

Die Physiognomie eines Buchenwaldes

VON MARGARETE MATTERN, Königsberg (Pr.)

Mit 24 Figuren

Einleitung

Soweit meine Literaturkenntnisse reichen, ist mir eine erschöpfende Behandlung der bodenbakteriologischen Umsätze und der pflanzenphysiognomischen Eigenschaften des Buchenwaldes nicht bekannt.

Ich stellte mir daher die Aufgabe, den Buchenwald-Rohhumus hinsichtlich der oben erwähnten Eigenschaften zu untersuchen, um dadurch Kenntnisse zu gewinnen, die es ermöglichen, ein Teilbild von der Biozönose des Buchenwaldes zu entwerfen.

Bei der Darstellung meiner Ergebnisse will ich zunächst absichtlich nicht zu viel Literatur berücksichtigen. Ich hoffe hierdurch eine übersichtlichere Schilderung geben zu können, zumal ja doch die natürlichen Bedingungen der von den verschiedenen Autoren jeweils gewählten Versuchsböden durchaus nicht immer gleichgeartet zu sein brauchen.

Der Boden

Für alle Versuche, mit Ausnahme der ersten orientierenden, wurde ausschließlich Humus aus dem *Walde von Gr. Buchwalde*, Kreis Allenstein, Ostpreußen, verwendet.

Wir haben es bei diesem an der äußersten Ostgrenze der Buche gelegenen Standort mit einem ausgesprochenen Hallenwald zu tun, der vorwiegend aus Weißbuchen, Rotbuchen, vereinzelt stehenden Kiefern, Linden und Eschen besteht. Die Größe und Stärke der Bäume läßt auf ein hohes Alter des Waldes schließen. Die hohen Laubkronen ragen dicht zusammen und bewirken, daß die inneren und unteren Teile der Bäume blattlos sind. Unterholz ist wenig vorhanden, was leicht durch die für länger assimilierende Pflanzen unzureichende Belichtung zu erklären ist. Bekanntlich ist nur ein Teil des Lichtspektrums für die Pflanzenwelt förderlich, hauptsächlich die roten Strahlen. Sind diese bereits einmal durch das Blattgrün der oberen Baumblätter gegangen, so sind sie nicht

mehr für alle darunter etwa vorkommenden Pflanzen reichlich genug. Im Sommer bleibt daher die lichtliebende Vegetation aus, Schattenpflanzen finden jedoch ihr Fortkommen. Im Frühjahr dagegen steht der Laubwald blattlos und kann raschwüchsigen Gewächsen am Boden das nötige Licht spenden.

Jahraus, jahrein fällt das Laub der Bäume und die Nadeln der wenigen Coniferen zu Boden. Sie bilden im Laufe der Zeit eine Decke von oft beträchtlicher Mächtigkeit. Während sich die oberste Laubschicht noch ein Jahr hindurch ziemlich unverändert hält, werden die unteren durch den vorhandenen Luftabschluß verfaulen, vermodern. Die Regenwürmer sorgen für mechanische Zerkleinerung und im Laufe einiger Jahre ist das gefallene Laub in Humus verwandelt, in einen Komplex zum Teil noch nicht bestimmter organischer Bestandteile.

Diese also durch Verwesung von Pflanzenresten mit Humus angereicherte obere Bodenschicht nennt man schlechthin Krume, die sich durch ihre tiefdunkle Farbe gegen den sog. Untergrund scharf abhebt. Für eine ganze Reihe von Pflanzen ist die obere 15 bis 30 cm mächtige Deckschicht von alleinigem Wert. Dagegen ist für diese Gewächse der Untergrund nur von indirekter Bedeutung. Ich richtete daher mein Augenmerk vornehmlich auf die Krume. Um aber nicht die Bewertung des Untergrundes für die anderen Pflanzen außer Acht zu lassen, untersuchte ich auch diesen, wobei nebenher eine gewisse Kontrolle meiner Ergebnisse sich ergab.

Um von vornherein den Vorwurf einer Einseitigkeit zu vermeiden, unterzog ich die physikalische Beschaffenheit und die Pflanzenbesiedlung einer eingehenden Betrachtung an Ort und Stelle. Selbstverständlich entstammten die Erdproben für Prüfungen auf die Kleinlebewelt und auch die größeren Mengen von Bodenmaterial zur Abtrennung bestimmter Humuskomponenten demselben Platze.

Entnahme von Bodenproben

Für Versuche, die nur mit der Krume ausgeführt werden, darf man nach Forträumen des Laubes höchstens bis zu einer Tiefe von 20 bis 30 cm bei der Entnahme von Bodenproben gehen, natürlich je nach der Mächtigkeit der dunklen Schicht. Handelt es sich dagegen um Untersuchungen des Untergrundes, so werden Muster oft bis zu 200 cm Tiefe genommen.

Durch mehrfache Ausgrabungen überzeugte ich mich zuerst von dem Durchschnittstyp des Waldbodens. Darauf hob ich sorgfältig mittels Spaten an einer dem Hauptcharakter dieses Buchenwaldbodens entsprechenden Stelle ein kompaktes Bodenstück aus. Die für bakteriologische Untersuchungen nötigen Bodenproben mußten *steril* entnommen werden. Für chemisch-physiologische Analysen und für die Isolierung von Humuskomponenten brauchte ich sehr *viel* Erde. Es erschien mir daher am gegebenensten, die ausgehobene Bodenscholle als ganzes, möglichst unzerbrochenes Stück mit nach Hause zu nehmen, diesem die innersten unberührten Schichten für die Untersuchungen auf Mikroben steril zu entnehmen und die übrigbleibende Erde für chemische Arbeiten zurückzustellen. Das erste Mal hatte ich nur von der Krume Muster dieser Art entnommen, späterhin holte ich noch mehrmals von derselben Stelle Erdstücke und zwar Krume und Untergrund gesondert.

Nach jedesmaliger Probeentnahme wurde das Material möglichst bald — noch an demselben oder nächsten Tage — weiterverarbeitet. Ein allzu langes Aufbewahren vor bodenbakteriologischen Versuchen empfiehlt sich nie, denn die Entnahme bedingt eine Veränderung der Mikro-Lebewelt. Durch das Anstechen wird die Durchlüftung gebessert, damit das Fortkommen der Aerobier begünstigt und das der Anaerobier gehemmt. Ferner schwindet die Feuchtigkeit bei langem Liegen an trockenem Ort und noch manche anderen Umgestaltungen treten ein.

Mein Bestreben ist es aber, die Lebewelt so zu untersuchen, wie sie in der Natur wirkt, und daher mußte ich auf schnelles Verarbeiten des Materials bedacht sein.

Bevor ich zum Hauptteil meiner Arbeit, den bakteriologischen Untersuchungen, übergehe, möchte ich eine Beschreibung der

Schichten des Bodens

bringen (s. Tabelle).

Durch senkrechtes Abstechen der Erde beim Beschaffen des Bodenmaterials war an den Wänden der Grube ein gutes Messen der einzelnen Schichtdicken ermöglicht. Zugleich gewinnt man durch den Überblick mancherlei Handhaben zur Beurteilung des Bodengefüges.

Die oberste, hellbraune *trockene Laubdecke* besaß im Durchschnitt die Höhe von 15 bis 40 cm, an manchen Stellen

waren allerdings geringere Dickenausmaße zu verzeichnen oder das Laub fehlte fast vollständig.

Nach dem Forträumen des lockeren Laubes stieß ich auf eine *modernde, verpilzte*, dichte, dunkelbraune *Laubschicht*, deren Dicke sich als etwa 10 cm stark erwies. Sie ist der Bildungsherd des Humus.

Schichten	Bestandteile	Dicke
Krume	lockere, trockene Laubdecke	15—40 cm
	moderndes, verpilztes Laub	10 cm
	tiefdunkler Humus, stark von Wurzeln durchsetzt	10—30 cm
Übergangsschicht	Humus und Sand	10 cm
Untergrund	heller Sand	

Darunter lag nun der eigentliche Humus, die *Krume*, die den meisten Pflanzen des Waldes als Hauptstandort und Nährquelle dient. Sie war locker, tiefschwarz, von Wurzeln dicht durchsetzt und besaß den typischen, tintenartigen Geruch eines von Pilzhypen verfilzten Buchenwaldbodens. Die Messungen zeigten Schwankungen zwischen 15 und 30 cm Dicke.

Auf eine darunterlagernde stark von Sand und weniger von Wurzeln durchsetzte *schwerere Übergangsschicht* folgte dann der *Untergrund*, ein Sandboden, der außer einigen kräftigen Wurzeln der im Umkreis sich befindenden hochstämmigen Waldflora keinerlei Anzeichen von noch anderen Bestandteilen trug.

Eine Podsolsschicht (41) war nicht vorhanden.

Die Konstitution des Bodens

Die wesentlichen Gemengteile der Böden sind: Sand, Ton, Humus und Calciumkarbonat, wobei man im allgemeinen nach dem jeweiligen Vorwalten der einzelnen Bestandteile in praktischer Beziehung verschiedene Bodenarten unterscheidet. Die *Krume* dieses Buchenwaldes ist demnach einwandfrei unter die Gruppe der *Humusböden* zu rechnen und der *Untergrund* zu den ausgesprochenen *Sandböden*.

Vor Beginn einer Vegetation gab es wahrscheinlich noch keinen Unterschied zwischen Krume und Untergrund. Vielmehr bestand damals die obere Bodenschicht hauptsächlich aus Sand, wie ihn der zurückgehende Gletscher als Moräne hinterließ. „Wo Temperaturverhältnisse und Regenmenge günstig sind, bedeckt sich jeder Boden rasch mit Vegetation, selbst eine blanke Felsoberfläche bleibt nicht ohne Flora (8).“ Wie u. a. von RUSSELL hervorgehoben, müssen offensichtlich die ersten Gewächse ihre mineralischen Nährstoffe aus aufgelösten Bodenpartikeln bezogen haben. Nach ihrem Verwelken gaben die Pflanzen alle aufgenommenen Substanzen an den Boden zurück, so daß der kommenden Generation sowohl direkt aus den aufgeschlossenen Bodenpartikeln als auch aus den zersetzten Pflanzenrückständen Nahrung dauernd zur Verfügung stand.

Die Pflanze gibt aber dem Boden mehr zurück, als sie aus ihm gezogen hat. Während sie nur anorganische Bestandteile aufnimmt, stellt sie ihm bei ihrem Absterben unstabile Produkte von zum Teil hochkomplexer Natur wie Zellulose und Eiweiß zur Verfügung. Mit dem Schlage nun, wo die von der Pflanze synthetisierten Verbindungen dem Erdreich zugeführt werden, wird in ihm eine fundamentale Veränderung hervorgerufen. Die in den Gewächsen aufgestapelte potentielle Energie wird angehäuft und damit *Leben* in den Boden gebracht, der nun variierenden Mengen von Organismen Existenzmöglichkeit gibt und fortan der Mikroflora und -fauna als Wohnung dient. Diese bezieht ihren Unterhalt und ihre Energie aus den aufgestapelten Rückständen und ruft ihrerseits Umgestaltungen in dem sie umgebenden Substrat hervor.

Von den verschiedensten der vorkommenden Mikroben will ich diejenigen herausgreifen, die den Kreislauf des Stickstoffs im Boden bedingen und will ihr Vorkommen und ihre Verbreitung im Buchenrohhumus studieren, um damit die Eigenschaften des Bodens erklären zu können.

1. Hauptteil

Bodenbakteriologische Untersuchungen**Versuchsordnung**

Bei meiner Versuchsanordnung ging ich wie FUCHS und ZIEGENSPECK (1) von dem Gedanken aus, die *Kleinlebewelt als Reagenz für die Eigenschaft des Bodens* zu benützen.

Man kann dabei auf zwei Wegen vorgehen. Der erste wäre der, daß man die Lebewesen aus dem Boden zu isolieren versucht und dann die für sie kennzeichnenden Umsätze studiert. In der Bodenbakteriologie ist man meistens in der glücklichen Lage, an dem Stoffwechselprodukt das Vorkommen zu erkennen. Gegen diesen ersten Weg wäre theoretisch der Einwand möglich, daß ein anderer Umsatz den gesuchten verdeckt. Es wäre beispielsweise nicht möglich, den von Mikroben gebildeten Salpeter bei restloser Salpeterzerstörung nachzuweisen.

Deshalb wird man einen zweiten Weg immer mit dem ersten verbinden. Es müssen die gesuchten Lebewesen in den zu untersuchenden Boden eingepflanzt werden, um zu ermitteln, ob sie dort unter Zugabe eines für sie günstigen Nährsubstrates gedeihen. Je nach der Förderung oder Hemmung können wir Rückschlüsse auf die Eigenart des zu untersuchenden Bodens ziehen.

Liegt nun eine Hemmung vor, so kann sie erstens verschiedener *Art* sein. Entweder ist sie partiell und bedingt ein kümmerliches Fortkommen oder sie ist vollständig und führt zum völligen Verschwinden der eingepflanzten Organismen.

Zweitens kann die Hemmung verschiedene *Ursachen* haben. Es ist denkbar, daß die gesuchten Bakterien von *anderen Lebewesen* vernichtet werden. Spezialisten brauchen das nicht zu sein. Es wäre aber nach den Untersuchungen von KUHN (2), KOCH und ZIEGENSPECK (3) an das Vorhandensein von Pettenkoferien zu denken, die nicht auf *eine* Bakterienart angewiesen sind. Die Beobachtung von pilzartigen Lebewesen auf *Nitrosomonas*-Kulturen könnte auch in dieser Richtung gedeutet werden.

Bevor man an hemmend wirkende Lebewesen denkt, wird man genau zu prüfen haben, ob nicht *chemische Faktoren* maßgebend sind. Am einfachsten wird die Wasserstoffionenkonzentration zu untersuchen sein. Ob diese das hemmende Agens ist, kann man leicht feststellen, indem man ihre Wirkung in Nährlösungen durch Zugabe von schwerlöslichen Karbonaten, etwa CaCO_3 oder MgCO_3 , ausschaltet. Diese Salze müssen allerdings in sehr fein verteilter

Form vorliegen, weil sonst leicht eine undurchlässige Niederschlagsmembran das Eindringen einer hochkolloidalen Säure in das Karbonat verhindert. Sollte bei Karbonatzugabe das eingepfropfte Mikro-Lebewesen gut gedeihen, so ist damit erwiesen, daß vorher ein zu saures Medium schädigend gewirkt hat. Bleibt in diesem Falle jedoch ein Kümmerlein der Organismen bestehen, so muß der Grund für die Hemmung in andern vom Boden bedingten Momenten gesucht werden.

Man wird an irgendwelche im Boden vorliegende Hemmungsstoffe denken müssen. Um ihre Wirkung auf die Bakterien zu ermitteln, wird man Bodenauszüge (etwa wasser- oder ätherlösliche Stoffe) zum Versuch anwenden oder andererseits vorsichtig sterilisierten Boden.

Falls nun bei allen diesen Versuchsbedingungen keine Hemmung der Lebewesen zu verzeichnen ist, wird man geneigt sein, die chemischen Faktoren als nicht schädigend zu erachten und an ungünstige Einflüsse allein seitens der oben erwähnten Antagonisten zu denken. Will man dann ganz sicher gehen, so ist es unbedingt nötig, Versuche anzustellen, welche Antagonisten nachzuweisen ermöglichen, entweder durch Isolation oder durch chemischen Umsatz.

Im folgenden sollen die wichtigsten Stickstoffumsätze des Buchenwaldrohhumus gebracht werden:

Nitrifikation

Denitrifikation und Salpeterverarbeitung

Ammonifikation

Aerobe Stickstoffbindung

Anaerobe Stickstoffbindung.

Nitrifikation

oder Salpeterbildung ist, kurz gefaßt, die Umwandlung von Ammonsalzen über Nitrite in Nitrate. Zu einer solchen kann es nur da kommen, wo der Stickstoff nicht durch die Gegenwart von assimilierenden Pflanzen oder selbst Pilzen in deren Körper direkt als Eiweiß wieder eingefügt wird, ohne vorherige Bildung von Nitraten im Boden oder im Wasser. Es ist z. B. eine bekannte Tatsache, daß in stark salpeterführendem Wasser dieser nur verhältnismäßig wenig nachweisbar ist, wenn das Licht mit genügender Intensität eindringt und damit die Arbeit der assimilierenden stickstoffverzehrenden Gewächse begünstigt, oder wenn eine größere

Menge von organischer, leicht zugänglicher Substanz Pilzen und ähnlichen Lebewesen den Aufbau aus stark abgebauten Stickstoffverbindungen erleichtert. Hingegen kann eine bleibende Salpeteranhäufung da stattfinden, wo die stickstoffverzehrende Lebewelt durch eine übergroße Konzentration von Salzen gehemmt oder gänzlich unterbunden wird. Die Chilesalpeterlager verdanken diesem Umstande ihre Entstehung.

Der Nitratumsatz hat seine Hauptquelle in den Ammonsalzen, die entweder durch Fäulnis von Eiweißstoffen oder durch Gärung der wenig Energie liefernden Ausscheidungsprodukte von Tieren entstanden sind.

Der erste Schritt dieser Wandlung ist die Oxydation des Ammonsalzes zu Nitriten. Auch dieser Vorgang bedarf gewisser Bedingungen. Wäre das Substrat, in dem sich die Oxydation abspielt, stark sauer, so entstände die freie salpetrige Säure, ein für alle Organismen starkes, ätzendes Gift. An ein Gedeihen speziell des Nitritbildners in einem sauren Medium wäre von vornherein nicht zu denken, da die Säure zu schädigend selbst auf den Erreger ihrer Salze einwirkt. Es kann also der Nitritbildner nur in alkalischem Substrat gedeihen, in dem bei einer möglichen Entbindung der salpetrigen Säure ein sofortiges Unschädlichmachen des sauren Giftes durch Bindung mit dem vorhandenen überschüssigen Alkali gesichert ist.

Da der zweite Schritt, die Salpeterbildung, immer den zuerst erwähnten voraussetzt, soweit wir wissen, und dieselbe nur eine einfache Oxydation der Nitrite darstellt, so wird es oft genügen, allein die Nitritbildung zu beachten.

Auch zwischen Salpetersäure und Nitraten bestehen interessante energetische Unterschiede. Die Salze sind beständiger als ihre freie Säure. Da nun die labilsten Verbindungen stets die energiereichsten sind, so wird beim Zerfall der unbeständigen freien Säure infolge der labilen Konfiguration leicht und viel Energie frei werden, was m. a. W. bedeutet, daß zu ihrer Bildung viel Energie notwendig ist. Da aber die *Lebewesen Energie gewinnen* wollen, so werden sie die Bildung der *freien* Säure nicht begünstigen. Gerade entgegengesetzt liegen die Verhältnisse bei den stabileren Salzen, die den Bakterien doch einen gewissen Energiegewinn gestatten.

Um eine Nitrifikation nachzuweisen, müssen wir von einem Medium ausgehen, das Karbonate in schwer löslicher Form, also die

des Calciums und Magnesiums enthält zwecks Beseitigung von sauren Bestandteilen. Um Ammonsalze in genügender Menge zugeben zu können, empfiehlt sich ein schwer lösliches Ammonsalz. Am besten sind die natürlichen Verhältnisse des Bodens wohl durch Zugabe von NH_4MgPO_4 wiedergegeben. Hierdurch sind nur kleine Ammonsalzmengen in Lösung vorhanden, die sich bei Verbrauch durch Nachlösen stets wieder ersetzen.

Ich verwandte daher für meine Versuche die

Stutzerse Nährlösung für Nitritbakterien

von folgender Zusammensetzung:

10 g trockene NH_4MgPO_4	} gemischt
10 g MgCO_3	

Einen halben Teelöffel davon in einen Kolben mit 50 ccm einer Lösung von:

1 g K_2HPO_4	} in 1000 ccm Wasser gegeben und das Ganze sterilisiert.
0,25 g NaCl	
0,25 g FeSO_4	

Diese Nährlösung bzw. die im Prinzip gleiche „Nährlösung zum Fangen von Nitritbakterien“ nach ARTHUR MEYER wurde nach vorhergegangener Sterilisation mit der zu untersuchenden Erde beimpft (bei konstanter Temperatur von 28° gehalten) und nach gegebener Zeit auf das Vorkommen von Nitritbakterien durch Nachweis ihrer Stoffwechselprodukte geprüft.

Um sich vor Fehlschlägen durch unvorhergesehene Umstände zu bewahren, ist ein Parallelversuch mit gut arbeitender Gartenerde geboten, die unter normalen Umständen stets Nitrite bilden muß. Das Ansetzen des Parallelversuches bringt noch einen anderen Vorteil mit sich. Aus dem Vergleich der Geschwindigkeit des *Einsatzes* einer Nitrifikation können Rückschlüsse auf das Arbeitsvermögen der Nitrifizierer in den verschiedensten Böden gezogen werden.

Der Nachweis der Bildung von Nitriten

wurde durch folgende Reaktionen geführt:

1. Diphenylamin
2. Anästhesin Salzsäure — β -Naphtol-Natronlauge.

Ausführung der Diphenylamin-Reaktion: In einer Porzellanschale werden in 5 ccm reiner konzentrierter Schwefelsäure einige Körnchen Diphenylamin gelöst und 1 ccm der zu untersuchenden Lösung läßt man zufließen. Bei Anwesenheit von HNO_2 bzw. HNO_3 tritt Blaufärbung an der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeiten

auf. Vorsicht bei der Beurteilung ist geboten, da Diphenylamin sich selbstverständlich auch bei Gegenwart anderer Oxydationsmittel blaufärbt.

Da diese Reaktion Nitrite nicht allein anzeigt, kann nur die zweite oben angeführte als sicherer Nachweis gelten.

Ausführung der Anästhesin-Reaktion: Anästhesin, in Salzsäure bis zur Sättigung gelöst, wird der zu prüfenden Flüssigkeit zugesetzt und β -Naphtol, in Natronlauge gelöst, im Überschuß bis zur alkalischen Reaktion zugegeben.

Schon bei minimalen Nitritmengen tritt Rosafärbung im Reagenzglas ein, bei großen Mengen fällt deutlich ein roter Niederschlag aus.

Wenn nun diese beiden Proben negativ ausfallen, so ist weder Nitrit noch Nitrat vorhanden.

Wenn die Anästhesin-Reaktion positiv verläuft, so ist allein Nitrit zugegen.

Wenn die Diphenylaminprobe positiv ausfällt, dann muß der Salpeterminachweis noch durch Bruzin gestützt werden, das mit Salpeter allein reagiert und den Nachweis von Nitraten in kleinsten Spuren neben Nitriten zu führen gestattet.

Arbeitsregeln

Bevor ich zur Besprechung der angesetzten Versuchsreihen übergehe, will ich vorausschicken, daß selbstverständlich bei allen bakteriologischen Bodenuntersuchungen stets nach den bekannten Versuchsmaßregeln *steril* gearbeitet wurde, d. h.

1. die Kolben wurden peinlichst gereinigt,
2. die Zusammensetzung der Nährlösung entsprach genau der vorgeschriebenen,
3. die Kolben samt eingefülltem Nährboden wurden bei ca. 2 Atm. Überdruck im Autoklav 10 bis 15 Minuten lang sterilisiert,
4. nach dem Abkühlen der keimfrei gemachten Kolben wurde die im sterilen Glasgefäße aufbewahrte Versuchserde unter sterilen Bedingungen zugegeben: Alle verwendeten Apparaturen wurden in Alkohol gewaschen, der anhaftende Alkohol abgebrannt und am sterilen Arbeitsplatz unter Vermeidung irgend eines Luftzuges zum Abkühlen belassen. Die Platinöse wurde vor Verwendung ausgeglüht, 20 Sekunden bis zum vollständigen Abkühlen gewartet und danach die Erde mittels Platinöse bzw. sterilen Spatens in

den vorsichtig geöffneten, schräg gehaltenen Erlenmeyerkolben übertragen, der herausgenommene Watteverschluß leicht durch die Flamme gezogen und zurückgesteckt, nachdem die etwa den Kolbenmündungen anhaftenden Keime durch Abflammen der oberen Glasteile vor wie nach dem Impfen abgetötet waren.

Zunächst unternahm ich nun *orientierende* Versuche, für die Boden einer dichten Waldstelle bei Juditten verwendet wurde.

Erster orientierender Versuch

Für den Zweck stellte ich mir einen Nährboden zum Fangen von Nitritbakterien nach A. MEYER (4) her, dessen Zusammensetzung folgende ist:

2 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,5 g MgSO_4
2 g NaCl	0,4 g FeSO_4
1 g K_2HPO_4	1000 g Wasser

Um mittels dieser Nährlösung Nitritbildner anzureichern, wurden Erlenmeyerkolben mit 50 ccm der Nährlösung und 0,5 g festem Magnesiumkarbonat beschickt und mit Erde direkt beimpft. Auf die Menge der zugegebenen Erde wurde jetzt noch kein Gewicht gelegt. Zum Vergleich diente hier, wie bei allen folgenden Versuchen, Erde von stets demselben gut arbeitenden Beet aus dem Botanischen Garten.

Ergebnisse nach 1 Monat langer Kultur:

6 mit Walderde beimpfte Kulturen ergaben gar keine Reaktion mit Diphenylamin, während die beiden mit Gartenerde versehenen sehr stark positiv reagierten, also Nitrite und Nitrate reichlich gebildet hatten.

Alle 8 Kolben wurden nun steril geschlossen und weiter bebrütet.

Ergebnisse nach 13 Wochen langer Gesamtkultur:

6 mit Walderde beschickte Kulturen gaben nicht alle eine gleich starke Reaktion mit Diphenylamin, aber ein deutlicher Ausschlag war jetzt stets vorhanden. Die Blaufärbung könnte vielleicht von molar gebundenem, dreiwertigem Eisen aus den Bodensalzen herrühren, und so prüfte ich auf Nitrite mit der Anästhesinprobe. Das Ergebnis blieb das gleiche.

In den mit Gartenerde versehenen Kontrollen war kein Nitrit mehr nachweisbar, da alles restlos in Nitrate umgebildet war.

Vergleicht man beide Ergebnisse miteinander, so kann aus dem verspäteten Einsetzen der Nitrit- und Nitratabbildung in der Wald-

erde auf irgendwelche Umstände geschlossen werden, die diese Vorgänge im Juditter Waldboden hemmen, aber nicht vollständig unterbinden. Die Nitritbildner sind im Boden vorhanden, sie können sich aber nur schlecht infolge Vorkommens gewisser Stoffe entfalten. Oder aber irgendwelche anderen Lebewesen verzehren die Nitritbildner reichlich oder verarbeiten die Produkte ihrer Tätigkeit, so daß der Nachweis ihres Stoffwechselproduktes unmöglich war.

Es konnte sich bei solchen Versuchen um irgendwelche Zufallsergebnisse handeln. Ich ging daher planmäßig noch einmal vor.

Zweiter orientierender Versuch

Es wurden neun Nährlösungen von derselben Zusammensetzung wie beim ersten Versuch sterilisiert. Dieses Mal änderte ich die Menge des Impfmateri als in den Kolben in folgender Weise:

Kolben: 1 beschickt mit 15 Ösen					frisch besorgter Juditter Waldboden
„	2	„	„	15 „	
„	3	„	„	15 „	
„	4	„	„	15 „	
„	5	„	„	5 g	
„	6	„	„	10 g	
„	7	„	„	20 g	Beeterde aus dem Botanischen Garten
„	8	„	„	20 g	
„	a	„	„	2 g	

Ergebnisse nach 2 Wochen langer Kultur:

Die Waldkulturen reagierten nur spurenweise bei der Diphenylamin-, Anästhesin- und Brucinprobe, nur der Kolben 5 mit 5 g Walderde beschickt, zeigte einen deutlich stärkeren Ausschlag mit den eben angeführten Reagenzien.

Im Parallelversuch, Kolben a, wurden dagegen große Mengen von Nitriten und Nitraten nachgewiesen.

Man kann also im Vergleich mit den Gartenböden getrost sagen, daß eine nennenswerte Nitrifikation in den untersuchten Waldkulturen nicht nachweisbar ist.

Ergebnisse nach 4 Wochen gesamter Bebrütung:

Die Verhältnisse hatten sich für die Nitrifizierer kaum gebessert. Es machte vielmehr den Eindruck, als ob die Reaktion noch schwächer geworden oder sogar geschwunden war. Vielleicht hatte die reichlich im Boden vorhandene organische Substanz für Aufkommen von Denitrifizierern

gesorgt, die den eventuell gebildeten Salpeter sofort wieder zerstörten.

Diese mehr zur Orientierung dienenden Vorversuche wurden nun aufgegeben, und ich arbeitete *fortan* mit dem *Buchenwaldrohumus* aus Gr. Buchwalde, Kreis Allenstein.

Dritte Versuchsreihe

In 50 ccm einer STUTZERSchen Nährlösung wurden verschiedene Mengen meines Untersuchungsmaterials gegeben.

Kolben: 1	beschickt mit	10 Ösen	} Buchenwalderde
„ 2	„	10 „	
„ 3	„	10 „	
„ 4	„	6 g	
„ 5	„	9 g	
„ 6	„	12 g	
„ 7	„	15 g	
„ 8	„	15 g	
Zur Kontrolle: K ₁ mit 10 Ösen			} Gartenerde beschickt
K ₂ 15 g			

Ergebnis nach 2 Wochen.

In den Kontrollkolben waren Nitrite und Nitrate reichlichst gebildet.

Dagegen bläuten die drei ersten Wald-Erdekolben Diphenylamin — Schwefelsäure nur schwach, röteten sich bei der Brucin- und Anästhesinprobe ebenfalls schwach. Die mit großen Wald- Erdmengen beschickten Kolben ergaben nichts.

Nun fragen wir uns nach dem Grunde des Ausbleibens jeglicher starken Reaktion in den Waldbodenkulturen. Zeitmangel kann hier kein stichhaltiger Grund sein, da nach zwei Wochen langer Bebrütung die zum Vergleich gewählte Gartenerde äußerst kräftig reagierte.

Daß in den ersten drei Kolben noch geringe Reaktion eingetreten war, besagt wohl: Eine Nitrifikation hat unter anscheinend sehr ungünstigen Bodenverhältnissen stattgefunden. Die *Salpeterbildung* ist *nur stark behindert*, noch nicht unterbunden.

Die letzten fünf Kulturen mit steigender Menge von Impfmateri al ließen keine Nitrifikation mehr zu, weil durch die vergrößerte Erdkrumenzugabe

1. entweder mehr antagonistische Bakterien in Funktion getreten sind und den Nitrifizierer allmählich getötet haben, oder weil
2. die jetzt in größerer Menge vorhandene Humussäure ihre schädliche Wirkung den Nitrifizierern gegenüber zur Geltung bringen kann.

Einen Einwand könnte man gegen diese Gedanken machen. Wenn auch die Nitrit- und Nitratreaktionen mit den fünf letzten Kolben negativ ausfielen, so dürfte durchaus nicht behauptet werden, daß überhaupt keine Nitrifikation aus den oben angeführten Gründen stattgefunden hat. Es könnte hier der eingangs erwähnte Fall eingetreten sein, daß nämlich Denitrifizierer das von Nitrifizierern gebildete Stoffwechselprodukt zerstört hätten, so daß trotz stattgefundener Salpeterbildung nichts davon nachweisbar wäre.

Alle diese Bedenken konnten nicht mit einem Schlag behoben werden. Es galt jetzt, die verschiedensten Versuchsreihen anzusetzen, um in die Fragestellungen einige Klarheit zu bringen.

Zunächst wurden vier von den letzten acht mit Buchenwalderde beschickten Kulturen *mit Nitribakterien* beimpft, die in Kontrollkolben mit Gartenerde angereichert worden waren.

Bezeichnung der neu beimpften Kolben:

x_1	entsprach dem alten Kolben 1 (10 Ösen) Impfmat.
x^2	„ „ „ „ 2 (10 „) „
x_3	„ „ „ „ 5 (9 g) „
x_4	„ „ „ „ 7 (15 g) „

Auf diese x-Kolben werde ich später zurückkommen.

Die andere Hälfte der Kulturen wurde *unverändert* belassen und weiter bebrütet.

Bezeichnung der unveränderten Kolben:

y_1	entsprach dem alten Kolben 3 (10 Ösen) Impfmat.
y_2	„ „ „ „ 4 (6 g) „
y_3	„ „ „ „ 6 (12 g) „
y_4	„ „ „ „ 8 (15 g) „

Y-Kolben. — Bezüglich der nachstehenden Beurteilung der einschlägigen Nitrit- und Nitratreaktionen sei folgendes vorausgeschickt:

Wenngleich die Reaktionen nur qualitativ sein sollen, vermesse ich mich, aus der Ausschlagstärke bezüglich der eintretenden Färbung oder eines Niederschlages rückwärts auf die

Mengenverhältnisse der gebildeten Nitrite oder Nitrate zu schließen. Es wurden für alle Proben die gleichen Reagenzlösungen verwandt und genau dieselben Mengenverhältnisse gewahrt, so daß bei eintretenden starken Ausschlagsdifferenzen wohl gesagt werden darf: Wenn die Quantitäten der zugegebenen Reagenzien stets die gleichen bleiben und die Reaktionen sichtlich verschieden stark ausfallen, so muß der Grund in den verschiedenen starken Konzentrationen der produzierten Nitrite bzw. Nitrate liegen.

Ergebnis nach 4 Wochen Gesamtbebrütung:

Kolben y_1 zeigte starke Nitratreaktionen

„ y_2 „ viel schwächere Nitratreaktionen

„ y_3 „ viel schwächere Nitratreaktionen

„ y_4 „ keine Nitratreaktionen

In völlig gleicher Abstufung, also mit einem stärkeren Ausschlage beginnend und rasch abfallend, ja sogar in den mit großen Erdmengen beschickten Kolben völlig versagend, verlief die Anästhesinprobe auf Nitrite.

Ergebnis nach 2 Monaten Gesamtbebrütung:

Es war auffällig, daß die Differenzen bei den Ausschlägen der Reaktionen gleich geblieben waren oder sich nur wenig verstärkt hatten. Ein Abfall in der Stärke der Blaufärbung und Rotfärbung war wieder stark zu verzeichnen. Dieses Mal wurde zum Salpeternachweis Brucin neben Diphenylamin verwandt. Die Ausschläge blieben die gleichen.

Ergebnis nach 3 Monaten gesamter Kultur:

Die Nitratreaktionen waren etwas stärker ausgefallen, die Nitritproben etwas schwächer.

X-Kulturen. -- Die Ausdeutung der y -Kulturen will ich jetzt noch nicht vornehmen. Sie wird klarer, wenn wir zuvor die x -Kulturen betrachten und dann beide gemeinsam behandeln.

Als Kontrolle für die x -Kulturen gelten die Parallelversuche, die mit den y -Kulturen zusammen tabellarisch niedergelegt sind.

Wie aus der Zusammenstellung der x -Kulturen klar hervorgeht, ist die Nitrit- und Nitratbildung in den Böden mit wenig Ösen Waldboden nach Zugabe virulenter *Nitrosomonas*-Rassen völlig gleich mit der Gartenerde. Dagegen ist in den Kolben, welche beträchtliche Erdmengen enthielten, zunächst — nach 1 Monat langer Bebrütung — die Nitrifikation fast völlig oder nur scheinbar aufgehoben. Wenn die Proben lange genug

Reaktionen der y-Kulturen nach verschieden langer Bebrütung

Dauer der Gesamtbebrütung	$\frac{1}{2}$ Monat			1 Monat			2 Monate			3 Monate		
Reaktion mit:	An	Di	Br	An	Di	Br	An	Di	Br	An	Di	Br
Kolben y_1 mit 10 Ösen Walderde	+	+		++	+		++	++	+	+	++	+
Kolben y_2 mit 6 g Walderde	—	—		+	±		+	±	±	±	+	+
Kolben y_3 mit 12 g Walderde	—	—		±	±		±	—	—	±	±	—
Kolben y_4 mit 15 g Walderde	—	—		—	—		—	—	—	—	—	—
Kontrolle mit 15 Ösen Gartenerde	+++	+++		+++	+++		+	+++	+++	—	+++	+++
Kontrolle mit 15 g Gartenerde	+++	+++		+++	+++		+	+++	+++	—	+++	+++

Reaktionen der x-Kulturen nach verschieden langer Gesamtbebrütung

Dauer der Gesamtbebrütung	$\frac{1}{2}$ Monat			1 Monat			2 Monate		
Reaktion mit:	An	Di	Br	An	Di	Br	An	Di	Br
				Zugeimpft je 10 Ösen angereicherte Nitritbakterien aus Parallelkultur					
Kolben x_1 mit 10 Ösen Walderde	+	+		+++	+++		+	+++	+++
Kolben x_2 mit 10 Ösen Walderde	+	+		+++	+++		+	+++	+++
Kolben x_3 mit 9 g Walderde	—	—		+	+		±	+++	+++
Kolben x_4 mit 15 g Walderde	—	—		±	±		±	+++	+++

In den Tabellen bedeutet: An = Anästhesinprobe, Di = Diphenylaminreaktion, Br = Brucinprobe.

stehen — 2 Monate Gesamtbebrütung — dann kommen die Prozesse auch bei großer Waldbodenmenge zur Geltung.

Auffällig ist also die *bleibende Hemmung*, die in den γ -Kulturen stattgefunden hat, und der *verzögerte Eintritt der Nitrifikation* in den x -Kulturen. Diese Tatsache gibt zu Bedenken Anlaß. Es scheinen mir nur folgende Theorien für ihre Erklärung möglich zu sein.

1. Die Antagonistentheorie

Vergleiche ich die Tabellen der x -Kulturen, die unter Zugabe von Anreicherungskulturen aus Gartenerde gearbeitet hatten, mit den γ -Kulturen, die also ohne die zugegebenen virulenten Stämme zur selben Zeit bebrütet waren, so könnte ich im Hinblick auf die Antagonistentheorie zu folgendem Schluß kommen:

Die Hemmung in der Entwicklung der Nitrifizierer (γ -Kulturen) des untersuchten Buchen-Rohhumus könnte durch Antagonisten der Nitrifizierer bedingt sein. Diese feindlichen Lebewesen hätten offensichtlich in den Kulturen mit viel Erde erst diejenige Stärke erreicht, die zum Beseitigen der vorhandenen Nitrifizierer notwendig ist, womit also die stete Abstufung in der Stärke der Nachweisreaktionen erklärt würde.

Ferner müßte angenommen werden: *Die den Nitrosomonas-Bakterien feindlichen Lebewesen müssen in der Gartenerde wieder ihre Feinde haben.*

Nur diese Hilfhypothese könnte das Bild der x -Kulturen retten. Es wäre sonst schwer zu erklären, wie die „Feinde der Nitrifizierer“ bei Abwesenheit des Gartenerdeimpfmateri als dauernd in Tätigkeit bleiben und die Entwicklung der Salpeterbildner unterbinden konnten. Durch Zugabe gleicher Mengen des virulenten *Nitrosomonas*-Stammes sind nun allen x -Kulturen gleichviel „Feinde der feindlichen Lebewesen der Nitrifizierer“ zugegeben, die natürlich in den Kolben mit wenig Walderde — x_1 , x_2 — rasch ihr Werk verrichten konnten, so daß der Salpeterbildner gut aufkam. Dagegen dauerte die Bekämpfung in den Kolben x_3 , x_4 wesentlich länger, da dieselbe Menge der eingepf pften Feinde hier natürlich *mehr* „Feinde der Nitrifizierer“ vorfand.

Jeder nicht voreingenommene Betrachter wird diese Theorie nicht gerade als unwahrscheinlich hinstellen, doch werden seine Bedenken gerechtfertigt sein, wenn er ihr den Anspruch auf alleinige Geltung nicht zuerkennt.

Daher will ich eine zweite Erklärung bringen:

Die Zerstörung organischer Stoffe im Waldboden durch Lebewesen

Bei der Zugabe der virulenten Nitrifizierer aus der Gartenerdekultur in die mit Walderde beimpften müßten daneben Lebewesen hineingekommen sein, die viel energischer als die in der Walderde vorhandenen, die organischen Nahrungsstoffe der huminen Walderde zersetzen. Bei diesem Umsatz müßte einmal der Punkt erreicht werden, bei dem die Humusstoffe des Waldbodens verbraucht sind und der Boden soweit umgewandelt ist, daß die Existenzbedingungen für die aus der Walderde stammenden Nitrit- und Nitratbildner jetzt erst günstig sind. Die mit der Impfung aus der Anreicherungskultur hereingebrachten Nitrifizierer werden unter diesen Umständen natürlich auch begünstigt und zur Erhöhung der Salpeterproduktion beitragen.

Somit wäre zu erklären, daß bei gleich starker Zugabe von angereicherten Nitritbakterien in den Kulturen x_1 und x_2 die in geringerer Menge vorhandenen organischen Stoffe schnell beseitigt worden sind, daß dagegen x_3 und x_4 erst nach 2 Monate langer Bebrütung eine ebenso starke Salpeterbildung ermöglichten wie x_1 und x_2 schon nach 1 Monat Gesamtbebrütung.

Dennoch aber ist die Sache nicht so feststehend, weil es schwer einzusehen ist, inwiefern gerade die Huminstoffe verzehrenden Lebewesen in der Gartenerde reichlicher da sein sollten, wo sie viel ungünstigere Bedingungen vorfanden als im Waldboden.

Es scheint daher die dritte zu erwähnende Theorie:

Die Wirkung von Hemmungsstoffen

am einwandfreiesten zu sein.

Infolge der ungünstigen Verhältnisse im Waldboden -- schlechte Durchlüftung u. a. m. -- ist es der Bodenflora nicht möglich, gewisse Stoffe zu beseitigen, die einen schädlichen Einfluß auf die Nitrifizierer ausüben. Hiermit sind diesen die Ausbreitungsmöglichkeiten genommen, obgleich sie im Waldboden genügend von der für sie erforderlichen Nahrung finden. *Die Nitrifizierer kommen daher nur kümmerlich im Waldboden vorwärts.*

In den wenig Waldnährstoffe enthaltenden Kulturen x_1 und x_2 sind die Hemmungsstoffe nicht in der schädlichen Konzentration vorhanden, während sich größere Mengen in den Kolben x_3 und x_4 als ungünstig für das Gedeihen der Nitrifizierer

erweisen. Sobald durch Zugabe der Gartenbodennährlösung die einige Hemmungsstoffe zerstörenden Lebewesen in die Waldbodenkulturen gelangen, wandeln sie im Laufe der Zeit das Nährsubstrat so um, daß schließlich den Nitrifizierern das Wachsen ermöglicht ist (s. Kolben x_3 , x_4 nach 1 und 2 Monaten Bebrütung).

Wenn auch die tabellarisch niedergelegten Versuche m. E. am stärksten für die Hemmungstheorie sprechen, so ist diese damit noch nicht bewiesen. Um diese Frage in endgültiger Form zu lösen, bedarf es besonderer auf sie gerichteter Versuche.

Chemische Faktoren sollen also die Behinderung des Fortkommens der Nitrit- und Nitratbildner bedingen. Zuerst wird dabei jeder Bodenkundler gern an die Wirkung der

P_H -Zahl

denken.

Diese wurde kolorimetrisch im Doppelkeilapparat mit Bromkresolpurpur (Indikator nach SÖRENSEN)

zu 5,6 für die stark mit Mykorrhiza durchsetzte Humusschicht

zu 5,8 für die etwas tiefer liegende, nicht so stark Pilzwurzeln führende Humusschicht,

zu 6,2 für den sandigen Untergrund bestimmt.

MEYERHOF⁵⁾ hat als erster genauere Untersuchungen über das P_H -Intervall der Nitrit- und Nitratbildung angestellt und behauptet, daß Nitritbildung nur in dem P_H -Intervall 7,6—9,5 stattfindet. Das Optimum liegt nach seinen Angaben bei P_H 8,4—8,8. Nitratbildung war nur im Intervall P_H 5,6—10,2 möglich. Hier lag das Optimum bei P_H 8,4—9,3.

Andere Forscher, wie GAARDER und HAGEM⁶⁾ erhielten Resultate, die meistens eine Verschiebung nach der saureren Seite zeigten. Sie sind sogar der Ansicht, daß es Nitritbildner im Boden gibt, die ein P_H -Intervall von 6,1—4,8 vertragen, also noch bei derart saurer Bodenreaktion Ammoniak oxydieren. Allerdings konnten von ihnen diese Bakterienarten bisher nicht isoliert werden.

Beim Vergleich der P_H -Zahlen meines Buchenwaldbodens mit den oben erwähnten ist das Ergebnis meiner bakteriologischen Versuche nicht verwunderlich, die ich bisher und auch weiterhin nur mit den beiden zuerst erwähnten Bodenschichten anstellte, deren P_H -Intervall also zwischen 5,6 und 5,8 liegt. Die Salpeterbildner sind auf eine bestimmte Bodenreaktion zur Erlangung

Daher will ich eine zweite Erklärung bringen:

Die Zerstörung organischer Stoffe im Waldboden durch Lebewesen

Bei der Zugabe der virulenten Nitrifizierer aus der Gartenerdekultur in die mit Walderde beimpften müßten daneben Lebewesen hineingekommen sein, die viel energischer als die in der Walderde vorhandenen, die organischen Nahrungsstoffe der huminen Walderde zersetzen. Bei diesem Umsatz müßte einmal der Punkt erreicht werden, bei dem die Humusstoffe des Waldbodens verbraucht sind und der Boden soweit umgewandelt ist, daß die Existenzbedingungen für die aus der Walderde stammenden Nitrit- und Nitratbildner jetzt erst günstig sind. Die mit der Impfung aus der Anreicherungskultur hereingebrachten Nitrifizierer werden unter diesen Umständen natürlich auch begünstigt und zur Erhöhung der Salpeterproduktion beitragen.

Somit wäre zu erklären, daß bei gleich starker Zugabe von angereicherten Nitritbakterien in den Kulturen x_1 und x_2 die in geringerer Menge vorhandenen organischen Stoffe schnell beseitigt worden sind, daß dagegen x_3 und x_4 erst nach 2 Monate langer Bebrütung eine ebenso starke Salpeterbildung ermöglichten wie x_1 und x_2 schon nach 1 Monat Gesamtbebrütung.

Dennoch aber ist die Sache nicht so feststehend, weil es schwer einzusehen ist, inwiefern gerade die Huminstoffe verzehrenden Lebewesen in der Gartenerde reichlicher da sein sollten, wo sie viel ungünstigere Bedingungen vorfanden als im Waldboden.

Es scheint daher die dritte zu erwähnende Theorie:

Die Wirkung von Hemmungsstoffen

am einwandfreiesten zu sein.

Infolge der ungünstigen Verhältnisse im Waldboden --- schlechte Durchlüftung u. a. m. --- ist es der Bodenflora nicht möglich, gewisse Stoffe zu beseitigen, die einen schädlichen Einfluß auf die Nitrifizierer ausüben. Hiermit sind diesen die Ausbreitungsmöglichkeiten genommen, obgleich sie im Waldboden genügend von der für sie erforderlichen Nahrung finden. *Die Nitrifizierer kommen daher nur kümmerlich im Waldboden vorwärts.*

In den wenig Waldnährstoffe enthaltenden Kulturen x_1 und x_2 sind die Hemmungsstoffe nicht in der schädlichen Konzentration vorhanden, während sich größere Mengen in den Kolben x_3 und x_4 als ungünstig für das Gedeihen der Nitrifizierer

erweisen. Sobald durch Zugabe der Gartenbodennährlösung die einige Hemmungstoffe zerstörenden Lebewesen in die Waldbodenkulturen gelangen, wandeln sie im Laufe der Zeit das Nährsubstrat so um, daß schließlich den Nitrifizierern das Wachsen ermöglicht ist (s. Kolben x_3 , x_4 nach 1 und 2 Monaten Bebrütung).

Wenn auch die tabellarisch niedergelegten Versuche m. E. am stärksten für die Hemmungstheorie sprechen, so ist diese damit noch nicht bewiesen. Um diese Frage in endgültiger Form zu lösen, bedarf es besonderer auf sie gerichteter Versuche.

Chemische Faktoren sollen also die Behinderung des Fortkommens der Nitrit- und Nitratbildner bedingen. Zuerst wird dabei jeder Bodenkundler gern an die Wirkung der

P_H -Zahl

denken.

Diese wurde kolorimetrisch im Doppelkeilapparat mit Bromkresolpurpur (Indikator nach SÖRENSEN)

zu 5,6 für die stark mit Mykorrhiza durchsetzte Humusschicht
zu 5,8 für die etwas tiefer liegende, nicht so stark Pilzwurzeln
führende Humusschicht,

zu 6,2 für den sandigen Untergrund bestimmt.

MEYERHOF⁵⁾ hat als erster genauere Untersuchungen über das P_H -Intervall der Nitrit- und Nitratbildung angestellt und behauptet, daß Nitritbildung nur in dem P_H -Intervall 7,6—9,5 stattfindet. Das Optimum liegt nach seinen Angaben bei P_H 8,4—8,8. Nitratbildung war nur im Intervall P_H 5,6—10,2 möglich. Hier lag das Optimum bei P_H 8,4—9,3.

Andere Forscher, wie GAARDER und HAGEM⁶⁾ erhielten Resultate, die meistens eine Verschiebung nach der saureren Seite zeigten. Sie sind sogar der Ansicht, daß es Nitritbildner im Boden gibt, die ein P_H -Intervall von 6,1—4,8 vertragen, also noch bei derart saurer Bodenreaktion Ammoniak oxydieren. Allerdings konnten von ihnen diese Bakterienarten bisher nicht isoliert werden.

Beim Vergleich der P_H -Zahlen meines Buchenwaldbodens mit den oben erwähnten ist das Ergebnis meiner bakteriologischen Versuche nicht verwunderlich, die ich bisher und auch weiterhin nur mit den beiden zuerst erwähnten Bodenschichten anstellte, deren P_H -Intervall also zwischen 5,6 und 5,8 liegt. Die Salpeterbildner sind auf eine bestimmte Bodenreaktion zur Erlangung

ihres Wachstumsoptimums angewiesen. Zwar gedeihen sie noch bei Wasserstoffionenkonzentrationen, die über das Intervall hinausgehen, aber nur als Kümmerlinge. Der von mir untersuchte Buchenrohhumus ist für manche Bakterien zu sauer und behindert auch die Nitrifizierer stark; er ist jedoch nicht so sauer, als daß er die Nitrifikation vollständig verhindern könnte.

Soweit ist die Nitrifikation statisch betrachtet. Aber das Problem hat auch eine dynamische Seite. Bei dem Prozeß wird aus einem alkaliartigen Körper Säure auf zweifache Weise erzeugt. Erstens muß das Ammoniak bei solcher Wasserstoffionenkonzentration an irgendeine Säure gebunden sein und wenn es auch nur etwa ein „saurer Kolloid“⁶⁹⁾ ist. Diese Säure wird nun durch die Nitrifikation aus dem „Ammonsalz“ frei. Daneben wird ja doch bei der Nitrifikation Salpetersäure selbst erzeugt. Will man den Prozeß retten, so muß unbedingt eine starke Pufferung für diese zeitweilig sehr große Wasserstoffionenkonzentration im Boden angenommen werden.

Wenn also auf Grund der schädlichen Säurewirkung, wie wir gesehen haben, eine ganz kümmerliche Nitrifikation stattgefunden hat, so müßte diese in den γ -Röhren nach Zugabe von Calcium-Karbonat nicht mehr behindert werden. Wir haben dann doch die Pufferung in alkalischer Richtung verschoben.

Die Wirkung der Wasserstoffionenkonzentration⁷⁰⁾ gibt also vielleicht eine Erklärung für die behinderte Nitrit- bzw. Nitratbildung in natürlichem Boden, aber nicht in den γ -Kulturen.

Wodurch ist nun die Hemmung der Nitritbilner bedingt, die als virulente Stämme in die α -Kulturen geimpft waren? Die P_H -Zahl konnte hier gewiß nicht der maßgebende Faktor für die Hemmung sein, weil ja die Karbonate für die Beseitigung des sauren Giftes gesorgt hatten.

Es mußten also anderweitige Körper vorliegen, die durch ihre chemische Konstitution auf die Bakterien giftig wirken.

Auf diesem Gedankenwege half mir eine Arbeit von SCHREINER⁷⁾ und seinen Mitarbeitern weiter. In seinem Werk „Boden und Pflanze“ führt RUSSEL⁸⁾ die Nachforschungen an, die von SCHREINER und LATHROP über organische, dem Pflanzenwachstum schädliche Verbindungen angestellt worden sind. Besondere Aufmerksamkeit haben die Autoren der Dihydroxystearinsäure gewidmet, die in Wasserkulturen auf Pflanzen giftig wirkt.

Im Folgenden soll zum Teil in wörtlicher Übersetzung, zum Teil zusammengefaßt, die Arbeit von SCHREINER wiedergegeben werden, die im Original betitelt ist:

Dihydroxystearic acid in good and poor soils

Vom Bureau of Soils wurde in den Vereinigten Staaten das Vorhandensein der Dihydroxystearinsäure zu ermitteln versucht. Schon im Jahre 1908 war ihre Gegenwart in gewissen unfruchtbaren Böden festgestellt worden. Später wurde ihre Verteilung in den verschiedensten Proben von guten und schlechten Böden nach einer später zu besprechenden Methode untersucht.

Nun erwies es sich, daß 32 von den 84 geprüften Böden die gesuchte Säure enthielten. Sie wurde in unbebautem, wie in bebautem Land gefunden, in ständig gemähtem, wie ungemähtem Wiesenland, in Böden von der Atlantischen, Pazifischen Küste und von den Golfstaaten.

„Sie scheint ein gewöhnlicher Bodenfaktor zu sein. Ihre Bildung oder Ansammlung hängt zweifellos mit den lokalen Bedingungen irgendeines Landausschnittes zusammen, die aber nicht auf irgendeine Region der Vereinigten Staaten und vermutlich auch nicht auf ein Land oder einen Kontinent beschränkt sind.“

„Wahrscheinlich ist die Säure ein direkter oder indirekter Faktor, der die geringe Produktionskraft des Bodens bedingt. Unmöglich kann vor der Hand aus den Daten festgesetzt werden, daß diese Säure der einzige Faktor ist, welcher zur Unfruchtbarkeit der Böden führt, in denen sie gefunden wurde. Denn es muß daran erinnert werden, daß sie *nur eine von vielen* Komponenten ist, seien sie organischer oder anorganischer Natur, die schädlich oder nützlich wirken, die also *alle* einen bestimmten Anteil an der relativen Fruchtbarkeit oder Unfruchtbarkeit haben.“

An einer weiteren Stelle seiner Abhandlung äußert sich der Verfasser wie folgt: „Die vorhandene Kenntnis dieser Säure weist auf ein Zusammenvorkommen mit Bodenpilzen hin.“

Die gesamten Bodenbedingungen, unter welchen sie gefunden wurde, sind: schlechte Durchwässerung, schlechte Durchlüftung, zu große Festigkeit und mangelnde Krümelung, *Kalkarmut*, *Mangel* an guter Oxydation und Nitrifikation, Bestreben zur Pilzentwicklung, *Armut* an Rasen. Ob nun die angeführten Bodenbedingungen als Ursache zur Bildung oder Sammlung der Dihydroxystearinsäure beitragen, oder ob sie durch das Vorkommen

der Säure bedingt sind, das zu beantworten, ist dem Verfasser bisher nicht möglich.

Beim Überblicken dieser für den Bodenkundler wie für den Pflanzenphysiognomen sehr bedeutungsvollen Ergebnisse fällt die Ungebundenheit an ein bestimmtes Klima auf.

Ferner sind noch andere Umstände zu beachten, die mit dem Vorkommen dieser Säure vergesellschaftet sind. Da manche Böden arm an Kalk sind und damit zu einem Verballen, zu einem Mangel an Krümelung neigen, so ist bei ihnen die Luft- und Wasserführung gehemmt.

Diese mehr primären physikalischen Faktoren üben auf die Umsätze im Boden einen bestimmenden Einfluß aus. Wie orientierende, im Botanischen Institut zu Königsberg ausgeführte Versuche ergaben, ist die Säurebildung in solchen kalkarmen Böden nicht gefördert. Die Zahl der die Säure produzierenden Lebewesen kann sogar verkleinert sein, und dennoch findet hier eine vermehrte Säureanhäufung statt, weil nämlich die *Verarbeitung der ganz allmählich produzierten Säure gehemmt* ist. Die unvollständigen Oxydationen und die an Basen nicht gebundenen freien Säuren führen zu einer Anreicherung der Säure im Boden, zu einer Fossilisation derselben.

Will ich die Vorgänge ganz drastisch darstellen, so kann ich von Böden reden, in denen der Kohlenstoff festgelegt wird. Gut arbeitende Erden lassen dagegen den Kohlenstoff mobil und führen ihn der Pflanzenwelt wieder als ausgeatmete Kohlensäure zu.

Nun ist durch die Versäuerung eines Bodens der Kalk restlos verbraucht, und alle Vorgänge, die nur bei Gegenwart von Basen verlaufen, sind zum mindesten gehemmt, wenn nicht gar ausgeschaltet. Zu diesen Prozessen gehören in hohem Maße die Salpeter- und Sulfatbildung.

Wie die niederen Säuren fossilisiert werden, so kann das auch für die Dihydroxystearinsäure gelten. Diese vermag ihrerseits in freiem Zustande mancherlei hemmende, aber vielleicht auch fördernde oder die Konkurrenz aufhebende Wirkung auszuüben. Durch dieses Abhobeln der im normalen Boden rasch verlaufenden Endprozesse der vitalen Umsätze wird das Gedeihen von Pilzen gefördert, die besonders günstiges Fortkommen in solchen mit sauren Nährstoffen angereicherten Böden finden. Die Pilzflora wird dann besonders reichlich vertreten sein. Leider kennt man sie in diesen Böden viel zu wenig. Es scheinen, soweit uns hier

die Pilzkunde Rückschlüsse zu ziehen erlaubt, qualitative Unterschiede in der Pilzflora zu bestehen.

Die Aufgabe der folgenden Untersuchungen sollte sein, die *Einwirkung der Dihydroxystearinsäure*, bzw. der nach SCHREINERS Methode verfertigten Bodenauszüge, die ja diese Säure enthalten sollten, auf *bakterielle Umsätze* zu studieren.

Das Ergebnis wird dann zu beurteilen gestatten, ob die oben entwickelte Auffassung von Hemmungsstoffen zu Recht besteht. Ferner werden Rückschlüsse gezogen werden können, ob die angeführten Begleitumstände des Vorkommens der Säure durch diese selbst bedingt sind, oder endlich, ob die Begleitumstände dieselbe kausale Grundlage besitzen wie die Säure selber.

Zunächst wandte ich mich der

Darstellung der Dihydroxystearinsäure

aus dem Waldboden zu.

„2,5—5 kg des Bodens werden 24 Stunden lang mit 5 000—10 000 ccm 2%iger Natronlauge versetzt stehen gelassen. Der darüber schwimmende alkalische Extrakt wird abgezogen, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und filtriert. Das Filtrat wird mit Äther ausgeschüttelt, bis nichts mehr vom Äther ausgezogen wird. Der Ätherextrakt kann nun bis auf ein kleines Volumen Wasser verdampft werden und die Wasserlösung, die öliges und harziges Material enthält, wird tüchtig gekocht und durch einen Heißwassertrichter filtriert.

Das Filtrat, das die Dihydroxystearinsäure enthält, wird jetzt abgekühlt, wieder mit Äther extrahiert, Äther abdestilliert, die wässerige Auflösung gekocht und wie vorher filtriert.

Die wässerige Auflösung dampft man bis auf ein kleines Volumen ein, läßt die Lösung abkühlen, worauf bei Gegenwart von Dihydroxystearinsäure Kristalle in sternartigen Büscheln von weißen Platten und Nadeln ausfallen, die im Falle der Reinheit bei 99° schmelzen müssen.“

Bei den ersten Arbeiten ging ich genau nach SCHREINERS Angaben vor. Bald aber sah ich mich gezwungen, einige Abänderungen zu treffen, um den Boden möglichst erschöpfend zu behandeln. Im Prinzip blieb der Darstellungsgang von SCHREINER gewahrt.

Die Isolierungsmethode zerfällt in folgende Teile:

- 1) Perkolation des Bodens mit 2%iger Natronlauge,
- 2a) Ausfällen der Humussäuren mit Schwefelsäure,

- 2b) Das Filtrieren derselben,
- 3) Ätherextraktion
 - a) des Filtrats,
 - b) des Niederschlags,
- 4) Kristallisation zwecks Reinigung der gesuchten Substanz.

Vorbereitung der Bodenproben. — Wie eingangs erwähnt, war das Versuchsmaterial aus Gr. Buchwalde in zusammenhängenden Schollen mitgenommen und zwar Krume und Untergrund getrennt. Die Bodenproben wurden im Laboratorium an einem von Säure und Ammoniakdämpfen freien, möglichst vor Staub geschützten Ort flach ausgebreitet und unter öfterem Umschaukeln wurde in Kürze eine sogenannte lufttrockene Erde erhalten. Die Überführung in diesen Zustand mußte möglichst schnell vor sich gehen, doch durfte zum Trocknen kein Erwärmen der Substanz angewandt werden, um leicht dabei stattfindende Umsetzungen zu vermeiden.

Nun galt es, den Boden von allen möglichen Beimengungen zu befreien. Speziell die Krume (Boden I) war stark von Wurzeln und Mykorrhiza durchsetzt; diese wurden durch kräftiges Zerreißen des Mulmes grob fortgeschafft. Nach weiterem Zerpflücken und Sieben wurde die Erde von Bucheckern, Zweigen und feineren Wurzeln befreit. Jedoch die feinsten Würzelchen waren im Boden geblieben. Diese mußten unbedingt herausgebracht werden, denn es galt eine Boden-, keine Wurzelanalyse vorzunehmen. Weiteres Sieben durch ein ganz feines Maschennetz (2 mm Lochweite) führte zum Ziele. Hierbei erhielt ich allerdings den Boden im best erreichbaren Zustand für die weitere Behandlung; es schrumpfte aber das Material derart an Quantität zusammen, daß ich bei den nächsten Fahrten mich mit weit mehr Bodenmaterial versehen mußte, um nur einigermaßen dieselbe Menge von der Krume für die Darstellung der Humuskomponente zur Verfügung zu haben wie vom Untergrund.

Den Untergrund (Boden II) in den gebrauchsfertigen Zustand überzuführen, war nicht schwierig. Einfaches Sieben durch Behälter mit 2 mm Lochweite ermöglichte, diesen sandigen Boden in Kürze zu reinigen.

Im gesiebten, lufttrockenen Zustande wurden dann die Proben in verschließbaren Glasflaschen mit weitem Halse für die kommenden Untersuchungen aufbewahrt.

1. *Die Perkolation* wurde in einer großen 20 l fassenden Glasglocke ausgeführt, die unten mit Tubus, Stopfen und Abflußrohr versehen war. Als Vorlage diente eine etwa 10 l fassende Flasche.

Zu unterst wurde eine dicke Schicht von Holzwolle gelegt, die zuvor durch Kochen in 2%iger Natronlauge von natronlöslichen Stoffen befreit war. Auf den darüber geschichteten Versuchsboden (entweder Krume oder Untergrund) wurde 2%ige Natronlauge gegossen. Die Anzahl Liter entsprach der Menge Boden nach den SCHREINERSchen Angaben oder überschritt sie etwas. Tagsüber tropfte der alkalische Extrakt langsam aus der Glasglocke in die Vorlage und wurde nach vollständigem Entleeren des oberen Gefäßes wieder in dieses zurückgegossen, um von neuem den Boden zu extrahieren. Über Nacht wurde die Perkolation stets unterbrochen.

Um nun möglichst vollständig die alkalilöslichen Stoffe aus dem Boden herauszuschaffen, extrahierte ich ihn nicht nur 24 Stunden (SCHREINERS Angabe), sondern 3 bis 14 Tage lang. Zum Schluß wurde der Boden mit alkalischem Wasser ausgewaschen und der Rückstand verworfen.

2a) *Das Ausfällen der „Ulmin- und Humussäuren“* erfolgte mit Schwefelsäure. Das ohnehin große Flüssigkeitsquantum sollte nicht unnötig vergrößert werden; daher wurde dem alkalischen Extrakt Säure in konzentrierter Form zugesetzt. Sobald die Lackmusprobe gerade stark saure Reaktion zeigte, wurde die Flüssigkeit kräftig umgerührt und dann zum Absitzen des Niederschlags stehen gelassen.

2b) *Das Filtrieren der Lösung* zwecks Gewinnung eines klaren Filtrats stieß nun auf technische Schwierigkeiten. Die zuerst verwandten Faltenfilter verstopften, sobald sich der Niederschlag gesetzt hatte. Ein weiteres Nachgießen von Flüssigkeit war zwecklos, weil tagsüber höchstens 10 ccm abtropften. 8 000 oder 10 000 ccm auf diese Art zu filtrieren, erforderte zu viel Zeit.

Darauf versuchte ich durch Watte den Niederschlag vom Filtrat zu trennen; die Filtration ging aber nicht schneller von statten.

Ich ließ nun in mehreren großen Trichtern den Niederschlag absitzen, bis nach einem Tage die Lösung ziemlich klar geworden war, goß diese ab und filtrierte sie durch einen BÜCHNERSchen Trichter mit Luftverdünnung, wobei Aufkochen oder wenigstens gelindes Erwärmen der abgestandenen Lösung gute Resultate

zeigten. Dadurch war nämlich der fein kolloidale Niederschlag grobkörniger geworden und die Filtration beschleunigt.

Das so gewonnene rotbraune Filtrat besaß einen angenehmen aromatischen Geruch nach Bienenwachs, der beim Einengen der

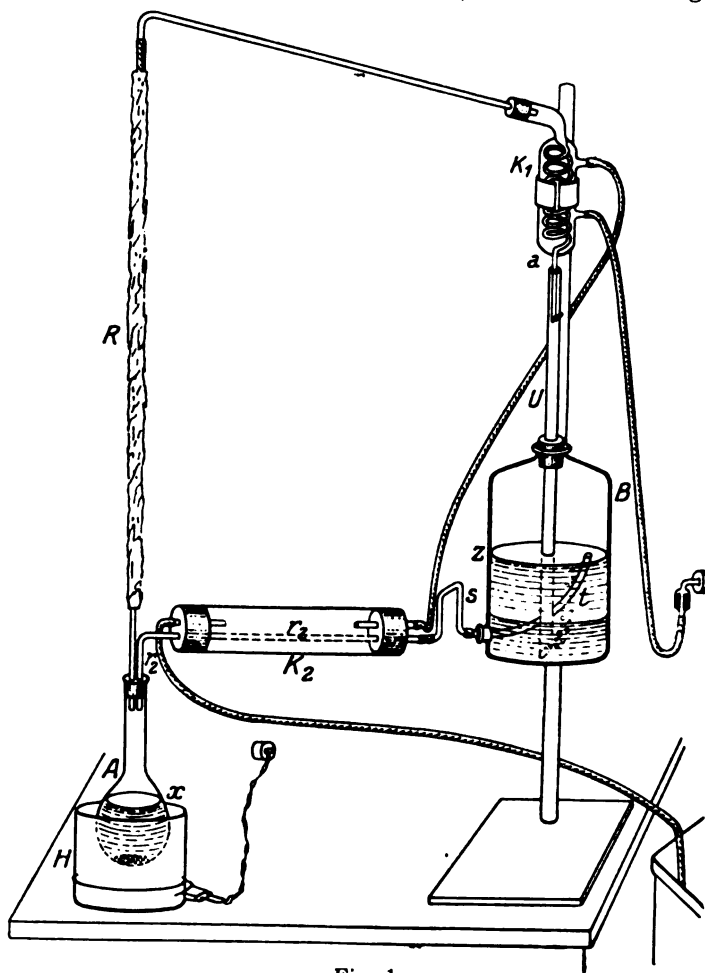


Fig. 1

Lösung intensiv stechend wurde. Beim Eindampfen mußte unbedingt das Verkohlen der organischen Substanz vermieden werden, was eintrat, soweit sich in dem sauren Filtrat die Schwefelsäure zu sehr konzentriert hatte. Daher wurde die Lösung vor dem Einengen bis zur neutralen Reaktion mit konzentrierter Natronlauge versetzt und der weiteren Untersuchung unterworfen. Den Niederschlag hob ich mir jedesmal auf.

3a) *Ätherextraktion des Filters.* — Die Isolierungsmethode der Dihydroxystearinsäure beruht auf ihrer Löslichkeit in Äther. Zuerst versuchte ich durch Ausschütteln im Scheidetrichter die gewünschten Stoffe zu erhalten, was auf Schwierigkeiten stieß. Da nur durch intensives Mischen von Filtrat und Äther auf einigermaßen gute Ausbeute gerechnet werden konnte, wurde der Inhalt des Scheidetrichters kräftig geschüttelt, wobei jedoch eine derart starke Schaumbildung auftrat, daß ich nach erfolgloser Anwendung von Na_2SO_4 Zugabe von diesem Verfahren abstellen mußte. Weit besser arbeitete es sich mit einem selbstgebauten „Perkussionsapparat“, dessen Prinzip eine kontinuierliche Behandlung des Versuchsmaterials mit Äther war.

Zu der beistehenden Zeichnung will ich eine Erklärung über den Aufbau des Apparates und den Vorgang der Ätherextraktion geben.

Aufbau des Perkussionsapparates. — Die gesamte Apparatur bestand im wesentlichen aus einem Kaliglas Kolben A, der in einem elektrisch heizbaren Wasserbad H beliebig stark erwärmt werden konnte, und aus einer zweifach tubulierten Flasche B, die um Rundkolbenhöhe über der Tischplatte am Stativ befestigt war (vgl. Fig. 1).

Die wichtigsten Verbindungsstücke waren:

1. ein langes, mit Zellstoffwatte bekleidetes Steigrohr R,
2. ein Schlangenkühler K_1 ,
3. ein unten schräg abgeschnittenes, sehr breites Glasrohr U, dessen Länge etwa die 4—5fache Höhe des Flüssigkeitsniveaus z in der Flasche B überstieg,
4. eine U-förmige Glasröhre s und ein rund geschwungenes Rohr t in der Flasche B,
5. ein Kühlapparat K_2 , der aus einem weiten Glaszylinder, Korken und Glasröhren gefertigt worden war.

An der Stelle a mußte ein gewisser Abstand zwischen dem Kühler K_1 und der weiten Glasröhre U gewahrt werden, damit die ganze Apparatur unter Luftdruck arbeiten konnte. Als Sicherheitsvorrichtung wurde bei a ein Watteverschluß verwandt, um die oft in starkem Maße entströmenden Ätherdämpfe durch kapillare Räume zwecks Vermeidung von Explosionen zu schicken.

Vorgang im Perkussionsapparat. — Vor dem Zusammen setzen des Apparates wurde die Flasche B mit dem zu extrahierenden Material beschickt, darauf von der Stelle a aus durch das Rohr U

die Substanz in der Flasche B mit Äther solange überschichtet, bis er die Höhe des gebogenen Rohres t überstieg. Zuvor hatte dabei der Äther, durch die Röhren t, s, r₂ laufend, den mit Siedesteinchen beschickten Kolben A bis zur Höhe x gefüllt.

Nach dem Anwärmen des Wasserbades destillierte der Äther aus A über R, r, K₁, U in die Flasche B. Hier stiegen die Ätherblasen langsam hoch und extrahierten dabei die durchstrichene Substanz, die sich bei dem Blasenschlagen in ständiger, langsamer Bewegung befand. Hatte sich in B das Niveau der Flüssigkeit um wenige cm über das ursprüngliche erhoben, so schoß plötzlich, durch die in dem Apparat herrschenden Druckverhältnisse bedingt, der Ätherextrakt durch die Röhren t, s, r₂ in den Kolben A über.

Andererseits nahm der aus A aufsteigende Ätherdampf den Weg durch die Röhre r₂. Jedoch der zwischengeschaltete Kühler K₂ sorgte für rechtzeitiges Kondensieren dieser Dämpfe, so daß der aus B kommende Extrakt nicht allzu großen Widerstand beim Abfließen durch r₂ fand.

Siedete der Äther im Kolben A zu stark, dann konnten sich die Dämpfe nicht vollständig in K₁ kondensieren und bei a entwich recht viel in Dampfform. Dieser Umstand bedingte, daß ab und zu reiner Äther nachgegossen werden mußte, um den Vorgang im Gange zu halten.

Meistens hatte sich im Laufe von 10—14 Tagen ein rotbrauner öliger Extrakt in A angesammelt, der in starker Verdünnung hellgrün aussah.

3b) Die *Ätherextraktion des Niederschlags* nahm ich aus später anzuführenden Gründen außer der Ätherextraktion des Filtrats vor (s. S. 29).

Der Rückstand, der bei der Filtration der schwefelsauren Lösung erhalten war, wurde möglichst gut ausgewaschen und an der Luft getrocknet. Die Humuskolloide schrumpften stark zusammen. Daher zermörserte ich sie sehr fein, um ihre angreifbare Oberfläche zu vergrößern, bevor sie der Ätherextraktion unterworfen wurden. Diese wurde genau ausgeführt wie unter 3 a) angegeben ist.

4) *Kristallisation*. — Wie nun *Schreiner* nach den oben gebrachten Angaben bei seinen Analysen von Bodenproben die Dioxystearinsäure eindeutig bestimmt haben will, ist mir unklar.

Selbstverständlich ist bei der bisher beschriebenen Isolierungsmethode mehr als eine ätherlösliche Komponente in den Äther-

extrakt gegangen. Nun soll durch abwechselndes Lösen in heißem Wasser und Äther gerade die gewünschte Substanz in so starker Reinheit erhalten werden, daß die Schmelzpunktbestimmung, deren Zuverlässigkeit doch *einzig* auf der vollständigen Reinheit der zu untersuchenden Substanz basiert, einen endgültigen Aufschluß über die chemische Konstitution der fraglichen Komponente geben kann? Ich möchte es bezweifeln. Wenn nicht noch andere Methoden zur Bestimmung angewandt worden sind — sie sind aber nicht in der unter 7) zitierten Schrift von *Schreiner* verzeichnet — dann kann und darf man nicht von *der* Dioxystearinsäure sprechen.

Wenn auch der von *Schreiner* bestimmte Schmelzpunkt bei 99° auf Dioxystearinsäure schließen läßt, die aus Elaidinsäure hergestellt wird, so ist doch nicht ausgeschlossen, daß eine andere organische Substanz auch gerade bei dieser Temperatur schmilzt und diese vielleicht ebenso, wenn nicht sogar stärker auf das Pflanzenwachstum schädlich wirkt wie die Dioxystearinsäure und auch die oben angeführten schlechten Eigenschaften eines Bodens bedingt oder durch diese bedingt wird.

Immerhin verfuhr ich bei meiner weiteren Arbeit im Prinzip nach *Schreiners* Angaben in der Absicht, die Kristalle genauer chemisch zu identifizieren, falls genügend Material erhalten würde

Die Ätherextrakte aus Kolben A und Flasche B wurden zusammengegossen, filtriert und der Äther abdestilliert. Die nicht gesuchten Komponenten wurden möglichst weitgehend beseitigt, indem die heiße Wasserlösung durch einen Heißwassertrichter filtriert wurde, das Filtrat auf dem Wasserbad recht stark eingengt, danach mit Äther aufgenommen, geschüttelt, filtriert und Äther verjagt. Dieser Vorgang wurde drei- bis viermal wiederholt.

Wieviel von der Dioxystearinsäure im Falle ihres Vorhandenseins in heißem Wasser sich gelöst hatte, will ich dahingestellt sein lassen, denn durch Literatur (10) hatte ich mich davon überzeugt, daß diese Säure in Wasser unlöslich sein soll. So hob ich mir die in heißem Wasser unlöslichen Stoffe auf und verwandte auch sie bei den bakteriologischen Versuchen.

Bald stellte sich heraus, daß trotz der großen angewandten Bodenmenge schließlich so wenig auskristallisierte, daß eine genauere Bestimmung nicht vorgenommen werden konnte. Nicht einmal eine Schmelzpunktbestimmung war möglich, da beim

Arbeiten nach der vorgeschriebenen Methode mit den wenigen Kristallen stets eine braune ölige Masse vergesellschaftet war.

Mikroskopische Prüfung: — Die Kristalle besaßen Gelbfärbung, weil sie in harziges Material eingebettet lagen. Die Gestalt war sternchen- und büschelförmig.

Obgleich die Ausbeute an gewünschtem Material sehr gering und unrein ausfiel, war die Arbeit nicht zwecklos gewesen. Denn ich änderte jetzt meine Fragestellung dahin ab, die Wirkung *irgendwelcher* im Boden vorhandenen chemischen Faktoren auf die Kleinlebewelt zu prüfen. Ob nun gerade die von SCHREINER isolierte Säure oder eine andere Bodenkomponente die hemmende Wirkung auf Bakterien ausübt, das nachzuprüfen, stellte ich mir jetzt nicht zur Aufgabe. Diese Frage in endgültiger Form zu lösen, sind nur eingehende Untersuchungen imstande, die auf das Studium der Säure gerichtet sind. Es müßte von mehrfach größeren Bödenmengen ausgegangen und die Isolierungsmethode wesentlich spezialisiert werden.

Zusammenstellung der Isolierungsversuche

Aus dem Folgenden soll ersichtlich sein, wieviele Bodenproben und wie lange sie bearbeitet wurden, ferner welche Extrakte zwecks weiterer Prüfung zurückgestellt wurden. Je zweimal wurden Krume und Untergrund dem gesamten Analysengang unterworfen. **Nomenklatur:**

Boden	I ₁	stellt die erste Untersuchung der Krume dar.
„	I ₂	„ „ zweite „ „ „ „
„	II ₁	„ „ erste „ des Untergrundes dar.
„	II ₂	„ „ zweite „ „ „ „

Boden I₁

Verwendet: 3 kg Boden und 10 Liter 2%ige Natronlauge.

Perkulationsdauer: 3 Tage.

Es wurde wegen Abänderung der Fragestellung (s. Seite 28) nicht nur, wie SCHREINER angibt, das Filtrat, sondern auch der Niederschlag untersucht, der sich im Laufe des Analysenganges ergibt.

Dauer der Perkussion des Filtrats: In 14 Tagen lief der Apparat 24 Stunden lang.

Ergebnis: Geringe Ausbeute an Kristallen:

1. im ätherlöslichen Teil des Extraktes,
2. im heißwasserlöslichen Teil des Extraktes.

Dauer der Perkussion des Niederschlags: Im Laufe von 4 Tagen lief der Apparat 100 Stunden lang.

Ergebnis: Geringe Ausbeute an Kristallen:

1. im ätherlöslichen Teil des Extraktes,
2. im heißwasserlöslichen Teil des Extraktes.

Boden I₁

Verwendet: 3 kg Boden und 10 Liter 2%ige Natronlauge.

Perkulationsdauer: 14 Tage, um größere Ausbeute als im oben erwähnten Falle zu erzielen.

Dauer der Perkussion des Filtrats: In 12 Tagen lief der Apparat 35 Stunden lang.

Ergebnis: Größere Ausbeute als im vorigen Falle an Kristallen:

1. im ätherlöslichen Teil des Ätherextraktes,
2. im heißwasserlöslichen Teil des Ätherextraktes.

Folgerung: Verlängerte Perkolation scheint die Ausbeute zu erhöhen.

Dauer der Perkussion des Niederschlags: In 5 Tagen lief der Apparat 100 Stunden lang.

Ergebnis: Ausbeute auch viel größer als bei Boden I₁, sowohl an Kristallen

1. im ätherlöslichen Teil des Ätherextraktes.
2. im heißwasserlöslichen Teil des Ätherextraktes.

Wie aus der bisherigen Zusammenstellung ersichtlich, hatte ich bei jeder Bodenanalyse vier Extrakte erhalten. Es wurden nun von Boden I₁ und Boden I₂ die entsprechenden Ausbeuten zusammen gegeben zwecks Vergrößerung des Materials, so daß mir nach diesen beiden *Krumenuntersuchungen* im ganzen vier Auszüge zur Verfügung standen, die folgendermaßen bezeichnet wurden:

K ₁ = ätherlöslicher Teil des Ätherextraktes	von Filtrat	der Krumenanalyse
K ₂ = heißwasserlösl. „ „ „ „	„ „	„ „
K ₃ = ätherlöslicher „ „ „ „	Niederschlag	„ „
K ₄ = heißwasserlösl. „ „ „ „	„ „	„ „

Analog diesen Untersuchungen wurde der Untergrund behandelt und die entsprechende Bezeichnung eingeführt.

Boden II₁

Verwendet: 3 kg Boden und 7,5 Liter 2%ige Natronlauge.

Perkulationsdauer: 9 Tage.

Dauer der Perkussion des Filtrats: Nach 4maligem Ausschütteln mit Äther im Scheidetrichter wurde in 10 Tagen 14 Stunden lang perkutiert.

Ergebnis: Schlechte Ausbeute an Kristallen:

1. im ätherlöslichen Teil des Ätherextraktes,
2. im heißwasserlöslichen Teil des Ätherextraktes.

Dauer der Perkussion des Niederschlags: im Laufe von 10 Tagen lief der Apparat 20 Stunden lang.

Ergebnis: Geringe Ausbeute an Kristallen:

1. im ätherlöslichen Teil des Ätherextraktes,
2. im heißwasserlöslichen Teil des Ätherextraktes.

Boden II,

Verwendet: 3 kg Boden und 7,5 Liter 2%ige Natronlauge.

Perkolationsdauer: 9 Tage.

Dauer der Perkussion des Filtrats: In 20 Tagen lief der Apparat 100 Stunden lang.

Ergebnis: Nicht größere Kristallausbeute als bei Boden II₁.

Folgerung: Übermäßig lange Ätherextraktion erhöht nicht entsprechend die Ausbeute.

Dauer der Perkussion des Niederschlags: Im Laufe von 10 Tagen lief der Apparat 25 Stunden lang.

Ergebnis: Geringe Kristallausbeute:

1. im ätherlöslichen Teil des Ätherextraktes,
2. im heißwasserlöslichen Teil des Ätherextraktes.

Die Extrakte der *Untergrundsanalyse* wurden folgendermaßen bezeichnet:

U ₁ = ätherlöslicher Teil d. Ätherextraktes von Filtrat	d. Untergrundsanalyse
U ₂ = heißwasserlösl. " " " " " "	" "
U ₃ = ätherlöslicher " " " " Niederschlag	" "
U ₄ = heißwasserlösl. " " " " " "	" "

Es lagen also im ganzen acht verschiedene Extrakte (K- und U-Reihe) vor, deren Wirkung in bakterieller Hinsicht studiert werden sollte.

Zum Ansetzen der einschlägigen Versuche benötigte ich außer diesen isolierten „natürlichen Hemmungsstoffen?“ Nitrifizierer, und zwar in absoluter Reinkultur, in der sich die Eigenschaften der Mikroorganismen multiplizieren und sichere Untersuchungen zulassen.

Die Isolierung von Nitritbakterien in sehr leistungsfähigem Stadium

FERDINAND COHN, der Begründer der Reinkulturen, fand, wenn einzelne Zellen zufällig auf Nahrungsmittel fallen und durch Vermehrung ganze Kolonien bilden, daß dann diese Ein-Zell-Kulturen absolut sichere Gewähr für die Reinheit einer Bakterienkultur bieten. Da jedoch diese Methode zu sehr auf Zufall beruht, und auch nicht überall angewendet werden kann, so ist es oft unumgänglich, mit der älteren Verdünnungsmethode von PASTEUR oder der besseren Methode der Gußkultur von ROBERT KOCH zu arbeiten. Wenngleich theoretisch die letzte Methode nicht so sicher wie die ersterwähnte ist, so soll sie doch praktisch gleichberechtigt sein. „Denn eine ziemlich bedeutende Zahl von Untersuchungen, die im Laufe der letzten Jahre ausgeführt worden sind, hat mit Sicherheit erwiesen, daß Gußkulturen gleich zuverlässige Resultate wie die Ein-Zell-Kulturen dann liefern, wenn sie oft genug (etwa vier- bis sechsmal) wiederholt und gleichzeitig in Parallelreihen (etwa vierfach) angelegt werden¹¹⁾“.

Nach diesen Angaben verfuhr ich bei der Gewinnung von Reinkulturen des Nitritbildners *Nitrosomonas*.

Praktische Ausführung. — Es wurden 4mal in je 50 ccm der STUTZERSchen Nährlösung zum Fangen für Nitritbakterien 0,5 g rasch arbeitende Gartenerde geimpft.

Als sich nach 9 Tagen eine kräftige Nitrifizierung mit der Anästhesinprobe nachweisen ließ, wurden sofort in vier bereitstehende, sterilisierte, mit STUTZER-Nährlösung beschickte Kolben aus je einer Kultur 15 Ösen geimpft.

Nach 7 Tagen konnte abermals in 4 neue sterile Lösungen übergeimpft werden, was noch weitere sechsmal im Laufe von 2 Monaten geschah, stets nach dem Beginn des Wachstums der Nitritbildner. Da bekanntlich die Nitratbildner auftreten, sobald die Nitritbildner für sie den Boden nur etwas günstig gestimmt haben, so mußte ich unbedingt auf den *Eintritt* des Aufkommens von Nitritbildnern achten. Es mußte dabei die Anästhesinreaktion stark positiv, die Bruzinreaktion dagegen negativ ausfallen.

Die nach diesem achtmaligen Verdünnungsverfahren erhaltenen „Rohkulturen“ können als letzte Vorstufe der Reinkulturen angesehen werden. Erst durch Anwendung der KOCHSchen Gußkulturmethode ist es möglich, die Bakterienarten sicher zu „isolieren“. Es bestehen wohl Vorschriften von STUTZER

über die Anwendung von Nähragar für Nitritbakterien. Gerade bei dem Nitritbildner hat sich aber als besonders günstig die Verwendung von Nähr-Gipsplatten erwiesen.

Zusammensetzung der Nähr-Gipsplatten für Nitritbakterien

— 100 g Gips und 1 g Magnesium-Karbonat mit Wasser zur Konsistenz von saurem Rahm angeührt, auf eine Spiegelglasplatte ausgegossen, und Platten von der Größe kleiner Petrischalen (eventuell Streifen für Reagenzgläser) ausgeschnitten. Die Platten werden, mit der blanken Fläche nach oben, in Petrischalen gebracht und so viel von der „Nährlösung zum Fangen der Nitritbakterien“ eingegossen, daß das Niveau der Flüssigkeit die halbe Höhe der Platten erreicht. Ist die Lösung nach dem Sterilisieren bei 120° ausgetrocknet, so gießt man etwas sterile Nährlösung in die Schale nach (4).

Da Platten aus reinem Gips nie glatt, d. h. ohne Poren ausfielen und auch geringere Resistenz beim Sterilisieren im Autoklav zeigten, wurde eine Mischung von Alabaster und Gips (9+1) verwendet, die allerdings sehr viel langsamer erhärtete, dafür aber spiegelglatt und im Autoklav viel widerstandsfähiger war.

Zum Impfen breitete ich einen Tropfen je einer verdünnten flüssigen Kultur auf den vier Gipsplatten aus.

Schon nach 5 Tagen Bebrütung erschienen die Kolonien in Tröpfchenform. Sogleich wurden die Bakterien auf Nährgipsplättchen in Reagenzgläser gebracht und hier zur Reserve vermehrt. Darauf überzeugte ich mich durch mikroskopische Untersuchung von der Reinheit der *Nitrosomonas*.

Nachdem sich in 6 Tagen auch auf den Gipsplatten in den Reagenzgläsern Kulturen gebildet hatten, wurden sie in sterile STUTZER-Nährlösungen zurückgeimpft und bis zum Auftreten von Nitritbakterien bebrütet. Zwei von den so erhaltenen Kolben wurden zur Reserve zurückgestellt und in regelmäßigen Zeitabständen übergeimpft. Die beiden anderen fanden sofortige Verwendung beim Ansetzen von Versuchen, mit denen folgende grundlegende Fragestellung geprüft werden sollte:

Die Wirkung der „natürlichen Hemmungsstoffe?“ auf *Nitrosomonas*

Als Nährboden diente die bewährte STUTZER-Nährlösung. CaCO_3 in fester Form, ferner die „natürlichen Hemmungsstoffe“; zugeimpft wurde *Nitrosomonas* in Reinkultur, wobei vor der Entnahme von Impfmateriel jedesmal dasselbe kräftig umgeschüttelt

wurde. Es ist nämlich eine bekannte Tatsache, daß sich die Nitritbildner besonders gern an die festen NH_4MgPO_4 -Teile ansetzen. Impft man nur von der oben stehenden Flüssigkeit über, so hat man keine Gewähr, daß die nur spärlich vorhandenen Bakterien wirklich übergeführt werden.

Genauere Zusammensetzung jedes Kolbeninhalts:

30 ccm der STUTZER-Nährlösung,

5 Platinösen isolierten Extraktes.

$\frac{1}{2}$ Teelöffel Calciumcarbonat zum Aufheben der durch den Extrakt möglicherweise hineingebrachten sauren Bodenbestandteile.

4 Platinösen Impflösung von hochleistungsfähigen

Nitrosomonas in Reinkultur.

} peinlichst
sterilisiert

9 Kolben wurden mit Extrakten beschickt, der 10. ohne Extraktzusatz, diente als Kontrolle. Da die Verteilung der Extrakte allein durch Beschreibung nur schwer übersichtlich dargestellt werden kann, will ich sie tabellarisch niederlegen:

*Qualitative Nitrit- und Nitratbestimmung nach 10tägiger
Bebrütung*

Kolben	enthält Extrakt	NO_2	NO_3
1	K_1	—	—
2	K_1	—	—
3	K_2	+	—
4	K_3	—	—
5	K_4	+	—
6	U_1	+	—
7	U_2	+	—
8	U_3	+	—
9	U_4	+	—
10	—	+	—

Als in diesen 10 Tage alten Kulturen außer in 1, 2 und 4 mit der Anästhesinreaktion große Mengen von Nitriten nachgewiesen werden konnten, war die *hemmende Wirkung der ätherlöslichen Stoffe* ermittelt, die sich bei der *Krumenanalyse* nicht nur aus dem Extrakt des *Filtrats*, d. h. der H_2SO_4 löslichen Stoffe, sondern auch aus dem des *Niederschlags*, d. h. der H_2SO_4 unlöslichen Stoffe ergeben hatten. Bekanntlich hat SCHREINER die Wirkung der ätherlöslichen Teile des Niederschlags nicht bearbeitet.

Die in heißem Wasser löslichen Teile der eben erwähnten Extrakte wirken dagegen *nicht* hemmend.

Es ist ferner von großem Interesse, daß Ätherextrakte aus dem *Untergrunde* völlig *wirkungslos* blieben. Der Untergrund des Buchenwaldbodens ist ja mit Mineralsubstanz stark durchmischt. Da wir annehmen, daß die Hemmungsstoffe nur dadurch entstehen, daß die Zwischenprodukte des Bodenumsatzes bei Abwesenheit von Säurebindern nicht verarbeitet werden können, hier im Untergrund jedoch unter den Mineralien sicher Säurebinder vorhanden sind, so dürften die Hemmungsstoffe im Untergrund fehlen. Die Versuche bestätigen diese Annahme.

Quantitative Nitritbestimmung

Da diese qualitativen Versuche mich ermutigten, schritt ich zur quantitativen Bestimmung derselben Versuchsreihe.

Es waren von vornherein die für eine quantitative Auswertung notwendigen Vorbedingungen vorhanden. Alle Kolben waren mit der gleichen Menge verschiedener Substanzen beschickt, gleich lange bebrütet und schließlich für die qualitativen Bestimmungen je die gleichen Mengen Lösung nach vorhergegangenen Umschütteln und Absitzenlassen des Kolbeninhaltes abpipettiert.

„Da alle Nitrite wasserlöslich sind, so wird die salpetrige Säure nicht durch Fällungs-, sondern durch Farbenreaktionen nachgewiesen, die auf Oxydationen oder Reduktionen beruhen.“ (12)

Die vorhandene Nitritmenge wurde in saurer Lösung aus der Menge Jod errechnet, welche durch die Oxydationswirkung der salpetrigen Säure in Freiheit gesetzt wird.

Ich versetzte also die zu prüfenden Kulturen mit einer gleichen Menge Jodkaliumlösung im Überschuß und Stärkekleister, nachdem alle Kolben gleich stark mit Schwefelsäure angesäuert worden waren. Da die äußerst empfindliche Reaktion allerdings durch viele andere oxydierende Substanzen hervorgerufen wird, kann sie nur bei deren Abwesenheit als Reagenz auf HNO_2 gelten. Hier hätte höchstens 3wertiges Eisen durch den Extrakt in die Lösung gekommen sein können. Durch einschlägige Reaktionen überzeugte ich mich von dessen Abwesenheit.

Das von der salpetrigen Säure ausgeschiedene Jod wurde titrimetrisch mit $n/100 \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ bestimmt.

Die hierbei erhaltenen Resultate sind noch viel wertvoller als der Befund der qualitativen Prüfung. Ich stelle auch diese Versuche in einer Tabelle zusammen.

	Kolben	enthält Extrakt	ccm n/100 Na ₂ S ₂ O ₃		
Krumme	1	K ₁	0	Filtrat	} ätherlös.
	2	K ₁	0		
	3	K ₂	0,4	} wasserlös.	
	4	K ₃	0	Niederschlag	{ ätherlös. } wasserlös.
5	K ₄	1,5			
Untergrund	6	U ₁	0,4	Filtrat	{ ätherlös. } wasserlös.
	7	U ₂	0,2		
	8	U ₃	0,35	Niederschlag	{ ätherlös. } wasserlös.
	9	U ₄	0,2		
	10	—	0,25	Kontrolle	

Teil des
Äther-
extraktes

Es war also wieder ein deutliches Versagen des *Nitrosomonas* in Gegenwart der ätherlöslichen Stoffe des Extraktes aus Filtrat und Niederschlag der Krumme zu verzeichnen.

Die entsprechenden Wasserextrakte schienen dagegen *stimulierend* gewirkt zu haben. Ihre produzierte NO₂-Menge war größer als die der Kontrolle, die ohne Zusatz von Extrakt gearbeitet hatte.

Ebenso wie die beiden Wasserextrakte der Krumme verhielten sich die ätherlöslichen Stoffe aus den beiden Ätherextrakten des Untergrundes; sie hatten anscheinend die Nitrifikation gefördert. Dagegen schien sie durch Zugabe der Wasserextrakte des Untergrundes gehemmt zu sein.

Wir sehen, daß sich dieser Boden in den Wirkungen seiner einzelnen Bestandteile nicht anders verhält als ein gewöhnlicher Boden, sobald man die Hemmungsstoffe seiner Krumme durch Äther beseitigt. Die „Humusstoffe“ als solche wirken unter Umständen bekanntlich *stimulierend* auf das Wachstum dieser Lebewesen.

Durch die quantitativen Bestimmungen dieser Versuchsreihe wird nun folgendes bestätigt:

Die Stimulationswirkung auf das Bakterienwachstum wird nicht nur durch die Hemmungsstoffe im Buchenrohhumus weltgemacht, sondern die Nitrifikation ist sogar durch diese völlig sistiert.

Von einer schädigenden Wasserstoffionenkonzentration kann bei diesen Kulturen nicht die Rede sein. Die saure Wirkung war durch Zugabe von Karbonaten im Überschuß vollständig ausgeschaltet. *Die hemmenden Stoffe werden daher hier wohl nur durch ihre chemische Konstitution bedingt schädlich wirken, nicht speziell durch die Wasserstoffionen.*

Die Wirkung von Dihydroxystearinsäure auf Nitrosomonas

Da durch die letzten Versuche der Verdacht, daß es sich um die schädliche Wirkung der Dihydroxystearinsäure handeln könnte, nicht gerade behoben wurde, setzte ich eine qualitative und quantitative Versuchsreihe mit einer von KAHLBAUM bezogenen gleichnamigen Säure an.

6 Kolben wurden mit je 30 ccm STUTZER-Nährlösung und $\frac{1}{2}$ Teelöffel CaCO_3 beschickt. 5 Kolben davon wurden mit 1—5 Ösen Dihydroxystearinsäure versehen, einer, ohne Zusatz, diente als Kontrolle. Nach peinlichster Sterilisation der Kultur gab ich je 5 Ösen einer Lösung von Nitrosomonas in Reinkultur zu.

Qualitative und quantitative Nitritbestimmung

Kolben	beschickt mit Dioxydstearin- säure	Nitrat- reaktion mit Bruzin	Nitrit- reaktion mit Anästhesin	Quantitative Nitrit- bestimmung ccm n 100 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
y ₁	—	—	++	1.99 ccm
y ₂	1 Öse	—	+	1.52 "
y ₃	2 Ösen	—	+	0.62 "
y ₄	3 Ösen	—	—	—
y ₅	4 Ösen	—	—	—
y ₆	5 Ösen	—	—	—

Nach 9-tägiger Bebrütung wurden qualitative und quantitative Reaktionen ausgeführt. Durch die Bruzinprobe überzeugte ich mich von dem Ausbleiben der Nitratbildner, was ja selbstverständlich sein mußte, falls *Nitrosomonas* in Reinkultur vorgelegen hatte.

Die qualitativen und quantitativen Nitritbestimmungen fielen am stärksten positiv bei der Kontrolle aus. Mit zunehmender Säurezugabe war eine starke Abnahme der Nitritbildung zu verzeichnen.

Diese zugegebene Säure hat also eine Wirkung, welche der der Bodenextrakte K₁ und K₃ gleicht.

Kurze Zusammenfassung der Nitrifikationsversuche

Wenn man nun die Ergebnisse der angestellten Versuche betrachtet, so darf wohl folgendes behauptet werden:

In dem Buchenrohhumus sind Stoffe vorhanden, die sich durch ihre Ätherlöslichkeit auszeichnen und eine hemmende Wirkung auf die Nitritbakterien ausüben. Es besteht in der Wirkung dieser Stoffe Ähnlichkeit mit der Dihydroxystearinsäure, eine Gleichsetzung beider Stoffe halte ich nicht für bewiesen.

Der Grund für die Bildung dieser Hemmungsstoffe kann in den physikalischen und chemischen Eigenschaften des Bodens liegen, denn es verhindert die schlechte Durchlüftung des Bodens die Verarbeitung vieler Stoffe und die Karbonatarmut führt zur mangelhaften Zersetzung der Humussubstanzen. Bei ausreichenden Kalkmengen dagegen werden im normalen Boden die Abbauprozesse vollständig durchgeführt infolge des Gedeihens der nötigen Bakterienflora, und weiterhin wird in diesem Falle auch die schädliche Wirkung der intermediär bei der Zersetzung bestehenden Säuren gänzlich beseitigt.

Das durch die Hemmungsstoffe bedingte Ausbleiben eines Teiles der Bakterienflora führt allmählich zu einer Fossilisation von Stickstoff im Buchenrohhumus. Es besteht so eine gewisse Ähnlichkeit mit dem Sphagnetum und seinem Abkömmling, der Moorheide.

Es kann unter Umständen viel Stickstoff im Boden vorhanden sein. Er liegt aber teilweise in einer Form vor, die der höheren Pflanze nicht unbedingt zugänglich ist. Im Gegensatz dazu wird dieser Stickstoff von Pilzen und den mit ihnen vergesellschafteten Mykophyten leicht verarbeitet.

Untersuchungen auf das Vorkommen von Nitraten im Stammteile der höheren Pflanzen

Es war nun naheliegend zu untersuchen, ob die im Buchenrohhumus vorliegenden stickstoffhaltigen Verbindungen für die höheren Pflanzen unverdaulich sind, d. h. nicht den Endpunkt der Mineralisation erreichen und damit dem Pflanzenkörper nur wenig, wenn nicht gar niemals einverleibt werden. Ich prüfte daher die höhere Pflanzenbesiedelung der von mir als charakteristisch erachteten Waldstellen hinsichtlich des Vorkommens von Nitraten im Stammteile.

STAHL (14) hat zum ersten Male folgende Beobachtung gemacht: Wenn in einem Boden sonst kein Nitrat nachweisbar ist, kann

dieses im Stengel der besiedelnden Pflanzen gefunden werden. STAHL verwandte für seine Versuche Cruciferen. Er nahm die Erde, die auf Muschelkalkuntergrund lagerte, mit nach Hause und goß sie mit kalkhaltigem Jenaer Leitungswasser.

Da man aber gegen STAHLs Beweisführung den Einwand der unnatürlichen Bedingungen machen kann, habe ich die Pflanzen am Standorte selbst auf Nitrate untersucht.

Versuchsanordnung

Die Versuchsanstellung bestand darin, daß der Saft der zu untersuchenden Pflanzenstengel an Ort und Stelle auf Objektträger gepreßt und mit Diphenylaminschwefelsäure befeuchtet wurde. Falls Nitrat vorhanden war, mußte Blaufärbung eintreten. Eine Störung der Zuverlässigkeit dieser Reaktion durch dreiwertiges Eisen war nicht zu befürchten, da dieses nur in minimalen Mengen und dazu in mehr oder minder „maskierter“ Form von den Pflanzen aufgenommen wird (15).

Es ist bekannt, daß die Pflanzen nur bei Gegenwart von reichlichen Kohlehydratmengen die Eiweißsynthese vornehmen, d. h. die Bildung von Eiweiß aus Ammonverbindungen über Nitrite, Nitrate und Amide, bzw. direkt aus Nitraten über Amide. Die Kohlehydrate sind aber nur bei schwacher Transpiration reichlichst vorhanden, also an Tagen mit recht mangelhafter Belichtung. An solchen hat man die besten Aussichten, den aufgenommenen Salpeter nachzuweisen. Will man ihn bei sonnigem Wetter nachweisen, so müssen die Versuche in den allerersten Frühstunden angesetzt werden.

Am Tage der Versuchsanstellung und schon eine Woche vorher war der Himmel mäßig bewölkt und die Luft nicht völlig wassergesättigt, so daß infolge schwacher, aber ständiger Transpiration vorhandene Nitrate hätten gut nachgewiesen werden können.

Ergebnisse am ersten Standort. — An einer lichten, nicht weit von dem zu untersuchenden Bodenareal entfernten Stelle, die den Mineralboden bis oben hinauf liegen hatte, zeigten starke Nitratreaktion:

<i>Ajuga reptans</i> L.	+
<i>Lamium Galeobdolon</i> (L.) Crantz	+
<i>Milium effusum</i> L.	+

Ergebnisse am zweiten Standort. — Das zweite Bodenareal entsprach völlig der Stelle, welcher ich die Erde für meine boden-

bakteriologischen Untersuchungen entnommen hatte. Die Bedingungen des Pflanzenwuchses und die Beschreibung desselben habe ich schon vorne gebracht.

Dieselben Gewächse, die auf dem ersten Quadrat stark positiv reagierten, ließen zusammen mit vielen anderen an dieser Stelle überhaupt keine Nitrate nachweisen:

<i>Ajuga reptans</i> L.	—
<i>Lamium Galeobdolon</i> (L.) Crantz	—
<i>Milium effusum</i> L.	—
<i>Asperula odorata</i> L.	—
<i>Stellaria holostea</i> L.	—
<i>Pulmonaria officinalis</i> L. var. <i>obscura</i> Dumort.	—
<i>Sanicula europaea</i> L.	—
<i>Neottia nidus avis</i> (L.) Rich.	—

Ergebnisse am dritten Standort. — Ich nahm noch ein anderes Quadrat vor, welches für Nitratbildung eher ungünstiger war und eine nennenswerte Humusdecke besaß. Die Pflanzenwelt war eine wesentlich andere. Es traten zu den Pflanzen des zweiten Bodenareals noch Farne und Moose hinzu. Dafür aber fehlten andere höhere Pflanzen.

<i>Dryopteris spinulosa</i> (Müll.) O. Ktze. subsp. <i>dilatata</i> (Hoffm.) Schinz et Thell.	—
<i>Majanthemum bifolium</i> (L.) F. W. Schmidt	—
<i>Vaccinium Myrtillus</i> L.	—
<i>Luzula pilosa</i> (L.) Willd.	—
<i>Oralis Acetosella</i> L.	—
<i>Pulmonaria officinalis</i> L. var. <i>obscura</i> Dumort.	—
<i>Trientalis europaea</i> L.	—
<i>Stellaria holostea</i> L.	—
<i>Asperula odorata</i> L.	— —

Es dürfte nach diesen negativen Ergebnissen keinem Zweifel unterliegen, daß die höhere Pflanzenwelt auf diesem Waldboden nicht von dem in geringer Menge produzierten Nitratstickstoff allein leben kann. Vielmehr muß sie, sofern sie nicht heterotroph ist, auf das vorhandene Ammoniak (Nachweis s. später) ausgehen, das sie nur durch großes Wurzelwerk und kräftige Wasserdurchströmung erlangen kann.

Nachdem ich auch diesen biologischen Nitratsnachweis nicht führen und somit auf verschiedenerlei Wegen die Mineralisation des Stickstoffs in seine Endform nicht nachweisen, also einen

Mangel an Nitrifikation beweisen konnte, soll es die Aufgabe der folgenden Betrachtungen sein, die anderen Stickstoffumsätze des Bodens zu prüfen.

Denitrifikation und Salpeterverarbeitung

Zwischen diesen beiden Vorgängen besteht ein gewisser Unterschied, über den wir uns klar sein müssen, um die zu interpretierenden Ergebnisse recht zu verstehen.

Denitrifikation ist in engerem Sinne die bakterielle Zersetzung von Nitraten, wobei als Endprodukt gasförmiger Stickstoff entwickelt wird. Allgemeine Vorbedingungen für den guten Verlauf dieses Prozesses sind Luftmangel (34), Anwesenheit von Nitrat und von leicht zersetzbarer organischer Substanz.

Daneben faßt man unter *Salpeterverarbeitung* mehrere Prozesse zusammen. Wenn nämlich Nitrate von gewissen Organismen aufgenommen werden, liegt eine *Salpeterassimilation* vor. Diese verlangt jedoch meist im Gegensatz zur echten Denitrifizierung Gegenwart von Luft. Die *Salpeterreduktion* bezeichnet die Überführung von Salpeter in Nitrite auf Grund bakterieller Tätigkeit.

Es sei betont, daß wir unter Denitrifikation also nur den oben erwähnten Vorgang verstehen, aber nicht, wie manche Autoren, *jede* Salpeterzerstörung, folglich auch nicht die Salpeterreduktion.

Wenn ein Boden *reichlich* Salpeter bildet, so kann man erwarten, daß in ihm diejenigen Lebewesen zahlreich vorhanden sind, die Salpeter zerstören, falls nur organische Stoffe in genügender Menge vorliegen.

Ist in einem Boden *wenig* Salpeter nachweisbar, so könnte das darauf zurückzuführen sein, daß Salpeterzerstörer oder -verarbeiter äußerst günstig ihrer Hauptfunktion nachkommen. In diesem Falle müßte man die betreffenden Lebewesen isolieren können.

Bildet ein Boden dagegen infolge fehlender Nitrifikation *keinen* Salpeter, so wird er voraussichtlich auch die Salpeterverarbeiter jeglicher Art nicht reichlich führen.

„Die physiologische Bedeutung dieser Reduktionsvorgänge“ (Reduktion zu gasförmigen Produkten!) „scheint darin zu liegen, daß die Nitrate die Organismen mit Sauerstoff zu versorgen vermögen, sobald eben der freie atmosphärische Sauerstoff nicht mehr zur Verfügung steht. Sie besteht nicht einfach in einer Reaktion

zwischen dem Organismus und Nitrat, vielmehr ist die gleichzeitige Anwesenheit leicht oxydierbarer organischer Substanzen dabei erforderlich. Die teilweise zersetzten organischen Substanzen des Bodens — der „Humus“ — scheinen dabei jedoch nicht förderlich zu sein (8).“ So wäre die Wechselwirkung zwischen der Arbeit der Nitrifizierer und Denitrifizierer zu erklären.

„Es besteht nun aber ein sehr scharfer Gegensatz zwischen der bakteriellen Erzeugung und der bakteriellen Zerstörung der Nitate. Die Nitratbildung ist in allen ihren Stufen das Werk nur weniger Organismen, nämlich des *Nitrosomonas* und des *Nitrobacter*. Das Endresultat bildet ein einzelnes, dem ursprünglichen Ammoniak äquivalentes Produkt; durch wenige chemische Prozesse wird Ammoniak in so vollständiger Weise oxydiert. Die bakterielle Reduktion von Nitrat andererseits liefert nicht ein einzelnes Produkt, sondern eine Anzahl von ihnen, welche in keinem einfachen Verhältnis zum Ausgangsmaterial stehen, während die chemische Reaktion leicht quantitativ bis zum Ammoniak durchgeführt werden kann“ (8). (Unter geringer Änderung des Wortlauts.) Ein nicht gerade unbedeutender Umstand ist der, daß die Salpeterzerstörung, -reduktion und -assimilation durchaus nicht von Spezialisten allein hervorgerufen werden (nach WOLFF (33) 11 Arten).

Bei der Prüfung auf Denitrifikation und Salpeterverarbeitung würde daher die Isolation aller in Frage kommenden Mikroben nicht weit führen; die Versuchsanstellung wäre nicht absolut sicher zu gestalten und auch recht schwierig. Dagegen könnte das Vorhandensein dieser Organismen leichter durch Nachweis ihrer Tätigkeit ermittelt werden.

Damit dem mit Bodenbakteriologie weniger vertrauten Botaniker ein Einblick in die gebräuchliche Versuchstechnik gegeben sei, soll kurz die *Zusammensetzung der Nährlösung für Denitrifizierer* nach LÖHNIS (11)) angegeben sein.

- A. 100 g Leitungswasser,
 2 g Calciumtartrat, -Citrat oder Malat,
 0,1—2 g KNO_3
 0,05 g K_2HPO_4 oder
- B. 100 g Leitungswasser,
 2 g Filtrierpapier oder Watte (Zellulose),
 0,25 g KNO_3 ,
 0,05 g K_2HPO_4 .

Das Kultivieren erfolgt bei 38° .

Der Nachweis der Denitrifikation

wird durch Bestimmung der Nitratgehaltsänderung der Nährlösung geführt.

Zur *qualitativen* Prüfung empfiehlt sich keine übertrieben empfindliche Reaktion. Am geeignetsten ist die Ferrosulfat-Schichtprobe, die den unverkennbaren Vorteil bietet, daß sie nicht durch Nebenreaktionen gestört wird.

Wenn man mit ihr reichlich Salpeter in den kultivierten Nährböden nachweist, so kann man auf eine mangelnde Nitratverarbeitung schließen. Daß dabei eine gewisse Vorsicht bei der Beurteilung der Reaktion geboten ist wegen Verkohlung von organischer Substanz durch konzentrierte Schwefelsäure, brauche ich nicht besonders hervorzuheben. Um diesem Einwand der Verkohlung an der Schichtstelle zu entgehen, wurden die zu untersuchenden Lösungen *unter Kühlung* mit Schwefelsäure unterschichtet und darauf erst mit Ferrosulfat versetzt. Bei Gegenwart von salpetersauren Salzen bildet sich bekanntlich der braune Ring.

In den Nährlösungen wird die Stickstoffgehaltsänderung *quantitativ* am besten nach der JODLBAUER-Methode bestimmt. Die Ausführung erfolgte stets in folgender Art:

Der auf Stickstoff zu prüfende Kolbeninhalt wird in einem KJELDAHL-Kolben quantitativ übergespült, mit 30 ccm konzentrierter Phosphorschwefelsäure (Zusatz von 2% P_2O_5) und Kupferoxyd als Katalysator versetzt und anfangs gelinde, bald stärker erhitzt. Nach etwa $1\frac{1}{2}$ bis 4stündigem Erhitzen ist die organische Substanz vollständig zerstört. Der Kolben wird nach dem Abkühlen mit 80 ccm 33%iger Natronlauge versetzt, Zinkstaub zugegeben und rasch mit dem Destillationsrohr verbunden. Spätestens ist nach $\frac{3}{4}$ stündiger Destillation das Ammoniak in die mit n/25 Salzsäure beschickte Vorlage quantitativ übergetrieben. Das Ammoniak wird durch Zurücktitrieren mit n/25 Natronlauge ermittelt und der Stickstoffgehalt daraus berechnet.

Erste Versuchsreihe

6 Kolben mit je 15 ccm Nährlösung für Denitrifizierer wurden mit je einer Öse Walderde beimpft. Je 2 Kolben waren dabei mit Watte, Papier und Calciumtartrat beschickt. Zwei weitere Kulturen mit je einer Öse Gartenerde Impfmateriäl dienten als Kontrolle für Geschwindigkeit und Stärke der bakteriellen Tätigkeit.

Ergebnis nach 5 Tagen:

Intensive Gasentwicklung in den Kontrollen ließ auf gutes Gedeihen von Bakterien schließen. In den Waldkulturen war äußerlich keine Veränderung zu beobachten.

Ergebnis nach 5 Wochen:

Der positive Ausfall der qualitativen Prüfung mit der Ferrosulfatschichtprobe deutet auf das Erhaltenbleiben von großen Nitratmengen in den Walderdekulturen. In den Kontrollen mit Gartenerde ließ sich sogar mit Bruzin kein Salpeter mehr nachweisen.

Folglich enthielt die *Gartenerde* stark nitrat-zerstörende Organismen, während in der *Walderde* nur auf *geringere* Denitrifikation geschlossen werden muß. Das wird wiederum einen Rückschluß auf die fehlende oder behinderte Nitrifikation im Walde erlauben.

Da aber durch die qualitativen Bestimmungen auch die Arbeit derjenigen Organismen berücksichtigt wird, die Nitrate zu Nitriten oder weiter zu Ammoniak reduzieren, stellte ich mir die Aufgabe, in einer zweiten Versuchsreihe den Stickstoffgehalt der Nährlösungen *vor und nach* der Kultur mit Erdmaterial quantitativ zu ermitteln. Damit wurde der Gesamtstickstoffgehalt bzw. *Gesamtstickstoffverlust* bestimmt, d. h. der Verlauf der Tätigkeit *allein* von Denitrifizierern.

Zweite Versuchsreihe

20 parallel gerichtete Versuche wurden mit Tartrat und Watte als Nährboden angesetzt.

Zellulose als Nährboden wurde in 10 Kulturen gerade deshalb gewählt, weil sie eine langsame Verarbeitung zuläßt und den natürlichen Bedingungen am ähnlichsten ist. Gleichzeitig kann durch dieses langsam verwendbare Nahrungsmittel die Bindung von Stickstoff aus der Luft geringer gehalten werden als bei Zugabe eines schnell zugänglichen Betriebsstoffes.

Die qualitativen Ergebnisse waren denen der ersten Versuchsreihe genau identisch.

Die quantitativen Bestimmungen ergaben, daß kein Unterschied besteht, ob wir einen gut arbeitenden, also einen an organischem Kohlenstoff nicht zu reichen Gartenboden oder einen humusreichen Waldboden für die Versuche verwenden

Die geringen Schwankungen der nachstehenden Zahlen sind lediglich durch Versuchsfehler bedingt.

*Ergebnisse der qualitativen und quantitativen Prüfung auf
Denitrifikation in Wattekulturen*

Impfmaterial	Kolben	Mittelwert des N-Gehaltes (mg)	Qualit. Prüfung auf NO ₃
Walderde	1—3	4.814	+++
Walderde	4—6	4.763	+++
Gartenerde	7—9	4.876	—
Blinde Versuche		6.450	+++

Berücksichtigen wir den Durchschnittswert der blinden Versuche bei der Auswertung der Tabelle, so kommen wir zu folgendem Schluß:

Bei den in allen Kolben herrschenden gleichen Versuchsbedingungen haben die Denitrifizierer in Wald- und Gartenerde gleich viel Stickstoff entsandt, also gleich stark gearbeitet.

Der Widerspruch, der sich durch die ungleichen qualitativen und quantitativen Resultate ergibt, wird dadurch behoben, daß man in der Gartenerde das Vorhandensein von reichlichen Mengen solcher Organismen annimmt, die den Salpeter assimilieren oder mindestens zu Ammoniak reduzieren; der Stickstoff geht dabei dem Boden nicht verloren, sondern er liegt lediglich in einer anderen Form vor. Im Waldboden müßten diese Mikroben fehlen oder zum mindesten sehr beschränkt sein, denn der Salpeter war als solcher noch stark nachweisbar.

Tartrat als Nährboden. — Die Versuche mit besseren Kohlenstoffquellen, wie etwa Tartraten, sind von Anfang an etwas skeptischer zu betrachten. Es handelt sich hier bedeutend mehr um Stickstoffbilanzen.

Bei Zuckerversuchen wird die Fehlerquelle noch viel stärker in Erscheinung treten.

Ergebnisse der qualitativen Prüfung:

Während die Tartratkultur des Gartens sehr bald in starkes Gären, d. h. in Gasentwicklung geriet, konnte das nie in den öfters mit Walderde wiederholten Versuchen beobachtet werden. Dieser Umstand ist eine Stütze für die Behauptung eines Fehlens von kräftigen Salpeterzerstörern im Waldboden.

**Ergebnisse der qualitativen und quantitativen Prüfung auf
Denitrifikation in Tartratkulturen**

Impfinaterial	Kolben	Mittelwert des N-Gehaltes (mg)	Qualit. Prüfung auf NO ₃
Walderde	1 _a —3 _a	5,160	+++
Walderde	4 _a —6 _a	3,892	+++
Gartenerde	7 _a —9 _a	1,600	—
Blinde Versuche		4,810	+++

Wir sehen also, daß der Gartenboden keine salpetersauren Salze mehr enthielt und bei einer für Denitrifizierer günstigen Kohlenstoffquelle einen starken Verlust von Stickstoff aufwies.

Der *Waldboden* dagegen enthielt immer noch unverbrauchten Salpeter. Es müssen jedoch in den Kolben 4a—6a auch Denitrifizierer vorhanden gewesen sein, dagegen in 1a—3a war ein kleiner Stickstoffgewinn bemerkenswert.

Wenn man auch etwas vorsichtig bei der Ausdeutung dieser Resultate sein muß, da eben die Denitrifizierer keine Spezialisten zu sein brauchen, so kann man doch auf ein *vermindertes Vorkommen der Gelegenheits-Denitrifizierer* (s. *Tartratkultur*) und auf Fehlen von starken Salpeterzerstörern im Waldboden schließen (s. qualitative Prüfung).

Es sollen aber bei dieser nicht so absolut sicheren Versuchsanstellung keine zu weitgehenden Schlüsse aus den verhältnismäßig wenigen Resultaten gezogen werden. Obgleich ich davon überzeugt bin, daß eine große Versuchsreihe ein klareres Bild geben würde, verzichte ich auf diese sehr umständlichen und bedingt sicheren Untersuchungen, da diese Fragestellung für mich nur eine untergeordnete ist.

Ammonifikation

Das Ammoniak bzw. seine Salze bilden die Ausgangsstufe zur Salpeterbildung. Es ist mit den Kolloiden des Bodens fest verankert, also im Boden stark absorbiert und den höheren Pflanzen nur in geringer Menge zugänglich, weshalb die auf Ammoniak angewiesenen Gewächse sehr große Massen von Bodenlösungen verarbeiten müssen.

Ammoniak bildet sich im Boden aus „Eiweißverbindungen“ und anderen organischen stickstoffhaltigen Körpern, die in Form

verwester Pflanzenteile und Stalldünger vorliegen. Es verdankt seine Entstehung hauptsächlich der Tätigkeit von Mikroorganismen. Außerdem besteht seit neuester Zeit die Annahme, daß die Ammoniakbildung, wenn auch mit geringerer Geschwindigkeit, auf Hydrolyse oder Oxydation von Aminosäuren zurückzuführen ist. Diese auch bei Gegenwart von Antiseptika erfolgende Reaktion im Boden kann sehr wohl eine Nachwirkung von überlebenden Bakterienfermenten sein.

Mich interessierte dieses Problem lediglich in bakteriologischer Richtung. Daher wurde der Buchenwaldrohhumus einer Prüfung auf Ammoniakbildner unterzogen.

Versuchsanordnung

Die Kulturen wurden analog zu FUCHS und ZIEGENSPECK (1) mit Pepton, Asparagin und Glykokoll angesetzt.

A. Zusammensetzung der einen Nährlösung:

(für Ammoniakbildner)

2 g Pepton	} in 150 ccm mineralischer Nährlösung (4).
2 g Dextrose	
1 Teelöffel $MgCO_3$	
1 Messerspitze Gips	

B. Zusammensetzung der zweiten Nährlösung:

2 g Asparagin, sonst wie bei A außer Pepton.

C. Zusammensetzung der dritten Nährlösung:

2 g Glykokoll, sonst wie bei A außer Pepton.

Je 2 Kolben wurden mit 50 ccm einer der angeführten Nährlösungen beschickt, so daß im ganzen 6 Kulturen vorlagen, die nach gründlicher Sterilisation mit 2 Ösen Buchenwalderde beimpft wurden.

Nach 4 Wochen langer Bebrütung bei 28° wurden diese Kulturen dem qualitativen Ammoniachnachweis unterzogen. Der gesamte Kolbeninhalt wurde mit Magnesiamilch versetzt. Bei Gegenwart von Ammoniak mußte dieser durch Destillation entbunden werden.

Ergebnis der Prüfung auf Ammoniak:

Alle Versuche verliefen sehr *stark* positiv mit folgenden Reagenzien:

1. Rotes Lackmuspapier bläute sich augenblicklich.
2. Salzsäure gab beim Vereinigen mit Ammoniak weiße Nebel von Ammonchlorid.
3. Mit Neßlers Reagenz erfolgte braune Fällung.

4. Mit Sublimat fiel weißes Präzipitat aus.
5. Mit Magnesiumsulphat und Natriumphosphat erfolgte starker Niederschlag von $\text{NH}_4\text{MgPO}_4, 6 \text{H}_2\text{O}$.

Somit ist die reichliche Gegenwart der „putrifizierenden“ Lebewesen im Waldboden gezeigt. *Die Ammonifikation verläuft im Buchenrohhumus ungehemmt.*

Allgemeines über Stickstoffbindung

Um das Bild der Vorgänge im Buchenwaldboden zu vervollkommen, müssen wir ferner die Art und Menge der Stickstoffbindung betrachten.

Wir dürfen nicht vergessen, daß der Waldboden ähnlich dem Moore von Jahr zu Jahr eine etwas steigende Humusschicht besonders an „Trockentorfstellen“ anhäuft. Mit dem Kohlenstoff geht auch ein Teil des Stickstoffs in eine Art „fossilen“ Zustand über. Die Pflanzenwelt gibt ihre Abfälle in dem unberührten Walde immer wieder an ihre Ursprungsstelle zurück.

Anders wird der Gesamtvorgang verlaufen, wenn die Streu und das Unterholz vernichtet und entfernt werden. Damit wird dem Boden sowohl die Quelle der Energie für die Stickstoffbindung entrissen, als auch der bereits gebundene Stickstoff entfernt. Auch das Schlagen des Holzes wird auf eine Entfernung von Stickstoff und von Betriebsstoffen zu dessen Bindung hinwirken.

Die Bäume des Waldes wirken also förmlich als eine der Urquellen der Stickstoffsammlung. Durch Assimilation entnehmen sie mit ihren Laubkronen immer neuen Kohlenstoff der Luft. Einen Teil desselben führen sie im Herbst durch den Laubfall dem Boden zu.

Dieser Nahrungsquelle bedienen sich die stickstoffbindenden Bakterien und sammeln mit Hilfe dieses Betriebstoffes den atmosphärischen Stickstoff. Die dabei erzeugte Kohlensäure kommt immer wieder der höheren Pflanzenwelt zugute. Das ist ein Teil der Wirkung der Kohlenstoffdüngung.

Der Körper dieser Stickstoffbinder wird von Tieren gefressen, von Bakteriophagen zerstört und dadurch kommen die Stickstoffverbindungen in Form von Amiden usw. in den Boden.

Dieser energiearmen Abfallstoffe des tierischen oder Pilzstoffwechsels bemächtigen sich die Bakterien der Ammonifikation, und dadurch wird der Stickstoff, der ursprünglich in organischer, fest absorbierter und daher schwerer aufnehmbarer Form vorlag, der

höheren Pflanze zugänglich, die also durch den Laubfall indirekt den Stickstoff sich selbst wiedergibt.

Stickstoffbindende Bakterien finden sich in der Biozönose des Waldes wie der Wiese, auch wenn sie nicht immer in enger Symbiose mit Algen und Leguminosen gedeihen.

Das langsame Erreichen der Endentwicklung vieler Besiedelungsfolgen in der Natur und das schwierige Aufforsten nicht mit Wald bestandener Gelände wird durch diese Betrachtung völlig verständlich. Auch die merkwürdige Wirkung laubstreuender Bäume als „Mutter“ des Waldes kommt dadurch ins rechte Licht.

Wir wenden uns nun den freilebenden, stickstoffbindenden Bakterien zu.

Bekanntlich kann man diese in zwei Gruppen teilen:

1. Die Bakterien der *Azotobacter*-Gruppe, welche Sauerstoff nötig haben.
2. Die Bakterien der Buttersäuregärung, welche die notwendige Betriebsenergie zur Stickstoffgewinnung auch anäeroben Gärungsprozessen verdanken.

Aerobe Stickstoffbindung

Azotobacterversuche

Eine besonders interessante Gruppe von stickstoffbindenden Organismen, deren nähere Kenntnis wir BEIJERINCK (17) verdanken, ist die des *Azotobacter chroococcum* (so genannt, weil er sich während seiner Tätigkeit braun und schließlich fast schwarz färbt, was durchaus nicht allen *Azotobacter*-Arten eigen ist).

Diese Lebewesen gewinnen die nennenswerten Energiemengen zur Zertrümmerung der Stickstoffmoleküle durch energetische Oxydationsprozesse unter Benützung des freien, gasförmigen Sauerstoffs. Man muß nur einmal eine Guajak-Wasserstoffsuperoxydreaktion mit einem *Azotobacter*-Rasen anstellen, um zu sehen, wie große Mengen von Oxydasen hier vorhanden sind. Ohne Wasserstoffsuperoxyd gelingt der Versuch nicht.

Es ist klar, daß eine restlose Verbrennung durch atmosphärischen Sauerstoff größere Energiemengen in Freiheit zu setzen imstande ist als ein Gärungsprozeß, der schließlich Körper von noch wesentlichem Energiegehalt liefert. Die Stickstoffbindung durch *Azotobacter* wird, auf gleiche Mengen Verbrennungsstoff bezogen, viel wirtschaftlicher sein als die durch Buttersäureerreger.

Wenn wir daher einen Boden auf *Azotobacter* prüfen, so werden wir in gewisser Hinsicht einen Maßstab für die Bindung von Stickstoff erhalten. Da das bloße Vorkommen von *Azotobacter* noch kein Beweis dafür ist, daß auch wirklich eine Stickstoffsammlung im Boden vor sich geht, müßte der einzig hinreichende Nachweis in einer durch *Azotobacter* bewirkten Anreicherung bestehen, wobei alle anderen Möglichkeiten durch die Versuchsbedingungen völlig ausgeschlossen werden. Mit dem *Azotobacter* gesellig lebende Organismen sind imstande, die Stoffwechselprodukte noch weiter abzubauen und ermöglichen ihm in der Mischkultur ein besseres Arbeiten.

Zuerst schritt ich zum

Nachweis von *Azotobacter* im Buchenwaldboden

Ich ging auch hier von dem Gedanken aus, daß eine kleine Bodenprobe bei Vorhandensein von Lebewesen deren starke Verbreitung im Boden anzeigt. Umgekehrt werden die großen Bodenmengen zwar Mikroorganismen in größerer Anzahl enthalten, aber auch wiederum Hemmungswirkungen stärker erkennen lassen, mögen sie vitaler Form sein oder auf Konkurrenz und der Wirkung von chemischen Hemmungsstoffen beruhen.

Versuchsanordnung

Zusammensetzung der *Azotobacter*nährlösung:

1% Mannit	}	je 50 ccm Lösung mit Papierschnitzeln als Inseln mit Erde beimpft.
0.05% K_2HPO_4		
250 ccm Bodenextrakt		

Zubereitung des Bodenextraktes nach LÖHNIS (11):

1 kg gute fruchtbare Gartenerde wird mit einem Liter Wasser $\frac{1}{2}$ Stunde im Autoklav bei einer Atmosphäre Überdruck gehalten. Dann wird die trübe Flüssigkeit abgegossen, mit etwas Talk verrührt und durch ein doppeltes Faltenfilter filtriert. 1 kg Erde liefert 800 ccm Extrakt.

Erste Versuchsreihe. — In 4 mit steriler Nährlösung beschickten Kolben wurde das Impfmateriel folgendermaßen verteilt:

Kolben 1 enthielt	1 Öse	}	Buchenwalderde gute Gartenerde.
Kolben 2 enthielt	10 Ösen		
Kolben 3 enthielt	1 Teelöffel		
Kolben 4 enthielt	10 Ösen		

Ergebnis nach 9 Tagen Bebrütung.

In allen Walderdekulturen hatten sich auf den Papierinseln schleimige Massen gebildet. Die Menge derselben war aber gering im Vergleich zu denen der Gartenerdekultur.

Man kann also folgern, daß *Azotobacter* im Waldboden vorkommt. Er muß aber irgendwie leiden, so daß er nicht so reichlich wie im Kulturlande zur Geltung kommen kann.

Ergebnis der mikroskopischen Prüfung:

Betrachten wir das mikroskopische Bild der Kultur mit wenig Impfmateriel (Kolben 1), so finden wir zwar weniger *Azotobacter*-Zellen; aber auch die Beimengung von anderen aeroben Lebewesen ist gering.

Die Verhältnisse ändern sich, wenn mehr Boden angewendet wird (Kolben 2). Die Beimengungen werden stärker, ohne daß der *Azotobacter* im Bilde reichlicher würde.

Bei Zugabe von 1 Teelöffel Erde (Kolben 3) tritt diese Veränderung noch stärker hervor.

Stellen wir dieses Ergebnis tabellarisch zusammen.

	Kolben	Azotobacter	Beimengung anderer Aerobier
Walderde	1	wenig	wenig
	2	wenig	mehr
	3	wenig	sehr reichlich
Gartenerde	4	sehr reichlich	reichlich

Zweite Versuchsreihe. — Um Zufallsergebnisse auszuschalten, wurde noch eine zweite Versuchsreihe von *Azotobacter*-Kulturen angesetzt. Dieses Mal sollten dieselben einer *quantitativen* Stickstoffbestimmung unterzogen werden, da die qualitativen Reaktionen immer an einer gewissen Subjektivität der Abschätzung leiden.

Das Impfmateriel war dieses Mal in ähnlicher Weise verteilt, wie beim letzten Versuch angegeben.

Außerdem war noch für jede der drei Kulturen eine Versuchslösung angesetzt, die je 50 ccm Nährlösung enthielt, aber kein Boden-Impfmateriel, so daß im ganzen 6 Kolben in folgender Verteilung vorlagen:

Kolben 1 beschickt mit 1 Öse Walderde.

1a	—	} 14 Tage bebrütet.
2	10 Ösen	
2a	—	
3	20	
3a	—	

Erst kurz vor der quantitativen Stickstoffbestimmung wurde in jede Versuchslösung (1a, 2a, 3a) eine entsprechende Bodenmenge eingetragen und darauf sofort der Stickstoff in dem Hauptkolben und der blinden Versuchslösung bestimmt.

Damit wurde der reine Stickstoffgewinn einer jeden *Azotobacter*-Kultur ermittelt.

Wir sind uns dessen bewußt, daß außer dem *Azotobacter* in den angesetzten Rohkulturen auch Gärungserreger an der Stickstoffbindung beteiligt sind. Dieser Umstand würde die Gesamternte herabdrücken. Da die Kolben für Anaerobier aber unter sehr ungünstigen Bedingungen angesetzt sind, so wird die Stickstoffternte, welche *sie* hier bedingen, an sich klein sein.

Ergebnis der quantitativen Stickstoffbestimmung:

Kolben	Stickstoffternte(-gewinn)
1	0,5 mg
2	2,3 mg
3	4,3 mg

Bei geringer Einimpfmenge ist die Stickstoffternte verhältnismäßig hoch ausgefallen. Es muß angenommen werden, daß die stickstoffbindenden Gärungserreger sich des Mannits scheinbar besser bemächtigt und gut gearbeitet haben, weil nur sehr wenig Stickstoffbinder der *Azotobacter*-Gruppe als Konkurrenten der Energiequelle da sind. Diese leben vorwiegend auf dem Papier.

Wenn etwas reichlicher Erde eingimpft ist, so vergrößert sich etwas die Zahl der *Azotobacter*-Keime. Es wird daher auf derselben Mannitmenge mehr Stickstoff gebunden.

Der Gegensatz zwischen Stickstoffternte und mikroskopischem Bilde zeigt, wie sehr man sich auf Grund solcher Mikroskopbefunde täuschen kann.

Wir dürfen nämlich nicht vergessen, daß im Boden auch noch andere Lebewesen *aerober* Natur vorhanden sind, die um so reichlicher vertreten sind, wenn mit vergrößertem Bodenmaterial der Stickstoffgehalt der Nährlösung wesentlich erhöht ist.

Es werden daher auf den Papierinseln auch andere aerobi-sche Lebewesen gedeihen, ohne daß diese etwas mit der Stickstoff-

bindung zu tun haben. Die Beimengungen des mikroskopischen Bildes sind daher nicht sicher die Gärungserreger, die den Stickstoff anaerob binden; diese bleiben ja in der Lösung, weil sie den Sauerstoff fliehen.

Die Versuchsergebnisse wären somit summa summarum folgendermaßen zu interpretieren:

Wenn wenig Boden zugegeben ist, dann werden an sich wenig *Azotobacter*-Keime vorhanden sein. Da die Anaerobier durch den Luftzutritt in den flach angelegten Kulturen ebenfalls gehemmt sind, so werden auch sie nur eine geringe Wirkung entfalten können. Für andere Lebewesen aerober Natur fehlt aber der Nährlösung der nötige Stickstoff. Der Befund wird also sein:

Verhältnismäßig reine *Azotobacter*-Entwicklung und in kurzer Zeit nur ein geringer Rasen und eine unbedeutende Stickstoff-ernte.

Geben wir mehr Boden-Impfmaterial hinzu, so werden die Aussichten für eine Verbreitung der anderen nicht stickstoffbindenden aerobischen Lebewesen besser. Sie werden, durch den Stickstoffgehalt der Nährlösung begünstigt, sich besser entwickeln. Daneben wird aber die Zahl der *Azotobacter*-Keime vergrößert. Die Stickstoff-ernte wird steigen (s. quant. Best.), ebenso wie die Besiedelung des Papiers mit Beimengungen (s. qual. Best.).

Das entspricht dem tatsächlichen Befunde. Für die Anaerobier werden die Bedingungen aber noch ungünstiger.

Die Stickstoff-ernte wird dann ihren Höhepunkt erreichen, wenn die *Azotobacter*-Keime so zahlreich sind, daß sie sich der Hauptmasse der Nährlösung bemächtigen können.

Wir können also aus den Versuchen schließen, daß *wenig Buchenwalderde nur eine sehr geringe Menge Azotobacter enthält. Azotobacter in größeren Bodenproben ist noch nicht so reichlich vorhanden, daß er, die anderen nicht stickstoffbindenden Bakterien überwiegend, unbehindert seiner Hauptfunktion nachkommen kann.*

Welche anderen Gründe bedingen nun, daß die *Azotobacter*-keime im Buchenrohhumus schlecht fortkommen?

Wollen wir eine Hemmung der *Azotobacter*-Entwicklung in einem Boden studieren, so müssen wir ihm eine „Überzahl“ von *Azotobacter*-Keimen zufügen. Erst dann werden wir aus der vergrößerten oder verkleinerten Stickstoff-ernte einen Rückschluß auf eine Konkurrenz oder Hemmung ziehen können.

Da aber diese Ergebnisse auch nur eine sehr bedingte Antwort geben können, so beschritt ich den bei der Nitrifikation gewählten Weg:

1. Feststellung von Hemmungsstoffen durch Isolieren derselben aus dem zu untersuchenden Boden und
2. ihre Einwirkung auf eine virulente Bakterienkultur.

Die ursprünglich für Nitrifikationsversuche isolierten Bodenextrakte wurden in vorliegender Form für die *Azotobacter*-Untersuchungen verwendet.

Das Hauptaugenmerk mußte jetzt auf die Gewinnung einer *frischen, virulenten Azotobacter*-Reinkultur geworfen werden. Das Betrachten des mikroskopischen Bildes eines jeden Bakterienstammes zeigt dessen Empfindlichkeit gegen phagische Einflüsse. Diese können sogar soweit gehen, daß nicht eine einzige lebende Bakterienzelle übrigbleibt.

Praktische Ausführung der Isolierung von *Azotobacter* in Reinkultur.

Zur *Azotobacter*-Gewinnung stand mir als bestes Material Erde von einem zweijährigen gut umgestochenen Komposthaufen aus dem Botanischen Garten zur Verfügung.

In zwei Kolben mit steriler *Azotobacter*-Nährlösung (Zusammensetzung s. oben) wurde je eine Messerspitze Erde geimpft.

I. Nach fünftägiger Bebrütung bei 28° waren die Kulturen in prächtiges Wachstum gekommen. Kräftige Schleimhäute überzogen die Oberfläche und wuchsen aufs Papier. Diese *Azotobacter* in Rohkultur dienten als Ausgangsmaterial zur Herstellung virulenter Reinkulturen.

Nach Übertragung von wenigen Ösen in zwei Nährlösungen wurden die Kulturen fünf Tage lang bebrütet. Da sie aber in Gärung übergingen und durch mikroskopische Prüfung kein *Azotobacter* nachweisbar war, mußten die Kolben verworfen werden.

II. Dieselben Kulturen wurden wiederholt; schon nach wenigen Tagen florierten sie üppig. Die mikroskopische Nachprüfung zeigte nach 7 Tagen, daß *Azotobacter chroococcum* zur Vorherrschaft von allen Aerobionten gekommen war.

III. Darauf erfolgte weiteres Überimpfen von je 2 bis 3 Ösen in drei bereitstehende Kolben.

Nach 5 Tagen mikroskopischer Befund: *Azotobacter* vorhanden, allerdings noch stark mit seinen ständigen Begleitern verunreinigt.

IV. Vom Papier der besten vorhergehenden Kultur übertrug ich die Bakterien in zwei Reagenzgläser. Nachdem die übliche Prüfung nach wenigen Tagen Bebrütung befriedigend ausgefallen war, wurde zum

V. Male in zwei Kolben mit flachem Nährsubstrat eine Öse übergeimpft. Die abermals angefertigten gefärbten Ausstrichpräparate zeigten *Azotobacter* in relativ großer Reinheit.

Darauf konnte ich endlich an ein Übertragen in stärker elektiv wirkende Nährsubstrate gehen, wozu ich Gipsplatten verwandte, die mit Mannitnährlösung getränkt wurden.

Bereitung der Platten erfolgte, wie oben unter „Isolierung von *Nitrosomonas*“ angegeben. Alabaster und Gips (9+1) lieferten spiegelglatte Platten.

Nach ungefähr 10 Tagen Kultur zeigten sich auf der porenfreien Fläche braune Massenansiedlungen, wie sie für *Azotobacter chroococcum* typisch sind (s. Tafel VIII bei LÖHNIS, Vorlesung (13)).

Durch Mikroskopie überzeugte ich mich nach weiterem Übertragen auf Platten von der ständig fortschreitenden Reinheit der gewünschten Bakterien. Schließlich legte ich, von einer guten Kultur ausgehend, 6 DRIGALSKI-Gipsplattenverdünnungen an.

Die Gipsplattenkultur hat vor der nun folgenden Mannit-Agar-Gußmethode den Vorteil, daß bei den Bakterien noch stärker ihre Eigenart, nämlich die Aerobiose, begünstigt wird.

Das Prinzip der Agar-Gußkultur besteht darin, Bakterien in möglichster Reinheit auf Grund mehrfach in Gußkulturen angelegter Verdünnungen zu erhalten. (Angaben zur Anfertigung s. LÖHNIS (11)).

Von den 6 parallel angelegten DRIGALSKI-Verdünnungen waren nur 3 für weitere Verarbeitung wertvoll. Von je einer Platte wurde je eine Öse in ein Reagenzglas mit steriler Mannit-Agarlösung geimpft, von diesem in ein zweites Reagenzglas 3 Ösen übertragen und in ein drittes aus dem zweiten 3 Ösen, jedesmal das Reagenzglas steril in keimfrei gemachte Petrischalen entleert.

Diesen Prozeß vollführte ich von allen 3 Gipsplatten ausgehend, so daß schließlich 9 Petrischalen vorlagen. Zwecks Förderung des Bakterienwachstums wurden sie bei 28° gehalten.

Schon nach einem Tage zeigten sich in einigen Petrischalen vereinzelt liegende *Azotobacter*-Kolonien, die in kurzer Zeit rasch wuchsen. Durch mikroskopische Untersuchung wurde festgestellt, daß der geforderte Grad der Reinheit fast erreicht war.

Zur Erzielung noch stärkerer Befreiung von nicht gewünschten Beimengungen wurde noch dreimal von den reinsten Kolonien in Reagenzgläser auf Mannit-Schrägagar übergeimpft, in denen sie jedesmal in drei Tagen kräftig aufkamen.

Alle 3 Kulturen lagen jetzt als Reinkulturen vor.

Der vorletzte Schritt beim Isolieren bestand im Übertragen je einer Öse Bakterienkultur in vier sterilisierte Erlenmeyerkolben mit Mannit-Nährlösung.

Letzter mikroskopischer Befund:

Kultur von *Azotobacter chroococcum* lag in völliger Reinheit vor. Sein ständiger Begleiter *Radiobacter* war überhaupt nicht zu finden. Interessant war in der Reinkultur die massenhafte Ansammlung von sog. „Schatten“ oder Schleimhüllen.

Schließlich war zur Sicherlegung dieser in zwei Monaten gewonnenen Reinkultur Überimpfen auf sterilen Schrägagar noch unbedingt nötig.

Im übrigen dienten die vier *Azotobacter*-Kulturen in Mannit-nährlösung als Ausgangsmaterial für die nun folgenden

Hauptversuche,

mit denen, wie schon oben angedeutet, die *Einwirkung der isolierten Bodenextrakte auf Azotobacter in Reinkultur* studiert werden sollte.

Als Nährboden diente die Mannit-Nährlösung nach LÖHNIS, Bodenextrakt, CaCO_3 in fester Form zum Aufheben der im Extrakt möglicherweise enthaltenen sauren Bestandteile. Zugeimpft wurde *Azotobacter* in Reinkultur.

Genaue Zusammensetzung jedes Kolbeninhaltes:

20 ccm Mannit-Nährlösung und Filtrierpapier	} gut sterilisiert
$\frac{1}{2}$ Teelöffel Calciumcarbonat in fester Form	
5 Ösen Bodenextrakt	
3 Ösen hochvirulente <i>Azotobacter</i> -Keime.	

Die Verteilung der Bodenextrakte soll aus der nachfolgenden Tabelle ersichtlich sein.

Neben den 17 *Azotobacter*-Kulturen (16 Hauptversuche und ein blinder Versuch), die quantitativ bestimmt werden sollten, wurde eine Kontrolle zum mikroskopischen Nachweis der Existenzmöglichkeit des *Azotobacter* in der nicht Bodenextrakt enthaltenden Nährlösung angesetzt.

Nach dreiwöchentlicher Bebrütung wurde der Stickstoffgehalt der 17 Versuchskolben quantitativ nach der JODLBAUER-Methode (Angaben s. Denitrifikation) bestimmt.

**Zusammensetzung der quantitativen N-Bestimmungen
von *Azotobacter*kulturen**
(Natürlicher Bodenextrakt)

Kolben	Boden- extrakt	Mittelwert N-Gewinn (mg)					
1 2	K ₁	27.13	} Filtrat	{ ätherlösl.	} Teil des Äther- extrak- tes	} Krumen- unter- suchung	
3 4	K ₂	17.12		{ wasserlösl.			
5 6	K ₃	3.40	} Niederschlag	{ ätherlösl.			
7 8	K ₄	2.17		{ wasserlösl.			
9 10	U ₁	0	} Filtrat	{ ätherlösl.	} Unter- grunds- unter- suchung		
11 12	U ₂	0.21		{ wasserlösl.			
13 14	U ₃	1.35	} Niederschlag	{ ätherlösl.			
15 16	U ₄	2.82		{ wasserlösl.			
17 (Kontrolle)	—	1.65					
18 (Kontrolle)	—	starkes Azotobacterwachstum durch Mikroskopie nachgewiesen					

Wir ersehen aus diesen Ergebnissen, daß beim *Azotobacter* ganz andere Verhältnisse vorliegen als bei den Nitrifizierern.

Der gesamte Ätherextrakt vom *Filtrat der Krumenunter-*suchung wirkte hier stark *fördernd* auf den hoch leistungsfähigen *Azotobacter*, während der Nitrifizierer in Gegenwart dieser Stoffe völlig versagte.

Die Ätherextrakte vom *Niederschlag der Krümen- und Untergrundsuntersuchungen* verhielten sich *fast indifferent*, bezogen auf die Kontrolle 17, die ohne Bodenextraktzusatz beinahe den gleichen Stickstoffgewinn auf Grund bakterieller Tätigkeit aufwies.

Dagegen wirkte das *Filtrat von der Untergrundsanalyse stark hemmend* auf den zugegebenen virulenten *Azotobacter* ein, während es die Nitrifizierer teils begünstigte, teils nachteilig beeinflusste.

Die enge Beziehung zwischen Bakterientätigkeit und BodenkompONENTEN ist durch diese Versuche wieder bewahrheitet worden. Das Substrat, in dem die Bodenorganismen leben, ist ein kolloidaler Komplex organischer und anorganischer Verbindungen, deren genauere Kenntnis bisher noch ziemlich oberflächlich ist. Die eine BodenkompONENTE fördert das Wachstum gewisser Mikroorganismen, die andere hemmt es. So ist die Natur des Mediums, in dem sich das Leben im Boden abspielt, von grundlegender Bedeutung für die Existenzmöglichkeit speziell der Kleinlebewelt.

Noch eine letzte Versuchsreihe sollte Aufschluß geben über die Wirkung der Dihydroxystearinsäure auf *Azotobacter* in Reinkultur

Die der Beantwortung dieser Frage dienenden Versuchskolben wurden mit denselben Stoffen beschickt, wie oben unter „Hauptversuche“ angegeben. Nur ersetzte hier die künstliche, von KAHLBAUM bezogene Säure die „natürlichen aus dem Boden extrahierten Hemmungsstoffe“.

Folgende Tabelle soll die Verteilung der Säure klar darlegen.

Zusammenstellung der quantitativen Stickstoffbestimmungen von Azotobacterkulturen

(Künstliche Dihydroxystearinsäure)

Kolben	Künstl. Säure	N-Gewinn (mg)
1	$\frac{1}{2}$ Öse	3,01
2	1 Öse	3,08
3	2 Ösen	6,42
4	3 Ösen	5,35
Kontrolle	—	2,74

Interessant ist hier der stark *stimulierende* Einfluß der Dihydroxystearinsäure auf *Azotobacter chroococcum*, während doch das Arbeitsvermögen von *Nitrosomonas* mit steigender Säure

zugabe stetig sehr stark abnahm, obwohl eine Neutralisation der Säure durch Kalk vorhanden war.

Die Stimulation zeigt nach einem Optimum des Stickstoffgewinns einen Abfall. Vielleicht hätte wesentlich verstärkte Säurezugabe noch zur Unterbindung des Azotobactergedeihens geführt, wenn nur die Untersuchungen weiter ausgebaut wären. — Es ist ja genügend häufig von Stoffen in der Literatur die Rede, die erst in größeren Quantitäten auf Bakterien schädigend wirken sollen.

Anaerobe Stickstoffbindung

Um auf die Gegenwart von Stickstoffbindern zu prüfen, die nur unter anaeroben Bedingungen gedeihen, wurde folgende *Versuchstechnik* verwendet.

Zusammensetzung der Nährlösung zum Anreichern von Anaerobiern:

je 5 g Traubenzucker, Rohrzucker, Glycerin	}	auf 1 Ltr. Wasser gelöst
1 g K_2HPO_4		
0,1 g $CaCl_2$		
0,3 g $MgSO_4$		
0,1 g $NaCl$		
2 Tropfen $FeCl_3$ -Lösung		

In 50 g-Kölbchen werden 0,1 g Stärke, 0,1 g Filtrierpapierschnitzel und 20 ccm der oben erwähnten Lösung gegeben.

Um besonders günstige Versuchsbedingungen zu treffen, mußten die verwendeten Kölbchen möglichst klein sein (50 g Inhalt), wodurch sie mit Flüssigkeit sehr hoch gefüllt wurden. Ferner mußte der Anaerobenverschluß nach WRIGHT-BURRI (11) bei jedem Kölbchen angebracht werden. Da aber das Arbeiten mit derart abgedichteten Kolben etwas umständlich ist, verfuhr ich nach der BUCHNERSchen Methode¹⁸⁾.

Es wurde der untere Teil eines sehr hohen Exsikkators zuerst mit Pyrogallol (20 g), dann Wasser (200 ccm) und schließlich Kalilauge (20 ccm liqu. Kal. caust.) beschickt, der Einsatz nebst allen beimpften Kulturen hineingesetzt, und unmittelbar darauf wurde der Exsikkator verschlossen. Durch geeignete Bewegungen des Exsikkators wurde die Pyrogallussäurelösung und die Kalilauge durcheinander gemischt und das Gefäß im Brutschrank bei 28° sich selber überlassen. Nach etwa 24 Stunden ist aus der im Gefäß eingeschlossenen Luft der Sauerstoff absorbiert.

Erste Versuchsreihe

8 sterile, mit Nährlösung beschickte Gläser wurden in nachstehender Verteilung mit Erde beimpft:

Kolben	Impfmateriail	
1	1 Öse	Buchenwalderde (Untergrund)
2	3 Ösen	
3	10 Ösen	
4	20 Ösen	
5	1 Teelöffel	
6	2 Teelöffel	
7	3 Ösen	Gartenerde
8	20 Ösen	

Ergebnis nach 4 Wochen langer Bebrütung:

Sowohl Wald- als auch Gartenerdekulturen hatten hoch hinauf bis zum Wattestopfen einen weißen „Fettbelag“ gebildet. Beim Öffnen jedes Kölbchens verbreitete sich stark der für *Bacillus amylobacter* typische, unangenehme Geruch nach Buttersäure.

Demnach müßte in der Walderde der anaerobe Stickstoffbinder günstig gedeihen.

Um durch quantitative Bestimmungen die Stärke der Stickstoffbindung ermitteln zu können, wurde eine

zweite Versuchsreihe

mit sich steigernder Erdmaterialverteilung angesetzt. Die Stickstofffernte wurde wieder nach der JODLBAUER-Methode bestimmt. Ergebnis der Stickstoffbindung nach 1 Monat langer Kultur:

Kolben	Buchenwalderde	N-Gewinn (mg)
1	2 Ösen	0
2	2 Ösen	0
3	5 Ösen	0,14
4	10 Ösen	0,70
Gartenerde		
1a	2 Ösen	0,07
2a	2 Ösen	

Während in der Gartenerde mit 2 Ösen Bodenimpfmateriail 0,07 mg Stickstoff gebunden sind, ist in den entsprechenden Wald-erdekolben (1,2) noch nichts zu verzeichnen. Erst in größeren Bodenmengen ist die Anaerobierwirksamkeit sehr bedeutend.

Durch die Ergebnisse ist also *die Gegenwart von anaerobiontischen Stickstoffbindern im Buchenwaldboden in ziemlich reichlicher Menge* angezeigt.

Besprechung der aeroben und anaeroben Stickstoffbindung

Nach den gebrachten Befunden ist die aerobe Stickstoffbindung höchstens im Untergrund gehemmt, die anaerobe dagegen nicht.

Es wäre einerseits daran zu denken, daß in unserem Waldboden lösliche, auf Aerobier ungünstig wirkende Stoffe nicht in der Krume zu liegen brauchen. Beim ersten *Durchfeuchten* des Bodens gelangen sie in den Untergrund, wo sie tatsächlich die Aerobier im Gedeihen behindern. (Tab. Azotob.)

Wenn die Erde trocken ist, ändert sich natürlich von selber wenig bezüglich der Lagerung von Nährstoffen. Sobald aber Regenwasser auf den Boden gelangt, schwemmt es sofort beim Versickern die löslichen Bodenbestandteile mit hinunter. Diese stauen sich im Untergrund an und üben hier ihre Wirksamkeit aus.

Andererseits wären diese Ergebnisse auch so zu deuten, daß nur bei sehr geringer *Durchlüftung* die hemmenden Stoffe entstehen. Zwar konnte von dieser an dem Orte, dem wir die Proben entnahmen, bei den dort im Sommer herrschenden Bedingungen nicht in allzu starkem Maße die Rede sein. Sobald aber eine Durchnässung des Bodens einsetzt, werden die hemmenden Stoffe dauernd und mehr gebildet. (Herbst—Winter—Frühjahr). Dieser Umstand könnte in ständig feuchten Gegenden die Verbreitung der Aerobier völlig verhindern, in unserem Buchenrohhumus nur zeitweilig hemmen. Sobald der Boden stärker durchnäßt, also der Luftzutritt noch mehr gehemmt wird, dann kommen diese Stoffe erst zu ihrer vollen Wirkung, wie etwa im feuchten Waldmoore, wo der *Azotobacter* gänzlich fehlt (1).

Daneben wird der hemmende Stoff aber auch *indirekt* wirken. Wenn die Aerobier zeitweilig durch Nässe und erschwerten Luftzutritt in der Entwicklung leiden, dann kommen ihre Konkurrenten, die Gärungserreger, so recht zur Geltung und nehmen eine große Menge von Betriebsmaterial fort. Wir sehen also, diese Dinge sind hier komplexer Natur. Eine nur geringe, zeitweilige Hemmung wird sich hier weit mehr auswirken, als es zunächst möglich erscheint.

Umgekehrt zeigen unsere Resultate eine starke Förderung der Aerobier an der Oberfläche. Die Bedingungen in den einzelnen Schichten sind demnach wesentlich verschieden.

Die oberen Erdschichten haben eine Anhäufung von Stickstoff durch Aerobier, aber eine sehr schwache Nitrifikation aufzuweisen. Die unteren Erdschichten verfügen über geringe Stickstoffbindung durch Aerobier und ziemlich gute durch Anaerobier. Die Nitrifikation ist daselbst eigentlich gefördert, wenn nur die Luft Zutritt hat.

Wir sehen in diesem Bilde die Verschiedenartigkeit des Wurzelwerkes der besiedelnden Pflanzenwelt bedingt. *Oben gedeihen die Mykotrophen und Ammon-Pflanzen, unten die Salpetergewächse.*

Wenn die Durchlüftung auch nur kurze Zeit eine Nitrifikation im Untergrund gestattet, dann können dorthin die Salpeterpflanzen ihre Nahrung beziehen, sofern sie nur tief wurzeln. Ist aber die Trockentorfschicht zu dick, dann werden diese Gewächse aus der Pflanzenbesiedelung weichen müssen. Sie werden je nach dem Grade der Fähigkeit, in den Boden einzudringen, ausbleiben.

Ein Freilegen des feuchten Waldes fördert das Austrocknen des Bodens. Es erscheinen dann Salpeterpflanzen, denen ja mit Schwinden der schädlichen Nässe Existenzbedingungen gegeben sind.

Schlagpflanzen und ähnliche Erscheinungsformen finden somit nicht nur durch das Licht ihre Erklärung, sondern auch durch die Bodenverhältnisse.

Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse vorstehender bodenbakteriologischer Untersuchungen

Die Ergebnisse des ersten Hauptteiles meiner Arbeit fasse ich in folgenden Sätzen zusammen:

1. Die Nitrifikation ist im Buchenrohhumus nur gehemmt, nicht unterbunden.
2. Die Denitrifizierer können unter günstigen Nährstoffverhältnissen im Waldboden nachgewiesen werden.
Das Vorkommen von Gelegenheitsdenitrifizierern ist beschränkt.
Kräftige Salpeterzerstörer fehlen gänzlich.
3. Ammoniakbildner sind im Buchenwaldboden vorhanden.

4. *Azotobacter* ist in seiner Entwicklung im Humus sehr gehemmt, aber nicht vollständig abwesend.
5. Die Gegenwart von anaerob arbeitenden Stickstoffbindern im Buchenrohhumus ist erwiesen.
6. Die Hemmung des *Nitrosomonas* und des *Azotobacter* im untersuchten Waldboden ist neben möglichen anderen Faktoren auf die Gegenwart gewisser durch ihre chemische Konstitution schädlich wirkender Stoffe zurückzuführen, nicht allein auf die Acidität.
7. Im normalen Gartenboden finden sich Lebewesen, welche diese Hemmung im Waldboden beseitigen.

**Bestimmung der von einer autotrophen Pflanze (Roggenkeimling)
aus dem Buchenrohhumus aufnehmbarem Kali- und
Phosphorsäuremenge**

Nach Beendigung der bodenbakteriologischen Untersuchungen ging ich daran, die Kenntnis von den *physiologischen* Vorgängen im Buchenrohhumus zu erweitern.

Es sollte geprüft werden, wie weit der vorliegende Boden die Nährsalzbedürfnisse einer Pflanzenbesiedelung befriedigt. Diese Frage nach jeder Seite hin zu erörtern, lag nicht in meinem Sinn; vielmehr sollte nur eine Teilfrage angeschnitten werden, *wie groß die Verwendbarkeit einiger im Boden vorhandener, nicht stickstoffhaltiger Nahrungsstoffe ist.*

Es interessierte mich im Gebiet der Nährsalzzufuhr besonders die Phosphorsäure und das Kali. Wie stark das Pflanzenwachstum von diesen beiden Stoffen abhängig ist, und in welcher Weise die einzelnen Vorgänge im Pflanzenorganismus durch sie beeinflusst werden, soll nicht an dieser Stelle behandelt werden. Es möge auf die gute Zusammenstellung der diesbezüglichen Abhandlungen von RUSSELL (8) und CZAPEK (32) verwiesen sein.

Zur Bestimmung der Menge eines Nährstoffes in aufnehmbarer Form dienen die physiologischen Methoden von NEUBAUER und MITSCHERLICH. Die letzterwähnte war, so exakt sie an sich ist, für meine Zwecke zu umständlich und erfordert äußerst große Bodenmengen. Daher mußte ich von dieser Methode absehen und mich der handlicheren, aber in analytischer Hinsicht durchaus nicht so einfachen NEUBAUER-Methode zuwenden.

Ich mache gleich von vornherein darauf aufmerksam, daß für meine Zwecke ausschließlich der analytische Teil der NEUBAUER-

Methode in Betracht kommt; denn ich will nur die Salzmenge bestimmen, die aus dem Boden unter den herrschenden Versuchsbedingungen in einer bestimmten Zeit aufnehmbar ist. Das Resultat kann mir als Maßstab für die Eigenschaften des Bodens in physiologischer Hinsicht dienen. Den anderen an sich bestritteneren Teil des Verfahrens, die Bestimmung des Düngebedürfnisses der Erde und das verschiedene Nährstoffaufnahmevermögen der Keimpflanzen und erwachsenen Pflanzen lasse ich außer acht. Man könnte nun einen Einwand machen gegen die Übertragung der mit autotrophen Pflanzen erhaltenen NEUBAUER-Ergebnisse auf mykotrophe Verhältnisse. Dieser wäre vielleicht in anderen Fällen angebracht. Bei meinem Vorhaben kommt er aber nicht in Frage, denn ich will gerade die schlechte Eignung des Buchenwaldbodens für die autotrophe Nitrat-Pflanze zeigen und damit die Eigenart der diesen Boden besiedelnden Pflanzenwelt hervorheben.

Das Neubauer-Verfahren

„Man läßt in einer geringen Menge des zu prüfenden Bodens eine große Zahl von Roggenkeimen kurze Zeit wachsen. Aus der von den Pflanzen aufgenommenen Phosphorsäure- und Kalimenge kann man Rückschlüsse ziehen auf den Gehalt des Bodens an den beiden genannten Nährstoffen in wurzellöslicher Form“ (16).

Will man nun für die Zwecke des Forstmanns diese für Ackerböden bestimmte NEUBAUER-Methode übertragen, so wäre es sicherlich besser, mit einer mykotrophen Waldpflanze zu arbeiten. Es kämen etwa Buchen- oder Fichtenkeimlinge in Frage. Die praktische Ausführung würde allerdings auf Schwierigkeiten wegen der zu langen Keimdauer usw. stoßen. Das Arbeiten mit Mykotrophen wäre nur zum Vergleich verschiedener Waldböden untereinander geeignet, nicht, um die geringe Brauchbarkeit des Bodens für autotrophe Nitratpflanzen darzutun, was von vornherein mein Ziel war.

Bei meiner praktischen Ausführung ging ich genau nach den Angaben von NEUBAUER und SCHNEIDER (19) vor, deren Zusammenstellung bei WIESSMANN (16) zu finden ist. Nur habe ich bei der Vorbereitung der Bodenprobe entgegen der NEUBAUER-Vorschrift den Boden überhaupt nicht getrocknet. Denn durch Austrocknen und starkes Durchlüften der Walderde wird die Bodenflora nennenswert verändert, und es wären dadurch gewisse Fehler in die Analyse gebracht worden. Ferner könnte ein Skeptiker gegen das Arbeiten mit Bodensandmischung den Vorwurf einer zu

starken Durchlüftung im Vergleich zu den sonst herrschenden natürlichen Bodenbedingungen machen. Dagegen muß aber angeführt werden, daß das Keimen ohne Sandmischung Schwierigkeiten speziell den gute Durchlüftung bevorzugenden Roggenkeimen macht. Die Pflänzchen würden mit dem Boden verfilzen und könnten nur unter teilweise Verlust der Wurzeln später weiter verarbeitet werden. Die Ergebnisse würden dann für *Wald*-Böden ganz falsch ausfallen.

Mit Hilfe des NEUBAUER-Verfahrens ermittelt man unter Berücksichtigung des blinden Versuches die Anzahl mg/Phosphorsäure und Kali, die aus 100 g trockenem Boden von der jeweils zum Versuch gewählten Pflanze aufgenommen werden.

Nach NEUBAUER müssen auf Grund der bisherigen Erfahrungen die Roggenpflänzchen aus einer Erdmenge, die etwa 20 cm Ackerkrumentiefe entstammt und 100 g wasserfreiem Boden entspricht, die Mindestmengen von 17 mg K_2O und 8 mg P_2O_5 entnehmen können, bevor der Boden als genügend versorgt gelten kann. „Diese Grenzwerte stehen noch nicht ganz fest“ (16).

Von der Landwirtschaftskammer für die Provinz Ostpreußen wurde mir ein Bericht über die *Auswertung* von NEUBAUER-Untersuchungen in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt.

„Bei dem jetzigen Stand der Erfahrungen mit NEUBAUER-Analysen kann es sich bei den *Ergebnissen* nicht um *Rezepte*, sondern nur um *Anhaltspunkte* handeln . . . Zu beachten ist der Gehalt der Böden an Steinen und Kies. Da die Untersuchungen in dem Feinboden ausgeführt werden, nachdem diese groben Teile abgesiebt sind, wirken Steine und Kies als Verdünnungsmittel der in Feinboden gefundenen Pflanzennährstoffe.“

Es wird sich also die Norm des Bezugssystems um so unbrauchbarer für die Beurteilung der natürlichen Bodenverhältnisse erweisen, je größer der Gehalt des Bodens an Steinen ist. Von wesentlicher Bedeutung ist jedoch dieser Umstand nur bei Böden, deren Düngbedarf schließlich bestimmt werden soll, weniger bei der Auswertung meines Waldbodens, bei dem ja die Brauchbarkeit des untersuchten Bodenanteiles selbst, nicht des ganzen Bodens als solchem ermittelt werden soll.

Untersuchungen mit Buchenwaldböden

Zwei nur wenig verschiedene Bodenproben von Buchenrohhumus wurden den Bestimmungen unterzogen. Sie entstammten einer Tiefe von etwa 25 cm unter der Laubdecke.

Boden F.: Diese Probe bestand aus Erde, die direkt in den Buchenwurzeln sich *fest* verballt hatte und deren P_H -Wert 5,6 betrug.

Boden L.: Diese Probe entstammte der *losen*, um die Wurzelballen herumliegenden Erde. Sie war also weniger von Mykorrhiza durchsetzt und besaß den P_H -Wert von 5,8.

Je zwei Parallelversuche wurden von jeder der beiden Bodenproben ausgeführt.

Ergebnisse der quantitativen P_2O_5 - und K_2O -Bestimmungen nach Neubauer

Boden	P_H (akt. Acid.)	P_2O_5 (mg)	Mittelwert	K_2O (mg)	Mittelwert
F	5,6	3,79	3,81	5,64	5,59
		3,82		5,54	
L	5,8	3,32	3,22	7,88	7,92
		3,12		7,96	

Wir sehen einerseits, daß diese beiden recht dicht beieinander gelegenen Bodenschichten (F und L) *untereinander verglichen* keine nennenswerten Differenzen in der P_2O_5 -Ernte ergaben, daß die Unterschiede dagegen bezüglich des Kaligehaltes bemerkenswerter sind.

Daß der Kaligehalt im Boden L größer als in F ausgefallen ist, mag wohl darauf zurückzuführen sein, daß der lockere, vorher schwächer von Wurzeln durchsetzte Boden nur *in geringerem Maße* von der Pflanzenbesiedelung ausgebeutet worden ist. Es mußte daher das von den Pflanzen aufnehmbare Kalium im Boden L in größerer Menge als in F nachweisbar sein.

Wir erkennen aus diesen Ergebnissen, daß eine *Erschöpfung des Bodens F in physiologischer Hinsicht durch Mykorrhizenwurzeln* vorhanden sein kann. Es handelt sich hier hauptsächlich um die Mykorrhiza der Buchenwurzel. Nach STAHL (14) ist der Pilz dem Wirt bei der Aufnahme von Aschensubstanzen behilflich. Wir müssen bedenken, daß von der ektotrophen Mykorrhiza eine Unmenge Pilzhyphe ausstrahlen, die dann das Kali in eine für jede andere autotrophe Pflanze unaufnehmbare oder sehr schwer zugängliche Form überführen. Auch dieser Umstand bezeugt den großen Vorteil der Mykorrhizapflanzen, hier speziell auf Kalizufuhr bezogen.

Andererseits sind die *Vergleiche* meiner Ergebnisse mit einer normalen *Ackererde* sehr wertvoll. Während die Phosphorsäure-

Grenzzahl von NEUBAUER für Roggenversuche auf Ackerböden mit 8, die Kali-Grenzzahl mit 17 angegeben ist, sehen wir im Waldboden die *Aufnahme* beider Nährstoffe bis auf *etwa die Hälfte bis ein Drittel für autotrophe Gewächse erschwert*.

Auch dieser Vergleich dient dazu, uns den Sinn der Mykorrhiza und der besonderen Besiedelung von Waldstellen verständlich zu machen.

Von ostpreußischen Wäldern liegen bisher nur sehr wenige physiologische Bestimmungen dieser Art vor. Die von anderen untersuchten Proben stellten zum Teil viel bessere Walderden vor. Sie sind daher zum Vergleich sehr interessant.

Die Angaben wurden mir liebenswürdigerweise vom Untersuchungsamt der Landwirtschaftskammer zu Königsberg zur Verfügung gestellt. Eine Tabelle soll die Ergebnisse übersichtlich bringen:

Forstamt d. L. K. Bosenb.	Azotobak. vorhanden	PH Akt. Ac.	Neubauer	
			P ₂ O ₅ (mg)	K ₂ O (mg)
Lehmiger Sand und sandiger Lehm	—	6.1	2,1	20,9
Sand und lehmiger Sand	—	6.3	3,1	9,7
Sandiger Lehm und Lehm; im Untergrund strenger Lehm	—	6.35	3,7	7,9
Lehmiger Sand und sandiger Lehm; im Untergrund Ton	—	6,25	1,0	11,3
Lehmiger Sand und sandiger Lehm; im Untergrund strenger Lehm .	—	6.3	2,9	12,0

Die Pflanzenbesiedelung dieser Stellen war nicht angegeben.

Aus der geringen Zahl der Untersuchungen können wir allerdings nicht weit schließen. Wir dürfen nur vermuten, daß die Phosphate im Waldboden besonders schwer aufnehmbar sind oder nur in geringer Menge zur Verfügung stehen. Dagegen scheinen bezüglich des Kaliehaltes bessere Möglichkeiten in der Nahrungsaufnahme vorzuliegen.

Zusammenfassung

Der untersuchte Buchenwaldboden zeichnet sich durch eine Erschwerung der Aufnahmemöglichkeit von Kali und Phosphaten für autotrophe Gewächse aus.

Es hat den Anschein, als ob die Phosphorsäureversorgung der autotrophen Pflanzenbesiedelung im Walde zumeist sehr gering gehalten ist, sei es, daß die Phosphate in schwer aufnehmbarer Form vorliegen, sei es, daß der Boden phosphorsalzarm ist.

Für Kali stimmt diese Annahme nicht bei jeder Waldprobe. — Die Kaliaufnahme für Roggen kann in Proben von Lehmbodenschlägen sogar derart groß sein, daß sie die Mindestmenge des zur Erzielung von Höchsternten erforderlichen Kaligehaltes überschreitet.

Es würde sich empfehlen, weitere Gelände zu untersuchen und zu verschiedenen Jahreszeiten die Arbeiten zu wiederholen. Auch würde einmal ein Versuch mit einer annuellen Waldpflanze nicht uninteressant sein. Doch das möge späteren Untersuchern überlassen bleiben.

2. Hauptteil

Physiognomie der Makroflora des Buchenwaldbodens

Es soll nun meine Aufgabe sein, die Erfahrungen bakteriologischer Natur auf das Vorkommen und die Verbreitung der Pflanzenwelt *desselben* Buchenwaldes zu übertragen. Auch hierbei hielt ich mich an die Flora des *einen* Forstes.

Ich bin mir einer Einseitigkeit wohl bewußt. Meine Ergebnisse müssen, damit aus ihnen weitere Folgerungen gezogen werden können, natürlich ergänzt werden. Ob dadurch die Grundergebnisse geändert würden, das möchte ich bezweifeln.

Zunächst will ich einige Vegetationsaufnahmen von Beständen mit verschiedener Flora anführen, um auf Grund der Befunde eingehender Wurzelstudien der Pflanzenbesiedelung ein möglichst klares Teilbild von der Biozönose des Waldes geben zu können.

Die erste Bestandsaufnahme

betrifft eine *Eindellung* im Boden eines Buchenbestandes.

Von *Bäumen* waren vorhanden:

Fagus sylvatica L. (am meisten)

Picea excelsa (Lam.) Link (am Rande vereinzelt)

Der *Unternuchs* bestand aus:

Fagus sylvatica L. (am meisten)

Corylus Avellana L.

Carpinus Betulus L.

Rhamnus Frangula L.

Tilia cordata Mill.

Von *Baumkeimlingen* fanden sich vor:

Fagus sylvatica L.

Sorbus aucuparia L.

Picea excelsa (Lam.) Link

Rhamnus Frangula L.

Tilia cordata Mill.

Der Boden war nicht vollständig von *hohen Pflanzen* bedeckt. Im gewählten Bestande kamen folgende vor:

In starker Besiedelung:

<i>Asperula odorata</i> L.	<i>Anemone nemorosa</i> L.
<i>Oxalis Acetosella</i> L.	<i>Lycopodium annotinum</i> L.
<i>Majanthemum bifolium</i> (L.) F. W.	
Schmidt	

Weit spärlicher waren vertreten:

<i>Vaccinium Myrtillus</i> L.	<i>Lamium Galeobdolon</i> (L.) Crantz
<i>Trientalis europaea</i> L.	<i>Pulmonaria officinalis</i> L. var. <i>obscura</i>
<i>Luzula pilosa</i> (L.) Willd. (Kümmerlinge)	Dumort.
<i>Fragaria vesca</i> L. (Kümmerlinge)	

Von Farnen:

<i>Dryopteris Phegopteris</i> (L.) Christens.	<i>Athyrium Filix femina</i> (L.) Roth
<i>Dryopteris spinulosa</i> (Müll.) O. Ktze., subsp. <i>dilatata</i> (Hoffm.) Schinz et Thell.	

Vereinzelt fand sich:

<i>Milium effusum</i> L.	
<i>Stellaria holostea</i> L.	<i>Carex digitata</i> L.

Weite Strecken waren von dürrer Buchenlaub bedeckt. An den humusärmeren Stellen fanden sich Moose in ziemlich großer Anzahl vor, hüllten jedoch diese Bodenstücke nicht völlig ein:

<i>Hylocomium splendens</i> (Dillen.) Br.	<i>Mnium</i> sp.
Sch. G.	<i>Thuidium</i> sp.

Polytrichum juniperinum Willd.

Der Boden enthielt eine Menge von Pilzmycelien. — Regenwürmer waren vereinzelt zu finden.

In keiner untersuchten Pflanze war trotz der günstigen Witterung Salpeter nachweisbar (s. S. 41).

Die Zahl der Mykorrhizenpflanzen dieses Bestandes war ziemlich groß: *Fagus*, *Picea*, *Carpinus*, *Vaccinium Myrtillus*, *Majanthemum bifolium*, die Prokormi eines *Lycopodiums* usw.

Über den Einfluß der sog. *edaphischen Faktoren* brauchten wir eigentlich nicht zu schreiben; er ist viel zu landläufig. Wenn man aber genau zugreift, so sieht man leider, wie wenig Klarheit über diesen Komplex von Eigenschaften herrscht. Er setzt sich aus den mannigfaltigsten Bestandteilen zusammen, aus Humusgehalt, Nährstoffgehalt, Nährstoff-Form, Säure im Boden, Basengehalt, Durchlüftung, Wasserführung usw. Dabei griffen diese einzelnen Wirkungen ineinander, so daß eben jener viel verschlungene Begriff entsteht.

Die Erfahrung lehrt uns, daß die Besiedelung eines Bodens durch die Pflanzenwelt in hohem Maße von den edaphischen Faktoren beeinflusst wird. Es kann nur diejenige Pflanze gedeihen, die durch ihre Organisation existenz- und konkurrenzfähig gemacht ist. Wenn auch der Bau der oberirdischen Organe mit dem Wurzelwerke in einer gewissen Korrelation steht, so werden sich doch die edaphischen Faktoren des Bodens ebenfalls stark in dem Wurzelwerke selber auswirken. Doch darf man bei der Betrachtung des Wurzelwerkes dieses nicht für sich allein schematisch verstehen wollen, sondern man muß es in seiner Beziehung zum Boden und als Glied der ganzen Pflanze betrachten.

Es erschien mir daher nicht uninteressant, speziell den *Bau* des Wurzelwerkes der in unserem Buchenwald vorkommenden Gewächse zu untersuchen. Für diesen Zweck stand mir wenig Literatur zur Verfügung. Die wichtigste sei hier kurz angeführt: BUSGEN (21), FREIDENFELT (22), RIMBACH (23), WALTER (24), FUCHS und ZIEGENSPECK (1) usw.; den eigentlichen Anstoß zu den Gedankengängen gaben die auszugsweise in Kürze erscheinenden Wurzelarbeiten von letzterwähntem Verfasser.

Um eine anschauliche Schilderung über die Wurzelsysteme und die damit zusammenhängenden Funktionen der Pflanzen geben zu können, habe ich von jedem in Frage kommenden Gewächs dieses und der noch zu behandelnden beiden anderen Buchenwaldbestände

Naturselbstdrucke der Wurzeln

verfertigt. Zwecks Herstellung derselben grub ich bei jeder Bestandaufnahme die Wurzeln der reichlich vorhandenen Gewächse behutsam aus. Die ganzen, von Erde umschlossenen Ballen wurden möglichst rasch ins Laboratorium geschafft, wo sofort eine Weiterbehandlung erfolgte. Ohne die Erde mit der Hand grob abzuheben, legte ich die ausgegrabenen Wurzeln in Wasserbehälter. Nach mehrmaligem Erneuern des Wassers und reichlichem Umschwenken erhielt ich die Wurzeln frei von Erde, und, worauf das Hauptgewicht gelegt war, in *unverändertem, natürlichem Zustand*. Darauf wurden die oberirdischen Stammteile abgeschnitten, die Wurzeln unter Wasser im ausgebreiteten Zustand auf Papier zum Antrocknen gehoben und mäßig beschwert. Am nächsten Tage konnten von den völlig trockenen Wurzeln Negative mit weichem Gaslichtpapier verfertigt werden. Zur Ergänzung stellte mir Dr. ZIEGENSPECK einige Blätter aus seiner Sammlung von solchen Naturselbstdrucken zur Verfügung.

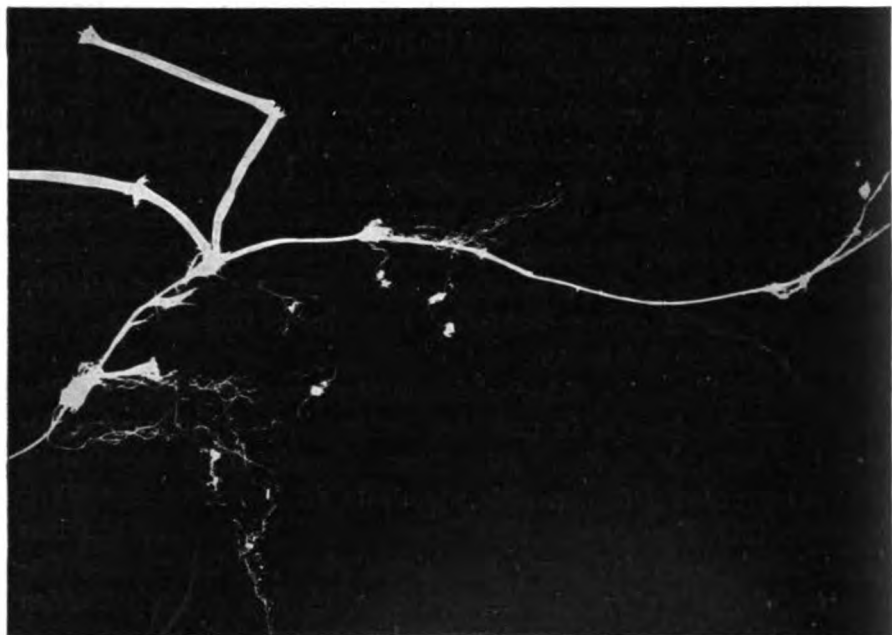


Fig. 2. *Asperula odorata* L.

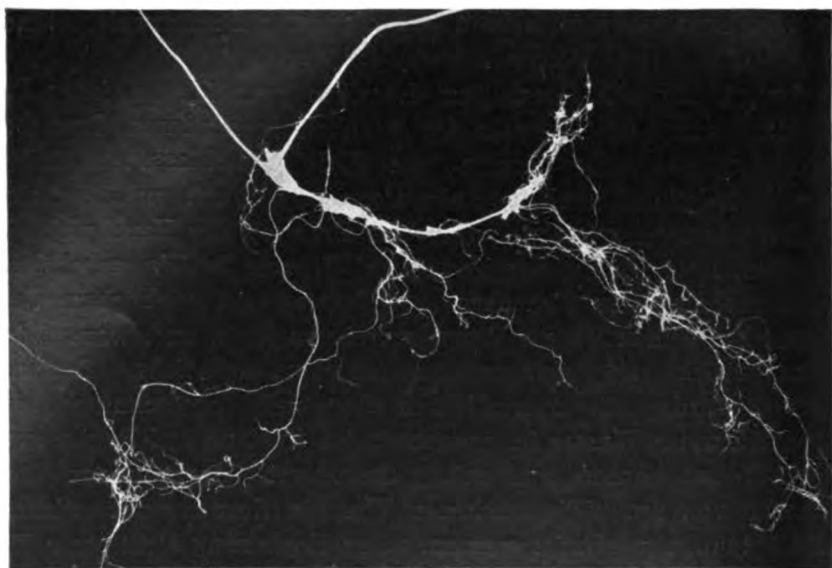


Fig. 3. *Oxalis Acetosella* L.

Besichtigt man nun die Wurzelwerke der unseren Buchenbestand füllenden Pflanzen, so findet man, daß außer den Bäumen eigentlich keine *tief*wurzelnden Gewächse vorhanden sind. Die meisten durchdringen mit ihren Wurzeln nur die Krume; der Untergrund wird weniger erstrebt.

Asperula odorata L. (Fig. 2)

Die Pflanze besitzt ein beträchtlich weitreichendes Rhizom, an dessen Knoten ein nur *seichtes*, aber fein durchflochtenes Wurzelwerk vorhanden ist. Wir können von einer *intensiven* Bearbeitung einer flach gelegenen Bodenschicht sprechen.

Asperula muß viel Wasser aufnehmen, um den nötigen Stickstoff zu bekommen. Wir finden daher bei ihr Einrichtungen, das Wasser in tropfbar flüssiger Form durch Spalten mit Hilfe eines Epithems auszuschcheiden. Diese Angaben entstammen der Literaturzusammenstellung von LIPPMANN „Guttation“ (26).

Oxalis Acetosella L. (Fig. 3)

führt ebenfalls ein weitgehendes Rhizom. Das auch auf guten Böden *nicht sehr tief*streichende Wurzelwerk ist reich verästelt und gut behaart. Durch den feinen Bau der Wurzeln ist die absorbierende Fläche vergrößert und eine reichliche Zufuhr von Nährlösungen ermöglicht. Die aufgenommenen Kalksalze werden als Oxalate in den Zellen niedergelegt.

Majanthemum bifolium (L) F. W. Schmidt (Fig. 4)

Die einzelnen, an den Knoten des weit ausladenden Rhizoms in Vielzahl vorhandenen Fasern stehen nach allen Richtungen und sind fast unverzweigt.

Es ist, wie übrigens für alle Liliaceen charakteristisch, bei *Majanthemum bifolium* nur eine geringe Wurzelhaarproduktion zu konstatieren. „In der Regel sind die Primärwurzeln fast gänzlich haarlos, erst die in tieferen Erdschichten auftretenden Nebenzwurzeln zeigen eine mäßige Behaarung. Besonders auffällig ist bei dieser Liliacee die Derbwandigkeit der Wurzelhaare; die sonst durchschnittlich 0,0006—0,0007 mm betragende Dicke der Membran steigt hier auf 0,001 mm.“ (27)

Da sämtliche zu den Liliaceen gehörenden Vertreter als natürlichen Standort einen lockeren Rohhumus von krümeliger Beschaffenheit wählen, scheint uns die Annahme nahe zu liegen, daß es sich bei diesen dickwandigen Wurzelhaaren mehr um eine



Fig. 4. *Majanthemum bifolium* L.

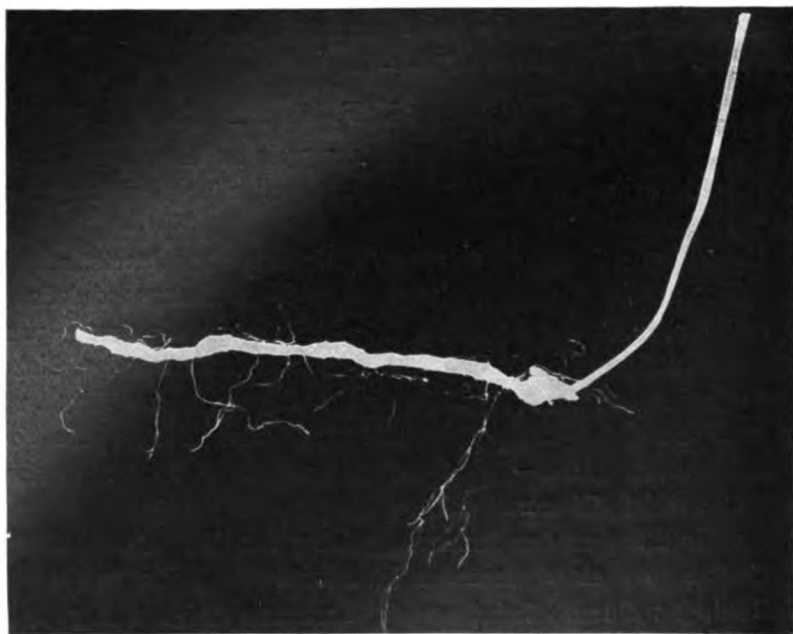


Fig. 5. *Anemone nemorosa* L.

Festigung im Boden und zugleich um ein Auswechseln von Pilzen zwischen den endomykotrophen Wurzeln und ihrem umgebenden Substrat handelt als um eine vorherrschende Resorption von Nährsalzen aus dem Boden.

Anemone nemorosa L. (Fig. 5)

gehört ebenfalls zu den Humusbesiedlern. Das *seicht* streichende Rhizom entsendet nur verhältnismäßig wenige, kaum verzweigte, dünne Wurzeln von nicht bedeutender Länge.

Die neu gebildeten, noch unverpilzten Wurzeln mit ihrer Haardecke entnehmen im Frühjahr dem nassen Boden die nötigen Nährsalze in so großen Mengen Wasser, daß sogar eine geringe Guttation durch die vorhandenen Wasserspalten notwendig ist (26).

Aber die autotrophe Vegetation währt nur kurze Zeit. Die jüngsten Saugwürzelchen, deren braungelbe Färbung wahrscheinlich durch die aufgenommenen löslichen Humusstoffe bedingt ist, (27) unterliegen bald einer nicht zu starken Verpilzung. Es wird uns erst durch die nach der Vegetationsperiode einsetzende Mykotrophie das Auskommen der *Anemone* mit der spärlichen Bewurzelung verständlich.

Je reichlicher der Nährstoffvorrat im Boden ist, zu desto kräftigerer Wurzelhaarbildung wird die Pflanze angeregt. Das immerhin spärlich bleibende Wurzelwerk gestattet keine Vegetation bei reger Transpiration und geringem Wassergehalt des Bodens.

Man sieht also deutlich, daß enge Beziehungen zwischen dem Wurzelsystem und seinem Standort bestehen.

Lycopodium annotinum L. (Fig. 6)

Wenn man den gesamten Bau des Gewächses betrachtet, so wundert man sich über das im Vergleich zum Laubteil spärliche Wurzelwerk. Dieses ist gewiß durch den xerophilen Bau des oberirdischen Sprosses bedingt.

Denn einerseits sind die Blätter klein und hart, und die Transpiration ist nicht übertrieben stark; außerdem besteht das Wasserleitungssystem in der Hauptsache aus Tracheiden und nur kleine Wassermengen können nach oben geleitet werden. So benötigt das *Lycopodium* auch in Zeiten der stärksten Transpiration ein nicht gerade zu großes Wurzelwerk.

Um jedoch die kalte Jahreszeit überdauern zu können, braucht die wintergrüne Pflanze eine besondere Einrichtung. Ob damit die starke Schleimhülle zusammenhängt, welche die Wurzeln überzieht, ist nicht so einfach zu beweisen.

Das *Lycopodium*, ein Ausbeuter der *Oberfläche*, trägt in reichlicher Menge Wurzelhaare an den in *weiten Abständen* entsandten, viel verzweigten Wurzeln. Diese saugen die *einzelnen Bodenstellen intensiv* aus.

Während die erwachsene Pflanze keine Pilzmycelien benötigt, sind die Procormi auf diese angewiesen.

Es wird uns auch hier wieder die geringe Bewurzelung durch



Fig. 6. *Lycopodium annotinum* L.

die Gesamtorganisation der immer-grünen kurzwüchsigen und schwach transpirierenden Pflanze verständlich.

Vaccinium Myrtillus L. (Fig. 7)

Da die Blaubeere auch auf sehr trockene Böden geht, kann man der Beurteilung des Wurzelwerkes nicht völlig gerecht werden, wenn man sie allein von dem feuchten Standorte her, auf dem wir sie fanden, betrachtet.

Es handelt sich hier um eine Mykotrophe der Ericaceen. Solche Pflanzen sind verhältnismäßig unabhängig von der Wasserdurch-

strömung, besitzen daher auch auf dem feuchtesten Boden xeromorphen Wuchs (25).

Das Wurzelwerk erweckt den Eindruck von *intensiver* Durchdringung eines nicht zu weitgehenden Bodenareals. Die Bearbeitung erstreckt sich nicht auf die Resorption des Wassers und

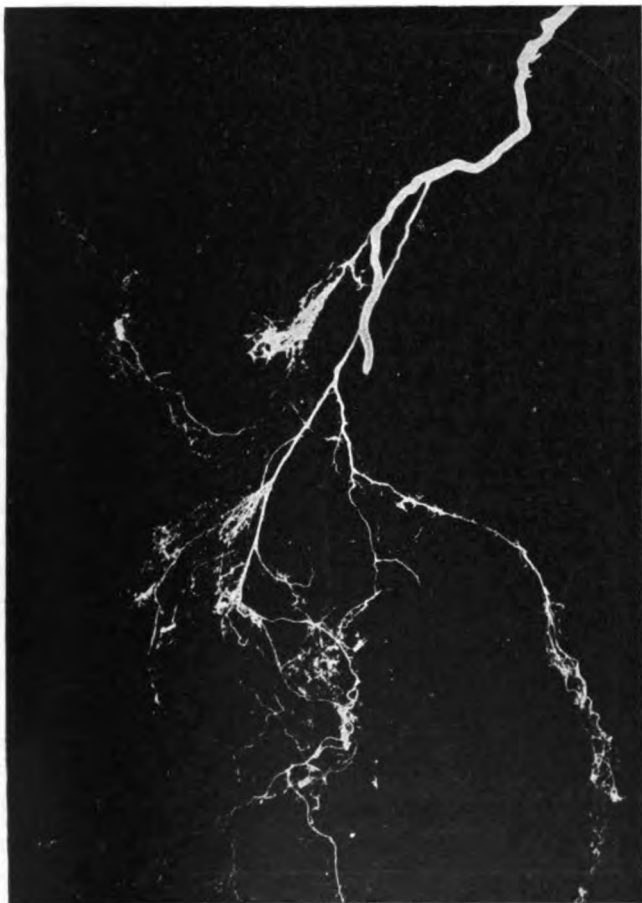


Fig. 7. *Vaccinium Myrtillus* L.

der darin gelösten Salze, sondern auf eine gute Durchdringung des Bodens mit Hilfe endotropher Mykorrhiza. Die Wurzeln sind voll von Pilzen und entbehren der Wurzelhaare. Eine irgendwie bedeutende Wasseraufnahme ist nur an den unverpilzten Spitzen der Wurzeln möglich.

Bei *Vaccinium Myrtillus* liegt also eine intensive Bearbeitung des Bodens unter Zuhilfenahme von *Endophyten* vor.

Fagus silvatica L. (Fig. 8)

Im Gegensatz zu allen extensiv arbeitenden Wurzelsystemen, die ein ausgedehntes Gebiet weniger gut bearbeiten, nützen die intensiven Wurzelwerke ein kleines Bodestück bis zum geringsten Anteile aus.

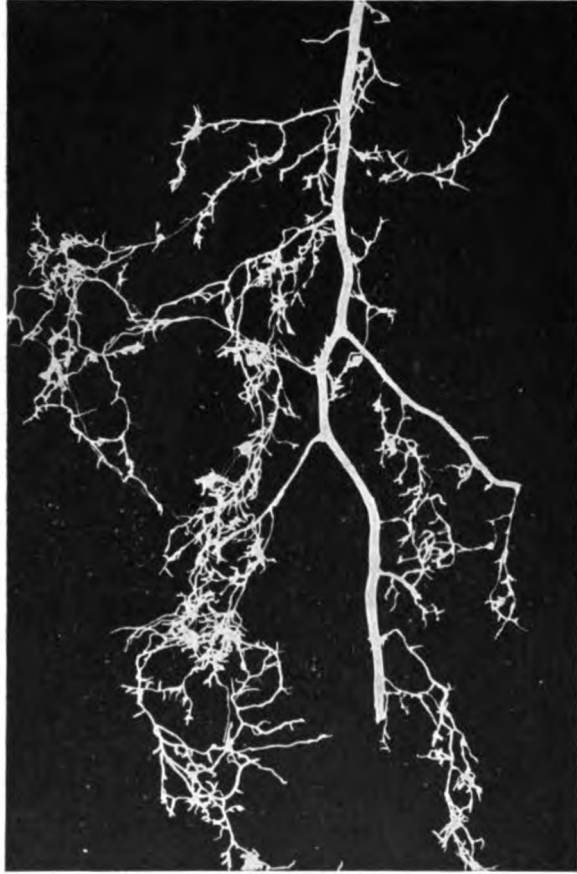


Fig. 8. *Fagus silvatica* L.

Die *intensiv arbeitenden Wurzelsysteme* sind nach BÜSGEN (21) durch folgende Merkmale gekennzeichnet:

- a) Entweder sind die feinen, dicht gedrängten Wurzeln nicht verzweigt, und es ersetzt die Zahl der Wurzeln die Verzweigung.
- b) Oder die *Haarbildung der Wurzeln ist besonders dicht* und dadurch eine gründliche Bodenausbeutung ermöglicht.

- c) Andererseits kann die *Verästelung der Wurzeln sehr groß* sein, die Zahl der Langtriebe aber gering.
- d) Ferner kann eine deutliche *Gliederung* in stark vor-dringende *Triebwurzeln* und in dünne *und* äußerst fein *verzweigte Filzwurzeln* vorhanden sein.

Dieser letztangeführte Typ findet einen guten Vertreter in der Buche, von der überhaupt der Ausdruck „intensive“ Bearbeitung eines Bodens her stammt. Es war BUSGEN, der ihn prägte.

Bei *Fagus* unterscheiden wir deutlich Langtriebe und Kurztriebe. Die Langtriebe erwerben neue Bodenschichten, die Kurztriebe durchflechten sie. Es wäre nun weit gefehlt, wollte man bei diesen dicht gelagerten Wurzeln von einer alleinigen Funktion des Aufsaugens von Wasser schlechthin reden. Denn auch diese Wurzeln sind auf ihrer Oberfläche dicht mit Pilzhypen besetzt. Sie beuten durch Mykorrhiza den Boden intensiv aus, nicht aber durch erhöhte Aufnahme von Nährlösungen. Diese wird allein mehr oder minder von den jugendlichen Lang- und Kurztrieben und von den tiefer streichenden Wurzeln vorgenommen.

Außer den Wurzelhaaren und der Mykorrhiza ist in ernährungsphysiologischer Hinsicht wichtig, daß die Buchenwurzeln zeitweilig Säure ausscheiden (28). Da die einfache Kohlensäure viele Gesteine nicht aufzuschließen vermag, ist es günstig, daß die Buche durch Absondern von stärkeren Säuren sich die notwendigen Nährstoffmengen für kurze Zeit zu verschaffen imstande ist.

Die vorhandene Heterorhizie erlaubt also der Pflanze, die mannigfachsten Standorte zu besiedeln. Sie bezieht die Nährsalze und das Wasser mit Hilfe der tiefer streichenden Wurzeln und kann sich so eine ausgiebige Transpiration und Assimilation neben einem Versorgen durch Pilzfraß leisten.

Sehr große Ähnlichkeit mit den Wurzeln der Buche haben die der Birke, der Linde, Eiche, Cupuliferen und Ericaceen.

Wir sehen daher diese Gewächse wie die Weißbuche, die Haselnuß und Linde mit der Rotbuche vergesellschaftet, jedoch nicht die Birke, für die der Boden an sich geeignet wäre, die aber nicht auf diesem Standort gedeihen kann, weil es ihr an Licht mangelt.

Durch ihre pilzführenden Wurzeln erinnert

Picea excelsa (Lamk.) Link (Fig. 9.)

an die Buche, in deren Bestand eingestreut sie zu finden ist. Beim Vergleich der Wurzeln dieser beiden Bäume fällt auf den ersten Blick die geringere Dichte bei *Picea* auf. Die Wurzeln selbst

pflegen etwas dicker zu sein, besitzen keine Säuresekretion (28), schließen also den Boden nur minimal auf; sie sind aber wie die der Buchen mit ektotropher Mykorrhiza versehen.

Da die jungen Wurzelanteile vor ihrem Verpilzen Wasser resorbieren, so bietet deren Gestalt zusammen mit den Langtrieben einen gewissen Maßstab für die Größe der Wasserdurchströmung. Diese ist hier — analog den Verhältnissen beim *Lycopodium* — nicht so stark wie bei der Buche infolge des Aufbaues des Holzes aus Tracheiden und infolge des xeromorphen Baues der Nadeln.

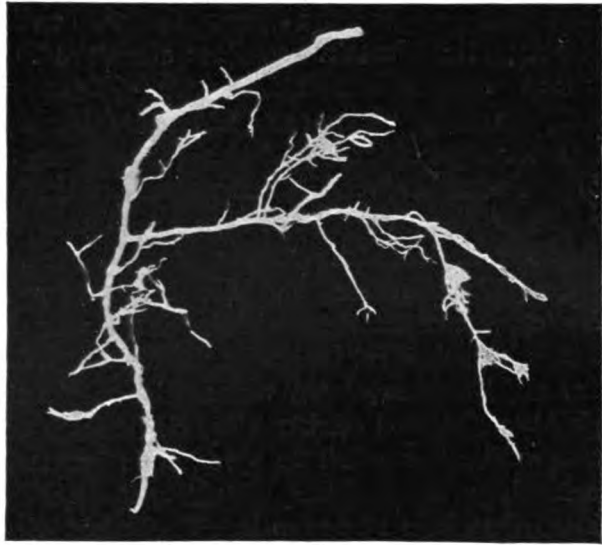


Fig. 9. *Picca excelsa* L.

Interessant ist die Parallele mit *Lycopodium*. Man sieht, daß einige Organisationsmerkmale beiden Pflanzen korrespondierend gemeinsam sind.

Trientalis europaea L. (Fig. 10).

sendet vom feinen Rhizom allseitig gleichmäßige, glashelle, zarte Wurzeln aus. Man ist versucht, auch hier die Mykorrhiza anzunehmen. Da wir aber keine diesbezüglichen Arbeiten unternommen haben, so wollen wir nur die nicht starke Ausbildung des Wurzelwerkes und die mangelnde Verzweigung der einzelnen Fasern hervorheben. Man wird sich über das kümmerliche Wurzelwerk nicht verwundern, wenn man bedenkt, daß der Siebenstern keine sehr großen Blattflächen besitzt, nur wenige Samen aus-

bildet und darum nicht allzu viel Material hinaufzuschicken braucht. Immerhin sind die mit Hilfe einer langen und dichten Wurzelhaarbekleidung hinaufgesandten Mengen von Lösungen so groß, daß durch die Wasserspalten und Epitheme (26) sogar eine Guttation stattfindet.

Da die anderen Pflanzen wie *Luzula pilosa*, *Fragaria vesca*, *Lamium Galeobdolon*, *Pulmonaria officinalis*, *Stellaria holostea*,

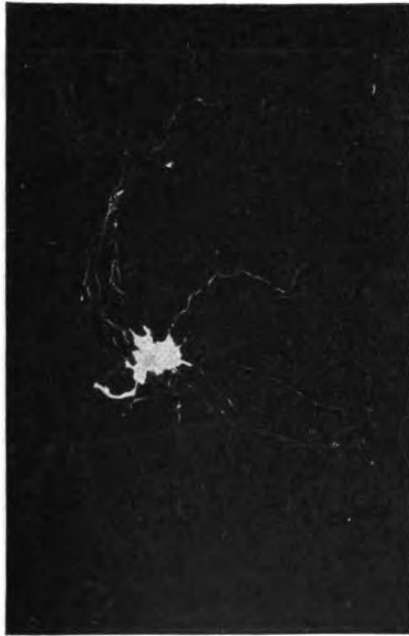


Fig. 10. *Trientalis europaea* L.

Carex digitata und *Milium effusum* nur sehr spärlich in unserem Bestand auftraten und dazu deutlich den Stempel von Kümmerformen trugen, so will ich sie hier nicht eingehender behandeln. Sie waren an dieser Waldstelle förmlich nur „zu Gast“.

Dagegen schienen die *Farne* sich hier heimisch zu fühlen. Von ihnen waren zwei verschiedene Typen vorhanden. Der eine bezieht mit seinem *weil hinkriechenden Rhizom* aus einem großen Areal seine Nahrung (*Dryopteris Phegopteris*). Der andere Typ besitzt ein *gestauchtes*, in die Breite gehendes *Rhizom*, mit dem er einen kleineren Bodenanteil kräftig ausbeutet (*Dryopteris spinulosa*).

Da *Dryopteris Phegopteris* (L.) Christens. nur in wenigen Exemplaren sich vorfand, will ich vornehmlich

Dryopteris spinulosa (Fig. 11)

(Müll.) O. Ktze. subsp. dilatata (Hoffm.) SCHINZ et THELL. behandeln, ein Farnkraut, das hier das größte Kontingent an Individuen stellte.

Der Wurzelstock ist groß, geht ordentlich in die Breite und stößt durch die Krume bis in den Untergrund. Es liegt hier also ein Gewächs vor, das *Oberfläche und Untergrund* gleichmäßig beansprucht. Die Verzweigung des Wurzel-Langtriebes ist reichlich,

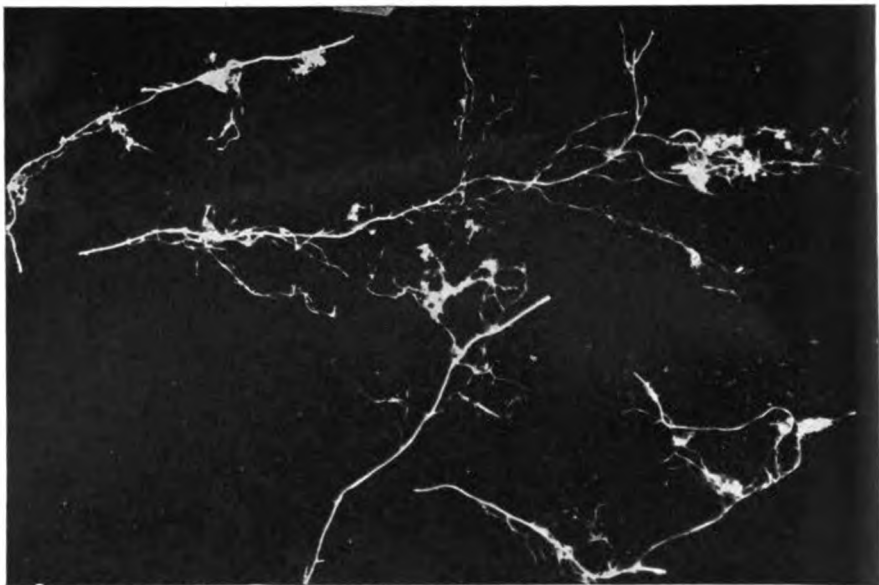


Fig. 11. *Dryopteris spinulosa* L.

die der Nebenwurzeln etwas geringer. Die braunen, sehr langen und dauernden Haare sorgen für große Resorption von Feuchtigkeit. Durch Hydathoden (26) findet Guttation statt; es ist also die Wasserdurchströmung sehr rege.

Wenn wir die Zerteilung des Farnblattes in Betracht ziehen, so wird die Höhe der Transpiration verständlich. Diese ist allerdings im dichtgeschlossenen Walde dadurch erschwert, daß die Luft kaum nennenswerte Strömungen besitzt. Seit den neueren Arbeiten von WALTER (35), NOAK und SIERP (38) ist uns nun bekannt, daß in ruhender Luft fein zerteilte Blattflächen durch Absinken der „Kuppen“ besser transpirieren. Das dürfte für den Farn im dichten Buchenwald eine vorteilhafte Einrichtung sein.

Die hier vorkommenden *Moose* will ich kurz behandeln. Ihr Wachstum und ihre Verbreitung sind an diesem Standort entschieden gehemmt. Infolge der Laubbedeckung und Beschattung konnten sie sich nicht so entfalten, wie es eigentlich dem Nährsubstrat entsprach. Denn von einer Seite reichte ein Fichtenbestand hinein, und damit wäre den Moosen die Existenzbedingung gegeben.

Bekanntlich beuten die Moose nur die Oberfläche ihres Standortes aus. Wie das Aufsaugen von Lösungen außerdem mittels Kohäsionsmechanismen und Membranquellung vor sich geht, möchte ich an dieser Stelle nicht ausführlich behandeln; betont sei aber, daß beides gleichzeitig vorkommt. Daneben gibt es auch Kapillarmechanismen.

Das Hochwachsen von Moosen an Baumstämmen macht uns das gute Nährstoffaufsauge-Vermögen dieser Pflanzen verständlich. Jeder Regenguß schwemmt den Kot der Vögel usw. herab und es ist dann nur funktionsgemäß, daß bei den Moosen besondere Einrichtungen vorhanden sind, mit denen sie dieses Regenwasser aufsaugen, das anfangs besonders reich an stickstoffhaltigen Stoffen ist. Die Notwendigkeit und der Vorteil einer feinen Zerteilung des Blattes der Laub- und einiger frondoser Lebermoose wird uns so verständlich, ferner auch, daß die Laubmoose den thallösen Lebermoosen gegenüber an solchen Standorten stark im Vorteil sind. Wir sehen die letzterwähnten daher hier weit zurücktreten.

Zusammenfassung

Stellen wir nun die Betrachtungen über das Wurzelwerk der behandelten Pflanzen und ihre Beziehungen zum Standort zusammen, so kommen wir zu folgendem Schluß:

Unter der Pflanzenbesiedelung unseres Buchenwaldbestandes finden sich einerseits Gewächse, die autotroph, andere, die vorwiegend mykotroph, schließlich solche, die autotroph und mykotroph arbeiten.

Die *autotrophen Gewächse* durchdringen vorwiegend nur die *Krume*, mit ihrem weithin kriechenden Rhizom (*Trientalis* Ausnahme). Sie neigen also zum *Ausbeuten eines großen Bodenareals*.

Es vergrößert eine dichte Wurzelhaardecke bei den autotrophen Gewächsen stark die Wasser- und zugleich die Nährstoffaufnehmende Oberfläche. Bei ihnen sorgt ferner eine starke Transpiration durch Aufteilen der Blätter, ja eine aktive Entwässerung durch Guttation für eine reiche Wasserdurchströmung

und liefert auch unter so wenig günstigen Nährstoffverhältnissen das Nötige (— erschwerte Ammonsalzaufnahme und Nitratmangel!).

Die Krume, die nach den vorstehenden Untersuchungen reichlichst Ammoniak zu bilden imstande ist, wird Ammonpflanzen als Besiedler führen. Nitratpflanzen werden dagegen fehlen, da die möglicherweise gebildeten Nitrate durch Auswaschen des Bodens sich im Untergrund anhäufen. Es werden die Salpetergewächse stets den Untergrund erstreben.

Unter den autotrophen Gewächsen seien hier die Farne besonders erwähnt. Sie bewirtschaften nicht nur die Krume, wie die übrigen Autotrophen unseres Bestandes, sondern auch den Untergrund, der ja immer eine gute Quelle an Phosphaten, Alkali usw. darstellt.

Die *mykotrophen Pflanzen* unseres Bestandes benützen die *Oberfläche* (*Vaccinium*), daneben *auch* den *Untergrund* (*Fagus*, *Picea*.). Ihr Wurzelwerk ist nur selten so fein wie das der Autotrophen infolge starker Verpilzung.

Der Vorteil der pilzführenden Gewächse besteht darin, daß sie aus relativ kleinen Arealen große Nährstoffmengen beziehen können, dazu solche Stoffe, die ihnen allein durch die Mykorrhiza zugänglich sind. Ferner führt der Pilz die erarbeiteten Nährstoffe seinem Wirt oft in einer Zeit zu, in der dieser sich mit den vorhandenen Wurzelhaaren allein hätte schwer ernähren können.

Ich gehe nun zur

zweiten Bestandsaufnahme

über.

Der jetzt zu behandelnde Standort unterschied sich von dem vorhergehenden, einer Eindellung, durch seine *ebene* Lage. Das Schmelz- und Regenwasser war also nicht imstande, hier so reichlich Humusstoffe und Blattwerk zusammenzuschwemmen wie in einer Bodenvertiefung. Die Pflanzenbesiedelung trug daher einen anderen Charakter.

Auffällig war das Vorkommen von *Neottia nidus avis*. Zwar waren die Nestwurzeln nur sehr kümmerlich, was bei der Lage dieses Standortes nicht gerade verwunderlich ist. Der *Baumbestand* war ein reiner dichter Buchenhochwald. Eigentliches Unterholz und Sträucher waren nicht zu verzeichnen. Nur in einiger Entfernung vom Quadrate stand ein kümmerlich gewachsener Strauch von *Daphne Mezereum* L. Hier hatte sich auch *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn breit gemacht.

Von *Baumkeimlingen* fanden sich:

Fagus silvatica L.

Sorbus aucuparia L.

Tilia cordata Mill.

Carpinus Betulus L.

Acer platanoides L.

Moose konnten sich kaum geltend machen, nur vereinzelt:

Hylocomium splendens (Dillen.) Br. *Polytrichum juniperinum* Willd.

Sch. G.

Von *höheren Pflanzen* war im Quadrate ein buntes Gemenge vertreten. Solche, die in die Tiefe vorstoßen und den Untergrund ausnützen, standen neben den *Mullpflanzen*, von denen aufzuzählen sind:

Neottia nidus avis (L.) Rich.

Anemone nemorosa L.

Asperula odorata L.

Dryopteris Filix mas (L.) Schott

Oralis Acetosella L.

Carex digitata L. (vereinzelt)

Majanthemum bifolium (L.) F. W.

Schmidt

Carex leitet bereits zu den *Untergrund- oder Mineralbodenpflanzen* über:

Anemone Hepatica L.

Pulmonaria officinalis L. var. *obscura*

Stellaria holostea L.

Dumort.

Milium effusum L.

Viola silvestris Lamk.

Lamium Galeobdolon (L.) Crantz

Sanicula europaea L.

Actaea spicata L.

Die Laubdecke war ziemlich stark; die Dicke der Humusschicht änderte sich sehr. Da die Bodenbeschaffenheit also ungleichmäßig war, so wechselte das Vegetationsbild. Im allgemeinen fanden sich die *Mullpflanzen* mehr in Mulden, die anderen Gewächse dort, wo der Mull fester war. Besonders galt das von *Anemone Hepatica* und *Stellaria holostea*.

Interessant ist der Vergleich mit dem vorigen Boden. Wir sehen hier die *Mineralpflanzen*, die dort verkümmerten oder fehlten, auftauchen.

Alles, was beim Behandeln des Wurzelwerkes der Humus- oder *Mullpflanzen* gebracht worden ist, gilt hier gleichfalls. Eine Ergänzung kann noch durch

Carex digitata L. (Fig. 12)

gegeben werden.

Wie alle *Carices* hat auch diese eine Gliederung in Wurzel- und Wurzelkurztriebe. Die Langtriebe sind verhältnismäßig dünn, ihre Zahl ist groß. Die Seitenwurzeln sind ebenfalls fein, wenig verzweigt und nicht sehr zahlreich. Es liegt eine *intensive Bodenbearbeitung* vor, die besonders durch die reichliche, ziemlich

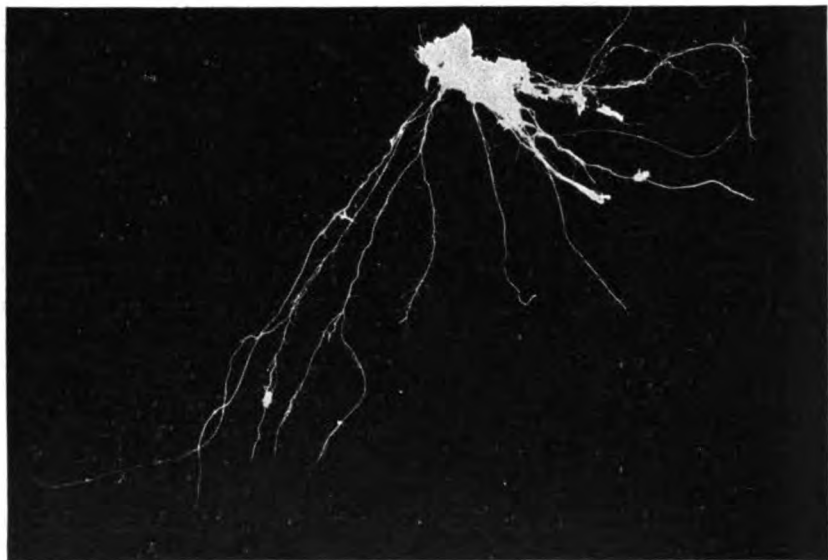


Fig. 12 *Carex digitata* L.

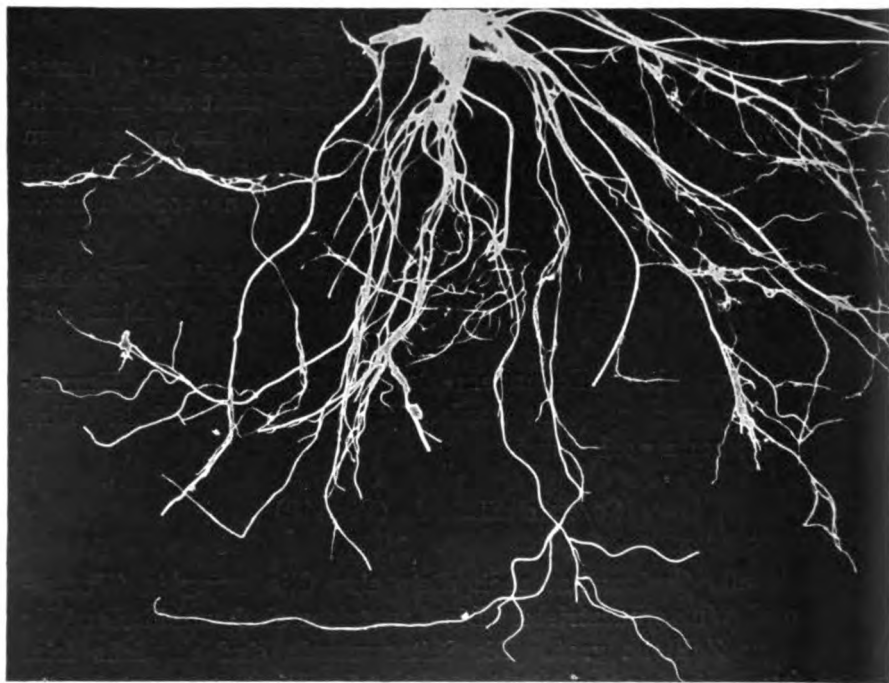


Fig. 13. *Anemone Hepatica* L.

gleichmäßige Behaarung der Wurzeln (27) erhöht ist. Eine rege Wasserdurchströmung zwecks Aufnahme der notwendigen Ammonsalze, die im Mull Ersatz für die fehlenden Nitrate bilden müssen, und aktive Entwässerung durch Guttation sind bemerkenswert.

Carex digitata fand sich an dieser Waldstelle vereinzelt und zwar nur auf Steinen, die mit etwas Mull bedeckt waren. Es lagen anscheinend die Existenzbedingungen für dieses Gras nicht sehr günstig, und wir rechnen es daher auch nicht zu den ausgesprochenen Mullgewächsen. Vielmehr bildet es einen Übergang zu den nun folgenden Pflanzen, die offenbar größere Ansprüche an den Boden stellen, die aber nicht imstande sind, tief zu wurzeln.

Zu ihnen gehören *Anemone Hepatica* und *Stellaria holostea*.

Anemone Hepatica L. (Fig. 13)

sendet von einem kurzen Rhizom verhältnismäßig stark Adventivwurzeln aus, die nur wenig verzweigt, dafür aber in reicher Anzahl vorhanden sind.

Betrachtet man das Wurzelwerk genau, so fallen die starken braunen, sehr langen Wurzelhaare auf, die von großer Lebensdauer sind. Man könnte fast von einem Ersatz der mangelnden Verzweigung durch die starke Behaarung und deren langdauernde Saugfähigkeit sprechen. Allerdings ist trotz der reichlichen Wurzelhaarbedeckung die Pflanze nicht imstande, in einem lockeren typischen Mull sich zu erhalten. Sie stellt größere Anforderungen an das Erdreich, verlangt mehr Mineralien, als im Mull allein vorhanden sind und findet sich daher in reichlicher Menge auf einem etwas festeren Boden vor, in dem natürlich die Versorgung durch die starken Adventivwurzeln unter günstigeren Bedingungen erfolgt. Wasserausscheidung ist bei *Anemone Hepatica* auch zu verzeichnen (26).

Es kommt der Pflanze sehr zustatten, daß sie nicht allzu tief gelegene Stücke des Bodens durchzieht. Nachdem sie Winter über das Laubwerk behalten hat, kann sie schon im frühesten Frühjahr neue Nährstoffe zu ihrer Erhaltung aus den Bodenschichten beziehen, die infolge ihrer höheren Lage früher auftauen. Sie bewirtschaftet also den Boden schon zu einer Zeit, in der die benachbarten Mineralpflanzen noch gar nicht in Konkurrenz treten.

Anemone Hepatica zählt also zu den Gewächsen, die nicht auf dem reinen Mulm gedeihen, sondern mit ihren nicht tiefgehenden Wurzeln höher gelegene Mineralschichten verlangt oder zum mindesten mit Mineralerde gemengte Nährsubstrate.

Stellaria holostea L. (Fig. 14)

besitzt ein weit und seicht streichendes Rhizom oder besser gesagt, einen niederliegenden Stengel, von dessen Knoten feine Langtriebe abgehen. Ihre Verzweigung ist gering. Das ganze Wurzelwerk geht nicht sonderlich in die Tiefe und besitzt gewisse Ähnlichkeit mit dem der Mullpflanzen. Wir sahen jedoch, daß *Stellaria holostea* auf dem ersten Standort nur spärlich in Kümmerformen gedieh,

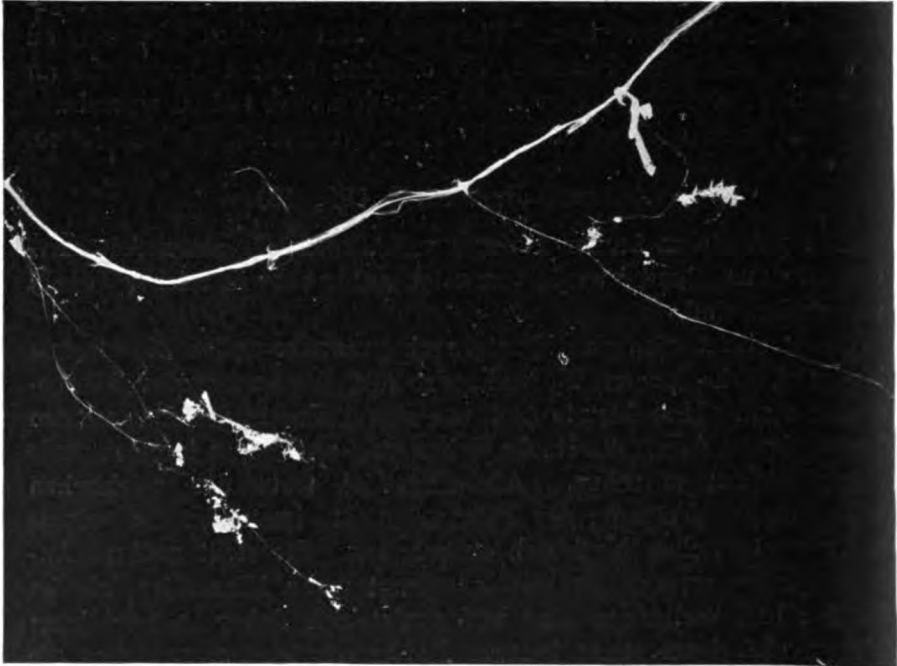


Fig. 14. *Stellaria holostea* L.

was unter anderem wohl seinen Grund in dem mangelnden Vorkommen von Salpeter in humösem Mull hat und in der zu festen Bindung der Ammonsalze an Humuskolloide.

Es wurde schon oben darauf hingewiesen, daß die Humusschicht dieses Quadrates in der Dicke stark wechselte. So können wir mit dem stellenweisen Vorhandensein von mehr mineralischen Nährstoffen in höheren Bodenschichten das Vorkommen von *Stellaria holostea* an diesem Standorte erklären.

Die folgenden Pflanzen besitzen Wurzeln, die mehr in die Tiefe gehen. Zunächst seien noch diejenigen vorgenommen, deren Langtriebe nicht sonderlich stark sind, welche also vielleicht schwerer in größere Bodentiefen vorstoßen.

Milium effusum L. (Fig. 15)

Die Bearbeitung des Bodens erfolgt durch ausgedehnte Langtriebe, an denen reichlichst wenig verzweigte Nebenwurzeln stehen. Ich möchte von einer intensiven Ausbeutung der *oberen und unteren* Bodenschichten sprechen. Die Pflanze kann zwar allein auf dem dicken Mulm gedeihen, jedoch bleibt sie dort sichtlich

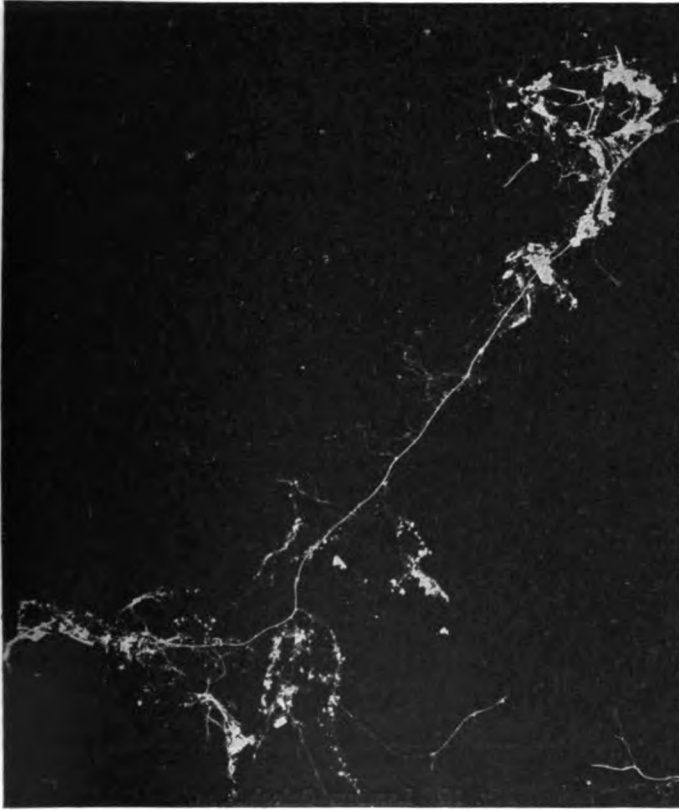


Fig. 15. *Milium effusum* L.

zurück. Erst wenn sich ihr mehr mineralische Nährstoffe zur Verfügung stellen, ist ihr eine gute Existenz gesichert. Der oben erwähnte positive und negative Ausfall der Nitratreaktionen, die mit *Milium effusum* verschiedener Standorte desselben Forstes ausgeführt waren, ist in dieser Hinsicht sehr instruktiv. Es scheint das Vorkommen bzw. Fehlen von Nitraten und *großen* Mengen von resorbierbarem Stickstoff ein bedingender Faktor für das Gedeihen von *Milium effusum* zu sein. Durch die lange und starke Behaarung

der Wurzeln ist die Pflanze imstande, größere Wassermengen aufzunehmen und durch reichliche Guttation (26) eine rege Wasserdurchströmung zu unterhalten.

Lamium Galeobdolon (L.) Crantz (Fig. 16)

Der Naturselbstdruck veranschaulicht uns den Typ des Wurzelwerks. An Langtrieben, die tief in den Boden eindringen, stehen in reichlicher Anzahl Seitenwurzeln, die ihrerseits gut verzweigt sind.

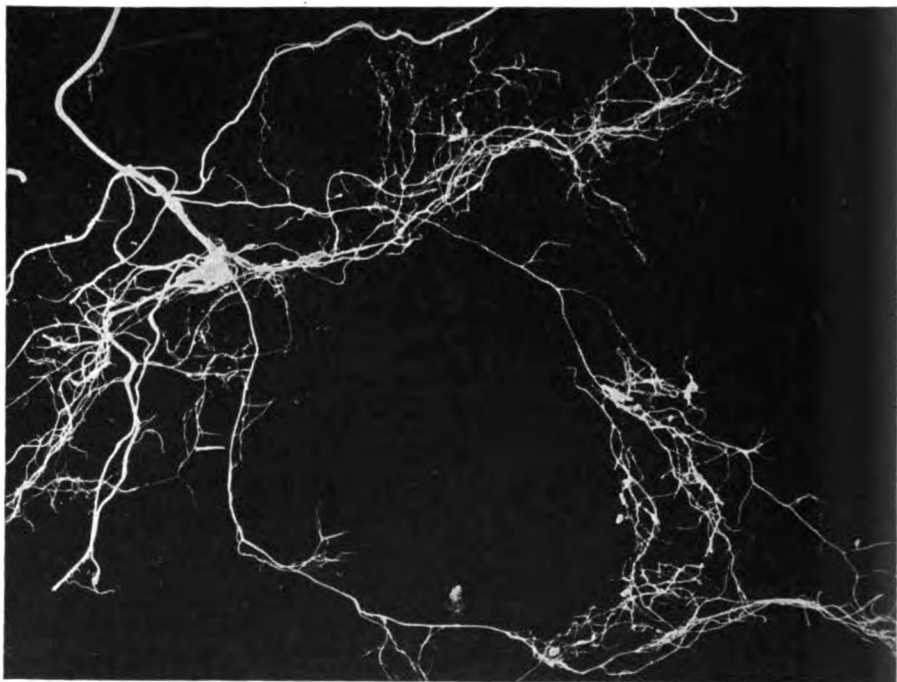


Fig. 16. *Lamium Galeobdolon*.

Ein nicht allzu kleines Bodenareal sowohl in der Krume als auch im Untergrund wird von den Wurzeln durchsetzt

Allein aus dem Mulm kann die Goldnessel auch ihre Nahrung beziehen, dann aber pflegt sie zu kümmern. An dem Standort, wo der Untergrund näher liegt, ist dies nitratsuchende Gewächs besser ausgebildet und blüht reichlicher.

Die Stomata sind meist weit geöffnet und sorgen ebenso wie eine rege Guttation für eine reiche Wasserdurchströmung.

Ähnlich liegen die Verhältnisse für

Pulmonaria officinalis L. var. *obscura* Dumort. (Fig. 17)

Auch hier ist für eine reiche Wasserdurchströmung gesorgt. Nicht nur das Vorhandensein von Wurzelhaaren, das Vorkommen von Spalten zwecks Guttation (26), sondern auch das Verkalken der



Fig. 17. *Pulmonaria officinalis*.

Borstenhaare --- Charakteristikum der Borragineen --- deuten auf reichliche Aufnahme von Mineralstoffen.

Ebenso wie *Lamium Galeobdolon* müssen wir *Pulmonaria officinalis* auf diesen Böden zu den salpetersuchenden Untergrundpflanzen rechnen. Der Wurzelabdruck zeigt, daß von einem nicht allzuweit streichenden Rhizom kräftige Langtriebe entsandt werden, an denen dicht unter ihrer Ansatzstelle die Verzweigung recht spärlich ist, dagegen nach unten zu reichlich wird. Die Hauptverzweigung liegt also unten zwecks Ausnutzung der tieferen Mineralbodenschichten.

Viola silvestris Lamk. (Fig. 18)

besitzt eine tiefstreichende Pfahlwurzel, von der recht dicht verzweigte Seitenwurzeln entsandt werden. Das Bodenareal wird auch oben gut bearbeitet, und so handelt es sich hier um ein Gewächs, das noch Ober- und Untergrund reichlich ausbeutet. Man könnte bei

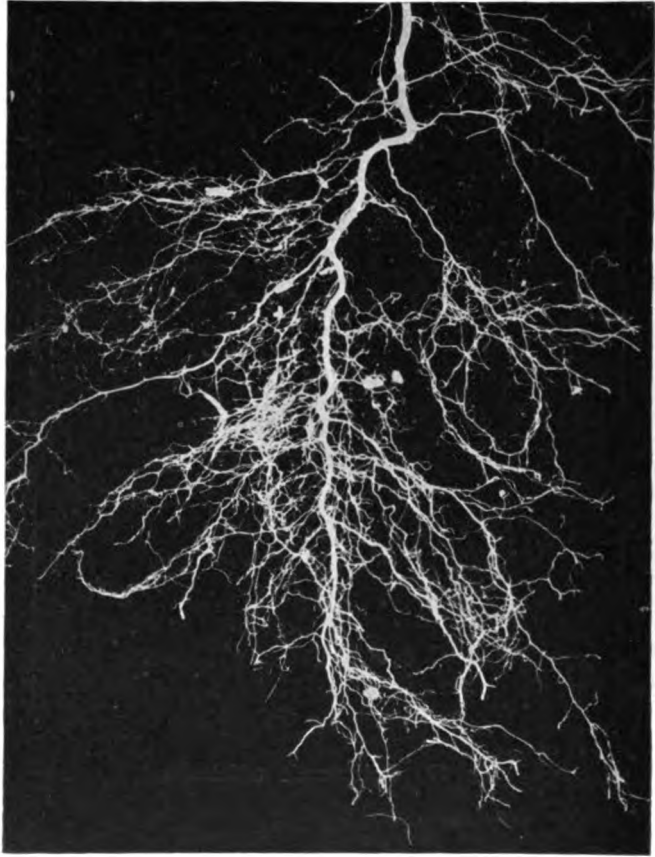


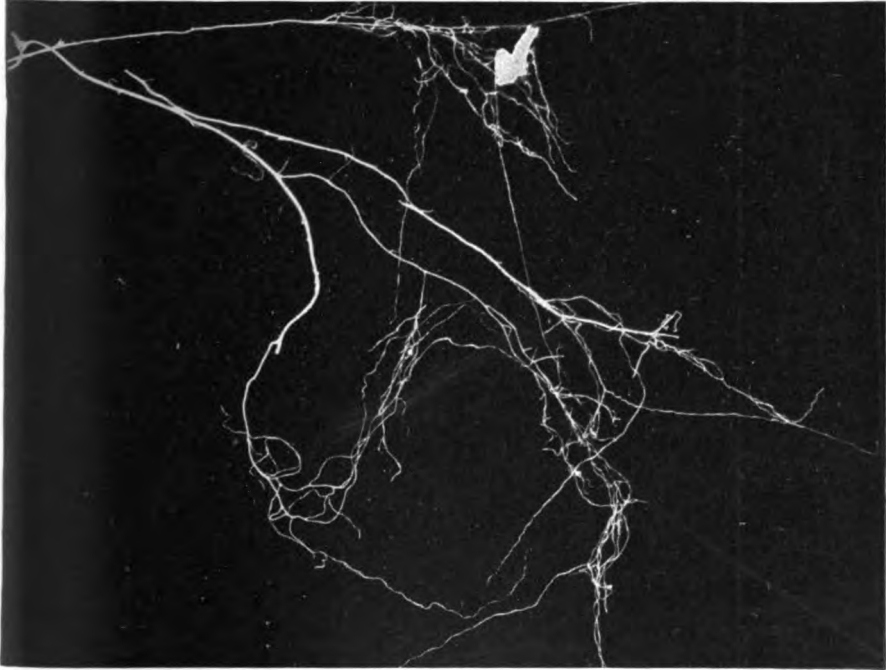
Fig 18. *Viola silvestris* L.

dieser dichten Lage der Wurzeln von einem Saugwurzeltyp im Sinne FREIDENFELTS (22) sprechen. Die Wurzelhaare und Guttation ermöglichen auch bei *Viola* reichliche Wasserdurchströmung (26).

Die bisher behandelten Pflanzen konnten sich, wenn auch nur kümmerlich, allein auf dem Mulm halten. Die nun folgenden meiden ihn mehr.

Sanicula europaea L. (Fig. 19)

Das gestauchte Rhizom führt zahlreiche Adventivwurzeln, die in den Untergrund vorstoßen, und sich erst in einiger Tiefe verzweigen. Es liegt bei *Sanicula* ein mehr extensiver Betrieb unter Ausnützung *tiefer, feuchter* Bodenschichten vor. Dieser Wurzelbau gibt uns eine Erklärung für die vorhandene Guttation (26).

Fig. 19. *Sanicula europaea* L.*Actaea spicata* L. (Fig. 20)

ist ebenfalls ein ausgesprochener Untergrundausbeuter mit reichlicher Guttation. Das überaus starke, mehr breite als tiefe Rhizom zeichnet sich bei Mehrjährigkeit durch seine Zickzacklage aus. Es streicht oberflächlich und sendet wenige, dafür aber recht zäh gebaute Adventiwurzeln in die Tiefe. Weit ausladend bearbeiten sie ein großes Bodenareal extensiv und beuten hauptsächlich mit den an den Spitzen verzweigten Nebenwurzeln den Mineralboden aus.

Wie allen landbewohnenden Ranunculaceen ist *Actaea spicata* eine überaus reichliche Behaarung eigen, „die um so stärker ist, je

feuchter ihr Standort“ (27). Ob die Beziehung zwischen Stärke der Wurzelhaarbildung und Beschaffenheit des Substrates damit zu erklären ist, daß bei lockerer großporiger Struktur der Boden zahlreiche, mit Wasserdampf mehr oder weniger gesättigte Räume be-



Fig. 20. *Actaea spicata* L.

sitzt und diese auf die Wurzelhaarbildung günstig einwirken, das zu beantworten, läßt HESSE (27) frei. Ich möchte nur hinzusetzen, daß feuchte Luft etwas anderes ist als Nährflüssigkeit! Denn jede Pflanze ist wohl bestrebt, die absorbierende Wurzeloberfläche zwecks Aufnahme von gelösten Nährsalzen zu vergrößern. Wenn nun die Nährstoffaufnahme erleichtert ist — falls das Nährsubstrat (nicht

der wasserdampfhaltige Bodenhohlraum!) sehr feucht ist —, könnte die Pflanze ruhig die Behaarung reduzieren, ohne sich dabei zu schädigen. Bei Trockenheit müßte dagegen eine kräftigere Wurzelhaarbildung stattfinden, um die notwendigen Nährstoffmengen zu erlangen (HESSES Untersuchungen an Hydrophyten, 37).

Wenn nun *Actaea* mit der oben erwähnten Eigenart der Ranunculaceen ein Beispiel gibt, das gegen HESSES Versuchsergebnisse spricht, so müssen wir den erklärenden Grund in anderen Momenten suchen, etwa, daß bei *Actaea* die Seitenwurzeln wenig verzweigt sind und lange Wurzelhaare die feine Verzweigung zu „ersetzen“ scheinen. Bei solchen Erklärungen muß man aber immer bedenken, daß die physiologische Erklärung der Bildung sich nicht mit der ökologischen Funktionsgemäßheit decken muß (29). Das auslösende Moment ist oft etwas anderes als die Funktion!

Die dritte Bestandsaufnahme

Während der Boden, der zur ersten pflanzenphysiognomischen Untersuchung verwendet wurde, eine Eindellung darstellte, der zweite zu ebener Erde lag, befand sich der zuletzt bearbeitete am Fuße eines Hanges. Das Regenwasser hatte an dieser Stelle vom Abhange her Blätter heruntergeschwemmt. Jedoch das abermalige Abschlüssigwerden des Geländes in kurzer Entfernung davon hatte eine starke Anhäufung von Blattwerk nicht aufkommen lassen. So ist es erklärlich, daß diese Stelle keinen besonders tiefen Humus besaß. Immerhin war der Boden recht reich an Nährstoffen, da er vom Hange her ständig neue Zufuhr von gelösten Humusstoffen erhielt, die an dieser Stelle in den Boden reichlichst sickerten.

Die Folge der eigenartigen Beschaffenheit des Geländes war ein sonderbares Gemenge von Pflanzen, welche sowohl den Mulm wie den Untergrund ausnützen. Betrachten wir nun den gesamten Bestand von *seichtwurzeln*den Pflanzen, so finden wir hier stellenweise in Hauptdeckung solche, die den Humus bevorzugen neben denen, die einen mineralischen Boden in geringer Tiefe beanspruchen:

Sehr reichlich:

Neottia nidus avis (L.) Rich.
Stellaria holostea L.

Oxalis Acetosella L.
Asperula odorata L.

Weniger:

Majanthemum bifolium (L.) F. W. Schmidt.

Spärlich:

Anemone Hepatica L.

Daneben sind auch Gewächse vertreten, welche *mittlere* und *größere Tiefe* erstreben.

Lamium Galeobdolon (L.) Crantz

Pulmonaria officinalis L. var.
obscura Dumort.

Actaea spicata L.

Lactuca muralis (L.) Less.

besonders
reichlich

<i>Sanicula europaea</i> L.
<i>Convallaria majalis</i> L.
<i>Ajuga reptans</i> L.
<i>Lathyrus vernus</i> (L.) Bernh.

Von Moosen war nur ein Vertreter vorhanden: *Polytrichum juniperinum* Willd. (Kümmerling).

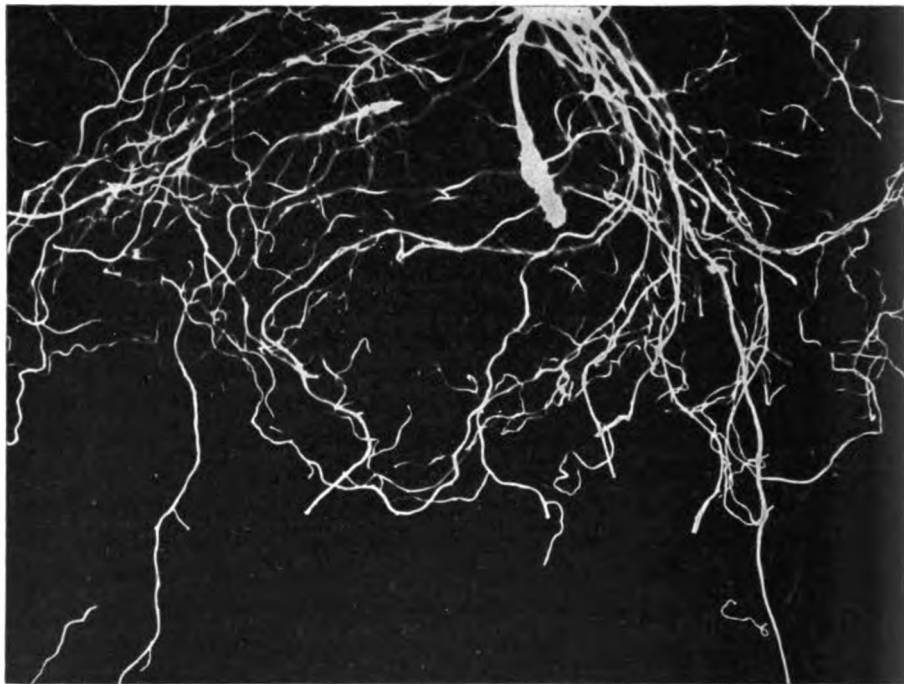


Fig. 21. *Convallaria majalis* L.

Der *Buchenhochwald* war an dieser Stelle unvermischt. *Unterholz* war nicht vorhanden.

An *Baumkeimlingen* gab es viele Weißbuchen neben der vorherrschenden Rotbuche und der vereinzelt stehenden Linde.

Es ist nun nötig, noch einige von den neu hinzugekommenen, sehr zahlreich vertretenen Gewächsen zu behandeln. Als typischer Bewohner des Mulmes stand hier reichlichst

Neottia nidus avis (L.) Rich.

Die Wurzelballen der „Vogelnestwurz“ lagen nur eine Hand breit unter der Laubschicht und waren eiförmig bis rund gestaltet.

Auffallend gegenüber allen anderen Pflanzen ist das Aussehen dieser eigenartigen „Nester“ (Wurzeln). Zur Orientierung über die Lebensgeschichte sei auf die Arbeit „*Neottia*“ von *Fuchs* und *Ziegenspeck* verwiesen (36).

Es überrascht, daß das Maiglöckchen

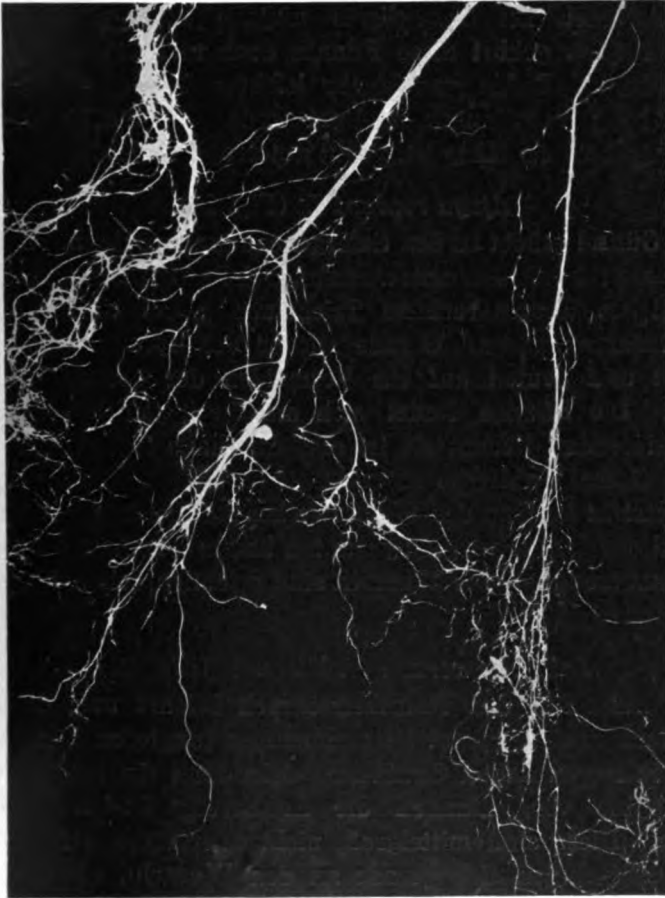


Fig. 22. *Ajuga reptans* L.

Convallaria majalis L. (Fig. 21)

erst in diesem Bestande auftrat, da es uns als leicht ziehbar bekannt ist. Von den verdickten Stellen des Rhizoms werden verhältnismäßig kräftige Adventiwurzeln entsandt, die sich erst nach der Spitze hin stärker verzweigen. Die Nebenwurzeln sind ebenfalls recht stark, und wie die aller Liliaceen im Freilande wenig, auch

nur an den Wurzelspitzen behaart, in Kultur aber zur Entwicklung von mehr Haaren befähigt (27). Die die Tiefe erstrebende Bewurzelung spricht dafür, daß die Pflanze schon zu den anspruchsvolleren gehört; sie sucht im Walde mehr den mineralischen Boden. Da sie aber auch ihre langen Wurzeln in die Breite sendet, gehört sie zu den Ausbeutern des Mulmes *und* des Untergrundes.

Wenn auch bei *Convallaria majalis* Pilzhyphen gefunden worden sind, so gehört diese Pflanze doch nicht zu den strengen Mykotrophen. Dafür spricht ihr leichtes Anwachsen und Vorkommen beim Verpflanzen in Gartenerde. Es macht sogar den Eindruck, als ob sie fähig ist, völlig autotroph zu leben.

Ajuga reptans L. (Fig. 22)

Der Günsel gehört zu den tiefergehenden Gewächsen. Er besitzt ein Wurzelwerk aus Adventivwurzeln, welche zum Teil kurz bleiben, zum Teil als ausgesprochene Triebwurzeln die tiefer liegenden Bodenschichten suchen. Gerade wieder die Spitzen sind stärker verzweigt und deuten auf ein Vermeiden der oberen Mulmausnutzung. Die Pflanze findet sich am üppigsten auf den völlig mineralisierenden Böden; sie ist also durchaus nicht zu den Typpflanzen dieser Waldstelle zu rechnen.

Es besteht im Bau des Wurzelwerkes Ähnlichkeit mit *Sanicula*, nur wird der Boden von *Ajuga* unten besser durchsetzt. — Untergrundausnutzung! — Die Wurzeln sind reichlich behaart, Guttation ist vorhanden (26).

Lathyrus vernus (L.) Bernh. (Fig. 23)

Ein Blick auf den Naturselbstdruck belehrt uns, daß dieses Wurzelwerk anders gebaut ist und anders fungieren muß, als das der bisher besprochenen Gewächse. Hier liegt ein neuer Typ von Heterotrophie vor, nämlich die Ernährung durch Knöllchenbakterien. Diese sind mittelgroß, nicht übermäßig zahlreich vertreten und befinden sich gerade an den Wurzeln, die die oberen Bodenschichten durchziehen. Wir haben in der Frühjahrsblatterbse eine Pflanze vor uns, die die Krume weniger wegen ihrer Nährsalze durchzieht, als wegen des beträchtlichen Luftgehaltes, der im lockeren Mull natürlich größer ist als im festen Untergrund. Die im Boden enthaltene Luft auszubeuten und zwar Stickstoff zu binden, ist die Funktion der Symbionten, die in den Wurzelknöllchen der Leguminosen leben.

Da *Lathyrus vernus* wie alle Leguminosen sehr phosphorbedürftig ist, kann sie allein auf dem Mulm, der diese Nährstoffe

wenig enthält, nur schlecht gedeihen und ist bestrebt, bis in den stets salzreichen Untergrund vorzustößen. Daher gehen vom Wurzelstock Langtriebe hervor, die lange Zeit unverzweigt bleiben. Erst tief unten erfolgt eine Aufteilung in nicht allzu feine Saugwurzeln. Die durch sie ermöglichte Wasseraufnahme aus dem feuchten Untergrund ist so groß, daß *Lathyrus* einer Guttation fähig ist.

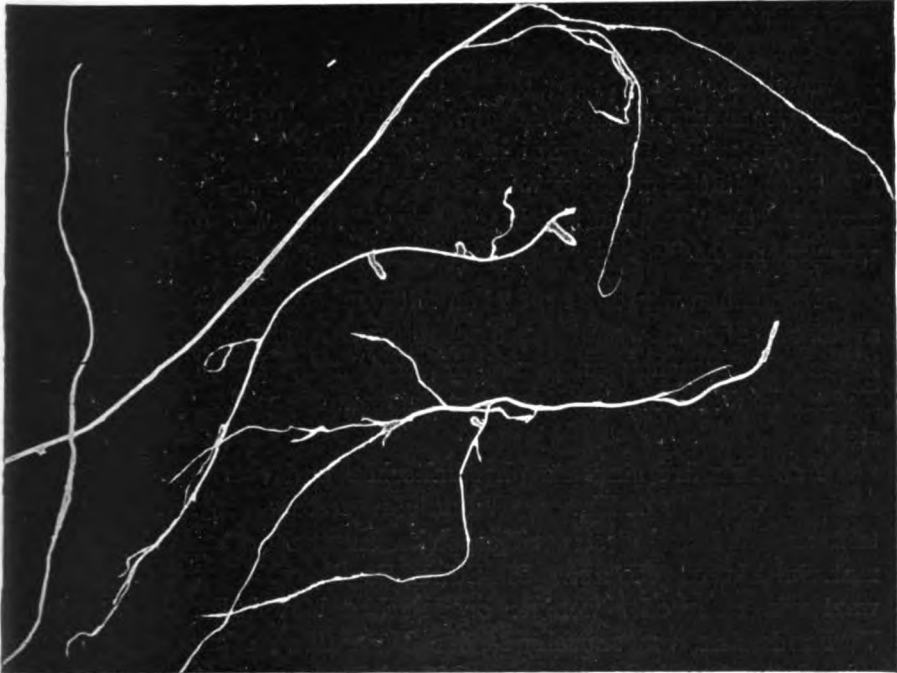


Fig. 23. *Lathyrus vernus* L

Sie ist also einer der wenigen Leguminosen, die Wasserausscheidung zeigt (s. Tabelle über Leguminosen, LIPPMANN, 26).

Zusammenfassung

Wenn wir die Ergebnisse des zweiten Hauptteiles der vorstehenden Arbeit überschauen, dann ergibt sich folgendes Bild:

Der Buchenwaldmulm mit seinem großen Reichtum an organischen stickstoff- und kohlenstoffhaltigen Substanzen bietet für *mykotrophe Gewächse* außerordentlich *günstige Lebensbedingungen*. Die geringe Durchlüftung und die damit verknüpfte Produktion von Hemmungsstoffen verhindern die rasche Ver-

arbeitung von Verbindungen, die gerade den symbiontischen Pilzen, der Mykorrhiza, als günstiges Nährsubstrat dienen. So nur ist es möglich, daß eine ganze Reihe von Mykotrophen im Buchenwaldmulm die Hauptdeckung ausmachen.

Daneben beherbergt dieser Waldmulm von *autotrophen Gewächsen* vornehmlich solche, welche ein fein verzweigtes Wurzelwerk und rege Wasserdurchströmung mit guter Guttation und Transpiration besitzen. Nur durch reichliche Wasseraufnahme sind diese Gewächse befähigt, sich die nötigen Ammonsalmengen zu verschaffen. Da aber diese Salze in nur schwer aufnehmbarer Form wegen ihrer festen Adsorption an Humuskolloide vorliegen, und da vielen Pflanzen im dichten Buchenwald nicht die notwendige Lichtintensität zum Hinaufpumpen großer Wasser- und Nährsalzmengen zur Verfügung steht, so werden die autotrophen Seichtwurzler nur bedingt hier ihren Platz finden.

Nun sahen wir, daß an Stellen mit wenig Mulm andere Pflanzen auftraten als da, wo dieser eine größere Mächtigkeit besitzt. Es liegen die Ursachen nach meiner Ansicht in der Mikroflora des Bodens bedingt, die allerdings erst das sekundäre Agens dafür darstellt.

Das Primäre sind die physikalischen und chemischen Bodenbedingungen. Je dicker der Waldmulm, desto geringer ist der Zutritt an Luft und desto größere Mengen von organischem Nährmaterial häufen sich auf. Die Stärke der Durchlüftung, die Gegenwart von mehr oder weniger organischen Materialien, ebenso das Vorhandensein von säurebindenden Mineralstoffen sind ausschlaggebend für das Vorkommen von Mikrolebewesen. Die klimatischen Einflüsse sind dabei natürlich nicht zu vergessen.

Nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit ist es nun nicht allein die Gegenwart von Lebewesen, die die Eigenart solcher Böden ausmacht und die vorhandene Mikroflora beeinflusst, sondern gerade das Ausbleiben von chemischen Umsätzen und von Lebewesen im Boden, die die mineralisierenden Prozesse im normalen Boden meist zu Ende führen. Dieser Buchenwaldboden ist förmlich nicht zur völligen „Gare“ gelangt. Das gibt seinerseits einer neuen Bodenflora und -fauna die Möglichkeit zur Existenz, weil sich die für ihr Leben nötigen Stoffe anhäufen. Diese Veränderung kann sowohl qualitativ wie quantitativ in die Zusammensetzung der Biozönose eingreifen. Die Bodenvorgänge werden dadurch sowohl „abgeholt“ wie in andere Bahnen geleitet.

Es erscheinen Gewächse, welche die organischen Stoffe des Bodens durch Mykotrophie ausbeuten und auch solche, die durch ein weit verzweigtes Wurzelwerk die geringen noch zur Verfügung stehenden anorganischen Nährsalze aus dem Mulm mittels großer Mengen von Flüssigkeit aufnehmen und „eindampfen“.

Literaturbesprechung

Bodenbakteriologie

Aus dem eingangs erwähnten Grunde ist bei der Behandlung speziell des ersten Hauptteiles der vorliegenden Arbeit nicht viel Literatur berücksichtigt worden. Diese soll daher im folgenden teils kursorisch, teils eingehend behandelt werden.

Aus älteren Jahrgängen, etwa um 1889 herum, finden wir bodenbakteriologische Arbeiten in verhältnismäßig reichlicher Anzahl. Da ihnen aber ganz andere Fragestellungen zugrunde liegen und diese zum Teil schon mehrfach überholt worden sind, will ich sie an dieser Stelle nicht erörtern. Sie konnten mir wenige Ergänzungen geben.

Dagegen sollen Untersuchungen folgender Autoren aus zumeist späteren Jahrgängen hervorgehoben werden: BEIJERINECK (17, 51, 60), WINOGRADSKY (52, 54), WINOGRADSKY und OMELIANSKY (53), WEIS (55), MICULA (56), SCHLOESING (57) und SCHÖNBRUNN (59).

Manche meiner Ergebnisse stimmen mit denen der erwähnten Verfasser überein, zumeist auf Grund von untereinander unabhängigen Untersuchungen. So hat WINOGRADSKY schon 1895 behauptet, daß nitratbildende Bakterien unter Beisein von organischen Verbindungen, u. a. im Humusextrakt, aus nitritfreien Medien nicht isolierbar sind und in nitrithaltigen Lösungen ihre Wirkung nicht begünstigt wird. Liegen hier nicht nahe Beziehungen zu meinen Ergebnissen vor, die ätherlösliche Humuskomponenten meines Buchenwaldes als nitrifiziererfeindlich erwiesen?

Meine Untersuchungsergebnisse über Nitrifikation stehen ferner in großem Zusammenklang mit WEIS' Arbeiten von 1910. Nach seiner Ansicht scheint im Waldrohhumus, wie er ohne Eingriff des Menschen gebildet und abgelagert wird, die Salpeterbildung gänzlich ausgeschlossen, während eine Kalkbeimischung im Buchenrohhumus (Trockentorf) unter günstigen Verhältnissen eine intensive Salpeterbildung hervorrufen kann. Wie weit aber meine Resultate durch ihre Einschränkungen von diesen differieren, ist aus den oben gebrachten Ausführungen (s. I. Hauptteil meiner Arbeit) ersichtlich.

Interessant ist weiterhin die Feststellung von BEIJERINECK, daß organische Substanzen von Nitratbakterien gut vertragen werden.

dieselben jedoch dabei ihr Nitrifikationsvermögen verlieren und zu scheinbar gewöhnlichen Saprophyten werden.

Die aus den letzten Jahren (1923/27) stammenden Arbeiten von WITTICH, HÜTTIG, DIELS, MELIN und FURRER verdienen im folgenden ausführlich behandelt zu werden. Sie liefern wertvolle Stützen für die aus meinen Untersuchungen gefolgerten Schlüsse. WITTICH und HÜTTIG ergänzen den ersten Hauptteil meiner Arbeit; DIELS, MELIN und FURRER den zweiten.

Nach Beendigung der praktischen Ausführungen meiner bodenbakteriologischen Untersuchungen wurde ich von forstlicher Seite auf eine damals erst vor einigen Monaten erschienene Arbeit von WITTICH (30) aufmerksam gemacht.

Es sei erwähnt, daß obiger Verfasser mit dem Hohenlühbichower und Biesenthaler Kiefernwaldsandboden gearbeitet hat. Sein Ziel war, festzustellen, „wie weit es möglich ist, durch intensive Bearbeitung des Bodens den Zustand des Waldes und die Wirtschaftsführung zu beeinflussen“. Er hoffte, damit eine grundlegende Klärung waldbaulicher Fragen geben zu können.

Während ich an dieser Stelle WITTICHs Abhandlungen bezüglich der waldbaulichen Problemstellungen und Auswertungen stark außer Acht lassen will, da diese wenig in den Rahmen meiner Betrachtungen gehören, werde ich das Kapitel über „die Entwicklung und Möglichkeiten der bakteriologischen Methoden in ihrer Anwendbarkeit für die Forstwirtschaft“ besonders eingehend behandeln. „Viel umstritten, aber trotzdem bis heute am meisten angewandt, sind die Methoden des deutschen Bakteriologen REMY (58), der spezifische Nährlösungen mit einer bestimmten Menge Boden impfte, die Bakterien eine gewisse Zeit arbeiten ließ und dann die Produkte ihrer Tätigkeit auf rein chemischem Wege feststellte.“

Da sich nun in vieler Hinsicht WITTICH sehr scharf gegen diese Arbeitsmethode ausspricht, ich aber auf dieser meine Untersuchungen aufgebaut habe, so sehe ich mich gezwungen, zu des Verfassers Äußerungen Stellung zu nehmen und die Berechtigung meines Verfahrens darzulegen.

WITTICH schreibt: „Die REMYschen Methoden fußen auf der Annahme, daß die Menge der gebildeten oder verbrauchten Stoffe von der *Zahl* der *ursprünglich* vorhandenen Bakterien abhängt.“ Man muß dem Verfasser einerseits beistimmen, wenn er behauptet, daß sich diese Auffassung „in vielen Fällen“ als irrig erweist; denn die Bakterien vermehren sich in der Nährlösung teilweise derartig schnell, daß eine Abhängigkeit zwischen ihrer ursprünglichen An-

zahl und den von ihnen erzeugten chemischen Produkten nicht feststellbar ist.

WITTICH hebt aber nicht diejenigen Fälle hervor, in denen die oben gebrachte Annahme unbedingte Gültigkeit beansprucht.

Der eine wäre der, daß man von *sehr kleinen Mengen Impfmateriale* ausgeht und mit solchen Bakterien arbeitet, die *in geringer Zahl* im Boden vorkommen und unter noch so günstigen Existenzbedingungen nur langsam das Nährsubstrat chemisch umsetzen und sich *langsam vermehren*.

Diese Versuchsbedingungen sind z. B. bei den Ammonisationsuntersuchungen von ARND (39) gar nicht gewahrt worden. ARND hätte mit sehr wenig Erde, also mit weit weniger als 0,1 g arbeiten müssen (er wandte 0,1—5 g Impferde an!), um für die *rasch arbeitenden* und sich schnell vermehrenden Ammonbakterien Unterschiede in den Quantitäten ihres Stoffwechselproduktes zu erhalten. Die Ergebnisse würden mit langsam arbeitenden Mikroben, etwa Nitrifizierern, in dieser Hinsicht weit besser ausfallen.

Noch eine andere Versuchsanordnung würde es ermöglichen, aus den Quantitäten der in einem elektiven Nährboden erzeugten chemischen Produkte Rückschlüsse auf die Menge der ursprünglich vorhandenen Bakterien zu ziehen. Man muß nämlich Versuchskulturen (auch bei rasch arbeitenden Mikroorganismen zulässig) *mit verschieden großer Impfmenge* — mit sehr geringen beginnend und ständig wachsend — und mit einer *gut arbeitenden Impferde als Parallele* ansetzen. Eine weitere Bedingung ist ein erstes Prüfen der Kulturen schon nach wenigen Tagen Bebrütung und ständiges Wiederholen der Kontrolle in nicht zu großen Zeitabständen. Dabei wird man sehr gut das Arbeitsvermögen der *ursprünglich* vorhandenen Bakterien beobachten können, und man gewinnt zugleich einen Maßstab, wie der zu untersuchende Boden im Vergleich zu einer gut arbeitenden Erde sich verhält.

Mit dieser Versuchsanordnung erhielt ich recht übersichtliche Resultate, die Rückschlüsse mancher Art zu ziehen gestatteten, etwa ob viel oder weniger Bakterien im Vergleich zur normalen Erde vorhanden waren, ob hemmende Wirkungen vorlagen usw.

Allerdings wird man die mit der REMYschen Methode erhaltenen Resultate über die Lebensäußerungen gewisser Bakterien nicht ohne weiteres auf den natürlichen Wildboden übertragen dürfen. Denn durch Zugabe von elektiver Nährlösung zum Naturboden werden die Erdverhältnisse wesentlich verändert und damit die Existenzbedingung für die eine Art von Lebewesen sehr begünstigt, für viele

andere dagegen benachteiligt. So wird man, wenn Resultate negativ ausfallen, nicht sofort behaupten dürfen, daß das betreffende Lebewesen im natürlichen Boden überhaupt nicht vorkäme, sondern es muß zuerst nachgeforscht werden, ob vielleicht andere Mikroben das Stoffwechselprodukt des gesuchten Bakteriums verarbeiten, ob Lebewesen die gesuchten aufzehren, ob hemmende Stoffe das Nährsubstrat für das Bakterium ungünstig gestalten usw.

Es ist m. E. die REMYSche Methode zur Feststellung der Nitrifikationsfähigkeit eines sauren Bodens durchaus nicht unbrauchbar wie WITTICH behauptet, sondern im Gegenteil sehr geeignet, bis zu den feinsten Strichen das Bild einer Bodenbiozönose zu entwerfen, wofern nur der Bodenbakteriologe sie richtig anwendet und logisch aus den Ergebnissen folgert. „Nach TEMPLE (40) ist organischer Stickstoff in saurer Erde viel schneller nitrifizierbar als Ammoniumsulfat, so daß er bei Nitrifikationsversuchen mit ammonhaltigen Nährlösungen negative Resultate erhielt, wo im Boden in Wirklichkeit eine lebhaft Salpeterbildung vor sich geht (30).“ Dieser Befund ist mir nicht verwunderlich und besagt noch nicht genug über die Unbrauchbarkeit der REMYSchen Methode zur Feststellung der Nitrifikationsfähigkeit eines *sauren* Bodens. Denn erstens ist es ganz klar, daß bei Vorhandensein von organischem Stickstoff die Erde zunächst durch die Ammoniakbildung neutralisiert wird, die doch in saurem Substrat kräftig verläuft (s. I. Hauptt. m. Arb.: Ammonifikation). Dann finden die Nitritbakterien die notwendigen Ammonsalze und eine günstigere Bodenacidität für ihre Entwicklung vor, so daß sie gut arbeiten können. — Ammonsulfat als Nährsubstrat den Nitrifizierern zu geben, ist denkbar ungünstig. Der Nachteil besteht nämlich darin, daß es den Boden sauer macht. Ammoniummagnesiumphosphat ist dagegen am geeignetsten, da es im Boden weder starke Säuren, noch Basen bildet. Gibt man noch Alkali im Überschuß in Form von schwerlöslichen Karbonaten zu, so werden Nitrifizierer, falls sie im natürlichen Wildboden überhaupt vorkommen, gewiß nach genügend langer Bebrütung durch Nachweis ihres Stoffwechselproduktes feststellbar sein, und damit wäre die Brauchbarkeit der REMYSchen Methode auch in diesem Falle erwiesen.

WITTICH glaubt, die REMYSche Methode nicht zur quantitativen Bestimmung verwenden zu können; aus welchem Grunde, ist nicht ersichtlich. Wohl muß man dem Urteil namhafter Bakteriologen beistimmen, daß die quantitative Auswertung nur bedingt angebracht ist.

Bei sinngemäßer Anwendung, d. h. bei Verwendung von nötigen Kontrollkulturen, die dann in Abzug zu bringen sind, erhält man aber beweiskräftige quantitative Analysenresultate. Es müssen allerdings alle Komponenten, die das Endresultat stören könnten, stets beim Ansetzen der Kulturen in Betracht gezogen und schließlich völlig beseitigt werden. So müßte beispielsweise, um ein klares Bild von der Arbeit des *Azotobacter* zu erhalten, stets mit diesem Bakterium in Reinkultur gearbeitet werden. Mit *Azotobacter* in Rohkultur bringt man ein buntes Gemenge von anderen Lebewesen hinein, etwa Hemmungsstoffe beseitigende Bakterien und so weiter, so daß dadurch die Weiterentwicklung des *Azotobacter* nur unklar verfolgt werden kann. In solchen Fällen würde ich mit WITTICH allerdings eine quantitative Bestimmung bedingt ablehnen.

Es ist nach meinem Dafürhalten die REMYsche Methode diejenige, die den besten Einblick in die Zusammenhänge der Mikrolebewelt zu tun gestattet, jedoch nur bei sinngemäßer, vorsichtiger Verwendung unter Benützung von Parallelversuchen mit gut arbeitender Impferde. Dabei kann aus dem Vergleich der *Geschwindigkeit des Eintritts der Reaktionen* und aus der *Stärke* derselben, wenn die Versuche nur zu gleichen Zeiten ausgeführt werden, ein Rückschluß auf die Verhältnisse im zu untersuchenden natürlichen Boden gezogen werden.

WITTICH hat für seine Untersuchungen die Methode der Amerikaner STEVENS und WITHERS benutzt. Er verwandte die Erde selbst als Nährboden. „Um ein klares Bild über die während eines bestimmten Zeitraumes im Boden gebildeten aufnehmbaren Stickstoffverbindungen zu erhalten, ist es nötig, die Bakterien unter möglichst natürlichen Verhältnissen arbeiten zu lassen, aber so, daß weder eine Auswaschung der gebildeten Stoffe, noch eine Aufnahme durch Kulturpflanzen erfolgen kann, daß also *alle* gebildeten Nährstoffe durch die Analyse erfaßt werden. Um dies zu erreichen, ging man dazu über, Böden, von denen man zuvor eine Probe analysiert hatte, in Glasgefäßen eine Zeit lang arbeiten zu lassen, erneut zu analysieren und auf diese Weise die neu gebildeten oder verbrauchten Stoffe festzustellen.“

Es ist von vornherein klar, daß die mit dieser Methode erhaltenen Zahlen genau so wenig wie die der behandelten REMYschen ohne weiteres auf die natürlichen Verhältnisse übertragbar sind. Da die Konkurrenz der grünen Pflanzen und das Wandern von Nährstoffen nach unten durch Auswaschen ganz fortfällt, die etwa

gebildeten Nitrates also angehäuft werden, wird man mit der Methode von STEVENS und WITHERS die Tätigkeit etwa vorhandener Denitrifizierer und Salpeterverarbeiter zu hoch finden können. Auch ist es möglich, daß bei dieser Versuchstechnik eine sehr schlechte Nitrifikation festgestellt wird, wenn die Entwicklung der Denitrifizierer durch die Ansammlung von Salpeter begünstigt wird.

Eine wirklich kritisch angewandte REMYSche Methode erlaubt die *Einzelprozesse* besser zu erfassen, während dieselben bei der STEVENS-Methode nie aus dem Komplex herausgelöst werden. Die letzterwähnte Methode wird den Gesamtkomplex auch nur scheinbar bringen, weil sie die Verhältnisse eines *Gleichgewichts* wiedergibt. Immerhin wird sich nach dieser Methode ein Boden, der Denitrifizierern ungünstige Existenzbedingungen bietet, gut untersuchen lassen und ein richtiges Bild von der Nitrifikation abgeben. Im übrigen müssen die Ergebnisse dieser Methode ebenfalls mit kritischer Vorsicht ausgewertet werden.

WITTICHS Untersuchungsergebnisse betreffs *Nitratbildung* im Kiefernwaldsandboden lauten: „Bei weitem stärkste Nitratbildung erfolgt in der oberen, 10 cm starken Schicht“, sicher infolge besserer Durchlüftung. „Die Nitratbildung nimmt nach unten stark ab. . . . die Versuchsreihe zeigt von der jüngsten bis zur ältesten Kulturfäche eine durchaus *ungestörte, lebhaft*e Nitratbildung . . . Die Tabellen zeigen eine ziemlich starke Nitrifikation, die man in derartiger Stärke nach den bisherigen Anschauungen auf diesen kalkarmen Sandböden nicht vermuten konnte.“ Ich möchte in diesem Zusammenhang auf die Bodenflora aufmerksam machen, um damit eine Erklärung für die vorhandene gute Nitrifikation zu geben.

Das Vorkommen von Gräsern wie *Agrostis flexuosa*, *Weingärtneria canescens* etc. weist auf eine Durcharbeitung des Bodens durch das Wurzelwerk und eine damit verbundene bessere Durchlüftung hin. Daß die untersuchten Kiefernwälder trocken sind, wird durch das Vorkommen der xerophilen Gräser bezeugt. Aride Böden besitzen nun bekanntlich eine Eigenschaft, auf die schon RAMANN (41) aufmerksam gemacht hat. Sie saugen nämlich die konzentrierteren Bodenlösungen *von unten nach oben*. Die Folge einer solchen Erscheinung ist das Erhalten basischer Stoffe von unten her. Kommt noch das Arbeiten der Wurzeln des Grasbestandes hinzu, so ist durch die bessere Durchlüftung ermöglicht, daß die stickstoffhaltigen Bestandteile besser verrotten und damit eine Quelle von Stoffen für die Nitrifikation geben.

Wenn dagegen das Klima feucht ist (und Schweden ist feuchter), dann liegen die Bodenverhältnisse ganz anders. Es werden im Gegenteil die im oberen Boden vorhandenen Nährstoffe nach unten gewaschen. Die Verhältnisse machen sich dann auch in der Bakterienflora geltend, und die Ergebnisse einer unterbundenen Nitrifikation schwedischer und dänischer Forscher erhalten somit ihre Richtigkeit (HESSELMANN, WIEDEMANN, OLSEN). Da die Bodenverhältnisse und Klimaten bei den einzelnen Verfassern, WITTICH (30) einerseits und HESSELMANN (42), WIEDEMANN (43) andererseits ganz verschieden liegen, dürfen also die Ergebnisse nicht ohne weiteres verglichen werden.

WITTICHS Nitrifikationsergebnisse lauten an einer anderen Stelle: „Es findet sich die stärkere Nitrifikation auf Böden mit hohem Feinsandgehalt Der günstige Wasserhaushalt dieser Böden“ (unterlagerte, undurchlässige Mergelschicht!) „scheint die Nitrifikation entscheidend zu beeinflussen.“ Diese Sätze möchte ich damit erklären, daß das Hochsaugen von Nährlösungen vielleicht mittels Festhalten in kapillaren Räumen stattfindet, daß dabei ferner die Feldspate, also die basischen Körper des Sandes, stärker angegriffen werden und damit das Nährsubstrat für Nitrifizierer besonders günstig gestimmt wird.

Daß tatsächlich neben der geringen Bestreuung des Bodens mit Laub die Wasserverdunstung, also das Hochziehen von Bodenlösungen von Einfluß auf die Nitrifikation ist, das zeigen folgende mit uns übereinstimmende Sätze: „Auf den am schwächsten beschirmten Flächen findet die stärkste Nitrifikation statt, während sie mit zunehmendem Schirm erheblich nachläßt.“ An unsern Buchenwald mit dichtem Moospolster erinnern noch andere Stellen der Arbeit: „Die einzige unbearbeitete Fläche, auf der *fast keine Nitrifikation* festzustellen ist, finden wir anscheinend als *Folge des starken Schirmes*.“

Alle bisherigen Angaben von WITTICH über Nitrifikation erstrecken sich auf die Untersuchungsergebnisse der Hohenlubbichover Sandböden, die einem durchweg reinen Grastyp angehören.

Die von obigem Verfasser untersuchten Böden mit Auflagehumus trugen eine mäßige Beerkrautdecke und besaßen gesteigerte Acidität auf bearbeiteter Fläche. „Trotz dieser hohen Acidität eine auffallend lebhafte Nitrifikation auf der bearbeiteten, eine gänzliche Stockung auf der nichtbearbeiteten Fläche!“ Das deckt sich mit den

Feststellungen HESSELMANNs (42), daß dort, wo eine starke Humusschicht liegt, eine Lichtung allein keine Salpeterbildung hervorrufen kann. . . . Auf dem Grastyp ist der Humus von Natur aus mit dem Mineralboden vermischt und in diesem Zustand für eine gegen die Nitratbakterien tödlich wirkende Erhitzung anscheinend gänzlich geschützt.“ Diesen Gedankengang schränkt WITTICH in folgenden Sätzen ein: „Die Gefahr einer Unterbindung der Nitrifikation durch Austrocknung und hohe Hitzegrade scheint tatsächlich nur da vorzuliegen, wo Auflagehumus, der leicht völliger Austrocknung unterliegt, in *größerer Mächtigkeit* vorhanden ist.“ Weiter vertritt er die Ansicht, daß „nur die allmähliche Zugabe von Humus, nur die Vermischung geringer Mengen mit dem Mineralboden eine Beschleunigung der Nitrifikation hervorrufen kann, während die Zugabe größerer Mengen von saurem Humus . . . durch Steigerung des Säuregrades im Boden theoretisch die Nitrifikation ganz unterbinden mußte.“ Ich möchte hierzu bemerken, daß bei Zugabe von Humus durch das *Umstechen* der von WITTICH bearbeiteten Böden besonders die Durchlüftung gebessert worden ist, so daß nicht nur die Salpeterbildung begünstigt wird, sondern auch die Zerstörung der Hemmungsstoffe.

WITTICH findet ferner, daß Trockentorfzusatz zu einem *guten* Boden bis zu einem gewissen Grade die Salpeterbildung erhöht. Das erscheint mir recht verständlich. Denn die Trockentorfe sind meist reich an Stickstoff und der gute Boden selber enthält außerdem die die Hemmungsstoffe des Trockentorfes beseitigenden Bakterien (s. I. Hauptt. m. Arb.: Nitrifikation).

Von einer gewissen zugegebenen Trockentorfmenge ab erhielt WITTICH keine Nitrifikationssteigerung, sondern einen Abfall derselben. Ein Kalkzusatz wirkte wohl steigernd, aber der Boden kam nicht auf die alte Höhe des Salpeterbildungsvermögens. Ich würde da doch annehmen, daß der zugegebene Kalk die Trockentorfbestandteile fast völlig in eine schwerer aufnehmbare Form übergeführt hat, zumal ein Trockentorfzusatz, welcher ohne Kalk eine wesentliche Steigerung hervorgerufen hat (370 mg Gesamt- NO_3 je kg Trockensubstanz), nach Arbeiten mit kleinen Mengen Kalk fast dieselben verhältnismäßig niedrigen Zahlen (133—140 mg NO_3) gab wie der ursprüngliche Boden ohne Humus- und Kalkzusatz (188 mg NO_3). Der Differenz zwischen 133 und 188 darf nicht ein zu großer Wert beigelegt werden, da sie innerhalb der Fehlergrenze in Anbetracht der Resultatsdifferenzen liegt, die WITTICH bei ein- und demselben

Boden erhalten hat (z. B. 251—330 mg; also Differenz von fast 80 mg).

Die *Zugänglichkeit* der Stickstoffquellen ist ein sehr wesentlicher Faktor bei der Beurteilung der bakteriologischen Vorgänge. WITTICH scheint aber diese Tatsache übersehen zu haben und kann nur bedingt die Sätze aufrecht erhalten: „Hier ist durch den Kalkzusatz die Salpeterbildung sogar herabgesetzt worden Man scheint zu dem Schluß berechtigt zu sein, daß auch eine plötzliche Veränderung der Reaktion von der sauren zur neutralen bzw. alkalischen Seite hin eine Schädigung der an saures Substrat gewöhnten Bakterien, bestimmt aber keine Förderung ihrer Tätigkeit hervorrufen kann.“

Hatte WITTICH bisher mehr die offenen und bearbeiteten Waldpartien behandelt, so geht er nun zu dem Boden eines *geschlossenen*, 76jährigen *Stangenholzes* über. Seine Ergebnisse decken sich hier mit den unseren, denn *Nitrifikation* findet er dort *nie*. Eintretende Lichtung erhöht die Nitratproduktion. Er kommt dabei zu folgendem Schluß: „Der Lichteinfall, die Wärmezufuhr scheinen also entscheidend für die Nitrifikation zu sein, demgegenüber der Einfluß der Bodenbearbeitung augenscheinlich etwas in den Hintergrund tritt. Die Wirkung des Lichteinfalls läßt sich durch die Bearbeitung jedenfalls nicht ersetzen.“ Zu dieser Ansicht von WITTICH kann man als Ergänzung bringen, daß Faktoren wie Laubstreu und Moosbedeckung sehr wesentlich sind, ferner daß da, wo der Wald licht ist, die Mikroflora des Bodens infolge der geringeren Zufuhr von Nadeln oder Laub mit den Resten besser fertig wird. Daneben möchte ich den Einfluß der Besiedelung ungeschützter Stellen mit Gräsern usw. nicht unerwähnt lassen. Diese durchstoßen den Boden, verhindern dessen Verfilzung durch Moose und gönnen dem Laube keine ruhige Lagerstatt. Das Licht wirkt also nicht direkt, sondern indirekt. Ferner begünstigt die Erwärmung nicht nur das *Bakterienleben*, sondern auch die Verdunstung des Bodenwassers. Wie in einem Schwamm werden die Nährlösungen und die Salze aus Untergrund und Oberfläche zusammengezogen, und verschiedene Gemengteile kommen in gegenseitige Berührung. Es werden also die basischen Stoffe von unten ebenso herangeführt wie das Stickstoffmaterial aus dem Humus, die zusammen zur Salpeterbildung gehören.

WITTICHS mit der STEVENS-Methode erhaltenen negativen Ergebnisse betreffs Nitritbildung in den untersuchten Sandböden er-

scheinen mir unzulänglich. Beim Ansetzen der Versuche ist nämlich nicht berücksichtigt worden, daß die salpetrige Säure nur ein Intermediärprodukt darstellt, welches sich unter ganz besonderer. Bedingungen in der Natur vorfindet. Für WITTICH wäre also in diesem Falle zur Erfassung des Einzelprozesses lediglich die REMYSCHES Methode am Platze gewesen, und zwar am besten die Isolation des Nitritbildners.

Über die *Ammoniakbildung* auf Böden verschiedener Acidität hat u. a. OLSEN (44) gearbeitet. Der Däne kam zu dem Ergebnis, daß auf sauren Böden die Ammoniak-, auf neutralen und basischen Böden die Nitratbildung überwiegt. Diese Ansicht findet in den Resultaten meiner Buchenwalduntersuchungen eine kräftige Stütze. WITTICH'S Ergebnisse sind im Prinzip die gleichen. Er findet, daß die Ammoniakbildung auf Freiflächen gegenüber der Nitrifikation zurückbleibt und erst mit zunehmendem Schirm stärker wird, wobei allerdings die Nitrifikation nachläßt.

Da im nitrifizierenden Boden das Ammoniak meist als stationäres Intermediärprodukt auftritt, wäre es vielleicht nicht uninteressant, die Größe dieses Produktes in verschiedenen Böden zu bestimmen, um zwischen den Extremen, also der nicht vorhandenen und der ungehemmten Salpeterbildung die Erden einzureihen. Man müßte dazu allerdings die Böden in ihrem natürlichen Gleichgewicht durch Zugabe von nicht zu großer Menge Ammon liefernder Substanzen in gleich starkem Maße stören. Ferner wäre die Zeit, in der der Boden die Höchstmenge von Salpeter erzeugt, ein sehr guter Maßstab für sein Vermögen, Salpeter zu bilden.

In einem weiteren Kapitel behandelt WITTICH sehr eingehend den Einfluß der Bodenbearbeitung auf die Acidität. Diesbezüglich will ich nur einige Streiflichter bringen.

„Die Acidität auf den unbearbeiteten Böden ist in allen Fällen oben höher als unten.“ Der Grund dafür liegt m. E. erstens in dem geringeren Gehalt an Basen, zweitens in der größeren Quantität des Ausgangsmaterials zur Säurebildung, drittens in dem Umstand, daß die Säure oben fossilisiert werden kann, da sie in freier Form schwerer einer Vergärung zugänglich ist als in gebundenem Zustand.

Weiterhin kann sich die Acidität in vielen Böden nach meinem Ermessen dadurch erhöhen, daß Austrocknen von stark kolloidalem Humus zur Bildung eines dichten Gel-Lackes führt und damit sowohl das Eindringen von Luft erschwert, als auch das Verdunsten der Bodenfeuchtigkeit. Dann wird das kapillare Hochsaugen von

Minerallösungen fehlen und zugleich die Mikrobenexistenz zum Teil sehr unsicher werden. Hier sehen wir deutlich, wie mit steigender Begünstigung der Acidität die Lebensmöglichkeit für Nitrifizierer stark fällt und umgekehrt. Denn falls nun Grasbestand infolge stärkerer Belichtung auftritt, bewirkt er beim Durchstoßen der Schichten eine Bodendurchmischung. Damit werden für Nitrifizierer die Bedingungen gebessert, die Acidität fällt aber. — Ich will nicht unerwähnt lassen, daß Ausnahmen bezüglich dieser Bodenwandlung dort bestehen, wo *Baeomyces* oder auch manche Moose und Algen einen zu dichten Bestand bilden, so daß kein Gras aufkommen kann.

Hinsichtlich der *Stickstoffbindung* durch *Azotobacter* fand WITTICH: „Bearbeitete und unbearbeitete Böden waren nicht nur frei vom *Azotobacter*, sondern erwiesen sich auch als azotobacterfeindlich.“

Fassen wir nun WITTICHs Nitrifikationsuntersuchungen mit diesen zusammen, so stellen wir fest, daß *Flächen mit stärkster Salpeterbildung azotobacterfeindlich* sind. Beim Vergleich dieser Ergebnisse mit den meinen fällt mir eine gewisse Parallele auf. Meine Untersuchungen mit den isolierten Hemmungsstoffen haben erwiesen, daß Stoffe, die auf die Salpeterbildner hemmend wirken, eine Begünstigung des *Azotobacters* hervorrufen. Wiederum können die dem *Azotobacter* feindlichen Stoffe auf Nitrifizierer unter Umständen stimulierend wirken. — Sollte bei WITTICHs Böden nicht eine ähnliche Beziehung vorliegen?

Da der obige Verfasser bei den Prüfungen auf *Azotobacter*-Vorkommen keinen Erfolg hatte, untersuchte er seine Kiefernсандböden auf andere Stickstoffbinder mit einer Mannitnährlösung. „Wir finden eine ganz ungewöhnliche Zunahme des Stickstoffgehaltes, ein einwandfreier Beweis für die Tätigkeit *unbekannter* Luftstickstoff bindender Bakterien.“

So unbekannt sind diese Lebewesen nicht. Es ist doch eine hinreichend feststehende Tatsache, daß z. B. die Bakterien der Buttersäuregruppe gut Stickstoff binden. Sie arbeiten durchaus nicht streng anaerob, können also in dem von WITTICH angewandten Mannitnährboden die Stickstoffbindung bewirkt haben.

Noch einige interessante Fragestellungen möchte ich erwähnen aus dem Kapitel „Einfluß der Bodenbearbeitung auf die *Stickstoffbilanz* der Böden“. „Bis zum Winter sind sämtliche gebildeten Nitrate ausgewaschen, soweit sie nicht durch Pflanzen in organische Substanz übergeführt worden sind.“ WITTICH sieht deshalb den Hauptwert der Pflanzenbedeckung in der Bindung des sonst aus-

gewaschenen Nitrates. Er weist ferner darauf hin, daß Unterschiede zwischen nackten und mit üppiger Vegetation bestandenen Sandböden bestehen, die wegen ihrer großen Durchlässigkeit und geringen Wasserkapazität Schädigungen weitestgehender Art an Pflanzen hervorrufen. Diesen Gegensatz der Bodeneigenschaften erklärt er aus der Tatsache, „daß einmal die Pflanzen die im Boden befindlichen Nitrate aufnehmen und in organische Substanz überführen, daß andererseits die Austrocknung des Bodens durch eine üppig wachsende, lebende Pflanzendecke die unterirdische Absickerung erheblich vermindert.“ Dagegen fällt ein umgebrochenes, unbestandenes Stück ebenso wie ein nur mit wenigen Waldbäumen in der Schonung besiedeltes Gebiet dem Stickstoffverlust anheim.

„Für den Forstmann bleibt als praktisches Ergebnis die Tatsache bestehen, daß der bearbeitete nackte Boden gegenüber dem angeblich humusverzehrenden Grasboden im Stickstoffgehalt erheblich zurückbleibt, daß er sich daran gewöhnen muß, auf allen von Holzgewächsen nicht voll ausgenutzten Flächen im Gras nicht nur den lästigen Konsumenten, sondern einen wichtigen Faktor zur Erhaltung des Stickstoffkapitals zu sehen.“

Wenn dieser Erkenntnis gemäß gehandelt werden möchte, würden die völlig unbestandenen Kahlschläge und mit kümmernden Pflänzchen besiedelten Flächen allmählich verschwinden, die ebenso unnatürlich und häßlich wirken, wie sie forstlich unwirtschaftlich sind. Daneben würde sich ein Refugium für eine ganze Reihe von Gewächsen ergeben, die sonst mehr und mehr ausgerottet würden.

Rückblickend auf diese mit trockenem Kiefernwaldboden ausgeführten Untersuchungen muß behauptet werden, daß die WITTICHschen Ergebnisse eine weitgehende Ergänzung und Bestätigung meiner am Buchenwald gewonnenen Ansichten bringen.

Von den vielen in neuester Zeit erschienenen bodenbakteriologischen Arbeiten will ich die von HÜRTIG besonders berücksichtigen. Erwählter Verfasser hat eingehend die Säureerreger im Boden unter Anleitung von Professor Dr. HENNEBERG studiert und ist zu Ergebnissen gelangt, die mir sehr willkommen sind.

„Die Ursachen für den Rückgang des Kalkgehaltes im Boden und die Entstehung von Bodensäuren können mannigfaltiger Art sein Der natürliche Kalkvorrat wird von den Pflanzen als Nährstoff verbraucht und durch die Ernte dem Acker entzogen oder geht durch Basenaustausch mit Düngesalzen und Auswaschung in den Untergrund.“ Bei dem Abbau toter organischer Substanz „können als Zwischenprodukte größere Mengen *organischer Säuren*

entstehen. Normalerweise werden sie durch basische Bestandteile neutralisiert oder durch bestimmte Gruppen von Bakterien und Pilzen weiter zu Kohlendioxyd und Wasser zersetzt. Nicht selten kommt es aber vor, daß der Boden entweder an Basen sehr arm ist oder die säureverzehrenden Mikroben aus irgendwelchen Gründen fehlen oder in ihrer Tätigkeit gehemmt sind. Die Folge davon ist eine Anhäufung der organischen Säuren und das Auftreten von Bodenacidität.“ Welchen Wert HÜTTIG der Bodenbakterienfora mit vollstem Recht beilegt, erhellt aus folgendem Satz: „Der mikrobiologische Zustand ist geradezu als der Gesamtausdruck für die *augenblicklichen* chemischen und physikalischen Eigenschaften eines Bodens aufzufassen.“

Die bei der Säurebildung in Betracht kommenden Mikroorganismen hat oben erwähnter Verfasser auf Kreideplatten isoliert und eingehend studiert. Von seinen vielen untersuchten Böden ist für mich von alleinigem Interesse ein „alter Laubwald . . . schwarzer, lockerer Humusboden. Kalkgehalt 0,07 %; $\text{pH} = 4,8$.“

Es ist bedauerlich, daß Verfasser bei Untersuchung auf Kohlehydratzersetzung, Eiweißlösung, Ammonifizierung, Nitrifikation und Denitrifikation den Laubwald nicht berücksichtigt hat. Dagegen prüfte er ihn nach der REMYSCHEN Methode auf freilebende stickstoffbindende Organismen, und fand dabei, daß *Azotobacter* im Laubwalde gehemmt ist. (Analog meinem Befund). Es ist mir ferner sehr willkommen, daß *Clostridium* in wirksamen Rassen im Buchenwalde vorgefunden wurde, ein Ergebnis, das sich mit WITTICHS und dem meinen deckt, nur daß ersterwähnter von „unbekannten“ Lebewesen spricht.

Interessant ist auch, daß ein in Kultur genommener, *gekalkter* Moorboden nach HÜTTIG sehr reichlich Säurebildner enthielt. FUCHS und ZIEGENSPECK¹⁾ hatten zwar in ihrem *unbearbeiteten* Moorboden ein gegenteiliges Resultat erhalten. Ich möchte diese Differenz darauf zurückzuführen, daß den Säurebildnern (nach HÜTTIG) durch die Kalkung des Moorbodens ein besseres Gedeihen ermöglicht worden ist.

Des weiteren sind in dieser Hinsicht auch die Versuche mit der LINDNERSCHEN Tröpfchen-Methode sehr wertvoll, die eine schnelle Orientierung über Zahl und Art der im Boden vorkommenden Mikroorganismen gestatten. „Die zur Impfung bereitete Erdaufschwemmung muß vorher mehrfach stark zentrifugiert werden, weil sich die Mikroben durch einfaches Schütteln schlecht von den Erdpartikeln trennen lassen. Bei Untersuchungen

dieser Art konnte z. B. festgestellt werden, daß ein ungekalkter, stark *saurer* Moorboden . . ., auf dem sich kein Pflanzenwachstum einstellen wollte, nahezu *steril* war.“ Dieses Ergebnis deckt sich mit denjenigen, die im Botanischen Institut zu Königsberg bei orientierenden Plattenversuchen bezüglich der Zahl der Säurebildner in den verschiedensten Böden erhalten wurden. Die Bodensäure kann also in der Natur „fossilisiert“ werden.

Von Bedeutung ist auch die Zahl der Arten der Säurebildner, die HÜTTIG aus den einzelnen Bodenproben isolieren konnte. Von den 50 in Frage kommenden Arten und Rassen entfielen:

12, 11 und 9 auf bessere und intensiv gedüngte Böden (gekalkter Moorboden, Schlammerde einer Viehtränke und Rübenboden),

8 auf den alten Laubwald und

4 und 3 auf ungedüngten Ackerboden und reines Moor.

Es müssen also verschiedene Faktoren auf die Existenz der Säurebildner entscheidend einwirken.

Auch wurde überraschenderweise festgestellt, daß für die einzelnen Bodenarten nur geringe Unterschiede im rein zahlenmäßigen Verhältnis der einzelnen Gruppen vorhanden sind. „Säurebildende Sporenbildner und Kokken halten sich an Häufigkeit ungefähr die Wage, während die *Coli*gruppe erheblich an Zahl zurücksteht.“

Vom Schlußwort möchte ich folgende interessante Feststellung bringen.

1. „In jedem Boden anzutreffen sind die anaeroben Buttersäurebakterien, die als starke Gas- und Säurebildner gefürchtet sind,“ (analog FUCHS' und ZIEGENSPECKS sowie meinen Ergebnissen).
2. „Zuckerzusatz zu Ackerboden . . . ergab . . . eine deutliche Zunahme der Säurebildner im Boden; gleichzeitig konnte eine geringe Abnahme der basischen Bestandteile festgestellt werden.

Die Säurebildung im Boden verläuft um so langsamer, je größer sein Pufferungsvermögen gegen Säuren ist; ist es sehr klein, wie in den meisten Moorböden, so kommt die Wirkung der Säurebildner schneller und stärker zum Ausdruck.“

Hiermit will ich die Besprechung der HÜTTIG'schen Abhandlung und damit die Ergänzungen zum bodenbakteriologischen Teil meiner Arbeit abschließen.

Wollte ich im folgenden von der sehr umfangreichen Literatur über die Pflanzengeographie nur die wichtigste behandeln, so würde dieser Teil ins Uferlose anwachsen. Ich will mich daher auf wenige beschränken.

Pflanzengeographie

Zuerst soll auf die Beiträge zur Kenntnis des mesophilen Sommerwaldes in Mitteleuropa von DIELS eingegangen werden; sie sind in pflanzenphysiognomischer Hinsicht recht wertvoll, zumal sie den Buchenbestand und die mit ihm vergesellschaftete Boden-decke stark berücksichtigen.

Der Untergrund von DIELS' Laubwaldmustern besteht durchweg aus Feldspat-Basalt, ist also von wesentlich anderer Zusammensetzung als der meines Buchenwaldes. Immerhin finden wir außer manchen Abweichungen auch viele Anklänge an die Flora meines Musters.

DIELS unterscheidet nun im „Laubwald am Hangelstein in Hessen“ fünf Varianten (Facies), denn dort „bieten sich floristisch sowohl im Baumbestande wie besonders in der krautigen Boden-decke unverkennbare Verschiedenheiten.“

In seiner *Luzula*-Facies ist der herrschende Baum (90%) *Fagus silvatica*, vielfach in reinen Beständen, manchmal mit *Quercus sessiliflora* gemengt.

Als Unterwuchs hat er mit uns übereinstimmend gefunden:

<i>Convallaria majalis</i>	<i>Hypnum</i>	} selten
<i>Lathyrus vernus</i>	<i>Polytrichum juniperinum</i>	
<i>Asperula odorata</i>	<i>Lamium Galeobdolon</i>	
	<i>Milium effusum</i>	

Überblicken wir das, was im zweiten Hauptteil meiner Arbeit über das Wurzelwerk dieser Pflanzen gesagt worden ist, so erkennen wir die Tatsache, daß in der *Luzula*-Facies neben den nitratsuchenden Untergrundpflanzen solche stehen, die die tieferen Schichten bedingt missen können. Daneben finden sich hier auch Vertreter von Humusbesiedlern.

Reichlicher sind die Nitratpflanzen in der am Hangelstein höher gelegenen *Gramineen*-Facies vertreten. Dagegen sind die typischen Humuszehrer wie *Neottia* und *Majanthemum bifolium* seltener.

Die in der Aufzählung folgenden Facies werden immer reicher an Nitrat- und Untergrundpflanzen, welche schließlich in der am höchsten gelegenen *Aconitum*-Facies am häufigsten auftreten, z. B. *Chaerophyllum temulum*, *Geranium Robertianum*, *Alliaria officinalis*.

„Besonders wirksam dürfte die starke Nitrifikation solcher Waldstellen sein . . . Die Nitrifikationsbedingungen sind an dem stark geneigten Hange der *Aconitum*-Facies offenbar noch günstiger als sonst im Walde, so daß auch anspruchsvolle ‚Ruderal‘-Annuelle Eingang in den Bestand gefunden haben.“ Diese werden sich also in der Natur nur dort unverändert halten können, wo die Art des Gemenges die Anhäufung von Laub verhindert. Ungünstig scheint auf sie der Humus mit seiner mehr oder minder ausgeprägten Säuerung und der gehemmten oder fehlenden Nitrifikation zu wirken.

Interessant ist die Feststellung von DIELS, daß die drei erwähnten Facies zyklisch angeordnet sind. Die obersten Zonen nehmen die *Asarum*- und *Aconitum*-Facies ein, welche, wie wir eben gesehen haben, die meisten nitratsuchenden Untergrundpflanzen führen. Zu beiden Seiten schließt sich tieferliegend die Gramineen-Facies an, die also in Lage und Ernährungsart die Mitte hält. Ganz unten findet sich die an Mykotrophen und Mulm ausnützenden Gewächse reichste Zone (*Luzula*-Facies).

Es ist natürlich, daß diese Bestände in der Natur nicht absolut scharf voneinander geschieden werden können, da ja die jeweilige Pflanzenbesiedlung stets nur eine Klimax darstellt. Diese wird sich in der Ebene gut auswirken; an bergigen Abhängen werden dagegen Zwischenassoziationen durch häufige Abrutschvorgänge immer wieder zum Vorschein kommen, bzw. erhalten bleiben.

Die zyklische Anordnung der Facies ist nach DIELS' Ansicht durch edaphische Zustände bedingt, die je nach der Niveaulage des Geländes verschieden sind. „Die Bedeutung der Böschung zeigt sich besonders klar auf der Nordseite, wo der obere Teil etwas steiler ist. Die Abtragung geht in diesem Teil lebhafter vor sich, die Entblößung frischen Gesteines vollzieht sich schneller, denn die entstehende Feinerde und alle organogenen Substanzen werden leichter durch die Niederschläge abgespült . . . Auf diese Weise häuft sich allmählich das stärker ausgelaugte, minder nährstoffreiche Material in den unteren Lagen an.“ Ich möchte die im letzten Satz ausgesprochene Ansicht dahin abändern, daß durch Abspülen des Hanges eine Anhäufung von organischen, nicht leicht auswaschbaren Stoffen in tieferer Lage stattfindet. Von Auslaugung kann nur bei Kalisalzen und Phosphaten die Rede sein. Diese liegen aber zumeist ebenso wie der in solchen Schichten sehr reiche Stickstoff in einer für die normale autotrophe Pflanze schwer zugänglichen Form vor. Danach müßten also Ammonpflanzen und

Mykotrophe gerade am Fuße des Abhanges ein ausgezeichnetes Nährsubstrat vorfinden.

„Bei steiler Böschung sammelt sich nicht so viel an, die Verwesung ist vollständiger, die Nitratbildung energischer; die oberen Bodenschichten bleiben luftiger, und somit für einen anspruchsvollen Unterwuchs in jeder Hinsicht zuträglicher. In hügeligem Gelände ist irgendeine Stufung“ (zyklische Faciesanordnung) „als das Normale zu betrachten. Wie sie aber jeweils im Einzelfalle beschaffen ist, das hängt von Wasserführung, Stoffgehalt und Acidität der Stufen ab. Diese Faktoren sind bisher verhältnismäßig selten im Zusammenhang mit der Vegetation untersucht worden.“ (31).

Der Wassergehalt wird gewöhnlich in tieferer Lage größer sein als in höheren Stufen. Über Nährstoffgehalt und Acidität an verschiedenen Orten bestehen allerdings getrennte Ansichten. So hat SALISBURY in Wäldern Englands im Gegensatz zu DIELS' Befunden festgestellt, daß die abwärts geneigte Oberfläche eine weniger weitgehende Auslaugung erfährt. „Aber daß es auch anders sein kann, zeigt SALISBURY selber an dem Beispiel von Kingley Vale in Sussex, wo die oberen Gürtel (mit *Taxus*-Wald) einen PH-Wert von 7,5—7,6, der Talgrund mit Grasland oder Quercetum einen von 6—6,6 zeigt.“ Ähnlich verhält sich DIELS' Versuchsboden am Hangelstein, und „entsprechende Zustände dürfen in Mitteleuropa häufiger zu finden sein,“ daß also mit zunehmender Höhenlage die Laubwaldbodenreaktion mehr zur neutralen, bzw. alkalischen Seite hin verschoben wird.

Ich möchte schließlich zu HÜTTIG'S Behauptung hinzufügen, daß in gleichem Sinne das Herunterwaschen der Nitrifizierhemmenden Stoffe wirken muß, die also erst an tiefliegenden Stellen recht zur Geltung kommen. Dort wird daher eine Aufsammlung bzw. Konservierung von organischem Stickstoffmaterial erfolgen. So ist es nicht verwunderlich, daß gerade hier der Boden an extrem Mykotrophen sehr reich zu sein pflegt. Zu demselben Ergebnis sind FUCHS und ZIEGENSPECK (49) gekommen, die behaupten, daß *Epipactis microphylla*, *Neottia*, *Monotropa* und ähnliche am Fuße solcher Hänge besonders gut gedeihen.

Nachdem ich nun diese pflanzensoziologische Arbeit von DIELS, soweit notwendig, behandelt habe, will ich zur Frage der Mykotrophie übergehen. Zur guten Orientierung über die Beziehungen zwischen Mykotrophen und ihrem Nährsubstrat sei die Mykorrhizaarbeit von FUCHS und ZIEGENSPECK (1) empfohlen.

Die Frage der physiologischen Natur der Waldbaummykorrhiza, speziell der Nadelhölzer, ist eingehend von MELIN (37) (1925) erörtert worden. Dieser Verfasser hat anscheinend die Gedankengänge von FUCHS und ZIEGENSPECK nicht gekannt. Überraschend sind daher die bei den drei Forschern vorhandenen großen Übereinstimmungen, welche auf Grund unabhängigen Arbeitens für die Richtigkeit der aus den Versuchen gefolgerten Ansichten sprechen dürften.

Von MELINs Ergebnissen hinsichtlich der Eigenschaften der *freien Mykorrhizapilze* sei das gänzliche Fehlen von Stickstoffbindung hervorgehoben, ferner, daß dem freien Pilz „Ammoniumate“ gute Stickstoffquellen darstellen, ebenfalls Ammoniumsalze bestimmter organischer und anorganischer Säuren. Bezüglich der Assimilation von Nitraten verhielten sich die einzelnen Mykorrhizaarten verschieden. Es macht aber den Eindruck, als ob diese Stickstoffquelle in ernährungsphysiologischer Hinsicht auf den freien Mykorrhizapilz günstig wirkt. Unter den Amiden sind einige vorhanden, die den Pilzen kräftiges Wachstum ermöglichen. Andere wurden nur schwer verwertet; anscheinend fehlen die diese Amide spaltenden Enzyme. Proteolytische Fermente sind von allen von MELIN untersuchten Pilzen gebildet worden.

Erwähnter Verfasser hat ferner „Untersuchungen über das Verhalten *mykorrhizafreier Nadelbaumpflänzchen* zu verschiedenen Stickstoffquellen unter aseptischen Verhältnissen“ ausgeführt.

Auf stickstofffreiem Substrat erreichten alle Pflänzchen eine *schwache* Entwicklung.

Anorganische Stickstoffverbindungen stellen günstige Stickstoffquellen dar (NH_4Cl wirkt günstiger als KNO_3).

Organische Stickstoffverbindungen sind allerdings schwer verwertbar; es entwickeln sich aber die sterilen Kiefern-pflänzchen verhältnismäßig kräftig.

MELIN hat außerdem Reinkulturen von Mykorrhizapilzen mit Symbionten (hauptsächlich *Pinus silvestris* und *P. montana*, *Picea*, *Abies* und *Larix europaea*) in geschlossenen Kolben gezogen. Es zeigte sich, daß die *mit Pilzen vergesellschafteten Kiefern* sonst schwer aufnehmbare Stickstoffquellen komplizierter Natur wesentlich leichter verarbeiten und daß auch der Stickstoffgehalt der Pflanzen um das mehrfache Maß erhöht wird. Da nun die Wurzelgröße zumeist wesentlich reduziert ist, dürfen wir folgern, daß die Pilzsymbiose für die untersuchten Nadelhölzer eine Erleichterung und Erhöhung der organischen Nährstoffaufnahme bedeutet. Eine

Parallele dazu bieten die Ergebnisse meiner NEUBAUER-Versuche, denen zufolge die dicht an Mykorrhizenwurzeln gelegene Buchenwalderde kalisalzärmer ist, wahrscheinlich durch die den Nährstoffumsatz erhöhenden Pilze bedingt. Diese Ansicht stimmt mit REXHAUSENS (62) Beobachtungen überein, daß in den Mykorrhizen eine Anhäufung von Kahum- und Phosphorsäureverbindungen stattfindet.

Eine folgende Feststellung von MELIN wäre noch bemerkenswert. Sind in Pflanzenkulturen die jungen Nadelholzgewächse nur schwach entwickelt, „so stellt sich zwischen ihnen und den Pilzen nur schwer ein Gleichgewichtszustand ein. Letztere können hierbei einseitig parasitisch werden und den Pflänzchen schaden.“

„Um die Bedeutung der Mykorrhizen für die Pflanzen und Bäume in der Natur leichter verstehen zu können, muß man die in Reinkulturen erzielten Resultate im Lichte der modernen Bodenforschung betrachten.“

Bezüglich des Stickstoffumsatzes werden von verschiedenen Autoren *Mull-Typus mit rasch erfolgreichem Abbau* der Pflanzenreste und *Rohhumus-Typus* unterschieden. In letzterem erfolgt der *Abbau weniger schnell*, und die *Nitrifikation ist gehemmt*.“ Die Nadelbaummykorrhiza ist ein Charakteristikum der Rohhumusböden, während sie auf Mullböden oft schlecht entwickelt ist. Schon hieraus ließe sich der Schluß ziehen, daß die Mykorrhizen in erster Linie für die Stickstoffnahrung der Bäume eine Bedeutung besitzen“.

Jedoch bezüglich der Buche ist in einer von mir nicht berücksichtigten Arbeit durch MÜLLER (63) nachgewiesen, „daß sich die Mykorrhiza bei einjährigen Pflanzen im großen und ganzen auf Rohhumus schwerer als auf Mull gemischtem Boden konstituierten. Die Mykorrhizapilze der Buche sollten somit auf ersterem Bodentypus schlechter als auf letzterem gedeihen. Man kann sich hierbei denken, daß die betreffenden Rohhumusböden für die Buchenpilze ungeeignete oder hemmende Stoffe enthalten, wodurch die Virulenz der Pilze herabgesetzt worden ist.“ (37)

Seitdem wir die Pettkoferien als ultramikroskopische Parasiten kennen, sind wir gegen diese Virulenzgedanken etwas skeptisch geworden. Allerdings ist es in diesem Falle sehr leicht möglich, daß die Mykorrhiza reizphysiologisch zu sehr geschwächt wird und nicht auf die Anlockung der Pflanze reagiert. Wenn es sich um sehr saure und schlecht durchlüftete Rohhumusböden handelt, dürfte MÜLLERS Behauptung bezüglich eines schwierigen Auf-

kommens von Mykorrhizen auf richtiger Beobachtung basieren, denn bekanntlich gedeiht die junge Buche nicht auf extremen Trockentorfen.

Wie verhalten sich nun die *andern Mikroorganismen* im Rohhumus *gegenüber der Mykorrhiza*? MELIN stellt eine heftige Konkurrenz zwischen beiden Teilen fest und behauptet sehr richtig, daß der Rohhumus „offenbar ein sehr unzweckmäßiger Boden für autotrophe Pflanzen“ darstellt, daß dort ferner Nadelbäume als ganz autotrophe Organismen ihren Stickstoffbedarf *nicht* decken können. „Die Mykorrhizen sind auf Rohhumusböden sehr günstige, vornehmlich stickstoffvermittelnde Organe, da sie leicht Ammoniak und organische Stickstoffverbindungen assimilieren können. Infolge der Mykorrhiza kann demnach der Stickstoffbedarf der Bäume trotz der lebhaften Konkurrenz mit den Bodenorganismen gedeckt werden. Man dürfte sich nicht zu stark irren, wenn man die Mykorrhizen dieser Böden als eine ökologische Anpassung an ein Substrat betrachtet, das an assimilierbaren Stickstoffverbindungen arm ist“. Im wesentlichen schließt sich MELINs Anschauung an die STAHLsche (14) an, was aus folgenden Sätzen erhellt: „Die chemotropisch reizbaren Hyphen können auch ganz kleine Salzmengen leicht aufsuchen und verwerten, und nur autotrophe Pflanzen, die über ein sehr ausgedehntes Wurzelsystem verfügen, können mit ihnen den Kampf um die Nährsalze mit Erfolg aufnehmen.“ (37) Diese Ansicht deckt sich mit derjenigen, zu der ich auf Grund eingehender Wurzelstudien gekommen bin.

Auch TUBEUF (47) sieht in der Mykorrhiza eine Ausnutzung des organischen Humusstickstoffs. Dazu hat MELIN üppige Nadelholzpflänzchen gefunden, deren die Wurzelhaare sogar gänzlich fehlten und deren Wurzelsystem fast vollständig verpilzt war. „In solchen extremen Fällen scheint die Ansicht FRANKS (64) über die Bedeutung der Mykorrhiza nahezu der Wirklichkeit zu entsprechen . . . ,daß nämlich die totale Zufuhr von Wasser und Nährstoffen, sofern diese aus dem Boden stammen, durch die Pilzsymbionten vermittelt wird.“

TUBEUF (46) betont außerdem sehr richtig, daß die Langwurzeln der Waldbäume gewöhnlich mit Wurzelhaaren versehen sind, mit denen sie die notwendigen anorganischen Nährstoffe absorbieren. Dieses teilweise autotrophe Arbeiten mit Wurzelhaaren, teilweise mykotrophe mittels Pilzen scheint offenbar bei Bäumen einerseits, wie z. B. bei den *Epipactis*-Arten unter den Orchideen andererseits völlig gleichzuliegen; denn letztere können als er-

wachsende Pflanzen auf guten Böden völlig autotroph arbeiten, dagegen auf anderen völlig mykotroph.

Gelegentlich der Besprechung der *Kohlenstoffaufnahme* aus Rohhumusböden durch Baummykorrhiza huldigt MELIN der Anschauung von FALCK (50), daß Kohlenstoff durch den Pilz in so beträchtlicher Menge zugeführt wird, daß die Pflanze einen ausgesprochenen Gewinn zu verzeichnen hat. Man will durch diese Tatsache erklären, „daß die Pflänzchen und Bäume auf einzelnen guten Böden ein *geringeres Lichtbedürfnis* als sonst haben“. Es kann die *Monotropa*-Mykorrhiza diese Ansicht recht gut stützen, da bekanntlich *Monotropa* den gesamten Kohlenstoffbedarf durch die Mykorrhizapilze deckt. Diesem Befund stehen wir nicht ablehnend gegenüber. Es ist FUCHS und ZIEGENSPECK (48) bei *Dactylorhiza*-Arten geglückt, einen direkten Kohlenstoffgewinn nachzuweisen. MELIN ist aber der Ansicht, daß die Kohlenstoffquelle für die *Bäume* in den meisten Fällen keine größere Bedeutung besitzt. Dazu möchte ich bemerken, daß in stark kohlen säurehaltiger Luft, wie sie durch die Kohlensäureproduktion guter Böden ja geschaffen wird, die Ausnützung der Lichtenergie verbessert wird (s. FUCHS und ZIEGENSPECK, 49).

Haben wir bisher die Mykorrhiza des Rohhumus eingehend betrachtet, so wollen wir im folgenden mit MELIN kurz den Mullboden behandeln.

Ist die Mykotrophie für die Nadelbäume auf Mullböden notwendig? Können sich die Mullbesiedler nicht ebenso gut autotroph wie mykotroph ernähren? „Dort, wo eine lebhaft e Nitratsbildung erfolgt, dürfte man die Mykorrhizen in ihrer Eigenschaft als nahrungsaufnehmende Organe für die Bäume als wertlos betrachten können. Die Konkurrenz um die Nitrats des Bodens ist weniger heftig als die um die Ammoniumsalze, und die Bäume können natürlich ebenso wie die salpeteranhäufenden Pflanzen ihren Stickstoffbedarf durch Nitrats decken. Es ist möglich, daß die Autotrophie auf diesen Böden für die Ernährung der Bäume günstiger ist als die Mykotrophie!“

Endlich will ich aus MELINS Schlußwort eine interessante Nebenbeobachtung bringen. „Die *Weiterverbreitung der Pilze* besorgt die Natur selbst durch Basidiosporen. Auf trockengelegten Moorböden scheint jedoch diese Sporenbesäung anfangs keinen nennenswerten Effekt zu haben, und zwar wahrscheinlich aus dem Grunde, weil die Sporen hier nicht keimen können, sofern sie nicht dicht

neben Wurzeln gelangen. Auf derartigen Böden läßt sich die Mykorrhizabildung durch Zufuhr von gutem Rohhumus und wahrscheinlich auch durch Sporenbesäung im Verein mit den Samen beschleunigen.“ Im Hinblick auf die Erfahrungen von FUCHS und ZIEGENSPECK (1) kann die von MELIN gebrachte Tatsache anders erklärt werden. Dort ist gezeigt worden, daß im Sphagnetum selbst die Ammoniakbildung, ein in den meisten Fällen recht leicht verlaufender Vorgang, gehemmt ist, daß es sehr wohl möglich ist, in trockengelegten Moorböden durch Beimpfen mit anderem Rohhumus Lebewesen hineinzubringen, die Hemmungsstoffe verschiedenster Art beseitigen. Sollten nicht bei MELINS Moorboden ähnliche Beziehungen vorliegen?

Obgleich die übrigen Fragestellungen und Erörterungen in MELINS Arbeit sehr wertvoll sind, muß ich sie leider übergehen, da sie den Rahmen meiner Betrachtungen überschreiten.

Als letzte Ergänzung seien die pflanzengeographischen Betrachtungen von FURRER (65) (1923) gebracht. Erwählter Verfasser berücksichtigt sehr eingehend die neuesten Schriften über die Pflanzengeographie speziell der Schweiz, „um vom heutigen Stand unseres Wissens und Arbeitens ein möglichst getreues Bild zu entwerfen“. Die Behandlung zahlreicher Grundfragen veranlaßte ihn, dann und wann über die Grenzen der Schweiz hinauszutreten; „denn erst im Vergleich mit andersartigen Gebieten lernen wir die heimische Natur in ihrem Wesen tiefer erfassen und ihre Erscheinungen unter höhere Gesichtspunkte einordnen“.

Diesem Grundsatz gemäß habe ich die Kapitel „Waldserien“, „Wälder“ und „Buchenwald“ gründlich studiert und manche Ergänzung bzw. Übereinstimmung für meine Untersuchungsergebnisse und Literaturauszüge gefunden.

Die Entwicklung der *Waldserien*, d. h. der Vegetationswandlungen, die auf kürzestem Wege zum Walde führen, nimmt nach FURRER im allgemeinen folgenden Lauf: Zu Anfang lag die Gesteinsflur vor; es folgte Rasenbesiedlung; darauf Gebüschbestand, der schließlich den Ursprung des Waldes bildete. Die beiden mittleren Stadien sind „oft verwischt und unvollkommen ausgebildet oder ineinander verflochten. Ihre Bedeutung liegt in der Vorbereitung des Keimbettes für die kommenden Wälder.“

Anspruchslosere Baumarten werden sich auf baumfeindlichen Arealen zuerst ansiedeln. Sobald sie gut gedeihen, verbessern sie den Boden „im Sinne des Waldes“ und ermöglichen schließlich an-

spruchsvolleren Bäumen das Fortkommen. „Nachdem sich diese angesiedelt haben, waltet die Konkurrenz, und unter geeigneten Bedingungen fällt ihnen der Sieg zu.“ Es schreitet dann der klimatische Wald über den edaphischen hinweg, und der Waldwechsel bietet das Bild einer erweiterten Waldserie, so daß schließlich der Gesamtverlauf dieser Serienbildung folgender ist: Gesteinsflur → Rasen → Gehüsch → edaph. Wald → klim. Wald.

Im allgemeinen ist die geographische Verteilung der Waldserien nach FURRERS Ansicht nicht vom Boden allein abhängig, sondern in vorherrschendem Maße vom *Klima*. „Der Charakter der Serie bringt gewissermaßen das Klima zum Ausdruck Mit zunehmender Meereshöhe lösen sich die führenden Baumarten verschiedener Stadien ab, so in den Vorstadien Birke und Lärche, in den Schlußstadien Buche, Fichte“ Bezüglich der Verteilung dieser Bäume in klimatischer Hinsicht behauptet Verfasser, daß die *milden, feuchten* Landesteile dem *Laubwald* angehören, die *rauen, trockenen* dem *Nadelwald*. Sehr gut läßt sich diese für die Schweiz aufgestellte Behauptung auf unsere ostpreußischen Verhältnisse übertragen, denn bei näherem Studium des hiesigen Bodens und Klimas dürfen wir mit H. u. M. BROCKMANN (66) behaupten, daß speziell die Rotbuche der typische Baum mittlerer Klimaansprüche ist. Da nun die Feuchtigkeits- und Wärmeverhältnisse in Deutschland zumeist nicht ausgesprochene Extreme darstellen, ist der Buche die allgemeine Verbreitung daselbst ermöglicht.

Der östliche Teil der deutschen Buchenwaldgrenze

Daß die Buche in Deutschland ihre östlichste Grenze in Ostpreußen hat, ist allgemein bekannt. Wodurch diese glatte Abtrennung aber bedingt ist, das zu erklären, ist recht schwierig.

Forschen wir historisch nach, welchen *Besiedlungsweg* die Buche gewählt hat, so steht eindeutig fest, daß sie *von Westen her* nach Ostpreußen gekommen ist (71).

Die Verbreitung der Buche erfolgt bekanntlich durch Vögel, die Depots anlegen, sich die Samen gegenseitig abjagen, sagen wir also, durch Verlieren der Samen die Buche verbreiten. Es ist ganz klar, daß diese Art der Übertragung nur *langsam* vonstatten geht und, was vielleicht noch wichtiger ist, *nur auf kleine Entfernungen*. Größere Zonen, die buchenfeindlich sind, können daher die Verbreitung begrenzen.

Sehen wir uns nun die Buchengrenze in Ostpreußen unter diesem Gesichtspunkte an, so fallen uns folgende Momente stark auf.

Im Nordosten der Buchengrenze (Fig. 24), südlich des Pregels, dehnt sich bis zum Frischen Haff hin die Staubeckenzone aus, ein aus dem Diluvium stammendes, toniges Schmelzwasserbecken mit Deckton (s. geologische Übersichtskarte von Prof. Dr. KRAUS (68)). Es handelt sich hier um eine Niederung. Da die Buche bekanntlich keine Untergrundsfeuchtigkeit in großem Aus-

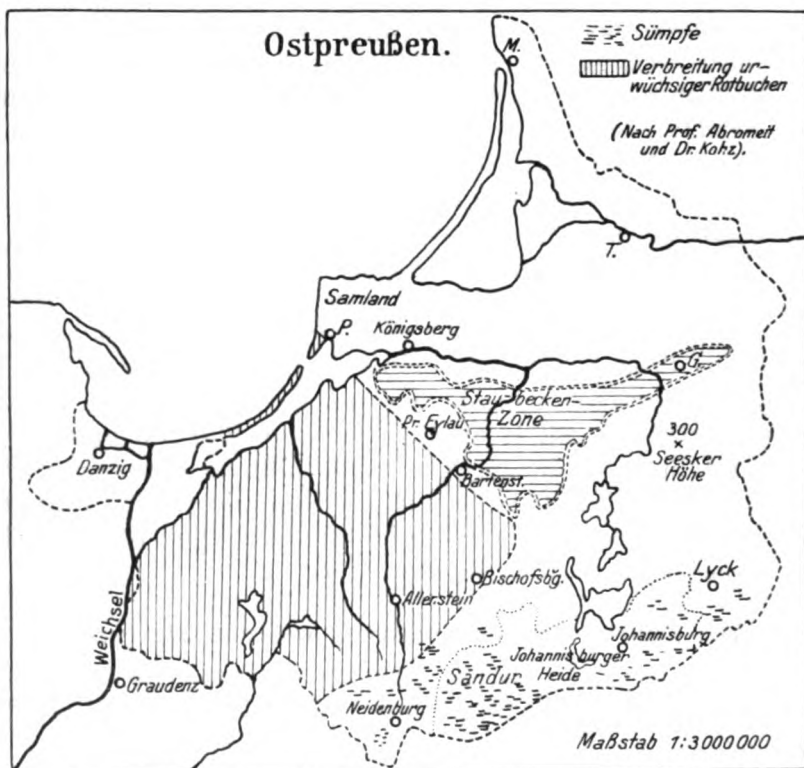


Fig. 24. Buchengrenze in Ostpreußen.

maße verträgt und Niederungen sichtlich meidet, dafür aber hügelige Lagen bevorzugt, finden wir sie bei uns ausgesprochen auf Höhen oder Lehnen, meist in disjunkten Arealen. Mit unserer Beobachtung stimmt FURRERS folgende Angabe überein: „Scheu vor zu feuchtem Boden bekundet die Buche an den Tallehnen überall in niederschlagsreicheren Gegenden der Schweiz.“ Desgleichen teilt uns LÜDI (67) über die pflanzengeographischen Eigentümlichkeiten des Lauterbrunnentales mit, daß „die Buche stets die Rippen zwischen den Bacheinschnitten besiedelt“.

Sehr richtig hat FURRER beobachtet, daß die Buche bezüglich der Bodenfeuchtigkeit „ungefähr mittlere, eher noch geringere Ansprüche stellt. Sie flieht allzu trockenen Boden wie nassen.“ Aus letzterwähntem Grunde kann die Buche unserer Gegenden nicht in den Auwäldern größerer Flüsse, z. B. der Weichsel, sich halten. Jegliche Hemmungsfaktoren sind an den klimatischen Grenzen viel wirksamer als in Gegenden, wo die Buche an sich gut gedeiht. Die Schädigungen kleineren Ausmaßes addieren sich in ihrer Wirkung auf die geschwächte Vitalität des Baumes und vergrößern sich in ihrer Gesamtwirkung. Es scheint förmlich, als ob an der „Belastungsgrenze“ nur ein geringes „Übergewicht“ notwendig ist, um eine ausschlaggebende „Überbelastung“ zu erzielen.

Nachdem wir uns nun das Ausbleiben der Buche am Rande der Staubeckenzone klar gemacht haben, verfolgen wir die Buchengrenze in ihrem weiteren Verlauf.

Ganz auffällig dringt sie auf dem masurischen Höhenrücken am weitesten nach Osten vor. Hier wird ihr durch die großen Seen und die Temperatur der Seesker Höhen, dem kältesten Teile Ostpreußens, die Grenze gesetzt.

Ein Ausweichen nach Norden ist, wie wir erörtert haben, durch die Niederung verhindert, ein urwüchsiges Fortwandern nach Süden ist durch den Johannisburger Sandur gehemmt. Im Sandboden ist aber auf den Höhen die Wasserführung für die Buche zu gering, so daß sie sich in der Johannisburger Heide und nächsten Umgebung urwüchsig nicht einfinden kann. Vielmehr liegt dort für die Kiefer ein günstiges Wirkungsfeld vor. Wie empfindlich die Buche andererseits gegen zu starke, anhaltende Nässe ist, zeigt ebenfalls ihr Ausbleiben im Süden von Ostpreußen, wo Sümpfe in den Niederungen durchweg vorherrschen, sowohl östlich wie westlich der Johannisburger Heide.

So kommt es, daß die Buche im Samland und bei Tilsit nicht urwüchsig vertreten ist, obgleich ihr dort die klimatische Existenzmöglichkeit gegeben ist. Ihr Ausschluß scheint uns in diesen Gebieten lediglich historisch begründet zu sein. Daß die Buche im Osten und Süden unserer Provinz fehlt, ist durch klimatische Faktoren verschiedenster Art, wie Temperatur, Bodenfeuchtigkeit und manche anderen Komponenten bedingt.

Ich möchte in diesem Zusammenhang bemerken, daß ich mich bei der Erklärung der östlichsten deutschen Buchenwaldgrenze auf die persönlichen Angaben von Herrn Prof. Dr. ABROMEIT bezogen

habe, der mir in liebenswürdiger Weise bei der Zusammenstellung dieser Betrachtungen zur Seite stand.

Schlußwort

Stellen wir die Untersuchungsergebnisse der vorliegenden Arbeit unter teilweiser Berücksichtigung der durch die Literatur gewonnenen Ergänzungen kurz zusammen, so ergibt sich folgende Erkenntnis.

Im untersuchten Buchenwaldboden ist die *Nitrifikation* im Vergleich zu einer normal arbeitenden Gartenerde stark *gehemmt*, nicht völlig unterbunden.

Die *Azotobacter*-Entwicklung ist ebenfalls behindert. *Azotobacter*-Keime sind aber im Buchenrohhumus vorhanden.

Die Hemmung der Nitritbildner und des *Azotobacter* kann neben möglichen anderen Einflüssen auf die Gegenwart gewisser, durch ihre chemische Konstitution, nicht allein durch die Acidität, schädlich wirkender Stoffe zurückgeführt werden.

Es hat sich die interessante Beziehung ergeben, daß *azotobacter*-feindliche Humusextrakte aus Krume und Untergrund auf Nitrifizierer günstig wirken können, während andere ätherlösliche Stoffe im untersuchten Buchenrohhumus neben förderndem Einfluß auf *Azotobacter* sich *Nitrosomonas* gegenüber schädigend erwiesen.

Wichtig ist die Feststellung, daß die auf Salpeterbildner hemmend wirkenden Stoffe nach Zugabe von normaler Gartenerde allmählich beseitigt werden, was wahrscheinlich auf die Arbeit von Lebewesen zurückzuführen ist.

Denitrifizierer können unter günstigen Nährstoffverhältnissen im Waldboden nachgewiesen werden, kräftige Salpeterzerstörer (Begriffserklärung s. oben) dagegen nicht.

Ammoniakbildner scheinen im schwach sauren Buchenrohhumus kräftig arbeiten zu können.

Anaerobier bewirken in den unteren Schichten des untersuchten Rohhumus eine ziemlich gute Stickstoffbindung, Aerobier eine geringe. Die Nitrifikation ist daselbst eigentlich gefördert, wenn nur die Luft Zutritt hat.

Die oberen Bodenschichten haben eine Anhäufung von Stickstoff durch Aerobier aufzuweisen, dagegen eine sehr schwache Nitrifikation.

Wir erkennen in diesem Bilde die Verschiedenartigkeit der einzelnen Bodenhorizonte.

Die Krume, die nach den vorstehenden Untersuchungen reichlichst Ammoniak zu bilden imstande ist, wird Ammonpflanzen als Hauptdeckung führen. Nitratpflanzen werden dagegen fehlen, da der möglicherweise gebildete Salpeter durch Auswaschen sich im Untergrund anhäuft. Es werden die Wurzeln der Salpetergewächse stets den Untergrund „erstreben“.

Der Buchenwaldrohhumus mit seinem großen Reichtum an organischen stickstoff- und kohlenstoffhaltigen Substanzen bietet für *mykotrophe Gewächse* außerordentlich günstige Lebensbedingungen. Die geringe Durchlüftung und die damit verknüpfte Produktion von Hemmungstoffen verhindern die rasche Verarbeitung von Verbindungen, die gerade den symbiontischen Pilzen, der Mykorrhiza, als günstiges Nährsubstrat dienen.

Die Mykotrophie ermöglicht den Pflanzen neben erhöhter und erleichteter Stickstoffaufnahme eine verstärkte Mineralsalzverarbeitung. Der Vorteil der pilzführenden Gewächse besteht ferner darin, daß sie aus relativ *kleinen* Arealen große Nährstoffmengen in solchen Böden beziehen können, dazu solche Stoffe, die ihnen durch die Mykorrhiza allein zugänglich sind und oft gerade zu Zeiten, in denen der Wirt sich mit den vorhandenen Wurzelhaaren allein hätte schwer ernähren können.

Die Buche und ihre mykotrophen Begleitformen sind daher in mäßig saurem Rohhumus wesentlich im Vorteil gegenüber den *autotrophen* Gewächsen. Diese bestehen den Kampf um die Konkurrenz nur dann, wenn ihr Wurzelwerk fein verästelt ist und weit ausladend ein verhältnismäßig großes Bodenareal durchzieht; wenn ferner gute Guttation und Transpiration eine rege Wasserdurchströmung begünstigen. Denn nur durch Aufnahme reichlicher Mengen Bodenlösung sind diese Gewächse befähigt, sich die nötigen Ammonsalmengen zu verschaffen. Da aber diese Salze nur in schwer aufnehmbarer Form wegen ihrer festen Adsorption an Humuskolloide vorliegen und weiterhin vielen Besiedlern nicht die notwendige Lichtintensität und der dazu gehörige „Bauplan“ des Körpers zum Hinaufpumpen großer Nährsalzmengen zur Verfügung steht, so werden die autotrophen Seichtwurzler hier nur bedingt ihren Platz finden.

Nun sahen wir, daß an Stellen mit wenig Auflagehumus andere Pflanzen auftraten als dort, wo er größere Mächtigkeit besitzt. Die Ursache liegt meines Dafürhaltens in der Mikroflora des Bodens bedingt, die allerdings erst sekundäre Agens dafür darstellt.

Primär scheinen die physikalischen und chemischen Bodenverhältnisse zu wirken. Die Stärke der Durchlüftung, die Gegenwart von mehr oder weniger organischen Materialien, ebenso das Vorhandensein von säurebindenden Mineralstoffen sind für das Vorkommen von Mikroben ausschlaggebend. Die klimatischen Einflüsse sind dabei natürlich nicht zu vergessen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit haben es klargemacht, daß nicht allein die Gegenwart von Lebewesen die Eigenart dieser Böden ausmacht, sondern gerade das Ausbleiben von chemischen Umsetzungen und von Bodenmikroben, die die mineralisierenden Prozesse im normalen Boden meist zu Ende führen. Diese Veränderung kann qualitativ wie quantitativ in die Zusammensetzung der Biozönose eingreifen.

Die Sukzessionen des Buchenwaldes tragen der Veränderung der einzelnen Schichten Rechnung. Die Buche erzeugt sich und den Begleitpflanzen ihrer Klimax also nicht nur durch die Beschattung, sondern auch durch die Bodenveränderung die ausschlaggebenden Existenzbedingungen.

Daß in Ostpreußen die Buche vielfach an Orten fehlt, an denen die klimatischen Verhältnisse für sie vorteilhaft sind, ist *historisch* durch die Niederung der Staubeckenzone begründet. Die Buche konnte dieses Gebiet nicht besiedeln und auch nicht darüber hinausgehen, weil die für sie notwendige Verschleppung durch Vögel meist nur auf enge Distrikte erfolgt. Schließlich ist noch zu betonen, daß die Grenze der urwüchsigen Rotbuche im Süden Ostpreußens durch die Trockenheit des Johannisburger Sandes und die Sumpfnatur der dortigen Niederungen, ferner auf dem Masurischen Höhenrücken durch die Kälte des Seesker Gebietes klimatisch und edaphisch bedingt ist.

Abstract

The results of the preceding work, partly supplemented by the study of literature, are as follows:

In the examined beech-forest soil, the nitrification in comparison to a normal working garden soil, is strongly checked or even put out of action.

The azotobacter-development is also suppressed, but the azotobactergerms are still present in the raw beech humus.

The impediment of the nitrit-formers and the azotobacter can be attributed, besides other influences, to the presence of certain materials which, owing to their chemical constitution, and not to their acidity only, act in an injurious way.

It may be pointed out, as an interesting relation, that humus extracts of crumb and subsoil which were adverse to the azotobacter, acted favourably on the nitrifying bacteria, while other ether-soluble materials in the examined raw beech-humus, besides promoting the azotobacter, were injurious to the nitrosomas.

It is important that the matter, hindering to the nitrate-formers was removed by and by as soon as normal garden soil was added, this probably is due to the work of microbes.

The denitrifying bacteria are to be found in forest soil under favourable circumstances, but strong nitrate-destroyers (explanation of the notion as above) are not present.

It seems possible that formers of ammonia may be present in a weakly-acid raw-humus of beeches.

Anaerobic bacteria cause a rather good compound in the lower layers of the examined raw humus, aerobic bacteria effect only a slight one. The nitrification there is really promoted if only the air has free access.

The upper layers of the soil in return show an accumulation of nitrogen, caused by the aerobic bacteria, but a very weak nitrification.

In this description we perceive the diversity of the single soilhorizons.

The crumb which according to the preceding investigations, is able abundantly to form ammonia, will principally grow ammon-plants. In return nitrat plants will be missing, as the nitre when it is formed, is being accumulated, by washing away, in the underground. Therefore, the roots of the nitre plants will always struggle to get to the subsoil.

The raw-humus with its great riches of organic nitrogen and carbon-holding substances, offers exceedingly good conditions of life to micotrophe plants. The poor aeration, and combined with it the production of hindering substance, check the quick working of compounds which would be servicable as a favourable substratum, to the symbiontical fungi, the mykorrhiza.

The mycotrophy allows to the plants an increased consumption of mineral-salts, besides an easier taking up of nitrogen. The host plants of the fungi have the further advantage that they may draw from such soils great quantities of nutrient material from a comparatively small area, and even such substances which they can get only, owing to the micorrhiza, and at times very often, when the host plant could not have drawn sufficient food by means of the existing roots.

The beech and its mycotrophe accompanying forms, in a medium-acid raw-humus, therefore, have a great advantage against the autotrophe plants. These survive in the competition only, if their root system is very finely branched and extends far through a relatively great area of soil; they resist further if a good guttation and transpiration favour a vigorous flowing through of the water. These plants are only capable through the absorption of plenty of soil-solution to obtain the necessary quantities of ammon-salts. These salts, however exist only in a form, difficult to absorb, owing to their solid absorption of humus colloides; and because many of these plants do not find the necessary light-intensity, and do not possess the required structure, to pump up large quantities of nutrient salt, autotrophe plants will here only conditionally find room.

We noticed that in places where the layer of humus was only thin, other plants appeared, than where it had a greater depth. In my opinion this is caused by the microflora of the soil, which however represents but the secondary agent.

Primary the physical and chemical soil conditions seem to be acting. The strenght of the aeration and the the presence of more or less organic substance, the existance also of acidity-binding mineralmatter are essential for the presence of microbes. The climatical influences of course are also important.

The results of the preceding work have made it clearly understood that not the presence of microbes only is a peculiarity of these soils but exactly the missing of chemical changes and of soil microbes which in a normal soil mostly finish the mineralising processes. This change may effect the composition of the biozoozose quantitatively and qualitatively.

The successions of the beech forest regulate the changes of the single soil layers. The beech, therefore, gives the necessary conditions of existence to the accompanying plants of its climax not only by shading them, but also by the changes of the soil.

That the beech is not to be found in East Prussia in many places, where the climatical conditions are even favourable, is historically explained by the low situation of the stow-basin zone. The beech was not able to settle in this district, or to get further, because the necessary carrying on of seeds by birds happens mostly only on short distances. The border of the original red-beech is climatically and edaphically caused by the drought of the Johannisberger sands and the swamps of the lowlands, further on the masovian ridges by the cold of the Seesker district.

Literatur

1. FUCHS, A. und ZIEGENSPECK, H.: Aus der Monographie des Orchis Traunsteineri Saut. II. Teil, Mykorrhiza und Boden, Mez, Arch. III, 1923, S. 237 bis 261. — 2. KUHN: Demonstration der Ergebnisse morphologischer Bakterienstudien und zum d'Hérelleschen Phänomen, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene, Bd. 30, Beiheft 1, 1926. — 3. KOCH, M. und ZIEGENSPECK, H.: Die Pettenkoferien als Erzeuger des d'Hérelleschen Phänomens, Zentr.-Bl. f. Bakter., Bd. 71, 1927; KOCH, M.: Die Kuhnschen Bakteriophagen in Mez, Archiv XIX, 1927, S. 275—313. — 4. MEYER, A.: Mikroskopisches Praktikum II, Jena 1903. — 5. MEYERHOF, O.: Untersuchungen über den Atmungsvorgang nitrifizierender Bakterien I—III, Pflügers Archiv, 1916/17. — 6. GAARDER, T. u. HAGEM, O.: Versuche über Nitrifikation und H-Conc., Bergens Mus. Aarbok, Nat. R. Nr. 6, 1919/20. — 7. SCHREINER, O. und LATHROP, Elbert C.: Dihydroxystearic acid in good and poor soils, Journ. Amer. Chem. Soc. 33, 1911, S. 1412—1417. — 8. RUSSEL, E. J.: Boden und Pflanze, Dresden u. Leipzig 1914. — 9. SCHREINER, O. und SHOREY, E. C.: Die chemische Natur der organischen Substanz, U. S. Dept. of Agric. Bur. of Soils. Bull. Nr. 74, 1910. — 10. MATTHES, H. u. RATH, L.: Über die Trennung von Dioxy- und Tetroxystearinsäure. Bes. Abdruck a. d. Arch. d. Pharm., 252. Bd., 9. Heft, 1914. — 11. LÖHNIS, F.: Landwirtschaftlich-bakteriologisches Praktikum, Berlin 1920. — 12. TREADWELL, F. P.: Qualitative Analyse, I. Bd., 1914, p. 317. — 13. LÖHNIS, F.: Vorlesungen über landwirtschaftliche Bakteriologie, Berlin 1913. — 14. STAHL, E.: Der Sinn der Mykorrhizenbildung, Jb. f. wissenschaftl. Botanik 34, 1900. — 15a. BISCH: Ber. Bot. Ges. 39, 302, 1921. — 15b. ZIEGENSPECK, H.: Über Permeabilität tertiär verdickter Endodermen, Pringsh. Jahrb. 59, 171, 1920. — 16. WIESSMANN: Agrikulturchemisches Praktikum quant. Analyse, Berlin 1926. — 17. BEIJERINCK, M. W.: Über oligonitrophile Mikroben, Zentralbl. f. Bakter., Abt. II, 7, S. 561—582, 1901. — 18. GÜNTHER, C.: Einführung in das Studium der Bakteriologie, Leipzig 1906. — 19. NEUBAUER, H. und SCHNEIDER, W.: Die Nährstoffaufnahme der Keimpflanzen und ihre Anwendung auf die Bestimmung des Nährstoffgehaltes der

- Böden, Ztschr. f. Pflanzenernähr. u. Düng., 1923, Teil A Bd. II S. 329. — 20. SALISBURY, E. J.: Stratification and Hydrogen-Ion Concentration of the Soil in Relation to Leaching and Plant Succession with Special Reference to Woodlands, Journ. of Ecol. IX, 1922, S. 220—240, p. 240. — 21. BÜSGEN, M.: Studien über die Wurzelsysteme einiger dicotyler Holzpflanzen, Flora 95, 58, 1905. — 22. FREIDENFELT: Studien über die Wurzeln, Flora, Allgem. Bot. Zeit., Bd. XCI, 1902, p. 115—208. — 23. RIMBACH: Beiträge zur Physiologie der Wurzeln, Ber. D. B. G. XVII, 1889, p. 18—35. — 24. WALTER, H.: Die Anpassungen der Pflanzen an Wassermangel, Naturwissenschaft u. Landwirtschaft, Heft 9, 1926. — 25. FUCHS, A. und ZIEGENSPECK, H.: Bau und Form der Wurzel der einheimischen Orchideen im Hinblick auf ihre Aufgabe, Mez, Arch. XII, 1925, S. 290—379. — 26. LIPPMANN, E.: Über das Vorkommen der verschiedenen Arten der Guttation und einige physiologische und ökologische Beziehungen, Mez, Arch. XI, 1925, S. 361—464. — 27. HESSE, H.: Beiträge zur Morphologie und Biologie der Wurzelhaare, Diss. Jena 1904. — 28. KUNZE, G.: Über Säureausscheidung bei Wurzeln und Pilzhypen und ihre Bedeutung. Diss. Jena 1906. — 29. NEGER, F.: Biologie der Pflanzen, (Einl.), Stuttgart 1913. — 30. WITTICH, W.: Untersuchungen über den Einfluß intensiver Bodenbearbeitung auf Hohenlubbichower und Biesenthaler Sandböden, Neudamm 1926. — 31. DIELS, L.: Beiträge zur Kenntnis des mesophilen Sommerwaldes in Mittel-Europa, Zürich 1925. — 32. CZAPEK, F.: Biochemie der Pflanzen, Jena 1920. — 33. WOLF, K.: Über Denitrifikation, Hygien. Rundschau Jg. IX Nr. 11, 1889, S. 538—547. — 34. WEISSENBERG, H.: Über die Denitrifikation, Zentralbl. f. Bakter., II. Abt., Bd. VIII, 1902, p. 166. — 35. WALTER, H.: Die Verdunstung von Wasser in bewegter Luft und ihre Abhängigkeit von der Größe der Oberfläche. Zur Kritik d. Transpirationsversuche. Ztschr. f. Bot. 18,1, 1925/26. — 36. FUCHS, A. und ZIEGENSPECK, H.: Entwicklungsgeschichte der Axen der einheimischen Orchideen und ihre Physiologie und Biologie, II. Teil: Listera, Neottia, Goodyera, Mez, Arch. XVI, 1926, S. 360—413. — 37. MELIN, E.: Untersuchungen über die Bedeutung der Baummykorrhiza. Eine ökologisch-physiologische Studie. Jena 1925. — 38. SIERP und CONRAD NOAK: Jahrbuch wissenschaftliche Botanik 60, 459, 1921. — 39. ARND, Th.: Die Humussäuren in ihrem Einfluß auf das Mikrobenleben im Moorboden und die Methode der Aciditätsbestimmung, Ztschr. f. Pflanzenernährung u. Düngung, 1925, 1 u. 2. — 40. TEMPLE, J. C.: Nitrification in acid or notbasic soils, Georgia Exper. Stat. Bull. 103, 1914. — 41. RAMANN, E.: Bodenkunde, Berlin 1911, Jul. Springer. — 42. HESSELMANN, H.: Vom Einfluß unserer Verjüngungsmaßnahmen auf die Salpeterbildung im Boden, Mitt. d. Schwed. Versuchsanst., 1916. — 43. WIEDEMANN, E.: Fichtenwachstum und Humuszustand, 1924. — 44. OLSEN, C.: Studies on the hydrogen ion concentration of the soil and its significance to the vegetation, especially to the natural distribution of plants, Comptes Rend. 15 Nr. 1, 1923. — 45. FUCHS, A. und ZIEGENSPECK, H.: Entwicklung. Axen und Blätter einheimischer Orchideen, IV. Teil, Mez, Arch. XX, 1927, S. 275—422. — 46. v. TUBEUF, K.: Die Haarbildungen der Coniferen, Forstl.-Naturwiss. Zeitschr. 5, 1896. — 47. v. TUBEUF, K.: Beiträge zur Mykorrhizafrage. Über die Ernährung der Waldbäume durch Mykorrhizen. Naturwiss. Zeitschr. f. Land- und Forstwirtsch. 1, 1903. — 48. — FUCHS, A. und ZIEGENSPECK, H.: Die Daktylorchisgruppe der Ophrydineen, Mez, Arch. XIX, 1927, S. 163—274. — 49. FUCHS, A. und ZIEGEN-

- SPECK, H.: Entwicklungsgeschichte der Axen der einheimischen Orchideen und ihre Physiologie und Biologie. I. Teil Cypripedium, Helleborine, Limodorum, Cephalanthera, Mez, Arch. XIV, 1926, S. 1665—260. — 50. FALCK, R.: Erweiterte Denkschrift über die Bedeutung der Fadenpilze für die Nutzbarmachung der Abfallstoffe zur Baumnährdung im Walde und über die Möglichkeit einer nachträglichen pilzlichen Aufschließung des Trockentorfs, Mykol. Unters. u. Ber. 2. Kassel 1923. — 51. BEIJERINCK, M. W.: Bindung von freiem atmosphärischem Stickstoff durch Azobacter in Reinkultur; Verbreitung dieses Bakteriums. Veröff. d. k. Akad. Wetensch. Amsterdam 11, 1908, S. 67—74. — 52. WINOGRADSKY, S.: Untersuchungen über die Nitrifikationsorganismen, Ann. d. l'Inst. Pasteur 4, II. Mémoire, 1890, S. 257—275. — 53. — und OMELIANSKY: Über den Einfluß der organischen Substanz auf die Arbeit der nitrifizierenden Mikroben, Zentralbl. f. Bakter., Abt. II, 5, 1899. — 54. WINOGRADSKY, S.: Zur Mikrobiologie des Nitrifikationsprozesses, Zentralbl. f. Bakter., II. Abt., 2, 1896, S. 415 bis 428. — 55. WEIS, Fr.: Über Vorkommen und Bildung der Salpetersäure in Wald- und Heideboden, Zentralbl. f. Bakter., II. Abt., 28, 1910, S. 434—460. — 56. MIGULA, W.: Beiträge zur Kenntnis der Nitrifikation. Nitrifikation im Waldboden, Zentralbl. f. Bakter., II. Abt., 6, 1900, S. 365—370. — 57. SCHLOESING, Th.: Über die Nitrifikation des Ammoniaks, Compt. rend. 109, 1889, S. 423 bis 428. — 58. REMY, Th.: Bodenbakteriologische Studien, Zentralbl. f. Bakter., Abt. II, 8, 1902, S. 657—662. — SCHÖNBRUNN, B.: Über den zeitlichen Verlauf der Nitrifikation unter besonderer Berücksichtigung der Frage nach dem periodischen Einfluß der Jahreszeit, Zentralbl. f. Bakter., Abt. II, Bd. 56, Nr. 23/24, 1922, S. 545—565. — 60. BEIJERINCK, M. W. und MINKMANN, D. C. J.: Bildung und Verbrauch von Stickoxydul durch Bakterien, Zentralbl. f. Bakter. 25, 1910, S. 30—63. — 61. HÜTTIG, C.: Untersuchungen über säurebildende Mikroorganismen des Bodens, mit bes. Berücks. d. f. d. Milch wichtigen, Lw. Jb. Berlin 1927. — 62. REXHAUSEN, L.: Über die Bedeutung der ektotrophen Mykorrhiza für die höheren Pflanzen, Beiträge zur Biologie der Pflanze, 14, 1920. — 63. MÜLLER, R. E. und WEISS, Fr.: Studie über Wald- und Heideboden, Mitt. Forstl. Versuchsstation Kopenhagen, 1905/08. — 64. FRANK, B.: Die Ernährung der Kiefer durch ihre Mykorrhizapilze, Ber. Deutsch. Bot. Ges. 10, 1892. — 65. FURRER, E.: Kleine Pflanzengeographie der Schweiz, Zürich 1923. — 66. BROCKMANN, H. u. M.: Die natürlichen Wälder der Schweiz, 1910. — 67. LÜDI, W.: Die Pflanzengeschichte des Lauterbrunnentales und ihre Sukzession, Beitr. Geobot. Landaufn. 9, Zürich 1921. — 68. HARMS-WIECHERT: Heimatatlas für Ostpreußen, Leipzig 1926, p. 6. — 69. WIEGNER, G.: Boden und Bodenbildung in kolloidchemischer Betrachtung, Dresden u. Leipzig 1918. — 70. MEVIUS, W.: Reaktion des Bodens und Pflanzenwachstum, Naturwiss. u. Landwirtsch. Heft 11, 1927. — 71. MEINKE, H.: Über die Ursachen der Aufeinanderfolge bei der nacheiszeitlichen Wiedereinwanderung der Waldbäume in Europa, Mez. Arch. XVI, 1926, S. 437—442.