten quantitativen Bestimmungen, welche hinsichtlich des Asparagins nach der Methode von SACHSSE (Landwirthsch. Versuchs-Stat., Bd. 16, p. 61 u. Bd. 26, p. 249) ausgeführt wurden, bestätigt. Es war in Procenten der Trockensubstanz enthalten:

Pflanze	Gesamtstickstoff	Asparaginstickstoff	Asparagin (wasserfrei)
1. Blätter von <i>Trifolium pratense</i> , 9. Juni 1890, Abends 8 Uhr	2,087	0,103	0,973
2. Blätter von <i>Robinia Pseudacacia</i> , 8. Juli 1890, Abends 7 Uhr	3,376	0,116	1,093
3. Blätter von <i>Carum Carvi</i> , 18. Mai 1890, Mittags 1 Uhr	2,525 ²⁾	0,584	5,506

Wir haben zu diesen Untersuchungen sorgfältig nur völlig erwachsene und ausgebildete, hart gewordene Blätter ausgewählt, denn in jungen, noch im Wachsen begriffenen Blättern wäre das Vorhandensein von Asparagin nicht auffallend, weil solches als Baumaterial dem jungen Blatte zugeführt wird. Aber in einem Blatte, welches schon seit Wochen seine ganze Ausbildung abgeschlossen und selbst keinen Bedarf mehr an plastischem Material hat, ist Asparagin geradeso wie Stärkemehl kaum anders aufzufassen als entstanden an Ort und Stelle aus dem rohen Nährstoffmaterial. Die obigen Zahlen zeigen, dass es sich in der That um keine geringen Mengen Asparagin handelt.

SACHS hat bekanntlich interessante Versuche gemacht, welche die tägliche Periodicität in der Bildung von Assimilationsstärke im grünen Blatte anschaulich machen: am Abend sind die Blätter reich an Stärkemehl, am Morgen haben sie dasselbe grösstentheils oder ganz wieder verloren. Die Erklärung dafür ist bekannt: nur unter dem Einflusse

1) Landwirthsch. Versuchs-Stat., Bd. 26, p. 248.

2) Von einem am 3. September 1890 Abends 7 Uhr gesammelten Materiale.

des Tageslichtes werden im Blatte aus der Kohlensäure der Luft Kohlenhydrate gebildet, während ununterbrochen eine Ableitung dieser Stoffe aus dem Blatte nach dem Stengel erfolgt. Wir haben uns nun die Frage gestellt, ob bezüglich der stickstoffhaltigen Substanz des Blattes ein ähnliches Verhalten bestehen möchte. Zu dem Zwecke haben wir an besonders heiteren sonnigen Tagen von denselben Pflanzen solche Quantitäten von vollständig erwachsenen Blättern, wie sie zur chemischen Analyse erforderlich sind, abgeschnitten, und zwar das eine Quantum Abends, ungefähr bei Sonnenuntergang, das andere am nächsten Morgen gleich nach Sonnenaufgang. Das Material haben wir stets von demselben Quartier im Garten entnommen und selbstverständlich möglichst gleichartig und gleichalterig ausgewählt. Dasselbe wurde sofort nach dem Abschneiden schnell im Trockenschranke bei 60° C. bis zum constanten Gewicht getrocknet. Da uns jedes Blatt einzeln durch die Hände ging, war eine Verunreinigung mit Fremdem ausgeschlossen. Von der trockenen Substanz wurde ungefähr 1 bis 1,5 g zu jeder Analyse verwendet. Die Stickstoffbestimmungen selbst wurden in allen Fällen nach der Methode von WILL-VARBENTRAPP durch Verbrennen mit Natronkalk und Ueberführung des vorhandenen Stickstoffs in Platinsalmiak, sowie nachheriges Wägen des gefundenen Platins ausgeführt. Die folgenden Zahlen geben die Resultate:

Pflanze	Durchschnitts- Temperatur	Wetter	Gesamt- Stickstoff in Procenten der Trocken- Substanz
1. <i>Trifolium pratense</i> , 9. Juni 1890, Abends 8 Uhr	von 6 Uhr M. bis 7 Uhr A. 15° C.	Vormittags langsam auf- klärend, Nachmittags ziemlich heiter	2,087
do. 10. Juni 1890, Morgens 8 Uhr	von 9. Juni 7 Uhr A. bis 7 Uhr M. 9° C.	vom Abend bis Morgen zunehmende Bewölkung	1,486
2. <i>Medicago sativa</i> , 14. Juli 1890, Abends 8 Uhr	von 6 Uhr M. bis 8 Uhr A. 20° C.	heiter, trocken, sehr sonnig	4,382
do. 15. Juli 1890, Morgens 6 Uhr	von 14. Juli 8 Uhr A. bis 5 Uhr M. 17° C.	Abends fast und Morgens ganz wolkenlos mit leichtem Dunst	2,906
3. <i>Lathyrus sylvestris</i> , 14. Juli 1890, Abends 8 $\frac{1}{4}$ Uhr	von 6 Uhr M. bis 8 Uhr A. 20° C.	heiter, trocken, sehr sonnig	4,124
do. 15. Juli 1890, Morgens 7 Uhr	von 14. Juli 8 Uhr A. bis 5 Uhr M. 17° C.	Abends fast und Morgens ganz wolkenlos mit leichtem Dunst	3,088

Pflanze	Durchschnitts- Temperatur	Wetter	Gesamt- Stickstoff in Procenten der Trocken- Substanz
4. <i>Brassica oleracea gongylodes</i> , 14. Juli 1890, Abends 8 Uhr	von 4 Uhr M. bis 8 Uhr A. 20° C.	heiter, trocken, sehr sonnig	2,947
do. 15. Juli 1890, Morgens 5 Uhr	von 14. Juli 8 Uhr A. bis 5 Uhr M. 17° C.	Abends fast und Morgens ganz wolkenlos mit leichtem Dunst	2,456
5. <i>Cannabis sativa</i> , 14. Juli 1890, Abends 8½ Uhr	von 6 Uhr M. bis 8 Uhr A. 20° C.	heiter, trocken, sehr sonnig	3,794
do. 15. Juli 1890, Morgens 5½ Uhr	von 14. Juli 8 Uhr A. bis 5 Uhr M. 17° C.	Abends fast und Morgens ganz wolkenlos mit leichtem Dunst	2,961
6. <i>Vitis vinifera</i> , 26. Juli 1890, Abends 6½ Uhr	von 6 Uhr M. bis 6 Uhr A. 15° C.	Vormittag und Mittag oft wolkig und mit Regen drohend, Nachmittag und Abend ziemlich heiter	2,503
do. 15. Juli 1890, Morgens 7 Uhr	von 14. Juli 8 Uhr A. bis 5 Uhr M. 17° C.	Abends fast und Morgens ganz wolkenlos mit leichtem Dunst	2,445
7. <i>Carum Carvi</i> , 3. September 1890, Abends 6½ Uhr	von 6 Uhr M. bis 6 Uhr A. 14° C.	Vormittags ziemlich heiter, Nachmittags zeitweise wolkig und mit Regen drohend, Abends heiter	2,525
do. 4. September 1890, Morgens 7 Uhr	von 3. Sept. 6 Uhr A. bis 6 Uhr M. 10° C.	Abends wolkenlos	2,323
8. <i>Lupinus luteus</i> , 3. September 1890, Abends 6½ Uhr	von 6 Uhr M. bis 6 Uhr A. 14° C.	Vormittags ziemlich heiter, Nachmittags zeitweise wolkig und mit Regen drohend, Abends heiter	2,883
do. 4. September 1890, Morgens 6½ Uhr	von 3. Sept. 6 Uhr A. bis 6 Uhr M. 10° C.	Abends wolkenlos	2,832

Diese Versuche zeigen ausnahmslos, dass die grünen Blätter der Pflanzen an jedem Abend stickstoffreicher sind als am nächsten Morgen. Der Mehrgehalt ist besonders bei Luzerne, Rothklee und Lathyrus sehr bedeutend. Aber auch die Nicht-Leguminosen zeigen, wenn auch in durchschnittlich geringerem Grade, diese Erscheinung. Die Jahreszeit, d. h. die Dauer der täglichen Beleuchtung und die Höhe der Temperatur sind vielleicht auch von Einfluss, wie die bei den letzteren zwei erst im September ausgeführten Versuchen

mit Kümmel und Lupine erhaltenen geringen Unterschiede vermuthen lassen.

Es war schon aus theoretischen Gründen zu erwarten, dass, wenn der Stickstoffgehalt der Blätter periodisch eine Abnahme erleidet, hierbei weniger die Eiweissstoffe in Betracht kommen, da sie als Bestandtheile des Protoplasmas und der Chlorophyllkörner im gesunden, lebenden Blatte wenig wandelbar erscheinen. Wir haben nun wenigstens von *Trifolium pratense* die Abend- und Morgenblätter vom 9./10. Juni auch auf ihren Asparagingehalt geprüft und dabei nachstehendes Resultat erhalten:

Abend-Blätter . . .	0,973 pCt.	Asparagin (wasserfrei)
Morgen-Blätter . . .	0,277	” ” ”

Man kann also auch sagen, dass die grünen Blätter am Abend reicher an Asparagin sind als am nächsten Morgen.

Es ist nun naheliegend, anzunehmen, dass ebenso wie der Mehrgehalt an Stärkemehl am Abend auf einer Erwerbung von Kohlenstoff aus der Luft beruht, derjenige an Asparagin auf eine von Blatte ausgeübte Absorption von Stickstoff aus der Luft zurückzuführen sei. Allein dafür können die obigen Versuche noch nicht als Beweis gelten. Könnte nicht die Erzeugung von Asparagin im Blatte auf einer Zufuhr von anorganischen Stickstoffverbindungen aus dem Erdboden von den Wurzeln aus beruhen und nur deshalb während des Tages in erhöhtem Grade stattfinden, weil die Quelle des dazu erforderlichen stickstofffreien Materials in Form von Kohlenhydraten in Folge der Assimilation in den Chlorophyllkörnern reichlicher fließt? Denkbar und berechtigt wäre dieser Einwand gewiss. Aber es fehlen ihm erstens zum Theil die thatsächlichen Voraussetzungen. Das allgemeine aus dem Boden zu beziehende anorganische Stickstoffnahrungsmittel, die Salpetersäure, wird, wie nachgewiesen¹⁾, von vielen Pflanzen schon in den Wurzeln assimiliert und gelangt garnicht nach den Blättern. In dem Blättermaterial unserer obigen Versuchspflanzen wurde denn auch übereinstimmend mit diesen bekannten Thatsachen, bei *Trifolium pratense*, *Medicago sativa*, *Lathyrus sylvestris*, *Robinia Pseudacacia* und *Vitis vinifera* mittelst des so überaus empfindlichen Reagens, der Diphenylamin-Schwefelsäure, absolutes Fehlen oder höchstens ganz geringe Spuren von Salpetersäure constatirt, während dagegen das Blätter-Material von *Carum Carvi* etwas, dasjenige von *Brassica oleracea* und *Cannabis sativa* ziemlich viel Nitrat nachweisen liess, wie dies ja von diesen Pflanzen auch bekannt ist. Der obige Einwand hat aber auch wenig Wahrscheinliches. Es wäre nicht recht einzusehen, warum die Nitrate erst

1) FRANK, Ursprung und Schicksal der Salpetersäure in der Pflanze. Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch., 29. December 1887 und Untersuchungen über die Ernährung der Pflanze mit Stickstoff, Berlin 1888, p. 41.

den umständlichen Weg nach den Blättern machen müssten, da doch die zur Asparaginbildung erforderlichen Kohlenhydrate nicht im Blatte zurückgehalten, sondern in alle Theile der Pflanze geleitet werden, und da es auch nachgewiesen ist, dass Nitrate auch in anderen Theilen, als in den Blättern assimilirt werden können.

Ganz abgesehen von der Stickstoffquelle, aus welcher das Asparagin des Blattes stammt, könnte der abendliche Mehrgehalt daran verschiedene Ursachen haben: es könnte entweder Tags über wirklich mehr Asparagin erzeugt werden, wobei noch dahingestellt bliebe, ob hier eine directe oder nur mittelbare Bethheiligung des Lichtes vorläge, oder es könnte einfach nur die Ableitung des gebildeten Asparagins aus dem Blatte Tags über verlangsamt sein gegenüber der Nacht.

Um die Zufuhr von Stickstoffverbindungen aus der Pflanze in das Blatt auszuschliessen, haben wir Versuche mit abgeschnittenen Blättern gemacht. Weiss man doch, dass auch solche, so lange sie frisch bleiben, am Lichte Kohlensäure assimiliren, wenn auch schwächer, als wenn sie an der Pflanze sitzen. Es wurde am Morgen ein Quantum möglichst gleichartiger Blätter abgeschnitten, ein Theil davon sofort bei 60° C. bis zum constanten Gewicht getrocknet, ein anderer Theil in grosse, mit destillirtem Wasser gefüllte Schalen so eingesetzt, dass die Stiele eintauchten und die Blätter in möglichst natürlicher Lage in der Luft sich befanden. Die Schalen blieben im Freien an einer ganz hellen, der Sonne zugänglichen Stelle bis zum Abend stehen; sie hielten sich fast ausnahmslos den Tag über vollkommen frisch. Am Abend wurden sie aufgenommen und ebenfalls rasch bei 60° C. bis zum constanten Gewicht getrocknet. Es ergab sich nachstehendes Resultat:

Pflanze	Durchschnitts- Temperatur	Wetter	Gesamt- Stickstoff in Procenten der Trocken- Substanz
1. <i>Trifolium pratense</i> , 4. September 1890, Morgens 6 Uhr	von 3. September 6 Uhr A. bis 6 Uhr M. 10° C.	wolkenlos	3,617
do. Abends 6 Uhr	von 6 Uhr M. bis 6 Uhr A. 16° C	Vormittags vielfach wolzig, Nachmittags heiter und trocken	3,765
2. <i>Lupinus luteus</i> , 4. September 1890, Morgens 6 Uhr	von 3. September 6 Uhr A. bis 6 Uhr M. 10° C.	wolkenlos	2,832
do. Abends 6 Uhr	von 6 Uhr M. bis 6 Uhr A. 16° C.	Vormittags vielfach wolzig, Nachmittags heiter und trocken	3,168

Diesem Versuche mit abgeschnittenen Blättern wollen wir indess, obgleich auch er eine Erwerbung von Stickstoff durch das Blatt allein

anzuzeigen scheint, zunächst noch keine unbedingte Beweiskraft zu sprechen, da wir denselben erst in einer Jahreszeit machen konnten, wo die Pflanzen nicht mehr in derjenigen vollen Thätigkeit sind, die man mitten im Sommer von ihnen erwarten kann. Unsere Versuche in dieser Beziehung sind noch nicht abgeschlossen; sie sollen unter günstigeren Vegetationsverhältnissen wiederholt und mit variirter Fragestellung erweitert werden.

Betreffs der Stickstoff-Assimilation der Pflanzen harrt noch eine zweite fundamentale Frage ihrer Beantwortung, nämlich die, ob das Rhizobium der Leguminosenknöllchen elementaren Stickstoff zu assimiliren vermag. Der von HELLRIEGEL ausgesprochene Gedanke, dass bei den Leguminosen der Luftstickstoff durch den in den Knöllchen lebenden Symbiosepilz assimiliert werde, ist eine Hypothese, welche bis jetzt ohne Beweis geblieben ist. Der exacte Weg, auf welchem dieses zu beweisen wäre, würde der sein, dass man das Rhizobium abgesondert von der Pflanze in Reinculturen auf seine Fähigkeit prüfte, aus Luftstickstoff allein den zur Bildung organischer Verbindungen erforderlichen Stickstoff zu gewinnen. Wir glauben umso mehr auch über unsere diesbezüglichen Versuche Mittheilung machen zu sollen, weil PRAZMOWSKI¹⁾, welcher gleichzeitig solche Versuche angestellt hat, über die seinigen in Ausdrücken berichtet hat, welche wenig befriedigen können. Es sollen nämlich seine Versuche im Allgemeinen in dem Sinne ausgefallen sein, dass bei Mangel anderer günstiger Stickstoffnahrung die Knöllchen-Bakterien den elementaren Stickstoff der Atmosphäre als Nahrung aufzunehmen vermögen. Ueber die Art aber, wie dies bewiesen werde, wie über die Versuche selbst, theilt PRAZMOWSKI nur das Eine mit, dass die letzteren „nicht mit der nöthigen Schärfe und Exactheit ausgeführt werden konnten“.

Das Rhizobium der Leguminosen lässt sich leicht in sterilisirten künstlichen geeigneten Nährlösungen züchten; die Entwicklung des Pilzes giebt sich in einer rasch eintretenden starken Trübung der Flüssigkeit zu erkennen, welche unter günstigen Bedingungen bis zur Abscheidung dicker flockiger Massen fortschreitet. Da hierdurch die Fähigkeit des Pilzes erwiesen ist, auch getrennt von den Leguminosen sich zu ernähren und zu vermehren, so haben wir mit dem Pilze Parallelculturen angestellt, in denen die Stickstoffquelle variirt wurde. Die Versuche wurden in Probirgläschen gemacht, welche vorher mit der Nährlösung halb gefüllt unter Verschluss mit einem Wattepfropfen sterilisirt wurden.

Das Pilz-Aussaatmaterial wurde aus Reinculturen des Rhizobiums entnommen. Die letzteren waren theils auf sterilisirter Gelatine durch

1) Landwirthschaftliche Versuchsstationen, XXXVIII, Heft 1, pag. 54—55.

Impfstiche und mehrmaliges Ueberimpfen, theils in sterilisirtem Erbsendecoet gewonnen worden. Sie stammten aus Erbsenknöllchen, und zwar wurden solche Knöllchen benutzt, welche in voller Entwicklung waren und noch nichts von Entleerungs- und Zersetzungserscheinungen zeigten. Dieselben wurden äusserlich gereinigt und mit einem sterilisirten Messer durchschnitten; mitten aus der frischen Schnittfläche wurde durch Einstechen mit einer sterilisirten Nadel etwas in das Cultursubstrat übertragen, worin der Pilz sich nun entwickelte. Mit den so gewonnenen Bacterien wurden nun die Probirglas-Culturen unter den gleichen Vorsichtsmassregeln besäet. Wir machten drei Versuchsreihen, deren jede eine Mehrzahl von Probirgläschen umfasste. Die erste stellte eine Lösung von reinem Rohrzucker dar, welcher sich als absolut stickstofffrei erwies; die zweite eine Lösung von Asparagin allein; die dritte eine solche von Rohrzucker und Asparagin. Die Lösungen waren ca. 1-procentig; jede erhielt noch einen geringen Zusatz einer Lösung der mineralischen Pflanzennährstoffe, jedoch ohne eine Stickstoffverbindung. Die drei Culturenreihen wurden gleichzeitig am 4. Juni angesetzt und blieben nebeneinander stehen. Eben solche Controlgefässe mit denselben sterilisirten Lösungen, aber ohne Pilzaussaat, erhielten sich vollkommen klar; von den besäeten zeigte immer jede Culturenreihe ein gleiches Verhalten in ihren sämmtlichen Gefässen. Es wurde Folgendes beobachtet:

(Siehe Tabelle Seite 340.)

Die mikroskopische Prüfung einiger der Culturengefässe ergab überall einen kleinen Spaltpilz in Form ganz kurzer bis etwas längerer Stäbchen, so wie er immer in den Culturen des Rhizobiums aufzutreten pflegt.

Es waren dem Pilze also hier Nahrungsmittel in Form solcher Verbindungen geboten, wie sie ihm in der lebenden Pflanze zur Verfügung stehen. Man sieht, dass Asparagin und Zucker die beste Nahrung für den Symbiosepilz der Leguminosen sind, und dass auch Asparagin als einzige organische Verbindung ihn, wenn auch etwas schwächer, zu ernähren vermag, dass aber im Vergleich hierzu Zucker als einzige organische Verbindung nebst elementarem Stickstoff als einziger Stickstoffquelle nur sehr geringfügigen Erfolg haben. Für die Ernährungsweise des Pilzes innerhalb der Pflanze sind dies gewiss beachtenswerthe That-sachen.

Da aber doch in der stickstofffreien Lösung eine allerdings sehr träge und erst spät bemerkbare, jedoch ganz unzweifelhafte Vermehrung des Pilzes erfolgt, so scheint dies dafür zu sprechen, dass der Pilz elementaren Stickstoff zu assimiliren vermag. Allein bewiesen kann dies damit noch nicht sein. Die blosse Vermehrung des Pilzes, wie

Datum	Nr. 1 Zucker allein	Nr. 2 Asparagin allein	Nr. 3 Zucker und Asparagin
7. Juni.	Flüssigkeit klar	Schwache Trübung nahe der Oberfläche	Deutliche Trübung der ganzen Flüssigkeit, nahe der Oberfläche am stärksten
10. Juni.	Flüssigkeit klar	Trübung hat etwas zu- genommen	Trübung hat stark zu- genommen
14. Juni.	Flüssigkeit klar	Trübung hat wenig zugenommen	Sehr starke Trübung, in einer ca. $\frac{1}{2}$ cm dicken Schicht an der Ober- fläche milchige Massen bildend
28. Juni.	Flüssigkeit klar	Trübung stärker zu- genommen, auch als Bodensatz sich ab- setzend	Ausserordentlich reich- liche, zu Flocken sich verdichtende und Bo- densatz bildende Trü- bungsmassen
18. Juli	Flüssigkeit klar	Trübung verstärkt, Bodensatz reichlicher geworden	Neben der dicken Trübung sammelt sich immer mehr Boden- satz an
11. September .	Flüssigkeit ziemlich klar, aber ein ge- ringer weisslicher Bodensatz hat sich entwickelt	Trübung mehr ver- schwunden, indem sich die Massen zu einem sehr reichlichen dicken Bodensatz vereinigt haben	Die Pilzmassen haben sich zu dicken Klumpen vorzugsweise auf dem Boden und an den Ge- fässwänden abgesetzt
23. November .	Der weissliche Bo- densatz hat sich in allen Gefässen deutlich vermehrt; Flüssigkeit selbst ziemlich klar ge- blieben, doch meist mit dünnem Bacterienhäutchen be- deckt	Pilzmassen in der- selben Menge vor- handen	Pilzmassen in derselben Menge vorhanden

sie sich durch Trübung der üblichen Reinculturen von Pilzen anzeigt, ist dazu nicht hinreichend. Erst wenn die chemische Analyse solcher Pilzculturen eine wirkliche Stickstoffvermehrung anzeigen sollte, würde ein Beweis im obigen Sinne vorliegen. Wie vorsichtig man sein muss bei der Beurtheilung von Pilztrübungen, welche in Flüssigkeiten auftreten, lehrte uns z. B. eine Traubenzuckerlösung, welche als absolut stickstofffrei sich erwies. Sie trübte sich beim längeren Stehen sehr stark durch eine in Menge zur Entwicklung gelangende Sprosspilzform, und ergab nun dennoch bei der Prüfung auf Stickstoff ein negatives Resultat, während eine bis zu gleicher Trübung hergestellte Aufschwemmung gewöhnlicher Bierhefe in Wasser eine sehr starke Stickstoffreaction zeigte. Die spontan entstandene Sprosspilzform erwies sich unter dem Mikroskop aus sehr fettreichen, aber anscheinend protoplasmaarmen Zellen bestehend.

Dagegen ergab eine sterilisirte, reine, 5-procentige Traubenzuckerlösung, die eine Spur stickstofffreier, mineralischer Nährstoffe enthielt und in welche Rhizobium eingesät worden war, nach 6 Wochen eine Vermehrung des Pilzes in Form eines weisslichen, beim Aufrühren die Flüssigkeit ziemlich trübenden Bodensatzes und mit stickstofffreiem Natronkalk erhitzt eine deutliche Bläuung rothen Lakmuspapieres und Nebelbildung an einem mit Salzsäure befeuchteten Glasstabe, während der Traubenzucker, für sich allein so behandelt, keinen Stickstoff anzeigte, sondern blaues Lakmuspapier röthete.

Eine nicht mit Rhizobium besäete andere Probe derselben stickstofffreien Traubenzuckerlösung hatte spontan einen in Form einer gallertartigen Masse die Flüssigkeit erfüllenden saprolegniaceenartigen Pilz mit dicken, protoplasmareichen Schläuchen entstehen lassen und reagirte ebenfalls beim Erhitzen mit Natronkalk sehr deutlich auf Ammoniak.

Wir sehen hieraus, dass der Symbiosepilz der Leguminosen bei vollständigem Mangel an Stickstoffverbindungen mit Hilfe von Stickstoff aus der Luft sich zwar etwas, aber nur sehr langsam und viel unbedeutender vermehrt, als wenn ihm organische Stickstoffverbindungen, wie es in der Pflanze der Fall ist, geboten sind. Zugleich aber sehen wir, dass es noch andere Pilze giebt, welche in stickstofffreien Medien wachsen und dabei langsam Stickstoff aus der Luft erwerben können.

Die vorstehenden Thatsachen enthalten keinen Beweis dafür, dass die Stickstoffassimilation der Leguminosen von dem Rhizobium vollzogen werde. Jedenfalls würde die hier beobachtete schwache und langsame Vermehrung des Pilzes in der stickstofffreien Zuckerlösung nicht entfernt ausreichen, um die energische und rasche Stickstoffassimilation der Leguminosen zu erklären.

Wohl könnte man sich denken, dass durch die Verbindung des Pilzes mit der Pflanze im Symbiosezustande neue Kräfte zum Vorschein kommen, das würde uns aber doch immer wieder auf die Betheiligung der Pflanze hinweisen, sei es nun, dass die Pflanze durch den Pilz, oder der Pilz durch die Pflanze zu grösseren Leistungen gereizt wird.

Zum Belege dafür, dass die Erbse auch ohne Mitwirkung des Symbiosepilzes kräftig Luftstickstoff zu assimiliren vermag, sobald sie auf gutem Boden in einen kräftigen Entwicklungszustand gelangt ist, wollen wir nur einen der neueren Versuche aus diesem Sommer hier anführen.

Die Erbsen wurden in einem humushaltigen Sand, welcher vorher durch Sieben mit einem Millimeter-Sieb und durch sorgfältiges Durcheinandermischen ganz gleichförmig gemacht worden war, in

Culturgefässen bis zur Samenreife gezogen, wobei der Boden nur mit destillirtem Wasser begossen wurde. Das Resultat war Folgendes:

	Ernte von je drei Pflanzen	Stickstoff		Stickstoffgehalt des Bodens in Procenten	
		in der Aussaat (je drei Samen) <i>g</i>	in der Ernte <i>g</i>	vor der Cultur	nach der Cultur
1. Boden unsterilisirt	37,983 <i>g</i> Trockensubstanz mit 39 guten Samen	0,0282	0,7467	0,1076	0,1253
2. Boden sterilisirt	27,061 <i>g</i> Trockensubstanz mit 28 guten Samen	0,0282	0,3705	0,1076	0,1316
3. Boden sterilisirt und dann geimpft mit kleiner Menge desselben frischen Bodens	36,682 <i>g</i> Trockensubstanz mit 38 guten Samen	0,0282	0,6439	0,1076	0,1184

An den Pflanzen Nr. 2 wurde nicht ein einziges Wurzelknöllchen gefunden, während an denjenigen von Nr. 1 und Nr. 3 diese Organe reicher Menge vorhanden waren. Man sieht aus den vorstehenden Zahlen deutlich den günstigen Einfluss der Pilzsymbiose auf die Gesamtproduction und auf die Stickstoffwerbung der Pflanze, aber ebenso beweist Nr. 2, dass ohne Pilzsymbiose die Erbse hier ebenfalls Stickstoff aus der Luft erworben und den Boden noch etwas stickstoffreicher gemacht hat durch die von ihr hinterlassenen Wurzelreste.

Pflanzenphysiologisches Institut der Kgl. landwirthschaftl. 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: 1890

Band/Volume: [8](#)

Autor(en)/Author(s): Frank B., Otto R.

Artikel/Article: [Untersuchungen über Stickstoff-Assimilation in der Pflanze. 331-342](#)