

# Über die Wasserstoffoxydation durch Mikroorganismen.

Von  
Bronislaw Niklewski.

Mit Tafel III.

## I. Literaturübersicht.

Die Oxydation des Wasserstoffs durch verwesende Körper ist zuerst von Saussure<sup>1)</sup> beobachtet und beschrieben worden. Während das Volumen reiner Wasserstoffatmosphäre bei Anwesenheit fermentativer Körper sich nicht änderte, trat eine erhebliche Gasverminderung ein, wenn Erbsen in Wasser bei Anwesenheit eines Gemisches von Wasserstoff und Sauerstoff faulten. Die Abnahme beider Gase wurde gasanalytisch festgestellt. Dasselbe Resultat wurde bei Anwendung von Heideerde, Seide, Baumwolle u. a. m. erzielt. Über die Natur des Prozesses ergaben verschiedene Zusätze Aufschluß. Eine Beimischung von Seesalz zu gut wirkender Erde (1:4) hob die Kondensation der Gase auf, ebenso wirkte freie Schwefelsäure (1:100). Der Glührückstand der Erde rief erst nach 2—3 Monaten eine namhafte Kondensation hervor. Dagegen übte ein Zusatz von „Olefin“ (1:4) auf den Gang des Prozesses keinen Einfluß aus, wogegen durch Faraday festgestellt wurde, daß dieser Körper auch in viel geringerer Konzentration (1:48) die Platinkatalyse aufhob. Dagegen verhinderte die Kohlensäure in einer Konzentration (1:4) die Oxydation des Wasserstoffes, während sie die Platinkatalyse nicht beeinflusste. Auch Kohlenoxyd hob die Wasserstoffoxydation in Saussures Versuchen auf. Auch Liebig<sup>2)</sup> erwähnt, daß verwesende Körper in einem ge-

1) Théodore de Saussure. Action de la fermentation sur le mélange des gaz oxygène et hydrogène. Mémoires de la société de physique et d'histoire naturelle de Genève. Tome huitième, 1839, p. 163.

2) Chemische Briefe, 4. Aufl., 19. Bd., S. 296; doch ist daraus nicht zu entnehmen, ob das eigene Versuche sind oder zitierte Versuche Saussures.

schlossenen Gefäße den dargebotenen Wasserstoff und Sauerstoff zum Verschwinden bringen und Wasser bilden. In neuerer Zeit wurde ein Verschwinden der Knallgasatmosphäre unter Einwirkung der Erde gelegentlich von Versuchen über Denitrifikation von Immendorf<sup>1)</sup> beobachtet. Es bedurfte aber mehrerer Wochen, um den Prozeß in Gang zu setzen, dann aber verschwand das Knallgas in einigen Tagen zum größten Teil. Gasanalytisch konnte ein Verschwinden des Wasserstoffs und Sauerstoffs und das Auftreten von Kohlensäure festgestellt werden. Dagegen rief die mit Chloroform versetzte Erde keine Wirkung auf die Knallgasatmosphäre hervor. Die Frage wurde aber von diesem Autor nicht weiter verfolgt.

Im Herbst 1904 habe ich im botanischen Institut der Universität Leipzig auf Veranlassung des Herrn Geheimrat Professor Dr. W. Pfeffer Versuche über Wasserstoffoxydation angestellt, die ich dann in Dublany, im botanischen Institut, später im landwirtschaftlich-chemischen und jetzt im Institut für Pflanzenbau fortsetzte. Die in der Zeit bis Ende 1906 gemachten Beobachtungen, welche einen bloß orientierenden Charakter hatten, habe ich bereits publiziert<sup>2)</sup>.

Inzwischen sind aber auch von anderer Seite Untersuchungen über denselben Gegenstand angestellt worden.

Hermann Kaserer<sup>3)</sup> stellt fest, daß die Aktivierung des Wasserstoffes sich unter Einwirkung bestimmter Bakterien vollzieht. Er sucht die Organismen zu isolieren, sowie den physiologischen Charakter des Prozesses zu bestimmen. Zwei Organismen *Bac. pantotrophus* und *oligocarbophilus* werden als Urheber der Wasserstoffoxydation angesehen. Der erste entwickelt sich als diffuse Trübung ohne Hautbildung, falls eine kohlenäurereiche Atmosphäre dargeboten wird. Dieser Organismus vermag also allein prototroph zu leben, Wasserstoff in Gegenwart von Sauerstoff und viel Kohlensäure zu Wasser zu oxydieren. Doch ist er auch zu heterotropher Lebensweise befähigt. Wird dagegen zur Anlegung von Rohkulturen Knallgas verwandt, dann bildet sich auf mineralischer Nährlösung eine üppige Haut, welche kräftig Wasserstoff oxydiert. Jedoch gelang es dem Autor nicht, aus den Bakterienhäuten der Knallgas

1) Beiträge zur Lösung der Stickstofffrage. • Landwirtsch. Jahrb., Bd. 21, 1892.

2) Extr. du Bull. de l'acad. des sc. de Cracovie, 1906, p. 911.

3) Zeitschr. f. landwirtsch. Versuchswesen in Österreich, Bd. VIII, 1905, S. 789, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XVI, S. 681, 1906.

aktivierenden Rohkulturen die an dem Prozesse beteiligten Organismen rein zu züchten. Der Autor glaubt aber feststellen zu können, daß die Häute fast ausschließlich aus *Bac. oligocarbophilus* zusammengesetzt sind. Die bakteriologische Zusammensetzung jener Häute scheint also durchaus nicht genügend aufgeklärt zu sein.

Die Aktivierung des Wasserstoffes denkt sich der Autor in verschiedener Weise bei beiden Organismen vollzogen; es wird aber in beiden Fällen nicht eine unmittelbare Verknüpfung von Wasserstoff und Sauerstoff angenommen, sondern die Bildung von Kohlenstoffmaterial aus Kohlensäure und Wasserstoff und darauf folgende Oxydation der gebildeten Stoffe. Der Autor glaubt annehmen zu dürfen, daß bei *Bac. pantotrophus* dieser Stoff Formaldehyd sei, bei *B. oligocarbophilus* Kohlenoxyd. Als wesentliches Argument dafür, daß gerade diese Stoffe als Zwischenprodukte aufzufassen sind, wird der Umstand angesehen, daß die Stoffe den betreffenden Organismen als Nahrungsquellen dienen können; doch erscheint besonders die Ernährung des *Bac. oligocarbophilus* mit Kohlenoxyd fraglich. Diesen Organismus stellt der Autor in die Reihe der obligat prototrophen Organismen, welche durch organische Substanzen geschädigt werden, während *Bac. pantotrophus* als Vertreter „der Kohlenhydratwelt“ angesehen wird, die zu heterotropher Lebensweise veranlagt ist, ebenso wie auch die grüne Pflanze der Kohlenhydratwelt gezählt wird.

Eine Unterscheidung der beiden Wasserstoff oxydierenden Organismen in diesem Sinne erscheint mir deshalb unzutreffend, weil der eine der beiden Organismen, *Bac. oligocarbophilus* auf sein Verhalten gegenüber organischen Stoffen hin nicht näher studiert wurde, ebenso wie sein Verhalten der Wasserstoffoxydation gegenüber nicht hinreichend aufgeklärt ist. Die Kohlensäure-assimilationshypothese des Autors scheint mir hinreichender Begründung zu entbehren.

Genstand meiner Ende 1906 publizierten Versuche war besonders die in der Knallgasatmosphäre auf mineralischer Nährlösung sich bildende Kahnhaut, deren Organismen ich jedoch nicht rein zu züchten vermochte. Schon aus diesem Grunde war eine tiefere Einsicht in die Physiologie des Prozesses unmöglich. Ich habe nur in allgemeinen Umrissen den Charakter des Prozesses beschrieben, zugleich aber auf die Schwierigkeiten der Isolierung der Organismen hingewiesen, um damit spekulativen Deduktionen aus den wenigen Tatsachen Einhalt zu tun. Die angestellten Versuche

beschrieb ich mit folgender Einschränkung: „Alle physiologischen Beobachtungen gelten also für einen in seinen Teilen leider nicht näher erforschten Komplex von Organismen der Kahlhaut“<sup>1)</sup>.

Folgende Resultate konnten als einwandfrei betrachtet werden.

1. Die Erde vermag ein Gemisch von Wasserstoff und Sauerstoff zu kondensieren (bei ca. 33° C. ist dieser Prozeß gewöhnlich in wenigen Tagen sichtbar); diese Fähigkeit ist sehr verbreitet, da in den untersuchten Erdproben keine gefunden wurde, welcher diese Eigenschaft nicht zukäme.

2. Eine mineralische Nährlösung, mit Erde beimpft, bedeckt sich in einer Knallgasatmosphäre mit einer üppigen Kahlhaut; nach mehrmaligem Umimpfen erhält man eine gereinigte Kahlhaut, welche aus kleinen Stäbchen besteht. Diese Kahlhaut vermag intensiv Wasserstoff zu oxydieren.

3. Die Bildung der Kahlhaut auf mineralischer Nährlösung steht mit der Wasserstoffoxydation in kausalem Zusammenhang; denn unter sonst gleichen Bedingungen entwickelt sich die Kahlhaut an der Luft nicht. Der Wasserstoff liefert also der Kahlhaut die notwendige Betriebsenergie.

4. Die Kahlhaut besteht aus Kohlenstoffverbindungen, welche durch Reduktion freier Kohlensäure gebildet werden. Freie Kohlensäure kann durch das Carbonat nicht ersetzt werden.

5. Auf Kohlenstoffverbindungen (Acetat) gedeiht der die Kahlhaut bildende Organismus (oder Organismen) auch ohne freien Wasserstoff. Bei Darbietung von Acetat und Knallgas wird der Wasserstoff auch ohne besonders zugesetzte freie Kohlensäure verarbeitet.

6. Wiewohl die Kahlhaut morphologisch als ein aus kleinen Stäbchenbakterien einheitlich zusammengesetztes Ganze erscheint, konnten doch die daran beteiligten Organismen nicht durch Platten- gießen isoliert werden.

Auf anderem Wege sucht Lebedeff den physiologischen Charakter der Wasserstoffoxydation aufzuklären<sup>2)</sup>. Er berichtet, daß die Kondensation des Knallgases durch ein monotrichales be-

1) A. a. O., S. 923.

2) A. J. Nabokich und A. F. Lebedeff, Centralbl. f. Bakt., Bd. XVII, S. 350, 1906; F. A. Lebedeff, Biochem. Zeitschr., Bd. VII, S. 1, 1907; A. J. Lebedeff, Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1910, Bd. XXVII, S. 598 (darin auch das Ref. einer Publikation in den Verhdlgn. des Mendelejeff-Kongresses 1908).



wegliches Stäbchen in reiner Kultur vollzogen wird, welches an der Oberfläche der Nährlösung ein starkes Häutchen bildet. Als Stickstoffquelle wurden Nitrate (0,2%  $\text{KNO}_3$ ) benutzt. Doch fehlen leider bis jetzt nähere Angaben darüber, wie die Reinzucht des Organismus gelang, auch wird kein Bild und keine nähere Beschreibung der Reinkultur geliefert. Aus der letzten Publikation erfahren wir, daß der Organismus auch heterotroph zu leben vermag.

Es ist mir also unmöglich, den Organismus, mit welchem Lebedeff experimentierte, mit den von mir kultivierten Organismen der Kahnhaut zu identifizieren. Trotz der vielfachen morphologischen und physiologischen Ähnlichkeiten, die zweifelsohne zwischen beiden Kulturen bestehen, liegt doch ein wesentlicher Unterschied darin, daß Lebedeff anscheinend einen Organismus ohne Schwierigkeiten in der Kahnhaut findet, während ich in der Kahnhaut eine komplizierte symbiotische Wechselwirkung mindestens zweier bereits reingezüchteten Organismen annehmen muß.

Ohne auf die morphologischen und sonstigen physiologischen Eigenschaften näher einzugehen, sucht der Autor mit Hilfe von Gasanalysen die im Studium der Organismen zweifelsohne interessanteste Frage des Verbrauches der drei Gase: Kohlensäure, Wasserstoff, Sauerstoff in ihrem Verhältnis zueinander aufzuklären.

Der Autor kommt zu dem Schluß, daß der energetische Prozeß genau durch die Gleichung  $2 \text{H}_2 + \text{O}_2 = 2 \text{H}_2\text{O}$  ausgedrückt wird. Jedoch wird bei der Assimilation des Kohlenstoffes aus der Kohlensäure Sauerstoff ausgeschieden und dieser zur Oxydation des Wasserstoffs ebenso wie der anfangs zugesetzte Sauerstoff verwandt, so daß das Verhältnis der verbrauchten Wasserstoffmenge zu dem verbrauchten ursprünglich zugesetzten freien Sauerstoff bei gleichzeitiger Kohlensäurereduktion 2,0 übertrifft, zwischen 2,0 und 3,0 schwankt. Korrigiert man also die Resultate auf den in der Kohlensäure enthaltenen Assimilationssauerstoff hin, so erhält man ein Verhältnis  $\frac{\text{H}_2}{\text{O}_2}$ , welches sich 2,0 nähert. Jedoch auch dieses Verhältnis unterliegt gewissen Schwankungen. Nur in alten Kulturen ist es fast gleich 2,0; je jünger die Kultur ist, desto kleiner wird dieses Verhältnis; in ganz jungen Kulturen fällt es sogar bis auf 1,5. Der Autor schließt daraus, daß bei dem Wachstum der Mikroben auch eine Assimilation des Sauerstoffs vor sich geht. Der Schluß dieser Beobachtungen, glaube ich, könnte auch so formuliert werden, daß ältere Kulturen ein Material bilden, in

welchem der gebundene  $\frac{H_2}{O_2} = 2$  ist. Jüngere Kulturen bilden ein sauerstoffreicheres Material (vielleicht findet hier ein Synthes organischer Säuren statt; es wäre interessant, festzustellen, ob durch Änderung der Nährlösung, etwa der Alkalität, das Verhältnis der verbrauchten Gase nicht verschoben wird).

Merkwürdigerweise wird bei Besprechung des Sauerstoffverbrauches auf die Nitrate zu wenig Rücksicht genommen, und doch scheint diese Sauerstoffquelle in Betracht zu kommen, da in gewissen Fällen erhebliche Mengen Stickstoff entbunden werden. Es müßte also besonders festgestellt werden, inwieweit dieser Sauerstoff mit in Rechnung zu ziehen ist.

Die Änderung des Verhältnisses  $\frac{H_2}{O_2}$  mit dem Alter der Kultur zeigt also, daß eine schematische Formel für die Assimilation der Gase nicht aufzustellen ist, daß eine Zerlegung der Kohlensäure mit gleichzeitiger Ausscheidung eines gleichen Volumens Sauerstoff nur unter bestimmten Bedingungen vor sich geht, also anders wie bei der photosynthetischen Zersetzung der Kohlensäure, wo als erstes Material in der Tat nur Stoffe gefunden werden, in denen der  $\frac{H_2}{O_2} = 2$  ist. Der Schluß des Autors, der Chemismus der Photosynthese und der Chemosynthese sei ein und derselbe, scheint mir daher nicht recht zutreffend zu sein; übrigens dürfte mit diesem Vergleiche wenig gewonnen werden, da wir doch den Chemismus der Photosynthese recht dürftig kennen.

Jedenfalls ist dank den Analysen Lebedeffs ein wesentlicher Einblick in den biologischen Prozeß der Wasserstoffoxydation gewonnen.

Ferner wendet sich der Autor zur Entscheidung der für die Physiologie des Prozesses fundamentalen Frage: „Vollzieht sich die Aktivierung des Wasserstoffes in enger Abhängigkeit von der Kohlensäureassimilation?“

Während Kaserer schon bei seiner ersten Publikation es gleichsam als selbstverständlich ansieht, daß der Wasserstoff zunächst mit der Kohlensäure in Reaktion tritt und das gebildete Material dann erst der Oxydation anheimfällt, und diesen Gedanken in seinen Konsequenzen weiter verfolgt, kommt Lebedeff zu dem entgegengesetzten Schluß. Auf Grund seiner gasanalytischen Beobachtungen hebt er hervor, daß das Verhältnis der verbrauchten

Kohlensäure zu dem oxydierten Wasserstoff innerhalb weiter Grenzen schwankt. Das Resultat von 50 Versuchen ergab, daß auf 100 ccm Kohlensäure 550—1500 ccm Wasserstoff oxydiert werden können. Zu anscheinend definitiver Entscheidung der Frage wird folgender Versuch herangezogen. Eine normale 15-tägige Kultur, welche 36,04 ccm CO<sub>2</sub>, 205,25 ccm H, 78,40 O verbraucht und 34,04 ccm N entwickelt hat, wird nach dem Entfernen der Gase mittels einer Pumpe nur mit Wasserstoff und Sauerstoff ohne eine Spur von Kohlensäure gespeist. Trotz des Fehlens der Kohlensäure hatte sich nach 34 Tagen der Atmosphärendruck in der Kultur auf 419,3 mm verringert. Die Analyse ergab einen Verbrauch von 429,24 ccm H, 211,32 ccm O, eine Produktion von 4,30 ccm N. Wenn wir annehmen, daß mittels der Pumpe in der Tat alle Kohlensäure entfernt wurde, was auszuführen keineswegs leicht sein dürfte, so ist doch vor allem der Einwand zu erheben, daß das in der Kultur angesammelte Kohlenstoffmaterial verarbeitet und im Verein mit der daraus gebildeten Kohlensäure Wasserstoff aktiviert werden könnte. Der Organismus ist ja auch nach der Beobachtung Lebedeffs zu heterotropher Lebensweise veranlagt, als solcher wird er wohl in erster Linie befähigt sein, das selbst gebildete Material zu verarbeiten. Wäre es also nicht denkbar, daß die Bakterien in ausgewachsenen Kulturen auch ohne Kohlensäurezusatz Wasserstoff aktivieren, indem das alte Bau- oder Reservematerial wenigstens teilweise zerstört werde und die jungen Zellen sich die entstehende Kohlensäure nutzbar machen, so daß das einmal festgelegte Kohlenstoffmaterial zur Aktivierung einer verhältnismäßig großen Wasserstoffmenge dienen könnte? In solchen Massenkulturen wäre zwar kein näheres Abhängigkeitsverhältnis zwischen verbrauchtem Wasserstoff und reduzierter Kohlensäure wahrzunehmen, in Wirklichkeit aber wäre die Oxydation des Wasserstoffs aufs engste mit der Kohlensäurereduktion verkettet. Lebedeffs Versuche sind also durchaus ungeeignet, die Frage der Abhängigkeit der Kohlensäurezersetzung und Wasserstoffoxydation zu lösen.

Die Beobachtung Lebedeffs, daß die Assimilation des Kohlenstoffes aus der Kohlensäure bei dem untersuchten Organismus stets mit einer Ausscheidung freien Stickstoffes verbunden ist (die mineralische Nährlösung enthielt 0,2% KNO<sub>3</sub>), während ohne Zusatz von Kohlensäure in ausgewachsenen Kulturen die Oxydation des Wasserstoffes ohne Ausscheidung freien Stickstoffes vor sich geht,

scheint mir darauf zu weisen, daß bei einer stärkeren Anhäufung organischer Substanzen infolge der Anwesenheit reichlicher Mengen Kohlensäure eine lebhafte Oxydation dieser Stoffe stattfindet, so daß dabei die Nitate mit in diesen Oxydationsprozeß gerissen und gespalten werden, während bei Kohlensäuremangel die Prozesse retardiert und auch die Nitate durch den freien Sauerstoff geschützt werden. Aus ähnlichem Grunde scheint es mir auch sehr fraglich zu sein, ob die Oxydation des Wasserstoffs bei vollständiger Abwesenheit freien Sauerstoffes lediglich auf Kosten des Sauerstoffes der Kohlensäure erfolgt, wie es der Autor erklärt, zumal dabei erhebliche Mengen freien Stickstoffes gebildet werden. Es wäre ja in der Tat interessant, zu erfahren, ob die Reduktion von Kohlensäure durch Wasserstoff ein für den Organismus Energie liefernder Prozeß sein kann. Thermische Berechnungen allein können ja bekanntlich eine solche Frage nicht lösen. (Für biologische Fragen bedarf es immer noch der experimentellen Prüfung.)

Wenn ich es mir erlaubt habe, schon jetzt die vorläufige Mitteilung Lebedeffs einer gewissen Kritik zu unterziehen, so geschah es besonders in der Hoffnung, daß der Autor in der versprochenen ausführlichen Arbeit auf die berührten Fragen näher eingehen wird, was der Sache nur förderlich werden kann.

## II. Die Reinzucht der Wasserstoff oxydierenden Organismen.

Die Wasserstoff oxydierenden Organismen scheinen also in letzter Zeit lebhaftes Interesse zu erwecken, wohl mit Rücksicht auf die Bedeutung, welche sie für das Studium der Atmungsvorgänge haben können. Bevor wir jedoch an die Bearbeitung dieser Fragen herantreten können, muß vor allem die Frage der Reinzucht erledigt und die wichtigsten Eigenschaften der an der Wasserstoffoxydation beteiligten Organismen bestimmt werden.

Kaserer hat zwar einen Wasserstoff oxydierenden Organismus reingezüchtet, doch bezüglich der Kahlhaut, die sich in der Knallgasatmosphäre bildet, hat er keine Klarheit geschaffen. Gerade diese Kahlhaut interessierte mich, da sie den Gegenstand meiner Untersuchungen bildete. Ich wollte von dem einmal eingeschlagenen Wege nicht abweichen, ohne wenigstens den Grund der Schwierigkeiten erkannt zu haben; übrigens ließen gerade die Schwierigkeiten bei der Isolierung interessante Verhältnisse vermuten.



Einen wesentlichen Fortschritt in dem Studium der Wasserstoff oxydierenden Organismen betrachtete ich in der Reinzucht zweier Organismen, welche ich schließlich aus der Kahlhaut isolierte. Einen kurzen Bericht darüber lieferte ich Ende 1907<sup>1)</sup>.

Seit der Zeit habe ich die meiner Meinung nach wesentlichsten Eigenschaften beider Organismen kennen gelernt (wenigstens so weit, als es sich um die Reinzucht für weitere Studien handelt). Wenn aber dennoch trotz der langen seitdem verflossenen Zeit die Untersuchungen in den Einzelheiten sehr lückenhaft erscheinen, so daß z. B. gewisse Versuche mit dem einen Organismus angestellt wurden, für den anderen aber fehlen, so liegt es nicht zum mindesten daran, daß ich die Versuche nur hin und wieder anstellte, wenn ich von Berufspflichten einigermaßen frei war und nicht durch eine andere mehr landwirtschaftliche Arbeit (Nitrifikation im Stallmist) in Anspruch genommen war. Als ich schließlich nach Abschluß derselben mich systematisch der Bearbeitung des vorliegenden Themas, das mich sehr interessierte, widmen wollte, da legten sich die Verhältnisse so, daß ich das Laboratorium der landwirtschaftlich chemischen Versuchsstation Dublany verlassen mußte und die dort von mir zu dieser Arbeit getroffenen Einrichtungen nicht mehr benutzen konnte. Damit erklärt sich die recht unvollkommene Ausarbeitung des Themas. Die in letzter Zeit gemachten morphologischen Studien, Färbungen und mikrophotographischen Aufnahmen, habe ich in dem hiesigen botanischen Institut ausgeführt. Dem Leiter des Instituts, Herrn Prof. Dr. S. Krzemieniewski, der mir die dazu notwendigen Mittel des Instituts bereitwilligst zur Verfügung stellte, spreche ich an dieser Stelle den gebührenden Dank aus. Die weitere Aufnahme der Untersuchungen kann aber nicht sobald erfolgen, da in dem Institut für Pflanzenbau, in welchem ich jetzt arbeite, es bis dahin an den für eine bakteriologische Arbeit notwendigen Apparaten gefehlt hat. Der Leiter des Instituts, Herr Prof. Dr. K. Miczyński hat sich aber bereit erklärt, mir die zur Arbeit notwendigen Mittel zu verschaffen.

Ich bin gern bereit, jedem, der die Wasserstoff oxydierenden Organismen näher studieren will, die beiden reinen Kulturen zu geben.

Als Ausgangsmaterial für die vorliegenden Untersuchungen diente mir ein in Wasserstoff-Sauerstoff-Kohlensäure-Atmosphäre

---

1) Centralbl. f. Bakt., Bd. XX, S. 469.

auf mineralischer Nährlösung gewachsenes Häutchen, welches durch Impfung einer Gewächshauserde hervorgerufen war.

Die Ursache der Schwierigkeiten, die mir bei der Isolierung begegneten, beruhte darin, daß die beiden reingezüchteten Organismen allein auf mineralischer Nährlösung nicht in der Knallgasatmosphäre zu wachsen vermögen, wohl aber in Gemeinschaft miteinander. Besonders gut entwickelt sich jeder der beiden Organismen auf folgender Nährlösung, die, abgesehen vom Agarzusatz, nicht wesentlich von der von H. Kaserer empfohlenen Nährlösung abweicht:

	Prozent
Agar-agar . . . . .	1,5
$\text{NaHCO}_3$ . . . . .	0,1
$\text{NH}_4\text{Cl}$ . . . . .	0,1
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ . . . . .	0,05
$\text{MgSO}_4$ . . . . .	0,02
$\text{NaCl}$ . . . . .	0,02
$\text{FeCl}_3$ . . . . .	0,00001

Mit dieser Nährlösung werden die Reagensgläser gefüllt, auf der schräg erstarrten Oberfläche wird die Impfung vorgenommen. Die Kulturen werden unter eine Glocke in eine Schale mit Wasser gestellt. Durch ein Zu- und Ableitungsrohr wird durch die Glocke ca. 1—3 Stunden lang arsenfreier durch Silbernitrat, Permanganat, konz. Schwefelsäure gewaschener Wasserstoff geleitet. Schließlich werden unter die Glocke noch einige Blasen Kohlensäure hineingeleitet. Nach dem Entfernen der beiden Röhren wird die so mit Wasser gegen die Außenluft abgeschlossene Glocke in einen Thermostat bei 30—35° C. gestellt. In 3—4 Tagen entwickeln sich üppig die für das bloße Auge recht charakteristischen Kulturen der beiden Organismen. Viel länger die Röhren unter der Glocke zu halten, ist nicht ratsam, weil sich auf der feuchten Watte verschiedene Pilze entwickeln, welche in das Röhren hineinwachsen. Daher ist auch die verhältnismäßig hohe Temperatur zu benutzen, welche den Bakterien eine schnelle Entwicklung ermöglicht. Wenn die Pilze allzu lästig waren, dann bedeckte ich die Wattestopfen mit Sublimatpapier. Ebenso können unter einer solchen Glocke Kulturen in Petrischalen geführt werden. Es ist unnötig, unter die Glocke besonders Sauerstoff zu leiten, da er in hinreichender Menge, aus der nicht verdrängten Luft stammend, vorhanden ist.

Die beiden Organismen haben in diesen Agarkulturen ein recht charakteristisches Aussehen. Beide Organismen will ich nach Jensen *Hydrogenomonas* nennen.

Das makroskopische und mikroskopische Aussehen der Agarkulturen ist folgendes:

1. *Hydrogenomonas vitrea* bildet ganz an der Oberfläche zarte zusammenhängende Häutchen, die sich von der Agaroberfläche selbst durch einen schwachen Wasserstrom herunterwaschen lassen. In Petrischalen ist der Agarnährboden vollständig mit diesen Kolonien bedeckt. Auf flüssigem Nährboden ziehen sich die zarten Häutchen an den Glaswänden empor. Unter der Oberfläche entwickeln sich die Kolonien auf Agar schlecht, erst wenn sie auf die Oberfläche gelangen, breiten sie sich aus. So kommt es, daß in Agarplatten, in welche das Impfmateriale vor dem Gießen gemischt war, die Kolonien mehr oder weniger im Zentrum gelb gekörnt sind. War der Keim der Kolonie ursprünglich an der Oberfläche, dann findet man kein besonders sichtbares Zentrum in der Kolonie. Daneben sind auch kleine gelbe Kolonien zu finden, die noch nicht an die Oberfläche gedrungen sind. An den Oberflächenkolonien sind charakteristisch die Falten in der Kolonie, die auf dem photographischen Bilde deutlich sind. Das ganze Aussehen der Kolonie ist ein durchscheinendes (daher der Name). Mikroskopisch sind die Zellenstäbchen bis zu  $2 \mu$  lang, von einer Gestalt, wie es die mikrophotographische Aufnahme zeigt. Charakteristisch sind die Schleimhäute, die die Lagerung der Zellen auf dem Gläschen bedingen. Trotz guter Reinigung der Gläschen und Durchziehen durch die Flamme ist es schwer, die einzelnen Zellen durch Reiben mit der Platinöse auseinander zu reißen. Es bildet sich ein netzförmiges Maschenwerk, dessen Fäden aus eng aneinander liegenden Zellen bestehen. Das Bild zeigt noch ein wenig diese Lagerung, obwohl das schon die am äußersten Rande gelegenen, also gelockerte Fäden sind. Übrigens sind auch Schleimhäute mikroskopisch sichtbar. Damit erklärt sich auch, daß der Organismus wenn auch zarte, doch zusammenhängende Häutchen bildet, und es scheint, daß die Rohkulturen die Konsistenz der Kammhaut vor allem diesem Organismus verdanken.

2. *Hydrogenomonas flava* bildet auf Agar an der Oberfläche gelbe glänzende Kolonien, die besser am Nährboden haften und sich nicht so schnell ausbreiten wie der vorige Organismus. Auch unter der Oberfläche auf Agarplatten entwickeln sich die Kolonien

gut, jedoch sind sie dann mehr matt. Der Kolonierand ist scharf, die Kolonie glatt, d. h. ohne Falten, unter schwacher Vergrößerung erscheint sie etwas gekörnt. Mikroskopisch sind die einzelnen Zellen an Gestalt den vorigen ähnlich, doch etwas kleiner, bis zu  $1,5 \mu$  lang. Charakteristisch ist ihre Lagerung beim Ausbreiten auf dem Gläschen mit der Platinöse; sie lassen sich viel leichter voneinander trennen, als die Zellen des vorigen Organismus, wie dies auch aus der mikroskopischen Aufnahme ersichtlich ist. Damit stimmt auch die Tatsache überein, daß *H. flava* auf flüssigen Nährböden keine zusammenhängende Häutchen bildet, sondern nur dicke käseartige Fladen. Die rohe Kahmhaut verdankt diesem Organismus ihre Dicke. Öfters beobachtet man sowohl bei *H. vitrea* wie *flava* bisweilen körnige Gebilde an beiden Enden der Zelle. Es scheinen das plasmatische Ansammlungen vor dem Teilungsstadium zu sein, da mir die körnigen Gebilde verschieden groß erschienen, so daß in verschiedenen Zellen zwei zusammenhängende Zellen deutlich wahrnehmbar waren.

Gefärbt sind beide mikroskopischen Präparate mit Gentianaviolett-Anilin, denn merkwürdigerweise konnte ich jetzt die Präparate mit Karbolfuchsin nicht färben, während ich früher die rohe Kahmhaut mit diesem Farbstoff gefärbt habe. Sonst scheinen aber mikroskopisch die beiden Organismen von den Zellen der Kahmhaut nicht wesentlich abzuweichen. Ich hatte damals die Länge der Zellen der Rohkulturen auf  $1,5 \mu$  angegeben. Wenn ich jetzt für *H. vitrea* die Länge auf  $2,0 \mu$  setze, so sind das Abweichungen, welche leicht zu übersehen sind.

Bewegungen konnte ich an beiden Organismen der Agarkulturen nicht beobachten, doch will ich nicht behaupten, daß die Organismen nicht beweglich sind. Ich habe die Frage nicht weiter verfolgt. Doch auch in den Rohkulturen habe ich früher keine beweglichen Zellen beobachtet.

Die makrophotographischen Aufnahmen der beiden Kulturen hat Herr Prof. Dr. K. Miczyński ausgeführt, wofür ich den gebührenden Dank ausspreche. Besonders erwähnenswert ist der Umstand, daß das photographische Bild das makroskopische Aussehen der beiden Kulturen nicht ganz naturgetreu wiedergibt. *H. vitrea* ist nämlich viel zarter, durchscheinender, weniger augenfällig als die gelb glänzende *H. flava*. Jedoch sendet *H. vitrea* in größerer Menge chemisch wirksame Strahlen aus, zeigt auch eine deutliche Fluoreszenz. So kommt es, daß bei gleicher Expositions-



zeit, Lichtintensität, Plattenwirksamkeit *H. vitrea* wirksamer auf dem photographischen Bilde erscheint als *flava*. Um also *H. flava* einigermaßen deutlich sichtbar zu machen, wurde sie bedeutend länger exponiert als *H. vitrea*.

Die beiden Organismen sind also morphologisch gut charakterisiert. Sie sind auf gegossenen Agarplatten, welche mit einer einigermaßen durch Umimpfen gereinigten Kahlhaut beimpft worden sind, leicht, am besten mit bloßem Auge aufzufinden. Da natürlich zur Abimpfung nicht gerade dicht besäte Platten zu wählen sind, so kann es leicht vorkommen, daß auf der Platte sich nur der eine der beiden Organismen findet. Es sind daher mehrere Platten zu gießen; möglich ist es aber, daß man durch Impfstriche noch eher zum Ziele kommt, ich habe es nicht erprobt. Natürlich müssen die Platten einige Tage in einer Wasserstoff enthaltenden Atmosphäre bei einer Temperatur zwischen 30—34° C. gehalten werden.

Versuche mit Impfung der beiden Organismen auf mineralische Nährlösung ergaben folgendes Resultat. Wurde jeder der beiden Organismen allein in das übliche Reagensröhrchen auf mineralische Nährlösung geimpft und wurden diese Kulturen unter eine mit Wasserstoff und wenig Luft und etwas Kohlensäure gefüllte Glocke gebracht, so wie dies oben beschrieben ist, so entwickelten sich die Organismen, allerdings nicht in gleicher Weise, mehr oder minder gut. Falls aber die Impfung auf eine Nährlösung in einem Kolben vorgenommen wurde und dieser Kolben ausgepumpt und mit Knallgas und etwas Kohlensäure gefüllt wurde, dann blieb die Entwicklung aus, wenn die Organismen allein geimpft wurden. Wurden aber die beiden Organismen zusammen geimpft und derartigen Versuchsbedingungen ausgesetzt, dann fand eine üppige Entwicklung auf dieser mineralischen Nährlösung statt unter Kondensation des Gasgemisches.

Diese Beobachtungen bildeten den Ausgangspunkt für weitere Untersuchungen.

Die Kulturbedingungen in den Röhrchen unter der Glocke und in den Kolben unterschieden sich vor allem wesentlich in der Zusammensetzung der auf die Organismen wirkenden Gasgemische. In den Röhrchen entwickelten sich die Organismen in einer verhältnismäßig wasserstoffreichen Atmosphäre, welche ein wenig Sauerstoff, bedeutend mehr Stickstoff neben etwas Kohlensäure enthielt. In den Kolben dagegen betrug die Sauerstofftension ca.  $\frac{1}{3}$  des Atmosphärendruckes neben viel Wasserstoff und wenig

Kohlensäure und Stickstoff. Meine nächste Vermutung bezog sich auf den verschiedenen Sauerstoffgehalt, dem hier ein wesentlicher Einfluß auf die Organismen zukommen könnte. Ich suchte daher zunächst diese Frage aufzuklären.

### III. Der Einfluß der Sauerstofftension auf die Wasserstoff oxydierenden Organismen.

Der Einfluß des Sauerstoffdruckes auf die beiden rein gezüchteten Organismen wurde in Kölbchen studiert, deren Form ich in der ersten Publikation beschrieben habe. Durch den in der Kolbenverengung ruhenden Wattebausch unter dem Gummistopfen wird Fremdinfektion vermieden. Der mit Quecksilber oder mit Glycerin übergossene Gummistopfen leistet Gewähr für dichten Verschuß ebenso wie der am Zuleitungsrohr angebrachte Hahn mit Quecksilberschluß. Das zweite zweimal rechtwinklig gebogene Rohr von Barometerlänge taucht in Quecksilber. Im Kolben endigen beide Röhren unmittelbar unter dem Gummistopfen.

Das 600 ccm fassende Kölbchen wurde mit 200 ccm Nährlösung gefüllt, sterilisiert, beimpft und dann mit dem entsprechenden Gasgemisch in der Weise gefüllt, daß zuerst durch den einen Arm eines L-förmigen Teilungsrohres die Luft aus dem Apparat herausgepumpt und, wenn das Quecksilber in der anderen Verschlußröhre sich fast bis zur Barometerhöhe erhoben hatte, die Verbindung mit der Pumpe verschlossen und allmählich das Gas durch den anderen Arm in den Apparat hineingeleitet wurde. Dies wurde 3—5-mal wiederholt. Die Mischung der Gase wurde in einem gewöhnlichen Gasometer aus Blech hergestellt und das Gas bei der Füllung langsam durch Silbernitrat, Kaliumpermanganat in Bimsstein, konz. Schwefelsäure hindurchgeleitet. Nach der Füllung wurde das Kölbchen mit dem im Gummistopfen befindlichen Zuleitungsrohr, welches durch den Hahn verschlossen ist, sowie mit dem zweiten Rohr von Barometerlänge, welches in Quecksilber taucht, in den Thermostat, welcher ständig auf 33° C. eingestellt war, gestellt. So konnte die Entwicklung der Organismen nicht nur an der Trübung bezw. Hautbildung beobachtet werden, sondern es konnte direkt an dem Steigen der Quecksilbersäule das Verschwinden der Gase abgelesen werden.

Bei dieser Versuchsanordnung sind aber bedeutende Fehlerquellen nicht zu übersehen. Die Zusammensetzung des Gas-

gemisches, welches im Gasometer hergestellt wird, ändert sich im Laufe des Füllens der Kölbchen in dem Maße, als das Gasometer mit Wasser gefüllt wird. Für genaue Versuche hätte also aus jedem Kölbchen eine Gasprobe entnommen werden müssen; da mir aber eine entsprechende Quecksilberpumpe fehlte und ich nur schwer zu handhabende mit Quecksilber gefüllte Niveauflaschen hatte, so habe ich die Probeentnahme unterlassen. Es wurde also für eine Versuchsreihe höchstens eine Analyse ausgeführt, bisweilen wurde auch dies unterlassen; ich begnügte mich beim Füllen der einzelnen Gase, die einströmende Menge an dem am Gasometer angebrachten kommunizierenden Glasrohr abzulesen. Ein noch schwerer wiegender Fehler, auf den ich allerdings ziemlich spät aufmerksam wurde, besteht darin, daß die organischen Substanzen (Watte, Gummi) Sauerstoff verbrauchen und Kohlensäure produzieren, eine Fehlerquelle, auf die schon Godlewski hingewiesen hat und die Veranlassung zur Konstruktion eines nur aus Glas bestehenden Apparates gab. In einem Falle habe ich die Beobachtung gemacht, daß in einem solchen oben beschriebenen Kölbchen binnen zwei Monaten aller Sauerstoff, der ursprünglich 10 % des Gasgemisches ausmachte, verschwunden und dafür Kohlensäure produziert war, wobei sich die Quecksilbersäule nur unerheblich, um 4 cm, gehoben hatte, wohl infolge der größeren Löslichkeit der Kohlensäure.

Die vorgelegte Frage müßte also einwandfrei mit viel präziseren Apparaten ausgeführt werden als diejenigen, welche mir zur Verfügung standen (etwa in Kölbchen nach Godlewski, mit einer guten Luftpumpe, besseren Mischgefäßen für Gas usw.). Gleichwohl habe ich durch diese mit starken Fehlern behaftete Versuchsmethodik die Frage des verschiedenen Verhaltens der Organismen unter den verschiedenen Kulturbedingungen im wesentlichen gelöst, wenn auch die Ziffern bei geeigneterer Versuchsmethodik gewissen Verschiebungen unterliegen dürften.

Das Resultat der angestellten Versuche war folgendes.

Zunächst wurde das vorhin erwähnte Ergebnis festgestellt. Die beiden reingezüchteten Organismen, zusammen geimpft auf eine anorganische Nährlösung von obiger Zusammensetzung (natürlich unter Weglassen des Agar-Agar), vermögen sich in einer Knallgasatmosphäre, welche also zu ca.  $\frac{1}{3}$  aus Sauerstoff und zu ca.  $\frac{2}{3}$  aus Wasserstoff neben 1—20 %  $\text{CO}_2$  besteht, sehr gut zu entwickeln. Es wird dabei eine starke Trübung, zugleich aber auch eine üppige Kahlhaut beobachtet. Allerdings ist es mir schwer,

zu entscheiden, ob diese **Kahmhaut** von derselben Beschaffenheit ist wie in der Rohkultur; möglich ist es, daß bei dieser Kahmhaut eine stärkere Trübung auftritt als bei der Kahmhautbildung der Rohkultur. Es scheinen mir aber nicht in der Kahmhaut der Rohkultur andere Organismen als die beiden isolierten eine wesentliche Rolle zu spielen. Das Auftreten der Trübung unter der Kahmhaut wird wohl wesentlich durch die Schnelligkeit der Kahmhautbildung, welche durch das Zusammenwirken beider Organismen zustande kommt, bedingt, indem durch die Haut der Gaszutritt zu den tieferen Schichten abgeschnitten wird. Bei Impfung der fertigen Haut kann es vielleicht schneller zur Hautbildung kommen, als wenn beide Organismen aus gesonderten Kulturen geimpft werden und erst miteinander gewissermaßen verwachsen müssen, um die Haut zu bilden, doch habe ich nach dieser Richtung hin keine Versuche angestellt. Im übrigen findet aber ebenso wie in der Rohkultur auch bei dieser Kahmhautbildung der beiden reingezüchteten Organismen ein energischer Verbrauch der Knullgasatmosphäre statt; in wenigen Tagen beobachtete ich eine Hebung der Quecksilbersäule bis zu 62 cm Höhe. Dagegen vermochte sich in derselben Atmosphäre und derselben Nährlösung jeder der beiden Organismen, allein geimpft, nicht zu entwickeln. Die Flüssigkeit blieb ganz klar und die Quecksilbersäule hob sich auch nach Wochen nicht über 3 cm. An diesem Resultate änderte nichts, wenn der Sauerstoffgehalt der Atmosphäre noch weiter herabgedrückt wurde, auf 20, 15,2%, wie dies aus Tabelle I (S. 130/31)<sup>1)</sup> ersichtlich ist. Erst bei weiterer Depression des Sauerstoffgehaltes entwickeln sich die Organismen, jedoch mit großer Unregelmäßigkeit. *H. vitrea* entwickelte sich in einem Falle bei 13,4% Sauerstoff, in zwei Fällen nicht, auch nicht bei 10 und 8%. Doch bei 8,6% war in allen drei Fällen eine deutliche Entwicklung wahrnehmbar, bei 7,1% wiederum entwickelte sich dieser Organismus in zwei Fällen nicht, wohl aber in einem Falle. Ähnlich entwickelte sich *H. flava* bei einem Sauerstoffgehalt über 10% nicht, erst zwischen 7—8% findet Wachstum statt, doch dort überall regelmäßig. Stets war ein Parallelismus zwischen der eintretenden

1) Sofern in der Kolumne der Zusammensetzung des Gasmisches runde Zahlen angegeben sind, insbesondere unter Vernachlässigung der Stickstoffangabe, da ist der Gehalt nur ungefähr nach der Ablesung im Gasometer beim Füllen der Gase angegeben. Sonst sind die Angaben nach ein oder zwei mit den Hempelschen Pipetten ausgeführten Analysen gemacht.



Trübung und dem beginnenden Steigen der Quecksilbersäule zu beobachten, ein Beweis dafür, daß die Entwicklung der Organismen in der Tat auf Kosten der Wasserstoffoxydation verläuft. Das Wachstum der beiden gesondert wachsenden Bakterien machte sich weniger durch Hautbildung als vielmehr durch starke Trübung der klaren Flüssigkeit bemerkbar. Doch auch in diesen flüssigen Nährböden waren die beiden Organismen gut voneinander zu unterscheiden. Die durch *H. vitrea* getrübtte Flüssigkeit war mit einem zarten Häutchen bedeckt, welches sich an den Glaswänden mehrere Zentimeter hoch emporzog, während in der mit *H. flava* beimpften Nährlösung starke, käseartige gelbliche Fladen schwammen. Ob die bei *H. vitrea* beobachteten Unregelmäßigkeiten in der Beeinflussung des Organismus durch die Sauerstofftension auf die bei den Versuchen angewandten Apparate, insbesondere auf die Oxydation organischer Substanzen, Watte und Gummi, zurückzuführen ist, wodurch die Sauerstofftension unter die Grenze der schädlichen Wirkung herabgedrückt sein könnte, erscheint insofern fraglich, als bei der entsprechenden Kohlensäurebildung die Quecksilbersäule nicht so hoch steigen dürfte, als es tatsächlich z. B. bei einem Gehalt von 13,4% Sauerstoff der Fall ist, die Säule ist bis auf 31,2 cm gestiegen. Übrigens finden wir bei *H. flava* ein regelmäßigeres Verhalten. Nicht unwahrscheinlich scheint mir daher die Erklärungsweise, daß erst nach längerer Zeit nur einige Zellen von *H. vitrea* den hohen Sauerstoffgehalt überwinden, und erst unter deren Schutze findet weiteres Wachstum statt; der Prozeß, einmal in Gang gebracht, geht schnell vonstatten, nicht mehr sichtbar durch den Sauerstoffgehalt behindert. Bei einem Gehalt von 2,7% Sauerstoff entwickeln sich beide Organismen schnell; eine nachteilige Wirkung ist nicht mehr zu beobachten. Bei einem minimalen Gehalt von 0,1% Sauerstoff war keine Entwicklung wahrnehmbar. Wir haben darin einen deutlichen Beweis dafür, daß die Aktivierung des Wasserstoffes unter den obwaltenden Verhältnissen nur in Gegenwart von freiem Sauerstoff möglich war. Wie übrigens aus dem verschiedenen Stande der Quecksilbersäule zu entnehmen ist, findet nur soweit eine Kondensation der Gase statt, als es der Sauerstoffgehalt erlaubt. Wie ich mich in mehreren Fällen nach Beendigung des Versuches durch Gasanalysen überzeugte, war aller Sauerstoff verschwunden, während Kohlensäure in erheblichen Mengen vorhanden war. Es wäre besonders mit Rücksicht auf die Beobachtungen Lebedeffs zu untersuchen, ob der freie Sauerstoff

Tabelle

Der Einfluß der Sauerstoffspannung auf die Wasserstoff

<i>Hydrogenomonas vitrea</i>							
Nr.	Zusammensetzung der Atmosphäre in Prozent				Versuchs- dauer in Tagen	Beobachtungen der Entwicklung	
	H	O	CO <sub>2</sub>	N		Nährlösung	Stand der Hg-säule in cm
1	60	30	10	—	30	klar	0
2	75	20	5	—	30	"	0
3	68,7	12,3	10,1	8,9	30	Trübng. kaum sichtb.(?)	3,2
4 a	56,1	15,2	26,3	2,4	30	—	—
b	56,1	15,2	26,3	2,4	30	klar	0
c	56,1	15,2	26,3	2,4	30	—	—
5 a	62,5	13,4	20,9	3,2	30	klar	0
b	62,5	13,4	20,9	3,2	30	"	0
c	62,5	13,4	20,9	3,2	17	Starke Trübung	31,2
6	80	10	10	—	30	klar	0
7 a	90	8	2	—	30	klar	0
b	90	8	2	—	30	"	0
8 a	84,0	7,1	2,7	6,2	30	klar	0
b	84,0	7,1	2,7	6,2	30	Trübung kaum sichtb.	—
c	84,0	7,1	2,7	6,2	29	Beginn einer starken Trübung	16
9 a	—	8,6	2,1	—	43	} Starke Trübung tritt am 34. Tage ein	(Steigen beginnt am 34. Tage) 21,0
b	—	8,6	2,1	—	43		21,0
c	—	8,6	2,1	—	43		21,0
10	84,5	2,7	10,3	2,5	7	Starke Trübung	8,7
11	91,4	1,0	4,6	3	—	Schwache Trübung	3,0
12	89,9	0,4	6,8	2,9	—	klar	0
13	86,9	0,1	9,6	34	—	"	0

durch Nitrate ersetzt werden kann. In einigen Fällen habe ich dem Gasmische eine größere Menge Kohlensäure zugefügt in der Vermutung, daß vielleicht nicht allein die Sauerstoffspannung an und für sich auf den Organismus von Einfluß ist, sondern das Verhältnis von Kohlensäure zu Sauerstoff eine wesentliche Rolle spielen könnte, indem nämlich dadurch vielleicht das Verhältnis von Aufbau und Abbau beeinflußt werden könnte; allein diese Vermutung scheint sich nicht bestätigt zu haben, worauf die Versuche 6 und 19 hinweisen, und doch hat ein Gehalt von 10% CO<sub>2</sub> nicht schädlich

# I.

## oxydierenden Organismen in einer Minerallösung.

### *Hydrogenomonas flava*

Nr.	Zusammensetzung der Atmosphäre in Prozent				Versuchs- dauer in Tagen	Beobachtungen der Entwicklung	
	H	O	CO <sub>2</sub>	N		Nährlösung	Stand der Hg-säule in cm
14	60	30	10	—	30	klar	0
15	75	20	5	—	30	"	0
16	68,7	12,3	10,1	8,9	30	Trübung kaum sichtb.	6,3
17 a	56,1	15,2	26,3	2,4	30	—	—
b	56,1	15,2	26,3	2,4	30	klar	0
c	56,1	15,2	26,3	2,4	30	—	—
18 a	62,5	13,4	20,9	3,2	30	—	—
b	62,5	13,4	20,9	3,2	30	klar	0
c	62,5	13,4	20,9	3,2	30	—	—
19	80	10	10	—	—	klar	0
20	90	8	2	—	6	Starke Trübung	15,5 <sup>1)</sup>
21 a	84,0	7,1	2,7	6,2	9	} Starke Trübung tritt am 3. Tage ein	16,0
b	84,0	7,1	2,7	6,2	9		16,0
c	84,0	7,1	2,7	6,2	9		16,0
22	84,5	2,7	10,3	2,5	7	Starke Trübung	7,4
23	86,9	0,1	9,6	3,4	30	klar	0

gewirkt, wie die Versuche 10 und 22 zeigen. Wenn in der Tat bei 5% eine günstige Wirkung der Kohlensäure sich geltend zu machen scheint, so ist dies vielleicht auf ein Phänomen physikalischer Natur zurückzuführen, indem bei diesem Kohlensäuregehalt der Sauerstoff sich in der Nährflüssigkeit weniger löst.

Die beiden Wasserstoff oxydierenden Organismen sind also auf eine bedeutend niedrigere Sauerstofftension gestimmt, als sie

1) Am Ende des Versuches bestand der Rest des Gases aus: 6,7% CO<sub>2</sub>, 0,0% O, 87,1% H, Rest N.

in dem Knallgasgemisch geboten wird. Es wird also damit verständlich, daß sich einzeln jeder Organismus in dieser Atmosphäre nicht entwickeln kann. Die Grenze der schädlichen Wirkung dürfte ungefähr 7—8 % Sauerstoff bei Atmosphärendruck liegen. Worin die Ursache dieser Erscheinung zu suchen ist, ist schwer zu erraten; doch ist wohl besonders hervorzuheben, daß z. B. *H. vitrea* in manchen Fällen sich auch bei etwas höherem Sauerstoffgehalt, doch nach längerer Zeit, entwickeln konnte. Wenn aber beide Organismen in Gemeinschaft miteinander auch in der Knallgasatmosphäre gute Entwicklungsbedingungen finden, so kann dies offenbar nur auf eine besondere symbiotische Wechselwirkung zurückzuführen sein. Die nähere Kenntnis dieser Symbiose dürfte auch zur Aufklärung der schädlichen Wirkung höherer Sauerstofftension auf die beiden Organismen beitragen. Vor allem dürfte vielleicht das Verhalten der Organismen organischen Stoffen gegenüber geeignet sein, der Aufklärung jener Erscheinungen näher zu kommen.

#### IV. Die heterotrophe Ernährung der Wasserstoff oxydierenden Mikroorganismen.

Das Studium des Verhaltens Wasserstoff oxydierender Mikroorganismen gegenüber organischen Stoffen ist auch besonders deshalb von Bedeutung, weil es in erster Linie zur Aufklärung der Mechanik dieser Wasserstoffoxydation führen kann. Als Quelle des für die biologische Wasserstoffoxydation notwendigen Kohlenstoffmaterials dient die Kohlensäure, wie es schon von mir nachgewiesen worden ist<sup>1)</sup>. Zunächst wird es also von Interesse sein, zu erfahren, ob die gebildeten Stoffe wieder von den Organismen zerstört werden können, ob ferner überhaupt organisches Material von ihnen verarbeitet werden kann. Ferner war es wichtig, festzustellen, ob die Gegenwart freien Wasserstoffes für diese Organismen eine notwendige Lebensbedingung ist.

Die zur Erledigung dieser beiden letzten Fragen dienenden Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß der üblichen mineralischen Nährlösung (ohne Agar-Agar) verschiedene organische Substanzen meist in einer Konzentration 0,1 oder 1,0 % zugesetzt wurden. Die Nährlösungen, in gewöhnlichen Reagensgläsern sterilisiert, wurden mit den Reinkulturen in einem mit Wasserdampf

1) A. a. O., S. 925.



vorher gereinigten Raum beimpft. Die Kulturen wurden dann in gewöhnlicher Atmosphäre in einem Thermostat bei 33° C. gelassen.

Das Ergebnis der mit verschiedenen organischen Substanzen angestellten Versuche ist in Tabelle II wiedergegeben. Diese Versuche sind während der zwei Jahre zu verschiedenen Zeiten ausgeführt worden. Manche Stoffe, deren Nährwert zweifelhaft erschien, wurden bis 5 mal wiederholt, stets mit 3—5 Röhrchen, so daß also Irrtümer bei diesen Versuchen wohl ausgeschlossen sind.

Tabelle II.

## Heterotrophe Ernährung der Wasserstoff oxydierenden Organismen.

Organische Verbindung	Konzentration in %	<i>Hydrogenomonas vitrea</i>	<i>Hydrogenomonas flava</i>
		Beobachtungen der Entwicklung	Beobacht. der Entwicklung
Glukose	0,1—5,0	sehr starke Trübung	sehr starke Trübung
Rohrzucker	1,0	sehr starke Trübung	sehr starke Trübung
Rohrzucker + Pepton	R. = 3 P. = 1	sehr starke Trübung	sehr starke Trübung, doch schwächer als in den zwei ersten Fällen
Maltose	1	sehr starke Trübung	sehr starke Trübung
Mannit	1	sehr starke Trübung	sehr starke Trübung
Asparagin	0,1	sehr schwache Trübung	deutliche Trübung
Asparaginsäure	0,1	schwache Trübung	deutliche Trübung
Na-acetat	0,1 1,0	} in einigen Kulturen ist keine Entwicklung bemerkbar, in anderen eine schwache	—
			gute Entwicklung
Calacticum	1,0	Lösung bleibt klar	starke Trübung
K-butyrat	0,1	—	gute Entwicklung
	1,0	schwache Entwicklung sichtbar	Lösung bleibt klar
K-tartrat	0,1; 1,0	Lösung bleibt klar	starke Trübung
K-succinat	1	in einigen Kulturen ist keine Entwicklung bemerkbar, in anderen eine schwache	schwache Trübung
Na-formiat	0,1	Lösung bleibt klar	sehr schwache Trübung
	1,0	Lösung bleibt klar	Lösung bleibt klar
K-malat	0,1	Lösung bleibt klar	sehr schwache Trübung
Apfelsaures K	0,1	Lösung bleibt klar	gute Entwicklung
	1,0	Lösung bleibt klar	Lösung bleibt klar
K-citrat	1,0	Lösung bleibt klar	Lösung bleibt klar
Traubensäure	1,0	Lösung bleibt klar	Lösung bleibt klar
Laevulinsäure	1,0	Lösung bleibt klar	Lösung bleibt klar
Carbamid	1,0	Lösung bleibt klar	Lösung bleibt klar
K-humat	0,03; 0,1	Lösung bleibt klar	Lösung bleibt klar
Agar-agar	1,5	sehr schwache Entwicklung	sehr schwache Entwicklung

Zunächst ist es bemerkenswert, daß Stoffe, welche im allgemeinen für heterotrophe Mikroorganismen eine gute Nährquelle bilden, auch die beiden Wasserstoff oxydierenden Organismen vorzüglich zu ernähren vermögen, so: Rohrzucker, Glukose, Maltose, Mannit. Hinsichtlich der übrigen untersuchten Verbindungen ist zunächst ein verschiedenes Verhalten der beiden Organismen auffallend. *H. vitrea* ist wählerischer als *flava*. Eine ganze Anzahl von Stoffen (Tartrat, Laktat, Formiat, Malat, äpfelsaures Salz) gewähren dem *H. flava* z. T. recht gute Ernährungsbedingungen, während sich *H. vitrea* auf ihnen nicht zu entwickeln vermag. *H. flava* scheint aber besonders empfindlich zu sein gegen die Konzentration der Nährstoffe, von denen manche in 1-proz. Lösung schon schädlich wirkten, dagegen in 0,1% die Entwicklung ermöglichten. Merkwürdigerweise waren zahlreiche Stoffe, welche sonst als gute Nährquellen gelten, vollständig ungeeignet den einen oder den anderen Organismus zu ernähren, besonders ist hier Carbamid, Citrat, äpfelsaures Salz, Laktat zu erwähnen, während das Asparagin, asparaginsaures Salz, Acetat *H. vitrea* schlecht ernährten. Acetat und Succinat erscheinen für *H. vitrea* als zweifelhafte Nährquelle; trotz zahlreicher Wiederholungen mit reinen Kulturen war das Resultat bald positiv, bald negativ.

Morphologisch machte sich auch auf diesen organischen Nährböden der Unterschied in dem Wachstum beider Organismen in derselben Weise bemerkbar, wie ich es bereits bei den Versuchen mit anorganischem Nährboden beschrieben habe.

Vor allem fehlen also für das Studium der heterotrophen Ernährungsweise Untersuchungen darüber, in wie weit die Organismen das selbst hergestellte organische Material verarbeiten können und welcher Art die gebildeten Stoffe sind.

Ferner war es in mancher Hinsicht interessant zu wissen, ob die beiden Organismen sich mit den organischen Stoffen auch anaerob behelfen können. Ich habe nur eine 1-proz. Glukoselösung unter Zusatz der üblichen anorganischen Nährsalze zu diesen Versuchen verwandt. Trotz großer Sorgfalt sind die Resultate nicht gerade befriedigend. Zunächst überzeugte ich mich, daß bei Anwendung von Glukose sehr geringe Sauerstoffmengen genügen, um eine starke Trübung hervorzurufen. Ich verwandte daher zu den Versuchen Buchnersche Kölbchen, welche zu  $\frac{3}{4}$  mit alkalischer Pyrogallollösung gefüllt waren. Die reichlich beimpften Kulturröhrchen wurden in die Kölbchen hineingestellt. Die gut ver-

geschlossenen Kölbchen wurden dann einen Tag bei Zimmertemperatur belassen, dann erst einer Temperatur von 33° C. ausgesetzt. Trotz mehrfacher Wiederholung dieser Versuche war das Resultat niemals eindeutig. Sowohl bei dem einen wie dem anderen Organismus entwickelte sich ein Teil der Kulturen, ein anderer Teil aber nicht; und doch halte ich Fehler bei der Impfung, insbesondere Fremdinfektion für ausgeschlossen. Wenn aber Wachstum beobachtet wurde, so war die Trübung nur an der Oberfläche wahrzunehmen, in den unteren Schichten war die Flüssigkeit ganz klar.

Ich glaube also aus den Versuchen doch den Schluß ziehen zu dürfen, daß beide Organismen obligate Aeroben sind, denen auf der Glukoselösung eine äußerst geringe Menge Sauerstoff zur Entwicklung genügt.

Dieses Resultat scheint mir nicht nur mit Rücksicht auf die Physiologie der Organismen, sondern auch für die von O. Jensen<sup>1)</sup> berührten Fragen der Phylogenese der Mikroorganismen von Bedeutung. Wiewohl die Hypothese Jensens einer fundamentalen Auseinandersetzung darüber bedarf, ob die verschiedenen an Bakterien beobachteten Erscheinungen wirklich auf entwicklungsgeschichtliche Basis zurückzuführen sind, so scheint es in der Tat bemerkenswert zu sein, daß auch die Wasserstoff oxydierenden Mikroorganismen wie bis jetzt alle prototrophe Bakterien Aerobionten sind.

Aus den Ernährungsversuchen mit organischen Stoffen ersehen wir, daß die beiden Wasserstoff oxydierenden Organismen sich auch ohne freien Wasserstoff heterotroph zu ernähren vermögen; sie sind anscheinend zu so fundamental verschiedener Ernährungsweise befähigt, wie es sonst bei keiner Gruppe von Organismen bis jetzt beobachtet worden ist. Aus dem Verhalten verschiedenen organischen Stoffen gegenüber zeigt sich, daß die beiden untersuchten Organismen auch physiologisch recht bemerkenswerte Unterschiede zeigen.

## V. Der Einfluß organischer Verbindungen auf die Oxydation des Wasserstoffs.

Der Einfluß organischer Verbindungen auf die Wasserstoffoxydation könnte sich in verschiedener Weise äußern. Von guten Nährstoffen wäre es zu erwarten, daß sie auf den Wasserstoff schützend wirken. Ferner wäre es von Interesse, zu erfahren, ob

1) Centralbl. f. Bakt., Bd. 22, S. 305.

die zur Wasserstoffoxydation notwendige Kohlensäure ersetzt werden könnte. Schließlich wäre noch der Einfluß organischer Verbindungen auf die Schädlichkeit höherer Sauerstofftension zu erforschen.

Allerdings sind diese Fragen von mir nicht eingehend behandelt worden, sondern ich habe nur einige orientierende Versuche angestellt.

Die schützende Wirkung guter Nährstoffe habe ich leider nur an dem einen Organismus, *H. vitrea*, studiert. Es wurden mit der Reinkultur drei Nährlösungen beimpft, 0,5% Glukose, Mannit, Acetat unter Zusatz der üblichen anorganischen Nährsalze. Die Kölbchen wurden mit einem Gasgemisch ungefähr folgender Zusammensetzung gefüllt: 75 Teile Wasserstoff, 15 Teile Sauerstoff, 10 Teile Kohlensäure. In allen drei Kölbchen machte sich schon am dritten Tage eine starke Trübung bemerkbar. Doch hob sich die Quecksilbersäule in der auf Glukose gewachsenen Kultur gar nicht, in der Mannitkultur stieg sie bis 11,5 cm, in der Acetatkultur bis auf 18,5 cm. Bei Gegenwart eines so wertvollen Nährstoffes, wie es die Glukose ist, wird der Wasserstoff durch die Glukose geschützt. Aller disponible Sauerstoff wird zunächst für die Glukoseoxydation verbraucht. Da Mannit schon anscheinend ein Nährstoff geringeren Wertes ist, so wurde in dieser Kultur ein Teil des Wasserstoffes verbraucht, worauf das Steigen der Quecksilbersäule hinweist. In noch höherem Grade gilt dies vom Acetat, das für *H. vitrea* eine sehr schlechte Nährstoffquelle bildet.

Zugleich mit diesen drei Kölbchen wurden drei ähnliche Kölbchen mit demselben Organismus beimpft, nur mit einem anderen Gasgemisch gefüllt, welches ungefähr aus 85 Teilen Wasserstoff und 15 Teilen Sauerstoff bestand. Die Atmosphäre war völlig frei von Kohlensäure, da in die Kölbchen je ein Röhrchen mit konz. Kalilauge eingehängt wurde.

Die mit Zucker gefüllte Nährlösung triübe sich stark und die Quecksilbersäule hob sich auf 21 cm. Dagegen fand in der Mannit- und Acetatlösung keine Entwicklung statt. Die Lösungen blieben ganz rein, die Quecksilbersäule hob sich nicht. Das Resultat ist äußerst merkwürdig. Es scheint daraus hervorzugehen, daß die zur Wasserstoffoxydation notwendige Kohlensäure weder durch Mannit noch durch Acetat ersetzt werden kann. Es bliebe aber aufzuklären, warum in einer derartigen Atmosphäre Mannit nicht als Nahrung dienen kann. Vielleicht ist auch zur Verarbeitung organischen Materials Kohlensäure notwendig(?). Dieser Versuch bedarf also



der Nachprüfung. Wenn auch trotz der Gegenwart des Röhrchens mit Kalilauge auf Glukose gute Entwicklung des *H. vitrea* und eine Oxydation von Wasserstoff stattgefunden hat (denn der hohe Stand der Quecksilbersäule ist nicht durch bloße Kohlensäureabsorption erklärbar), so ist vielleicht diese Erscheinung so zu erklären, daß die aus der Glukose gebildete Kohlensäure nicht schnell genug entfernt, sondern zur Wasserstoffoxydation verwandt wurde.

Nicht ohne Einfluß scheinen aber auch die organischen Stoffe zu sein, welche keinen Nährwert für die beiden Organismen haben. Gleich am Anfang der Versuche mit Reinkulturen überzeugte ich mich, daß auf einem Agarnährboden mit den üblichen Mineralsalzen, auf welchem an der Luft die Organismen sich sehr kümmerlich entwickeln, jeder allein gut in einer Knallgasatmosphäre gedeiht; die hohe Sauerstofftension war also hier ganz unschädlich. So hat denn *H. flava* in einer solchen Kultur in wenigen Tagen die Quecksilbersäule auf 47,5 cm, *H. vitrea* auf 40,2 cm gehoben.

Wie die Schädlichkeit höherer Sauerstofftension durch die Gegenwart verschiedener organischen Verbindungen, welche zum Teil gar keinen, zum Teil nur einen äußerst notdürftigen Nährwert für die betreffenden Organismen darstellen, beeinflußt wird, zeigt Tabelle III (S. 138/39).

Die Versuche sind alle unter Benutzung einer Knallgasatmosphäre ausgeführt worden. Es zeigte sich also, daß Stoffe, welche in gewöhnlicher Atmosphäre die sonst zu heterotropher Lebensweise veranlagten Organismen nicht oder nur sehr schlecht zu ernähren vermögen, die schädliche Wirkung höherer Sauerstoffspannung aufheben können. Es wird eine so vollständige Kondensation des Gasgemisches erzielt, wie ich es sonst besser mit dem Gemisch beider Organismen nicht beobachtet habe. Allerdings auffällig erscheint der stark verzögerte Beginn der Entwicklung und der Kondensation der Gase, zudem bei großer Unregelmäßigkeit der Parallelkulturen, ohne daß eine äußere Ursache dafür verantwortlich zu machen wäre. Wenn aber einmal der Prozeß begonnen hat, dann geht die Entwicklung der Organismen ebenso wie die Kondensation der Gase schnell vor sich, ähnlich wie wir es schon bei der Wirkung der an die schädliche Grenze reichenden Sauerstoffmengen beobachtet haben. Bei Anwendung von Malat und Formiat vergingen bisweilen zwei Wochen, ohne daß irgend eine Entwicklung sichtbar gewesen wäre; dann trübte sich plötzlich die Flüssigkeit, und meistens war in 2—4 Tagen alles disponible

Tabelle

Der Einfluß einiger organischen Verbindungen auf die Wasserstoff-

<i>Hydrogenomonas vitrea</i>										
K-tartrat = 0,1 %			K-malat = 0,1 %			Na-formiat = 0,1 %				
Versuchs- dauer	Stand der Hg-säule in cm			Versuchs- dauer	Stand der Hg-säule in cm		Versuchs- dauer	Stand der Hg-säule in cm		
	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3		Nr. 1	Nr. 2		Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3
In 11 Tagen	56,3			18. XII. 31. XII.	geimpft Beginn der Ent- wicklung		7. I. 12. I. 13. I.	geimpft 8 24,5		
In 9 Tagen		45,0		1. I.	17	21	14. I.	51,5		
23. V.			geimpft	2. I.	26	28	15. I.	51,5	8,0	
27. V.			6,1	3. I.	31	38	16. I.		17,5	7,0
28. V.			14,0	4. I.	41	50	17. I.		32,5	17,0
29. V.			17,5	5. I.	49,5	54	18. I.		39,5	43,0
30. V.			29,0	6. I.	53,5	53,5	19. I.		39,5	44,0
2. VI.			33,0	7. I.	54,0	53,5				

Gas verschwunden. Dagegen wirkte die in einem Falle verwandte Humatlösung ganz anders, schon am vierten Tage fand deutliche Entwicklung und eine erhebliche Kondensation der Gase statt.

Diese Erscheinungen scheinen dafür zu sprechen, daß die geimpften Zellen bei Verwendung von Formiat, Malat während der langen Zeit vor der Entwicklung gewisse Umwandlungen des organischen Materials vollführen, die ihnen das Wachstum ermöglichen, Umwandlungen, welche in Humatlösungen anscheinend leichter stattfinden, wenn wir annehmen, daß alle drei Stoffe in gleicher Weise wirken. Vielleicht liegt die Ursache der günstigen Wirkung der untersuchten Stoffe in der Kohlensäureabspaltung, durch welche die Zellen in eine sauerstoffärmere Atmosphäre versetzt werden als die ursprünglich gebotene.

Durch organische Verbindungen, welche für die Organismen einen Nährwert haben, wird der freie Wasserstoff mehr oder weniger geschützt. Doch auch organische Verbindungen, welche nicht als Nährquelle dienen können, sind nicht ohne Einfluß auf die Wasserstoffoxydation, indem nämlich die für die Organismen schädliche Wirkung höherer Sauerstoffspannung aufgehoben wird. Dieser Tatsache dürfte eine wesentliche Rolle für das weitere Studium dieser Organismen zukommen, indem sie vielleicht zur Aufklärung der symbiotischen Wechselwirkung beider Organismen führen wird.

## III.

oxydation in einer mit Kohlensäure versetzten Knallgasatmosphäre.

*Hydrogenomonas flava*

K-malat = 0,1 %		Na-formiat = 0,1 %		K-humat = 0,03 %	
Versuchs- dauer	Stand der Hg-säule in cm	Versuchs- dauer	Stand der Hg-säule in cm	Versuchs- dauer	Stand der Hg-säule in cm
	Nr. 1 geimpft		Nr. 1 geimpft		
18. XII.		7. I.		23. V.	geimpft
4. I.	8,5	15. I.	10,5	27. V.	20,4
5. I.	35,5	16. I.	38,0	28. V.	31,7
6. I.	59,6	17. I.	42,5	29. V.	41,2
7. I.	42,5	22. I.		30. V.	67,0
8. I.	42,5	23. I.			

## VI. Der Mechanismus der Wasserstoffoxydation.

Mit der Kenntnis der beiden beschriebenen Organismen haben wir einen neuen Beweis dafür, daß anorganische Stoffe als Quelle von Betriebsenergie für Organismen dienen können. Das Studium dieser neuen Organismen dürfte aber deshalb unser besonderes Interesse erwecken, weil es uns aus methodischen Rücksichten Aussichten bietet, die Mechanik des Atmungsprozesses und vielleicht auch die Nutzbarmachung der daraus gewonnenen Betriebsenergie kennen zu lernen.

Wenn seit mehreren Jahren zahlreiche Untersuchungen vorliegen, welche gewisse Teilprozesse der Atmungsvorgänge klargelegt haben, indem besonders Betriebsenergie liefernde Prozesse bei Mikroorganismen auf Enzymwirkung zurückgeführt worden sind, und in letzter Zeit das Studium dieser Fragen auch auf höhere Pflanzen erweitert worden ist, so scheint doch die wichtigste Frage, wie die bei jenen Prozessen frei werdende Energie vom Organismus ausgenutzt wird, fast vollständig außerhalb des Bereiches der Diskussion zu liegen. Seitdem Pfeffer<sup>1)</sup> die Grundlagen für eine Energetik der Pflanze geschaffen hat, sind die Studien besonders in experimenteller Richtung wenig gefördert worden.

1) W. Pfeffer, Studien zur Energetik der Pflanze. Leipzig 1892.

Insbesondere fehlt mit Rücksicht auf die Kenntnis der Atmungsvorgänge jeglicher Aufschluß darüber, ob die chemische Energie in eine andere Energieform transformiert wird und erst so für die verschiedenen Zwecke des Organismus (mechanische Leistungen, Synthesen usw.) nutzbar gemacht wird, oder ob sie als solche vom Organismus ausgenutzt wird und erst nach den materiellen Umwandlungen gleichsam der Überschuß an Energie als Wärme oder in anderer Form nach außen entweicht. Die zweite Möglichkeit, daß also Atmungsvorgänge mit den übrigen Lebensfunktionen durch chemische Reaktion verkettet sind, wäre wohl am ehesten einer experimentellen Prüfung zugänglich, eine Annahme, welche der Pflügerschen Atmungshypothese zugrunde liegt. Besonders geeignet wären für das Studium dieser Fragen die prototrophen Organismen, welche anorganische Körper als Betriebsmaterial benutzen und damit organische Körper aufbauen; und in dieser Gruppe scheinen Wasserstoff oxydierende Organismen aus methodischen Gründen besondere Vorteile zu bieten. Diese Studien sind an der Hand prototropher Organismen besonders auch deshalb aufzunehmen, weil ihre Existenz gegen die Pflügersche Hypothese zu sprechen schien.

Wie erwähnt, ist die in die Sphäre dieser Probleme fallende Frage, ob bei Wasserstoff oxydierenden Organismen der Wasserstoff unmittelbar mit dem Sauerstoff in Verbindung gesetzt wird, sowohl von Kaserer wie Lebedeff in den Vordergrund ihrer Untersuchungen geschoben worden, wie mir scheint, zum Schaden ihrer Arbeit; denn aus Mangel an Kenntnis zwar allgemein weniger wichtiger, doch für die Physiologie der Organismen wesentlicher Eigenschaften ist es schwer, die Identität der von ihnen untersuchten Organismen festzustellen.

Und gerade in dem wichtigsten Punkte stehen sich die beiden Autoren diametral gegenüber. Lebedeffs Argument ist, worauf ich schon hingewiesen habe, nicht stichhaltig. Besonders mit Rücksicht auf die Möglichkeit der heterotrophen Ernährung neige ich zu der Ansicht, daß die Kohlensäure durch den Wasserstoff reduziert und erst das gebildete Produkt oxydiert wird, wobei aber nicht die Bildung einer bestimmten Art von Produkten, etwa Kohlenoxyd oder Formaldehyd, gefordert zu werden braucht, umso weniger als diese besonders charakteristisch sein müssen für besondere Gruppen von Organismen, wie es Kaserer annimmt. Ohne einen derartigen Schematismus anzunehmen, glaube ich, daß vom Plasma verschiedene



organische Stoffe aus Kohlensäure und Wasserstoff gebildet und in verschiedener Weise verbraucht werden, nach Maßgabe der jeweiligen Konstellationen in den Plasmateilchen.

Vielleicht finden die Oxydationsprozesse der übrigen prototrophen Organismen in ähnlicher Weise statt. Es wäre z. B. von Interesse, Versuche darüber anzustellen, ob z. B. die Schwefelbakterien den Schwefelwasserstoff in eine organische Schwefelverbindung überführen und diese unter Schwefel- bzw. Schwefelsäureabspaltung oxydieren, ob jener Schwefelwasserstoff durch irgend eine organische Schwefelverbindung ersetzt werden kann, andererseits ob normalerweise die Schwefelbakterien neben den Oxydationsprodukten des Schwefelwasserstoffes auch Kohlensäure bilden, die allerdings nur intermediär auftreten könnte, um sofort wieder verarbeitet zu werden. Derartige Fragen, weiter verfolgt, könnten uns wesentliche Beiträge zur Kenntnis der Atmungsvorgänge liefern.

## VII. Zusammenfassung.

Die Wasserstoff oxydierenden Bakterien habe ich bis jetzt unter Feststellung folgender Ergebnisse untersucht:

1. In der Knallgasatmosphäre bei Gegenwart von Kohlensäure entwickelt sich nach Impfung mit Erde auf mineralischer Nährlösung eine Kahmhaut, welche Wasserstoff unter Kohlensäurereduktion oxydiert; diese Kahmhaut besteht aus zwei morphologisch wie physiologisch verschiedenen Stäbchenbakterien: *Hydrogenomonas vitrea* und *flava*.

2. Jeder dieser Organismen vermag sich allein in der Knallgasatmosphäre nicht zu entwickeln, wohl aber beide zusammen unter Kondensation der Gase.

3. Die Ursache der Entwicklungshemmung jedes der beiden Organismen in der Knallgasatmosphäre beruht in der hohen Sauerstoffspannung. Die Grenze der schädlichen Wirkung liegt ungefähr bei 53 mm Druck.

4. Die beiden Organismen sind auch zu heterotropher Lebensweise befähigt. Jedoch liegen zwischen beiden Organismen deutliche Unterschiede in den Ernährungsansprüchen. *Hydrogenomonas vitrea* vermag sich auf einer Reihe von Stoffen nicht zu entwickeln, die für *H. flava* genügende Ernährungsbedingungen bieten.

5. Durch organische Verbindungen, welche für die Organismen einen Nährwert haben, wird der freie Wasserstoff mehr oder weniger geschützt. Organische Verbindungen, welche nicht als Nährquelle dienen können, können dennoch die für die Organismen schädliche Wirkung höherer Sauerstoffspannung beseitigen. Eine Entwicklung ist in Anwesenheit dieser Stoffe selbst in der Knallgasatmosphäre möglich.

6. Der Mechanismus der Wasserstoffoxydation scheint mir in der Weise zu erfolgen, daß aus Wasserstoff und Kohlensäure organische Substanz gebildet wird, die der Oxydation anheimfällt. Jedoch bedarf diese Annahme einer experimentellen Bestätigung.

Dublany, den 8. Mai 1910.

---

### Erklärung der Tafel-Figuren.

Fig. 1. Rand der Kahlhaut einer Rohkultur, im Jahre 1906 photographiert und im Bull. de l'acad. des Sc. de Cracovie publiziert. 5 tägige Kultur. Das mit Karbolfuchsin stark gefärbte Präparat wurde mit Hilfe der Zeiß'schen Ölimmersion  $\frac{1}{12}$  photographiert. Länge der einzelnen Individuen auf  $1,5 \mu$  geschätzt.

Fig. 2. *Hydrogenomonas vitrea*. Reinkultur auf Agar-Agar. 4 tägiges Präparat, mit Anilin-Gentianaviolett gefärbt, mit Zeiß'schem Apochromat photographiert. Länge der Individuen auf  $2 \mu$  geschätzt.

Fig. 3. *Hydrogenomonas flava*. Reinkultur auf Agar-agar, 4 tägig. Das Präparat in gleicher Weise gefärbt und mit demselben Apparat aufgenommen wie Fig. 2. Länge der Individuen auf  $1,5 \mu$  geschätzt.

Fig. 4. *Hydrogenomonas vitrea*. Makroskopisches Bild der Reinkultur auf Agar in einer Petrischale. 4 tägig.

Fig. 5. *Hydrogenomonas flava*. Kultur in gleichen Bedingungen gewachsen wie die Kultur der Fig. 4, doch bei der photographischen Aufnahme länger exponiert als Fig. 4.

---

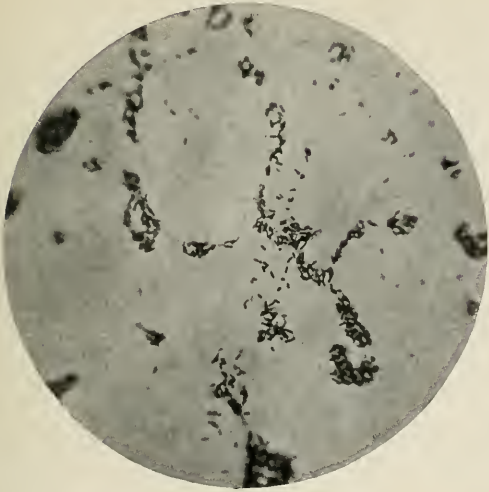


Fig. 2.

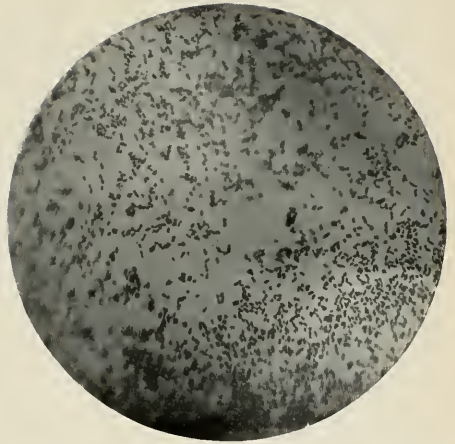


Fig. 3.



Fig. 1.



Fig. 4.



Fig. 5.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik](#)

Jahr/Year: 1910

Band/Volume: [48](#)

Autor(en)/Author(s): Niklewski Bronislaw

Artikel/Article: [Über die Wasserstoffoxydation durch Mikroorganismen, 113-142](#)