

Biologisches Centralblatt

unter Mitwirkung von

Dr. M. Reess und **Dr. E. Selenka**

Prof. der Botanik

Prof. der Zoologie

herausgegeben von

Dr. J. Rosenthal

Prof. der Physiologie in Erlangen.

24 Nummern von je 2 Bogen bilden einen Band. Preis des Bandes 16 Mark.
Zu beziehen durch alle Buchhandlungen und Postanstalten.

X. Band.

15. November 1890.

Nr. 19 u. 20.

Inhalt: Loew, Ueber das Verhalten niederer Pilze gegen verschiedene anorganische Stickstoffverbindungen. — Will, Zur Entwicklungsgeschichte des Gecko's. — Inhof, Notiz über Rotatorien, speziell über die Gattung *Pedalion* Hudson. — A. Schmidt, Ein Beitrag zur Physiologie der Leber. — C. du Bois-Reymond, Aus der ophthalmologischen Sektion des X. internationalen Aerzte-Kongresses. — Schulz, Die Synthese des Traubenzuckers (Schluss).

Ueber das Verhalten niederer Pilze gegen verschiedene
anorganische Stickstoffverbindungen.

Von **O. Loew**,

Privatdozent an der Universität München.

Da niedere Pilze eine bedeutende Rolle theils im allgemeinen Kreislauf der Natur, theils als Urheber der Infektionskrankheiten, theils als Vermittler mancher Prozesse der Technik spielen, muss jeder auch noch so geringe Beitrag über Lebensbedingungen und Lebensäußerungen dieser so energischen Organismen erwünscht sein.

Die energische Lebensbewegung ihres Protoplasmas führt entweder einen intensiven Atmungsprozess herbei, durch welchen besonders Schimmelpilze befähigt werden, relativ sehr bedeutende Massen organischen Materiales bis zu Kohlensäure und Wasser zu verbrennen¹⁾ oder sie äußert sich in Form der Gärkraft, mittels welcher Spross- und Spaltpilze bedeutende Mengen von leicht zersetzlichen organischen Körpern unter Atomverschiebung und Spaltung in festere Komplexe verwandeln. Beide Prozesse, deren innige physiologische Beziehungen von Pasteur, Nägeli und Nencki²⁾ erkannt und erörtert wurden, brauchen eine gewisse Kraftmenge, bringen aber dafür eine weit bedeutendere ein.

Bei oberflächlicher Betrachtung scheinen beide nur auf Zerstörung organischer Verbindungen abzuzielen; indess verfolgt man die Vorgänge genauer, so kommt man zum Schluss, dass sie

1) Vergl. Nägeli, Die niederen Pilze, München 1877; Derselbe, Ueber den Ernährungschemismus der niederen Pilze. Ber. der bayer. Akademie der Wissenschaften, 1879; Derselbe, Theorie der Gärung, München 1879.

2) Nencki, Anaerobiose und die Gärungen. Arch. f. exp. Path. u. Pharm., 21.

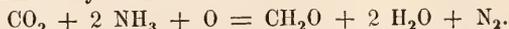
zugleich die Synthese der Proteinstoffe ermöglichen, indem sie die hierzu nötigen Atomgruppen aus einem gewissen Bruchteile des organischen Nährstoffes bilden. Ist der letztere keine gärfähige Verbindung oder sind die Pilze keine gärttichtigen, so ist es die Atmungsthätigkeit, welche durch einen unvollkommenen Oxydationsprozess jene Gruppen liefert, im andern Fall ist es die Gärwirkung¹⁾, welche dasselbe durch Spaltung und Atomverschiebung zu stande bringt. Ich habe schon früher darauf hingewiesen, dass uns gewisse Thatsachen zur Annahme drängen, dass die zur Eiweißbildung dienende Gruppe CH_2O (und NH_3) ist²⁾. Nur dann ist es auch erklärlich, dass sich Bakterien in 0,5prozentigen Lösungen von Methylalkohol, Methylal, salzsaurem Methylamin, sogenanntem Hexamethylenamin, methylschwefelsaurem Natron und oxymethylsulfonsaurem Natron bei Gegenwart der nötigen anorganischen Nährsalze entwickeln und vermehren können. Alle diese Verbindungen, welche die so einfachen organischen Gruppen CH_3 , CH_2 resp. CH_2OH enthalten, sind also zur Bildung von Kohlehydrat (resp. Fett) und Eiweißstoff verwendbar³⁾.

Dieses ist indess nur möglich, wenn daraus eine zu Synthesen verwendbare Verbindung hergestellt wird; die einzige hier mögliche Verbindung aber ist der Formaldehyd CH_2O , welcher bei Kondensationsvorgängen wohl auch sich in die isomere zweiwertige Gruppe HC—OH umwandeln kann. Zwar besitzt der Formaldehyd eine Giftnatur⁴⁾, allein es gibt lockere Verbindungen desselben, welche durchaus

1) Loew, Journal f. prakt. Chemie, 33, S. 349.

2) Loew, Pflüg. Archiv, 22, S. 505. Die Hoffnung, welche ein prominenter Chemiker in neuerer Zeit ausgesprochen hat, dass bei Zufuhr verschiedener Zuckerarten auch verschiedene Eiweißkörper in den Pflanzenzellen gebildet würden, in Folge dessen morphologische Aenderungen resultieren könnten, dürfte sich wohl nicht erfüllen! — Geht doch bei weinsaurem Ammoniak als Nahrung genau dasselbe *Penicillium* aus den Sporen hervor, als wenn Leucin oder Glukose mit Salpeter den Nährstoff bildet. Und doch stehen diese Stoffe weiter auseinander als die verschiedenen Zuckerarten unter sich. Letztere werden offenbar ebenso wenig als ganze Moleküle zur Eiweißbildung verwendet als die Weinsäure.

3) Nach Mitteilungen von Hüppe, welche Winogradsky bestätigte, gibt es indess auch eine Bakterienart, welche kohlen-saures Ammoniak zu Synthesen verwenden kann, resp. davon zu leben vermag. Es wäre denkbar, dass hier — abweichend von der Kohlensäureassimilation der grünen Pflanze — die erste Synthese so vor sich geht, dass der Wasserstoff des Ammoniaks zur Bildung von Formaldehyd verwendet wird:



Es würde hiebei Stickstoff ausgeschieden und Sauerstoff aufgenommen werden. Um diese Hypothese zu prüfen, wäre unter andern ein Versuch zu machen, bei welchem der Stickstoff nur als Nitrat und die Kohlensäure nicht als Karbonat, sondern als freie Säure den Pilzzellen dargeboten wird.

4) Th. Bokorny, Studien und Experimente über den chemischen Vorgang bei der Assimilation, Erlangen 1888, S. 19. — H. Buchner, Münchener

nicht giftig sind, wie die mit saurem schwefligsaurem Natron, wovon ich mich mehrfach überzeigte. Es können ferner wohl die synthetischen Vorgänge so rasch verlaufen, dass eine Anhäufung von Form- aldehyd vermieden wird.

Was nun die anorganischen Stickstoffverbindungen bei der Eiweißbildung betrifft, so deutet Vieles darauf hin, dass nur solche ernähren können, die in den Zellen leicht zu Ammoniak werden und wenn von einer gewissen Art niederer Pilze wirklich freier Stickstoff assimiliert werden kann, was durch neuere Beobachtungen möglich scheint¹⁾, so wäre auch hier zunächst eine Um- wandlung desselben in salpetrigsaures Ammoniak durch die Plasma- tätigkeit desselben anzunehmen.

Cyanverbindungen (Ferrocyankalium) ernähren nur dann, wenn die Pilze im stande sind Ammoniak daraus abzuspalten, was wohl Bakterien, nicht aber Spross- und Schimmelpilze vermögen (Nägeli l. c.).

Während nun das Ammoniak eine große Ernährungsfähig- keit besitzt, hat sich das so nahe stehende Hydroxylamin als ein äußerst intensives Gift erwiesen, sowohl in freiem als gebundenem Zustand²⁾. Beide Körper unterscheiden sich nur dadurch, dass ein Atom Wasserstoff im Ammoniak durch eine Hydroxylgruppe ersetzt wurde:



Durch den Eintritt der negativen Hydroxylgruppe sind die beiden am Stickstoffatom haftenden Wasserstoffatome in bedeutend beschleunigte Schwingungen versetzt worden³⁾ und dadurch ist das Hydroxyl- amin befähigt, bei sehr viel größerer Verdünnung und selbst in Form von Salzen noch mit den Aldehyden [und Ketonen⁴⁾] zu reagieren, als Ammoniak hiezu im stande ist. Und dieser wesentliche Unter- schied im chemischen Verhalten beider Basen liegt sicherlich auch der so verschiedenen physiologischen Wirkung zu Grunde — das ist wohl die allernatürlichste Folgerung. Wir finden, dass

mediz. Wochenschrift, 1889. — O. Loew, Sitzungsber. der morph.-physiol. Gesellschaft in München, 1888, S. 40.

1) Hellriegel u. Wilfarth, Untersuchungen über die Stickstoffnahrung der Gramineen und Leguminosen, Berlin 1888. — Lawes u. Gillert, Chem. Centralblatt, 1890, I, 922.

2) Binz, Virchow's Archiv, Bd. 113; E. Schulze u. V. Meyer, Ber. d. deutsch. chem. Ges., 17, S. 1554; O. Loew, Pflüg. Arch., 32, S. 113 und 35, S. 516; Loew, Sitzungsberichte der Gesellschaft f. Morph. u. Physiol. in München, 1889, 126.

3) Vergl. Loew, Chemische Bewegung. Biol. Centralbl., IX, S. 489.

4) Ketone sind die nächsten Verwandten und Abkömmlinge der Aldehyde.

das Hydroxylamin auf gewöhnliches gelöstes Eiweiß nicht im geringsten bei gewöhnlicher Temperatur verändernd wirkt; andererseits sehen wir, dass es selbst bei bedeutender Verdünnung das lebende Protoplasma so verändert, dass dieses nicht die geringste Lebensregung mehr ausführt — es ist abgestorben!

Was ist denn anderes denkbar, als dass das Hydroxylamin gerade in solche Atomgruppen des lebendigen Plasmas eingegriffen hat, mit denen es zu reagieren im stande ist, dass gerade diese labilen Aldehydgruppen für die Lebenseigenschaften sehr wichtig sind, dass sie beim Absterben durch Umlagerung verloren gehen und deshalb das gewöhnliche Eiweiß keine Aldehydnatur mehr besitzt!

Das Hydroxylamin braucht ja nicht mit jedem Molekül des aktiven Albumins einer Zelle zu reagieren. Es reicht hin, dass eine dünne Schichte rasch angegriffen wird, die Hauptmasse des Protoplasmas stirbt dann lediglich infolge dieser plötzlichen Störung ab.

Solchen logischen Folgerungen sind freilich diejenigen nicht zugänglich, welche die Lehre vom Vitalismus aus dem Schutte vergangener Zeiten aufwühlen, wie dieses vor wenigen Jahren erst ein Professor der physiologischen Chemie gethan hat.

Ist meine Ansicht richtig, dass bei der Lebensbewegung im lebendigen Eiweiss Aldehydgruppen beteiligt sind, so muss auch der Satz allgemeine Giltigkeit haben, dass alle diejenigen Stoffe, welche noch bei großer Verdünnung mit Aldehyden reagieren, auch Giftwirkung besitzen.

Eine Bestätigung dieses Salses sehe ich in der Giftwirkung des erst vor einigen Jahren entdeckten Diamids¹⁾, welche ich vor kurzem beobachtet habe. Dieser durch seine energische Wirkung auf Aldehyde ausgezeichnete Körper hat sich für Spaltpilze nicht nur als ganz untaugliche Stickstoffquelle, sondern sogar als intensives Gift selbst bei Gegenwart von guten Nährstoffen wie Pepton, erwiesen²⁾.

Meine Versuche stellte ich sowohl mit schwach sauren als neutralen und schwach alkalischen Lösungen des Diamids an. Eine Lösung von 1proz. weinsaurem Kali-Natron mit 0,5proz. Dikaliumphosphat und Spuren von Magnesium- und Calciumsulfat wurde in 2 gleiche Teile geteilt, (a) erhielt noch 0,1proz. schwefelsaures Diamid, (b) ebenso viel schwefelsaures Ammoniak. Nach 8 Tagen zeigte sich bei (b) starke Trübung und reichliche Spaltpilzvegetation, während bei (a) alles klar blieb und jede Spur von Spaltpilzentwick-

1) Th. Curtius, Ber. Chem. Ges., S. 1632. Ich möchte an dieser Stelle Herrn Prof. Curtius meinen herzlichsten Dank für die übersandten Diamid-Salze ausdrücken.

2) Dass Diamid giftig auf Algen wirkt, hat Th. Bokorny bereits konstatiert, Pringsh. Jahrb., 19, S. 214.

lung mangelte, trotz mehrfacher Infektion aus (b). Da nach einer weiteren Woche der Standpunkt der gleiche war, wurde (a) genau mit kohlen-saurem Natron neutralisiert¹⁾ und wieder infiziert und als auch jetzt nach zwei weiteren Wochen die Lösung steril blieb, wurde sie mit kohlen-saurem Natron schwach alkalisch gemacht. Aber keine Spur von Bakterienentwicklung wurde sichtbar. Nur einige Schimmelfäden stellten sich nach einigen Wochen ein; zugleich wurde eine gelbliche Färbung der Lösung bemerkt, was mir auf eine allmähliche Veränderung des Diamids durch die Weinsäure zu deuten schien.

Ein zweiter Versuch war folgender: Eine Lösung, welche 1proz. Methylalkohol, 0,1proz. Dikaliumphosphat, 0,02proz. Diamidsulfat und Spuren von CaCl₂ und MgSO₄ enthielt, wurde mit kohlen-saurem Natron bis zur ganz schwach alkalischen Reaktion versetzt und an der Luft bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. — Die Kontrollmischung enthielt statt des schwefelsauren Diamids ebensoviel schwefelsaures Natron und salpetersaures Kali. Letztere trübte sich unter reichlicher Bakterienentwicklung bald, erstere blieb aber trotz mehrmaliger Infektion aus dieser Kontrollmischung klar und entwickelte keine Bakterien.

Im dritten Versuch wurde eine 0,5proz. Lösung von Pepton mit 0,1proz. schwefelsaurem Diamid und mit kohlen-saurem Natron bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzt und mit Fäulnisbakterien infiziert. Während nun die Kontrollmischung ohne Diamid bei 15–16° schon nach zwei Tagen stehen Trübung, üblen Geruch und zahllose Bakterien zeigte, blieb jene Lösung trotz dreimal wiederholter Infektion klar und entwickelte weder Bakterien noch Schimmelpilze. Nach 3 Wochen gab die Kontrolllösung nur noch Spuren unveränderten Peptons zu erkennen, während bei der Diamid-Nähr-lösung gar nichts verändert war.

Auch einige Versuche mit Sprosspilzen wurden angestellt. Etwas Bierhefe wurde mit einer 0,1proz. Lösung des mit kohlen-saurem Natron neutralisierten schwefelsauren Diamids 2 Tage lang in Berührung gelassen. Die Hefe zeigte dann nur noch Spuren von Gärwirkung auf Glukose. Setzt man einer in lebhafter Gärung befindlichen Glukoselösung 0,2proz. neutralisiertes Diamidsulfat zu, so bemerkt man nach mehreren Stunden keine Abnahme der Gärthätigkeit; es wäre nicht unmöglich, dass das Diamid unter diesen Umständen in Ammoniak übergeführt wird. Weitere Studien über die Giftwirkung des Diamids sind beabsichtigt. Zum Diamid oder Hydrazin steht das Phenylhydrazin in engster Beziehung:



1) Das schwefelsaure Diamid besitzt eine saure Reaktion.

Auch das Phenylhydrazin besitzt eine bedeutende Reagierfähigkeit Aldehyden gegenüber und dem entsprechend intensive Giftwirkung, worauf schon mehrfach hingewiesen wurde¹⁾.

Ernährung der Pilze mit Nitraten.

Aus der Art der Stickstoffbindung im Eiweiß folgt, dass wenn Nitrate assimiliert werden, dieselben ihren Sauerstoff abgeben müssen; denn im Eiweiß ist der Stickstoff nicht mehr an Sauerstoff, sondern an Wasserstoff und Kohlenstoff gebunden. Das Wahrscheinlichste und Natürlichste ist, dass der Stickstoff in Ammoniak verwandelt wird, ehe die Eiweißbildung stattfinden kann.

Die Vorstellung, als würde der Stickstoff als Element den Nitraten entnommen, ist ebenso als irrig zu bezeichnen, als die in neuerer Zeit aufgestellte Behauptung, dass der Prozess der Eiweißbildung bei den Pilzen etwas ganz anderes sei als derjenige bei den Chlorophyll führenden Gewächsen. Die Reduktion der Nitrate wie der Sulfate beim Eiweißbildungsprozess erfolgt allem Anschein nach in der Weise, dass durch die energischen Atomsvhwingungen im Protoplasma der Sauerstoff dieser Salze auf organische Verbindungen z. B. Glykose geworfen wird (wobei außer Kohlensäure und Wasser auch organische Säuren, z. B. Oxalsäure²⁾, entstehen können), während umgekehrt Wasserstoff aus diesen an den Stickstoff³⁾ oder Schwefel tritt, wobei Ammoniak, resp. Schwefelwasserstoff entstehen, welche sofort zur Eiweißbildung verwendet werden. Nur gewisse Bakterienarten vermögen mehr davon zu erzeugen, als der augenblickliche Bedarf erfordert. — Dass das Licht zur Eiweißbildung aus organischem Material, Sulfaten und Nitraten in keiner Beziehung stehe, galt allgemein als ausgemachte Thatsache; doch soll dieses nach neuerer Behauptung nicht richtig sein und dem Chlorophyllkorn bei der Belichtung die Rolle der Assimilation der Nitrate und Sulfate zufallen.

Wäre dem so, so müsste den Zellen der Wurzel und des Stammes die Fähigkeit, Eiweiß aus zugeführter Glykose und aufgenommenen Sulfaten und Nitraten zu bilden, abgesprochen werden. Andererseits müsste dieser Prozess bei den Pilzen durch Lichteinfluss beschleunigt werden, was bald durch rascheres Wachstum sich kund geben müsste. Wenn man nun Nährlösungen aus Glykose, schwefelsaurer Magnesia, salpetersaurem Kali, saurem phosphorsaurem Kali mit Spuren von

1) Loew, Pflüg. Archiv, 35, S. 526.

2) Nach Monteverde (Bot. Centralblatt, 1890, II, S. 333) hängt in der That das Auftreten von oxalsaurem Kalk in den Blättern mit dem Verschwinden der Nitrate aus denselben zusammen.

3) Vergl. Loew, Ueber katalytische Bildung von Ammoniak aus Nitraten. Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft., 23, S. 675.

Chlorcalcium herstellt¹⁾ und eine Anzahl Probeflaschen, zur Hälfte mit der Lösung gefüllt, und mit *Penicillium*-Sporen infiziert im zerstreuten Tageslicht, zum Teil im Dunkeln stehen lässt, so findet man bei der Wägung der verschiedenen Ernteproben zwar Unterschiede, aber diese lassen keineswegs einen Schluss zu gunsten der Lichtwirkung zu; denn häufig wiegen die Dunkelproben mehr wie die Lichtproben. Diese Unterschiede sind auf die verschiedene Anzahl der ausgesäten Sporen zurückzuführen, sie sollten sich aber alle zu gunsten der Lichtproben verwischen, wenn Licht wirklich förderlich auf die Assimilation der Nitrates und Sulfate wirken könnte.

Ein recht auffälliges Resultat mit großen Differenzen im Erntegewicht sei hier angeführt. Es wurden in 2 Liter destillierten Wassers gelöst:

50 g Glycerin, 5 g Natriumnitrat, 2 g Natriumsulfat, 10 g Monokaliumphosphat, 0,4 g Magnesiumsulfat, 0,1 g Chlorcalcium.

Je $\frac{1}{2}$ Liter dieser Nährlösung kam in einen Literkolben, welcher mit Baumwollepfropf locker verschlossen und durch Kochen sterilisiert wurde. Nach dem Erkalten wurden Sporen von *Penicillium glaucum* ausgesät und der Propf wieder aufgesetzt. 2 Kolben wurden in zerstreutes Tageslicht, zwei in einen absolut dunkeln Schrank gestellt. Nach 38 Tagen wogen die bei 100° getrockneten Ernten bei den Dunkelproben: 0,251 und 0,710 g; bei den Lichtproben aber 0,314 und 0,622 g.

Im Anschluss an diese Versuche stellte ich noch einen weiteren mit der denkbar besten Nahrung an. Eine Nährlösung von 20 g Dextrose, 2 g Pepton und je 0,2 g KH_2PO_4 und KNO_3 in 800 cem Wasser wurde auf 4 Flaschen verteilt, sterilisiert und mit Schimmelsporen besät. Zwei Flaschen wurden ins zerstreute Tageslicht, zwei ins Dunkle gestellt. Nach 8 Tagen war überall eine Schimmeldecke entwickelt, welche durch Umschütteln zum Untersinken gebracht wurde, um einen neuen Rasen Platz zu machen. In der Entwicklung und Ausgiebigkeit der Sporenbildung ließ sich beim bloßen Anblick kein Unterschied zwischen Dunkel- und Lichtproben erkennen. Nach fünf Wochen wurden die Ernten abfiltriert²⁾, gewaschen und bei 100° getrocknet. Die belichteten Proben wogen 0,642 und 0,710 g; die verdunkelten Proben 0,501 und 0,718 g. Das Licht hat also auch hier keinen entschiedenen Einfluss auf die Verhältnisse der Ernährung resp. Vermehrung der Zellen ausgeübt, was uns auffallen muss, da einerseits das Licht bei manchen Stoffen einen kräftigen chemischen Einfluss äußert, andererseits intensive Wirkungen auf das labile Protoplasma bekannt sind. Ja für manche Bakterien wird behauptet

1) Es ist hier auf Ausschluss der Sprosspilze wohl zu achten, da sie den Zucker vergären; Spaltpilzen ist die saure Reaktion ohnedies ungünstig.

2) Im Filtrat war noch etwas Zucker und Pepton vorhanden; es war also noch kein Hungerzustand, kein Eiweißzerfall in den Zellen eingetreten.

wirke das Sonnenlicht tödlich. Nach Arloing zerstört direktes Sonnenlicht schnell die Entwicklung der Milzbrandsporen. Aus den schönen und umfassenden Untersuchungen Robert Hartigs über den Hausschwamm (*Merulius lacrymans*) wissen wir, dass die Fruchträgerbildung nur bei Lichteinfluss stattfindet; es reicht hiezu schon eine geringe Intensität aus.

Dem lebenden Protoplasma der Schimmelpilze steht offenbar eine solche Energie zu Gebote, dass es der Mitwirkung des Lichtes bei der Assimilation der Nitrate und Sulfate nicht bedarf. Warum sollten sich nun die Zellen der grünen Gewächse so ganz anders verhalten und diese Funktion auf den Chlorophyllapparat beschränkt sein? Warum sollte hier das Licht dieselben Reduktionen vollbringen, zu welchen dort die Atomschwingungen im lebenden Protoplasma allein ausreichen?

Es ist richtig, dass manches auf eine ausgiebige Bildung von Amidosubstanzen (Asparagin, Glutamin) aus Nitraten und Glykose in den Blättern deutet, allein dieses wird wohl nicht durch direkten Einfluss des Lichtes bedingt sein, sondern durch die größere Menge der Kohlehydrate und besonders durch die hier sehr erleichterte und deshalb intensivere Atmungsthätigkeit, wodurch ein regerer Stoffwechsel und erhöhte Kräfte gewonnen werden. Da die Nitrate erst reduziert werden müssen, wenn Eiweißbildung stattfindet, so sollte man erwarten, dass Ammoniak-Nährlösungen weit günstiger wirken müssten als Nitrat-Nährlösungen, wovon man sich auch bei Schimmelpilz-Kulturen leicht überzeugen kann, besonders wenn man Glykose als organischen Nährstoff wählt und äquivalente Mengen NaNO_3 und NH_4Cl vergleicht. Doch in vielen andern Fällen, bei höher stehenden Pflanzen sowohl, als bei manchen Algen (Spirogyren z. B.) ist das Gegenteil der Fall. Dieses kann daher rühren, dass Ammoniaksalze, über ein gewisses Maß zugeführt, einen schädlichen Einfluss äußern können, indem die flüssigen Teile des Plasmas in den Aggregationszustand¹⁾ übergehen, wodurch die Thätigkeit des Plasmas jedenfalls so lange gehemmt wird, als der Ueberschuss des Ammoniaksalzes in der Zelle vorhanden ist.

So tritt z. B. noch eine deutliche Granulationserscheinung bei den Fäden der Spirogyren ein, wenn 0,1 pro mille Lösungen von schwefelsaurem, phosphorsaurem oder salpetersaurem Ammoniak einwirken. Die Plasmaströmung scheint lebhafter zu werden und die Zellen bleiben eine Reihe von Tagen am Leben. In zehnfach konzentrierteren Lösungen jener Salze tritt eine weit stärkere Granulation auf, der Kern wird bald stark lichtbrechend und die Zellen sterben nach 20—24 Stunden ab.

1) Th. Bokorny, Pflüg. Arch., 45, S. 199 u. Pringsh. Jahrb., 20, S. 427; ferner Loew und Bokorny, Journal f. prakt. Chem., 36, S. 283 und Botan. Centralblatt, 1889, Nr. 45.

Wie verschieden dagegen das Verhalten der Spalt- und Sprosspilze! Sie erfahren von neutral reagierenden Ammoniaksalzen nicht den geringsten Nachteil, ja Sprosspilze können einige Zeit mit einer 10proz. Salmiaklösung auf 40° erwärmt werden, ohne Schaden zu erleiden¹⁾.

Erwägungen chemischer Art ließen mich vermuten, dass unter Umständen auch bei Schimmel- und Spaltpilzen Nitrate eine günstigere Wirkung zeigen könnten, als Ammoniaksalze, nämlich bei wasserstoffreichen Körpern als Nährstoffe.

Dieser Unterschied zu gunsten der Nitrate müsste noch deutlicher werden, wenn in der Nährverbindung die Wasserstoffatome eine gewisse Beweglichkeit oder Labilität erreichen. Die wenigen vergleichenden Versuche, die ich bis jetzt anstellte, erlauben indessen noch keinen bestimmten Schluss. Doch war so viel mit aller Bestimmtheit zu erkennen, dass labile Verbindungen ein besseres Resultat liefern als weniger labile, wenn der Stickstoff als Nitrat dargeboten wird.

Ich stellte Nährlösungen her aus je 0,1proz. Methylalkohol, Essigäther und Acetessigäther, mit je

- 0,05 proz. salpetersaurem Natron,
- 0,02 „ schwefelsaurem Natron,
- 0,01 „ schwefelsaurer Magnesia,
- 0,01 „ Dikaliumphosphat und Spuren von Chlorealcium.

Diese Lösungen wurden infiziert mit Bakterien, welche in einer Methylalkohol-Nährlösung beim Stehen an der Luft gewachsen waren. Es ergab sich sehr bald, dass der Acetessigäther der beste Nährstoff von den dreien ist; denn hier zeigte sich am raschesten und am dichtesten die Bakterienvegetation. Die Umwandlung von Nitraten zu Ammoniak (resp. Kohlensäurem Ammoniak) geht in zwei Phasen vor sich. Zuerst bildet sich stets Nitrit, was mit Jodkaliumstärkekleister sowohl als mit dem Reagens von Griess (Sulfanilsäure mit salzsaurem *a*-Naphthylamin) leicht zu erkennen ist, und erst späterhin lässt sich auch Ammoniak mittels des Nessler'schen Reagens nachweisen. Die Nitritbildung geht mit großer Leichtigkeit unter verschiedenartigen Bedingungen vor sich, bei guter wie bei schlechter Nahrung, nicht nur bei Pepton, sondern auch bei Methylalkohol als ausschließlicher organischer Nahrung. Ein ungünstiger Umstand wäre nur eine durch Gärprodukte eintretende Säuerung²⁾ der Nährlösung. Hiedurch würde etwa schon gebildete salpetrige Säure frei werden und Giftwirkung ausüben³⁾.

1) Loew, Pflüg. Archiv, 35, S. 513.

2) Eine von geringen Mengen Monokaliumphosphat der Nährlösung herührende saure Reaktion ist der Nitritbildung nicht unbedingt hinderlich.

3) Vgl. Loew, Ber. der Münchener Ges. f. Morphol. u. Physiol., Dez. 1889.

Die weitere Reduktion der salpetrigsauren Salze zu Ammoniak in größerem Maße, als unbedingt zur Eiweißbildung nötig ist, erfolgt jedoch durchaus nicht immer, sondern ist an spezielle Verhältnisse geknüpft. Ich konnte z. B. die Ammoniakbildung niemals bei Methylalkohol oder essigsäurem Natron als Nährstoffe beobachten, so sehr ich auch die Bedingungen abänderte, wohl aber bei weinsäurem und zitronensäurem Natron. Daraus scheint zu folgen, dass die Gärfähigkeit einer Substanz die Reduktion der Nitrate zu Ammoniak begünstigt. Allein davon hängt das Resultat sicher nicht allein ab; es kommt auch auf gewisse Arten der Bakterien an¹⁾ und ob die betreffenden Nährstoffe diesen Arten besonders zusetzen. Nährlösungen von weinsäurem und von zitronensäurem Natron [4prozentig]²⁾ wurden das ein mal aus faulem Pepton, das ander mal aus einer Nährlösung von essigsäurem Natron infiziert, welche beim Stehen an der Luft starke Bakterienvegetation entwickelt hatte. Nach wenigen Tagen bei 16—18° schon war in allen Proben Nitritbildung zu konstatieren, bei Zitronensäure mehr als bei Weinsäure, doch eine Ammoniakreaktion wurde nach 4 Wochen bei der Weinsäure-Nährlösung nur nach der Infektion aus der Peptonlösung, bei der Zitronensäure-Nährlösung aber nur bei der Infektion aus der Essigsäure-Nährlösung erhalten.

Bei Steigerung der alkalischen Reaktion durch Zusatz geringer Mengen Natriumkarbonat beobachtete ich in einigen Fällen eine intensivere Reduktion der Nitrate. Vermehrung des Dikaliumphosphats der Nährlösung von 0,01 auf 0,2 Prozent lieferte dagegen keine Unterschiede — wenigstens nicht bei Nährlösungen mit Methylalkohol oder essigsäurem Natron.

Die Reduktion der Nitrate wird bei guter Nährsubstanz begünstigt durch Zusatz wasserstoffreicher Körper. Eine Lösung von 1proz. Pepton mit 1proz. K_2HPO_4 und 0,5proz. KNO_3 wurde in 2 gleiche Teile geteilt und zum einen noch 1proz. Aethylalkohol gesetzt und beide aus fauliger Peptonlösung infiziert. Nach 5 Tagen wurde bei letzterem Teil die Nitrit-Reaktion von Griess mehr als doppelt so intensiv als bei ersterem erhalten.

Erstaunlich rasch verschwinden die Nitrate und die daraus gebildeten Nitrite aus den Nährlösungen von weinsäuren Salzen, wenn man noch 0,2—0,5proz. Glycocoll oder Asparagin zusetzt. Schon nach 10 Tagen konnte ich mit der Diphenylamin-Reaktion keines der beiden Salze mehr auffinden, während die Kontrol-Lösungen noch

1) Zu diesem Schlusse sind auch schon Gayon und Dupetit gekommen. Compt. rend., 95, p. 644 u. 1365.

2) Dieselben enthielten noch 0,5proz. $NaNO_3$, und je 0,1proz. Na_2SO_4 und K_2HPO_4 mit Spuren von $MgSO_4$ und $CaCl_2$. — Schon im Jahre 1879 habe ich im Auftrage Nägeli's einen Versuch über Ammoniakbildung aus Nitraten ausgeführt. Ber. d. bayer. Akademie d. Wissensch., 1879, S. 331.

lange Zeit nachher äußerst intensive Reaktionen darauf lieferten. Dass der Sauerstoff der Nitate insofern den Spaltpilzen etwas nützt, als diese Energie gewinnen, wenn sie damit organische Stoffe oxydieren, dürfte nicht zu bestreiten sein; aber es ist entschieden zu weit gegangen, wenn in neuerer Zeit behauptet wurde, der Sauerstoff des Salpeters könne den atmosphärischen Sauerstoff beim Atmungsprozess ersetzen. Nägeli hat schon vor mehr als 10 Jahren Versuche angestellt, welche diese Ansicht widerlegten. Wenn man nämlich solche Nährsubstanzen wählt, die entweder gar nicht vergärbbar sind (wie Methylalkohol) oder solche die sehr schwierig oder nur bei Gegenwart sehr guten Nährstoffs vergären (wie essigsäure Salze), so lässt sich bei Luftabschluss und nach Infektion bei Gegenwart von Salpeter ebensowenig eine Vegetation erzielen, als bei Gegenwart von Ammoniaksalzen, während dieselben Lösungen bei Luftzutritt bald reichliche Bakterienvegetation aufweisen. Offenbar verlaufen gewisse Oxydationsprozesse, welche die Eiweißsynthese mit bedingen und derselben vorausgehen, in den Zellen anders, wenn freier Sauerstoff zur Verfügung steht, als wenn der Salpeter zu Oxydationen verwendet wird¹⁾.

Entwicklung freien Stickstoffs bei Gärungen.

Die Frage nach der Entwicklung freien Stickstoffs bei der Fäulnis ist in neuerer Zeit dahin entschieden worden, dass diese Entwicklung nur stattfindet, wenn das faulende Gemisch salpetersäure Salze enthält²⁾. Nencki³⁾ und einer seiner Schüler, Bovet⁴⁾, haben durch Reinkulturen von *Bacillus liquefaciens magnus* und *B. spinosus*, sowie von Rauschbrandbacillen bei Abwesenheit salpetersaurer Salze Eiweißfäulnis hervorgerufen und konstatiert, dass die entwickelten Gase aus Kohlensäure und Wasserstoff bestanden und keinen Stickstoff beigemischt enthielten.

Da nun die Entwicklung freien Stickstoffs an die Gegenwart von Nitraten gebunden ist, so fragt es sich, wie kommt diese Entwicklung zu Stande, da doch der Salpeter leicht zu salpetrigsaurem Salz und schließlich zu Ammoniak reduziert werden kann. Eine Entwicklung freien Stickstoffs erscheint unnötig, ja sie bedeutet einen Verlust an Nährstoff.

Offenbar müssen hier ganz besondere Umstände zusammenwirken, um jenes Resultat herbeizuführen. Bovet vertritt die Ansicht, dass

1) Analoga dafür, dass verschiedene Oxydationsmittel einen oft sehr verschiedenen Verlauf der Oxydation bei ein und derselben Substanz bedingen, ließen sich aus der reinen Chemie genug beibringen.

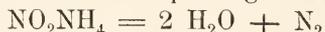
2) Take, Chemikerzeitung, 10, S. 1258; Ehrenberg, Zeitschr. f. phys. Chemie, 11, S. 438.

3) Ber. Wien. Akad. d. Wissensch., 98, II, S. 402 (1889).

4) Annales de Micrographie, 1890.

der Vorgang so zu erklären sei, dass aus dem salpetersaurem Salz zunächst salpetrigsaures gebildet würde und dieses auf die Amidosäuren wirke, welche bei der Fäulnis aus den Eiweißstoffen gebildet werden. Hiefür lässt sich die bekannte Thatsache anführen, dass freie salpetrige Säure auf Amidosäuren der Fettreihe unter Stickstoffentwicklung und Produktion von Oxyssäuren einwirkt. Zwar setzt dieser Vorgang eine saure Reaktion voraus, allein wenn man die so energische Plasmathätigkeit von Spaltpilzen berücksichtigt, so muss man auch die Möglichkeit eines solchen Vorganges in faulenden alkalisch gewordenen Mischungen zugeben.

Nur noch eine einzige andere Möglichkeit konnte bestehen; der Stickstoff konnte auch aus der Zersetzung von salpetrigsaurem Ammoniak stammen. Dieses wird nicht nur durch Erwärmen, sondern, wie ich vor Kurzem fand, durch Platinmohr langsam schon bei gewöhnlicher Temperatur zerlegt und konnte möglicherweise auch durch energische Bakterien eine Spaltung in Wasser und Stickstoff erfahren:



Bei jedem der beiden Vorgänge konnte möglicherweise die Hälfte des entwickelten Stickstoffs nicht aus dem Salpeter stammen, indem nicht nur die Amidosäuren sondern auch das Ammoniak ganz von dem faulenden Eiweißstoff geliefert werden konnte. Es ist nicht gerechtfertigt, den entwickelten Stickstoff ganz auf den Salpeter zu beziehen, wie dies Th. Leone gethan hat¹⁾.

Wie verschieden gestalten sich schon die Verhältnisse, wenn man der faulenden Mischung einmal Nitrat, das anderemal Nitrit zugebt! Eine Lösung von 5 g Pepton und 1 g Dikaliumphosphat in 650 g Wasser wurde in 2 Teile geteilt, (a) erhielt noch 0,5 g KNO₃, (b) aber 0,5 g KNO₂. Beide Lösungen wurden aus faulem Eiweiß infiziert, und das Gas über Quecksilber und Kalilauge aufgefangen. Die Gasentwicklung begann bei (a) nach 5 Tagen und war nach weiteren 7 Tagen beendet, bei (b) aber fing sie um nahezu 24 Stunden später an, dauerte aber 2 Tage länger und war weit bedeutender. Während dort 25,8 ccm N bei 13,2° und 719 mm Barometerstand erhalten wurden, betrug das Gasvolum hier 52,5 ccm²⁾. Das Nessler'sche Reagens gab nach Beendigung des Versuchs mit (a) mehr als doppelt so intensive Ammoniakreaktion als mit (b); die Ammoniakbildung erfolgte also rascher aus Nitrat als aus Nitrit, welchem Umstand auch die geringere Stickstoffentwicklung zuzuschreiben ist. Auch beobachtete ich, dass bei (b) die Bakterien sich langsamer entwickelten, wie sich aus der schwächeren

1) Chem. Centralblatt, 1890, I, S. 1063.

2) Dem Stickstoffgas war weder Wasserstoff noch Sumpfgas beigemischt. Bei andern nitrathaltigen Fäulnisgemischen können diese Gase wohl auftreten, aber erst nachdem die Stickstoffentwicklung aufgehört hat. Siehe auch Ehrenberg l. c.

Trübung erkennen ließ. Würden die erhaltenen Stickstoffgas-Mengen gänzlich aus dem Nitrat resp. Nitrit stammen — eine indess wie oben erwähnt nicht zulässige Annahme — so hätte das Nitrat 41,6% seines Stickstoffgehaltes, das Nitrit aber 71,6% desselben geliefert.

Ich habe bei den Fäulnisversuchen mit nitrathaltigen Nährlösungen stets gefunden, dass die Stickstoffentwicklung erst beginnt, nachdem eine gewisse Menge (0,03 - 0,05proz.) Nitrit¹⁾ gebildet ist und die Fäulnis ein gewisses Stadium erreicht hat. Mit dem Anfhören der Gasentwicklung war auch kein Nitrit mehr vorhanden. Die Nitritbildung ist somit ein Hauptfaktor dabei.

Beschleunigt man die Reduktion der Nitrite zu Ammoniak durch stärkere alkalische Reaktion (z. B. Zusatz von 0,5proz. doppeltkohlensaurem Natron), so sinkt auch die Menge des entwickelten Stickstoffs.

Saure Reaktion der Nährlösung kann die Entwicklung verzögern oder ganz verhindern, weil hiebei auch die Nitritbildung leidet (s. oben).

Um nun die Frage zu entscheiden, ob bei der Stickstoffentwicklung Ammoniak oder ob Amidosäuren mit der salpetrigen Säure in Reaktion treten, stellte ich folgenden Versuch an: Eine Lösung von weinsaurem Kali (10 g), mit Dikaliumphosphat (1 g), schwefelsaurem Ammoniak (0,1 g) und Spuren von schwefelsaurer Magnesia und Chlorecalcium in 300 g Wasser wurde an der Luft stehen gelassen, bis sich eine dichte Trübung von Spaltpilzen gebildet hatte, hierauf 1 pro mille salpetrigsaures Kali zugefügt und in zwei enghalsige Kolben gebracht. Zum einen wurde die äquivalente Menge schwefelsaures Ammoniak, zum andern Amidoessigsäure gesetzt und die ganz gefüllten Kolben mit Gasleitungsröhren versehen. Aber zu meiner Ueberraschung blieb bis auf Spuren die Gasentwicklung aus.

Es dürfte daher sehr wahrscheinlich sein, dass die Stickstoffentwicklung nur von ganz bestimmten Bakterienarten ausgeführt wird. Nur Versuche mit Reinkulturen können hier eine endgiltige Lösung bringen.

Da nun die Mikroben befähigt sind, bei Fäulnisvorgängen unter gewissen Bedingungen Stickstoff aus Verbindungen desselben in Freiheit zu setzen, so erscheint es von um so größerem Interesse inbezug auf den Kreislauf des Stickstoffs, wenn unter andern Bedingungen auch der entgegengesetzte Prozess durch Mikroben herbeigeführt werden könnte, nämlich freier Stickstoff in eine assimilirbare Form übergeführt würde. Hiebei wäre, wie schon oben angedeutet, zunächst an eine Verwandlung in salpetrigsaures Ammoniak zu denken:



Dass dieses Salz schon beim Verdunsten von Wasser an der Luft entstehe, war von Schönbein behauptet worden; diese Beobachtung

1) Ueber eine annähernde Bestimmung desselben auf kolorimetrischem Wege siehe Loew, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., 23, S. 1446.

beruht aber, wie in neuerer Zeit sowohl A. Baumann¹⁾ als S. Neumann²⁾ nachgewiesen haben, auf einer Täuschung, indem Schönbein die Verbrennungsgase nicht ausgeschlossen hatte. — Da aber Platinmohr befähigt ist, bei Gegenwart starker Basen, den freien Stickstoff zur Reaktion mit Wasser zu veranlassen³⁾, so kann ein solcher Prozess wohl auch bei schwach alkalischer Reaktion dem energischen Protoplasma mancher Bakterien zugemutet werden.

Ich habe schon eingangs dieser Abhandlung auf die Arbeiten von Hellriegel und Wilfarth sowie Lawes und Gilbert hingewiesen, welche auf die Assimilation freien Stickstoffs durch manche Bakterien deuten. Diese Versuche haben ergeben, dass bei Lupinen und Erbsen eine volle Stickstoffernährung in einem Boden frei von Stickstoffverbindungen möglich ist, wenn gewisse Bakterien vorhanden sind, welche in Symbiose mit den Wurzeln treten können, wobei charakteristische Knöllchen entstehen⁴⁾. Durch diese Symbiose werden sehr günstige Ernährungsbedingungen für die Pilze geschaffen, wodurch sie wohl eine bedeutende Energie entfalten können. Nach Lawes und Gilbert⁵⁾ kann die stickstoffbindende Thätigkeit dieser Mikroben nur im Zustande der Symbiose ausgeführt werden, nach Berthelot indess auch im freiem Zustand bei günstigen Bodenverhältnissen⁶⁾.

Ich selbst habe wiederholt versucht, die Mikroben verschiedener Leguminosenknöllchen in Nährlösungen frei von Stickstoffverbindungen zu züchten, welche verschiedene Kohlenstoffverbindungen (je 2% von Glukose, Glycerin, Methylalkohol, weinsaurem und essigsurem Natron) und die nötigen mineralischen Nährsalze enthielten (0,1proz. $MgSO_4$, 0,1proz. K_2HPO_4 und 0,01proz. $CaCl_2$), aber ohne Erfolg. Die in die Kolben eingeführte Luft war durch konzentrierte Schwefelsäure und Kalilauge gereinigt worden.

Da nach Frank der Stickstoffgehalt des Bodens durch die Vegetation erdbewohnender Algen erhöht werden soll⁷⁾ und Prantl beobachtete, dass eine zu *Nostoc* oder *Anabaena* gehörige Algenform sich in stickstofffreien Nährlösungen zu umfangreichem Rasen entwickelte⁸⁾ und ferner *Nostoc* eine Symbiose mit Rhizocarpeen (*Azolla*) eingeht, deren Bedeutung noch rätselhaft ist, so stellte ich auch einige Kulturversuche mit *Nostoc* an.

1) Landw. Vers.-St., 1888, Bd. 35, S. 217.

2) Chem. Centralblatt, 1890, I, S. 666.

3) Loew, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., 23, S. 1443.

4) Vergl. Biol. Centralblatt, 9, S. 97 u. 417.

5) Proc. Roy. Soc., 47, p. 85.

6) Compt. rend., 101. Vergl. auch Gautier und Drouin, Ibid. 106.

7) Ber. Bot. Gesellsch., 7, S. 34.

8) Hedwigia, 28, S. 136.

Eine Minimalmenge von *Nostoc* wurde in eine 2 Liter haltende Flasche gebracht, welche zu Hälfte mit der Lösung der Nährsalze (0,2 pro mille Dikaliumphosphat, 1 p. m. Natriumsulfat und Spuren von Eisenvitriol, schwefelsaurer Magnesia und Chlorecalcium) in destilliertem Wasser gefüllt wurde. Nachdem etwas Kohlensäure eingeführt war, wurde fernerhin der Inhalt des Gefäßes nur mit gereinigter Luft bei 26° im Treibhaus in Berührung gelassen.

Nach 4 Wochen ließ sich indess keine Spur von Vermehrung konstatieren, während im Kontrolversuch, bei Zusatz von 1 pro mille salpetersaurem Kali sich eine ziemlich beträchtliche Zunahme ergab; die Trockensubstanz der gebildeten *Nostoc*-Masse wog 0,252 g, entsprechend circa 2,5 g lebender Alge, welche aus einer unwägbaren Menge entstanden war. Es wäre nicht undenkbar, dass bei der zitierten Beobachtung Prantl's etwas Ammoniak aus der Luft in die Kulturgefäße gelangte.

Wir müssen es als ein notwendiges Glied in der Beweisführung fordern, dass jene niederen Pilze der Wurzelknöllchen der Lupinen bei günstigen Ernährungsverhältnissen auch in Nährlösungen freien Stickstoff assimilieren. Man könnte sonst immer noch einwerfen, dass die den Lupinen so günstige Rolle der Pilzsymbiose darin bestehe, dass die Pilze lediglich gewisse Reizstoffe abcheiden, welche die Zellen der Lupinen zu erhöhter chemischer Thätigkeit (Assimilation freien Stickstoffs) anregen¹⁾.

An Beispielen intensiver Reizwirkung fehlt es ja nicht. Ich erinnere an den sogenannten Hexenbesen der Edeltanne, wo die Anwesenheit eines Pilzes (*Accidium 'latinac*) eine weitgehende Umgestaltung der Wachstumsverhältnisse herbeiführt.

Besondere Reizstoffe sind es ferner ohne Zweifel, welche bei der Entwicklung der in die Eichenblätter gelegten Eier der Gallwespe die so tanninreichen Galläpfel erzeugen²⁾. Und welche feinen Reaktionen der Irritabilität des pflanzlichen Protoplasmas geben sich dadurch kund, dass durch verschiedene Insekten auf den Blättern derselben Pflanze verschiedenartige Gallen erzeugt werden!

Leider sind solche Reizstoffe noch nicht isoliert und studiert. Hier liegt aber ein immenses Feld der Forschung vor uns, welches nicht nur von höchstem wissenschaftlichen Interesse ist, sondern gar manche wertvolle Entdeckung für die Praxis bringen mag.

Pflanzenphysiologisches Institut zu München. September 1890.

1) Mit dieser Anschauung wäre auch die von Mehreren behauptete Thatsache besser vereinbar, dass durchaus nicht alle Leguminosen von den Knöllchen-Pilzen gleich günstig beeinflusst werden.

2) Nach Beyerink scheidet die sich entwickelnde Larve den Reizstoff aus. Vergl. auch Rizema Bos, Biol. Centrabl., VII, S. 646.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Biologisches Zentralblatt](#)

Jahr/Year: 1890-1891

Band/Volume: [10](#)

Autor(en)/Author(s): Loew Oscar

Artikel/Article: [Ueber das Verhalten niederer Pilze gegen verschiedene anorganische Stickstoffverbindungen. 577-591](#)