

DIE CHEMIE

(Angewandte Chemie, Neue Folge)

56. Jahrgang, Nr. 41/42, Seiten 281—292, 16. Oktober 1943

Wie entsteht der Humus in der Natur? *) **)

Von Dozent Dr. CURT ENDERS

Labor. für angewandte Chemie der Techn. Hochschule und wiss. Station für Brauerei, München

Die braune Farbe der Erde ist nur zu einem geringen Teil durch anorganische Verbindungen, insbes. des Eisens, bedingt; in der Hauptsache wird sie durch organische Verbindungen hervorgerufen, die einen integrierenden Bestandteil des „Humus“ ausmachen.

Die durch die einseitige Betonung des Mineralstoffbedarfs der Pflanzen durch Liebigs Autorität verursachte Vernachlässigung der schon vor seiner Zeit eingeleiteten Humusforschung ist heute überwunden. Langjährige Erfahrungen mit einseitiger Mineralstoffdüngung haben bewiesen, daß zur Erhaltung der Bodenfruchtbarkeit nicht nur die dem Boden durch die Pflanzen entzogenen Stoffe wieder ersetzt werden müssen, sondern daß auch dafür Sorge getragen werden muß, daß dem Boden eine besondere Struktur („Bodengare“) erhalten bleibt.

Dies ist nach jetziger Kenntnis nur möglich, wenn der Boden viel schwer zersetzbaren „Dauer-Humus“ enthält, der im wesentlichen aus den Salzen und Adsorptionskomplexen jener braunen Humus-Bestandteile besteht, die wegen ihrer Säurenatur als Huminsäuren bezeichnet werden. Die Huminsäuren sind Kolloide. Je nach den Löslichkeitsverhältnissen in Wasser, Alkohol, Alkali und besonders in Acetylchlorid unterscheidet man folgende sauren Humus-Stoffe:

Fulvosäuren	Hymatomelansäuren
Humoligninsäuren	Humussäuren

(Als Humine werden wasser- und alkaliunlösliche Umwandlungsprodukte dieser Säuren bezeichnet).

Die Angaben über die Zusammensetzung der verschiedenen Huminsäuren-Präparate schwanken je nach Herkunft, Reinheitsgrad, Reinigungsmethode usw. außerordentlich. Die Elementarzusammensetzung liegt in folgenden Grenzen:

$$C = 55-65\% \quad N = 0,2-7\%$$

Auf einen chemisch einheitlichen Körper weisen diese Schwankungen nicht hin. Die analytischen Methoden der Humus-Chemie sind daher willkürlich festgelegte Konventionsmethoden.

Der Unterschiedlichkeit in Zusammensetzung und Eigenschaften der Huminsäuren entsprechen die verschiedenartigsten, keinesfalls gesicherten Vorstellungen über die Entstehung dieser Körper.

Wenn man von solchen Humus-Bildungs-Theorien absieht, welche sich auf Reaktionen stützen, die sowohl nach der Natur der reagierenden Stoffe, als auch den zu ihrem Eintritt notwendigen unphysiologischen Reaktionsbedingungen nicht bzw. nicht in dem zur Humus-Bildung erforderlichen Ausmaß ablaufen können, ergibt sich eine Zweiteilung der Humus-Bildungs-Theorien je nach der gemutmaßten Humus-Muttersubstanz. Entsprechend ihrer maßgeblichen Beteiligung am Aufbau der grünen und verholzten Pflanzen sah man entweder die Cellulose oder das Lignin als die natürlichen Ausgangsmaterialien der Humus-Bildung an.

Für die Bildung der Huminsäuren aus Cellulose haben sich insbes. Berl., Kürschners, Bergius und Waksman ausgesprochen. Die Vorstellungen über die Humus-Bildung vom Lignin aus sind in der Theorie von Franz Fischer enthalten. Die Erkenntnis der Notwendigkeit der Beteiligung von Stickstoff-Verbindungen zur Huminsäure-Bildung hat Waksman zu seiner Lignoprotein-Theorie geführt.

*) 6. zusammenfassende Mitteilung in der Reihe: „Über den Chemismus der Huminsäure-Bildung unter physiologischen Bedingungen“.

1. Mitt.: Enders, Biochem. Z. **312**, 339 [1942].

2. Mitt.: Über das Vorkommen von Methylglyoxal in Erde, Enders u. Sigurdsson, ebenda **313**, 174 [1942].

3. Mitt.: Die Abhängigkeit von Bildungsgeschwindigkeit, Eigenschaften und Zusammensetzung der aus Methylglyoxal und Glykokoll gebildeten Huminsäuren von verschiedenen Faktoren, Enders, ebenda **313**, 352 [1942].

4. Mitt.: Die Rolle der Mikroorganismen bei den Humifizierungsvorgängen, Enders, ebenda **315**, 259 [1943].

5. Mitt.: Die erste Phase der Huminsäurebildung: Eine Aldolkondensation von Methylglyoxal, Enders u. Sigurdsson, Ber. Dtsch. Chem. Ges. **76**, 560 [1943]. In diesen Arbeiten ist die einschlägige Literatur referiert, soweit sie nicht gesondert aufgeführt ist.

**) Vorgetragen auf der Arbeitstagung „Mikrobiologie“ (Reichsforschungsrat u. Reichsamt f. Wirtschaftsausbau im Vierjahresplan) in Hannover, am 8. Juli 1943.

Während sich früher die Lignin- und Cellulose-Theorie gegenüberstanden, dürfen nach heute vorliegenden zahlreichen Untersuchungen an natürlichem Material wohl keine Zweifel mehr darüber bestehen, daß sowohl Cellulose als auch Lignin als Muttersubstanz der Huminsäuren angesehen werden müssen. Jedoch wurde noch keine wirklich befriedigende Erklärung dafür gegeben, auf welchem Wege dies geschieht. Insbes. ist noch nicht beantwortet worden, warum dieselben oder ähnliche gebaute Körper aus diesen nach heutiger Ansicht ganz verschiedene konstruierten Naturstoffen entstehen. Auch fehlt eine experimentell unterbaute Vorstellung darüber, wie die in der Natur, z. B. im Ackerboden und im Waldboden, dauernd zu beobachtende Humifizierung unter physiologischen Bedingungen vor sich geht.

Der Ausgangspunkt für eigene Untersuchungen über den Bildungsmechanismus der Huminsäuren aus den **Kohlenhydraten** war das Studium der Farbstoffe der Biere, der sog. Melanoidine. Diese durch Kondensation von Zuckern und Aminosäuren entstehenden kolloiden Farbstoffe wurden schon von Maillard im Humus (matière noire) vermutet. Daß die Melanoidine mit den natürlichen Huminsäuren in physikalischer und chemischer Hinsicht weitgehend übereinstimmen, wurde vor einigen Jahren zusammen mit Theis nachgewiesen. Für das Verständnis der Bildung der Huminsäuren unter physiologischen Bedingungen aus Kohlenhydraten und Aminosäuren war jedoch die Möglichkeit erst gegeben nach der Auffindung der Zuckertriose-Gleichgewichte vor 3 Jahren. Gleichzeitig sind damit die Karamel-Bildung, die offenbar ebenfalls vom Methylglyoxal ausgeht, und die weitgehenden Analogien zwischen den Karamel-Stoffen und den Melanoidinen verständlich geworden. Für die intermediäre Rolle des Methylglyoxals bei der Karamel-, Melanoidin- bzw. Huminsäure-Bildung sprechen folgende Tatsachen:

1. Die Existenz der Zuckertriose-Gleichgewichte.
2. Das Ausbleiben der Melanoidin- und Karamel-Bildung in Gegenwart von Sulfit und Dimedon.
3. Der Befund, daß Methylglyoxal von einer Reihe untersuchter Carbonyl-Verbindungen am schnellsten zur Huminsäure-Bildung führt.
4. Daß zwischen der Melanoidin-Bildung und der Menge an überdestillierbarem Methylglyoxal ein reziproker Verhältnis besteht.
5. Die Bildung echter Huminsäuren aus Methylglyoxal und Glykokoll bei gewöhnlicher Temperatur.

Für die über Methylglyoxal als Zwischenprodukt erfolgende Huminsäure-Bildung unter physiologischen Bedingungen ist die Beteiligung von Amino-Verbindungen notwendig, da durch sie die Geschwindigkeit der Reaktion so gesteigert wird, daß sie auch im physiologischen p_H -Bereich stattfinden kann.

Der Stickstoff der Aminosäuren wird als integrierender Bestandteil in die Huminsäure-Molekel eingebaut. Die Kondensation zwischen Methylglyoxal und Glykokoll verläuft über gelb gefärbte Stufen, die in organischen Lösungsmitteln löslich sind in einer mit der Zeit zunehmenden Dispersitätsgradverminderung über ursprünglich nicht elektrolytfällbare Körper bis zu wasserlöslichen, elektrolytfällbaren Stufen und schließlich sogar bis zur Bildung wasserunlöslicher Kondensationsprodukte. Diese synthetisch hergestellten Körper entsprechen den in der Huminsäure-Chemie üblichen Begriffen, Fulvosäuren, Hymatomelansäuren, Huminsäuren, Humuskohle.

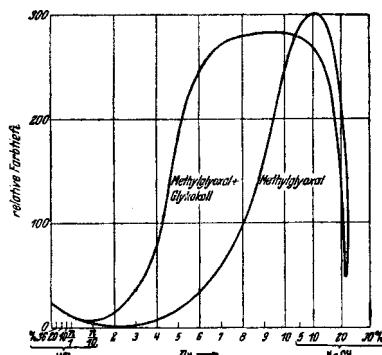


Abb. 1. Verlauf der Kondensation zwischen Methylglyoxal und Glykokoll.

Die Huminsäure-Bildung ist nach diesen Versuchen nach der Kunststoffnomenklatur eine gemischte Polykondensation von Methylglyoxal und Aminosäuren¹⁾. Durch die Auffassung, daß die Huminsäure-Bildung von einem niedermolekularen sehr reaktionsfähigen Kohlenhydratmetabolit ausgehend in Form eines mit der Zeit fortschreitenden Kondensationsprozesses erfolgt, werden die Schwierigkeiten der Huminsäure-Chemie verständlich und mannigfache Widersprüche und Unklarheiten beseitigt.

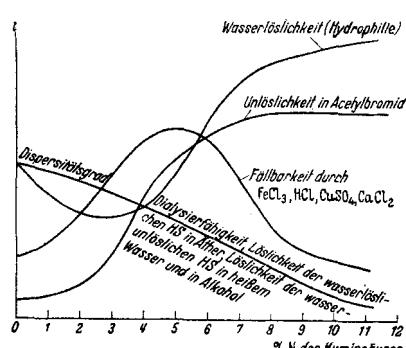


Abb. 2. Eigenschaften der Kondensationsprodukte aus Methylglyoxal und Aminosäuren in Abhängigkeit von ihrem N-Gehalt.

die Unlöslichkeit in Acetylchlorid zu. Für die Elektrolytfällbarkeit wurde ein Optimum zwischen einem Stickstoff-Gehalt von 4 und 6% gefunden.

Unsere Vorstellungen über den Chemismus der Huminsäure-Bildung wurden durch den Nachweis von Methylglyoxal in humifizierenden Materialien, nämlich in Waldboden und Gartenerde, Kompost und Ackererde, experimentell weiter gestützt.

Der Nachweis erfolgte in den Wasserdampfdestillaten dieser Materialien durch die charakteristische Reaktion der erhaltenen 2,4-Dinitro-phenylosazone mit alkoholischer Kalilauge. Die aus Waldboden und Gartenerde mit 2,4-Dinitrophenylosazon erhaltenen Kristalle konnten außerdem durch Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt und Analyse als 2,4-Dinitro-phenyloszone des Methylglyoxals identifiziert werden. Mit Hilfe des Reagens von *Ariyama* konnte Methylglyoxal in den wässrigen Auszügen von Waldboden, Mist, vermodertem Holz und verrottetem Farnkraut nachgewiesen werden.

Aus den durch Wasserdampfdestillation in den erwähnten Erden aufgefundenen Methylglyoxal-Mengen ergibt sich, daß die in 1 m³ Erde enthaltenen Mengen Methylglyoxal mindestens zwischen 20 und 30 g liegen können.

Obwohl nach den Erfahrungen der praktischen Landwirtschaft und zahlreichen wissenschaftlichen Arbeiten kein Zweifel darüber besteht, daß die **Mikroorganismen** des Bodens im Mist, Kompost usw. von maßgeblicher Bedeutung für die Humusbildung sind, hatte man bis vor kurzem noch keine befriedigende Vorstellung über ihre Rolle bei den Humifizierungsvorgängen. Nachdem erkannt war, daß die Huminsäure-Bildung bereits *in vitro* ohne Beteiligung von Mikroorganismen aus Methylglyoxal und Aminosäuren möglich ist, mußte geschlossen werden, daß die Mikroorganismen nicht durch eine postmortale Zersetzung ihrer Leibessubstanz zur Humusbildung Anlaß geben, sondern daß ihre Bedeutung darin liegt, daß sie zur Anreicherung von Methylglyoxal im Boden führen. Umfangreiche Untersuchungen an Schimmelpilzen, Aktinomyceten und Bakterien ergaben keinen Anhaltspunkt dafür, daß die mikrobielle Huminsäure-Bildung auf die Tätigkeit bestimmter Mikroorganismen zurückgeführt werden darf. Es wurde jedoch beobachtet, daß die als erste Phase der Huminsäure-Bildung zu bewertende gelbbraune Verfärbung der Kulturflüssigkeiten immer dann auftrat, wenn die Mikroorganismen in ungünstige Lebensbedingungen kamen. Dies führte uns zu der Vorstellung, daß die Mikroorganismen dadurch die Voraussetzung zur Huminsäure-Bildung liefern, daß sie durch eine der 5. Vergärungsform nach *Neuberg* entsprechende Variation in ihrem Kohlenhydrat-Stoffwechsel zur Methylglyoxal-Bildung Anlaß geben. In umfangreichen Versuchen konnte trotz der erheblichen Schwierigkeiten, die sich dem Arbeiten mit diesem biologischen Material entgeggestelltten, die Richtigkeit der obengenannten Vorstellungen folgendermaßen experimentell gestützt werden:

¹⁾ Sie ist offenbar der mengenmäßig betrachtet bedeutsamste nicht fermentative Kondensationsprozeß einer organischen Verbindung in der Natur.

1. Während sich in Kulturen, die in einer glucose- und glykokollhaltigen Nährlösung gezüchtet waren, nach einer bestimmten Zeit die für die einleitende Phase der Huminsäure-Bildung charakteristische Braufärbung zeigte, unterblieb sie in Vergleichsversuchen, bei denen das Glykokoll durch Nitrat ersetzt war. In den Kulturflüssigkeiten der letztgenannten Versuche konnte Methylglyoxal als 2,4-Dinitro-phenylosazon nachgewiesen werden, in den gefärbten Kulturflüssigkeiten dagegen nicht.

2. Dementsprechend wurde in den Wasserdampfdestillaten der ohne Glykokoll angesetzten Kulturflüssigkeiten mit *Ariyama*-Reagens mehr Methylglyoxal gefunden als in denen mit Glykokoll.
3. Die Intensität der in den Kulturflüssigkeiten auftretenden Braufärbung hängt in der gleichen Weise von der Glykokoll-Konzentration ab wie die Kondensation von Methylglyoxal und Glykokoll *in vitro*.
4. In Gegenwart von Afbang-Reagentien, wie z. B. Dimedon, bleibt in geeigneten Konzentrationen die Braufärbung der Kulturflüssigkeit aus, während sie in den ohne Dimedon angesetzten Parallelversuchen deutlich in Erscheinung tritt.

Aus diesen Versuchen ist zu schließen, daß die Mikroorganismen tatsächlich dadurch zur Huminsäure-Bildung beitragen, daß sie aus den Kohlenhydraten Methylglyoxal bilden.

Es zeigt sich ferner, daß die von *Neuberg* als Ursache seiner 5. Vergärungsform vermutete Cozymase-Armut als Spezialfall eines übergeordneten Prinzips anzusehen ist. Die Methylglyoxal-Bildung durch Hefen bleibt nämlich auf Cozymase-Zusatz nicht aus. Sie wird, wie sich aus Versuchen über die Beeinflussung des Lebenszustandes der Zelle und der Methylglyoxal- bzw. Huminsäure-Bildung durch schädigende Einflüsse (Toluol, hohe Temperaturen) an Hefen- und Schimmelpilzen (*Aspergillus niger*) ergab, durch eine Zellschädigung hervorgerufen. Die Ursache der mikrobiellen Methylglyoxal-Bildung ist nach unseren Untersuchungen in einer Variation des Kohlenhydrat-Stoffwechsels zu suchen, die sich einstellt, wenn die natürliche Organisation der Fermentsysteme der Zelle durch einen äußeren Eingriff gestört wird. Demnach können die Mikroorganismen in der Natur immer dann zur Huminsäure-Bildung Anlaß geben, wenn sie durch äußere Faktoren unter solchen Bedingungen abgetötet werden, daß ihre Fermentsysteme dabei nicht vernichtet, sondern nur desorganisiert werden.

Die Richtigkeit dieser Folgerung fand noch eine Bestätigung durch die Isolierung echter Huminsäuren, die durch Eisen(III)-chlorid, Kupfersulfat und Chlorwasser fällbar waren, aus den Kulturflüssigkeiten von Hefe und *Aspergillus niger*, die 6–10 Tage nach Zusatz von Toluol bei 37° gestanden hatten. Die Isolierung der Huminsäuren erfolgte durch Ausdialysieren gegen Wasser 2–3 Wochen nach öfterer Eintrocknung an der Sonne und Wiederauflösen in Wasser und Auffällen als Eisen-Salz. Die Zusammensetzung der wasser- und eisen-freien Verbindungen entspricht denjenigen echter stickstoff-reicher Huminsäuren:

	% Kohlenstoff	% Wasserstoff	% Stickstoff
Huminsäure aus Hefekulturflüssigkeit	50,69	7,87	8,65
Huminsäure aus <i>Aspergillus-niger</i> -Kulturlösigkeit	49,37	7,88	8,87

Als einer der natürlichen Faktoren, die zur Autolyse führen, wurde die Temperatur untersucht. Es ergab sich die bemerkenswerte Tatsache, daß für Hefe bezüglich der Huminsäure-Bildung ein Optimum bei etwa 50° besteht. Es ist zwar anzunehmen, daß das für die Humus-Untersuchung in Zukunft sicher bedeutsame „Thermolyseoptimum“ für die verschiedenen Mikroorganismen in gewissen Grenzen schwankt und wie die Fermentaktivität bzw. Inaktivierung eine Funktion der Zeit, Wasserstoff-Ionenkonzentration, des Redoxpotentials, Salzgehaltes, Gehaltes an Schutzkolloiden, des Druckes und anderer natürlicher Faktoren ist. Trotzdem möchten wir die kürzlich von *Junghähnel*²⁾ gemachte Feststellung, daß die stärkste Dauer-Humus-Anreicherung im Stallmiststapel durch längere Temperaturreihaltung zwischen 4 und 50° eintritt, bei der offenbar das mittlere Autolyseoptimum der natürlichen Mikroorganismengemische liegt, als einen schönen Beweis für die Richtigkeit unserer Ansicht betrachten, daß die Thermolyse der Mikroben wohl die wichtigste Ursache der natürlichen Huminsäure-Bildung ist.

Der günstige Effekt der Heißvergärung nach *Krantz* beruht zweifellos — neben dem fördernden Einfluß hoher Temperaturen auf die Kondensationsgraderhöhung der Huminsäure-Vorstufen — auf dieser Thermolyse der Mikroben. Die vom Klima abhängigen, täglich und jährlich bedingten Temperaturschwankungen sind sicherlich in dem Maße an der Huminsäure-Bildung — ebenfalls neben dem erwähnten Einfluß auf die Kondensationsvorgänge — beteiligt, indem sie zur Thermolyse Anlaß geben.

Aber auch schon bei gewöhnlicher Temperatur unterliegen die Mikroben offenbar der Autolyse. Am Ende einer langen Trockenperiode werden weniger Bakterien im Boden gefunden als zu Beginn. Nach dem ersten Regenfall tritt starke Vermehrung

²⁾ Forschungsdienst, Sonderheft 17 (Ergebn. d. Humusforschg.) 103 [1941].

auf. Lange Trockenzeit ruft eine Wirkung hervor, die ähnlich einer teilweisen Sterilisation ist. Die bei unseren Huminsäure-Bildungsversuchen mit Misch- und Pilzreinkulturen in alten Kulturen beobachteten Verfärbungen sind womöglich auf solche „Trockenautolysen“ zurückzuführen. Neben den durch Temperaturschwankungen bewirkten Autolysen dürften diese durch die Niederschlagsverhältnisse bedingten Austrocknungsautolysen für die Humus-Bildung in der Natur am wichtigsten sein.

Über den Einfluß niedriger Temperaturen auf den Mikroorganismengehalt des Bodens scheinen keine gesicherten Angaben vorzuliegen. Es ist jedoch wahrscheinlich, daß die Mikroben — ähnlich wie das in vitro möglich ist — beim Auftauen von gefrorenem Boden autolyseren.

Schließlich sei die Vermutung ausgesprochen, daß auch der günstige Einfluß der Bodensterilisation auf die Bodenmündigkeit in zwangloser Weise durch die bei diesen Maßnahmen immer stattfindende Mikrobenaulyse erklärt werden kann. Die Richtigkeit dieser These müßte sich leicht durch Humus-Bestimmungen nachweisen lassen. Die nach der Sterilisation von Böden zu beobachtende Steigerung in der CO_2 -Produktion und in den Keimzahlen könnte dadurch erklärt werden, daß die im Anschluß an die erzwungene Autolyse stattfindende hohe enzymatische Aktivität entsprechend der „Desorganisation“ dieser Fermentssysteme zu einer Anhäufung niedermolekularer Abbauprodukte führt, welche offenbar für die wieder an kommenden Organismen ein ausgezeichnetes Nährmedium darstellen.

Wenn auch die Temperatur- und Wassergehaltsschwankungen in den Böden als wichtigste Faktoren für das Zustandekommen der Autolyse der Mikroorganismen angesehen werden müssen, so unterliegt es doch keinem Zweifel, daß auch alle anderen Einflüsse, die zur Mikrobenaulyse führen, für die Huminsäure-Bildung grundsätzlich wichtig sind.

Als solche kommen neben anderen wohl hauptsächlich in Frage:

1. Der Einfluß der Wasserstoff-Ionenkonzentration.
2. Beeinflussung durch andere Lebewesen (Heterolyse), durch Bakterien, Regenwürmer usw.
3. Zusammensetzung der Nährlösung, Wuchsstoffmangel usw.
4. Autolyse durch natürlich vorkommende Gifte niederer und höherer Pflanze I.
5. Osmotische Effekte, Ionen- oder Adsorptionswirkungen.
6. Einfluß des Sauerstoffs (Redoxpotential des Bodens).

Da über die Bedeutung dieser Faktoren für die mikrobielle Autolyse ebenso wie über die Autolyse im allgemeinen sehr wenig bekannt ist, wird es der weiteren Forschung vorbehalten sein, durch Klärung dieser Fragen noch tiefer in die verwickelten Zusammenhänge hineinzuleuchten, die über die Mikroben in der Natur zur Huminsäure-Bildung führen.

Für die von den Kohlenhydraten, entsprechend den hier entwickelten Vorstellungen, ausgehende Huminsäure-Bildung können folgende vier wesentliche Phasen unterschieden werden:

- I. Die Autolyse der Mikroorganismen durch natürliche Faktoren führt zur Umschaltung (Desorganisation) des (normalerweise zu Kohlensäure [Bodenatmung] Anlaß gebenden) fermentativen Abbaues auf Methylglyoxal-Bildung. Als wichtigste natürliche Faktoren dieser „Autolyse“ müssen klimatisch bedingte Temperatur- und Wasserschwankungen angesehen werden.
- II. Das so entstandene Methylglyoxal wird durch (ebenfalls mikrobiell gebildete) Amino-Verbindungen in einer mit einer Aldol-Kondensation beginnenden gemischten Polykondensation kondensiert, wobei der Stickstoff der Aminosäuren in die Moleköl eingebaut wird. Diese Reaktion führt in erster Phase zu gefärbten wasserlöslichen nicht fällbaren Huminsäure-Vorstufen, die den Fulvo- und Hymatomelansäuren der Huminsäure-Chemie entsprechen. Die Reaktion ist bereits bei Zimmertemperatur möglich. Sie verläuft um so schneller, je höher die Konzentration und die Temperatur sind.
- III. Die so gebildeten Huminsäure-Vorstufen gehen durch eine mit der Zeit fortschreitende Kondensationsgrad erhöhung in echte elektrolytfällbare Huminsäuren über. Diese Kondensationsgrad erhöhung wird durch Temperaturerhöhung beschleunigt.

IV. Die gebildeten echten elektrolytfällbaren Huminsäuren werden im Boden durch dort vorhandene Elektrolyte in Form ihrer Salze oder durch adsorptive Bindung an Tone usw. stabilisiert und bleiben dem Boden dadurch erhalten.

Für die Forschung und die Praxis ergibt sich hieraus schon jetzt eine Reihe wertvoller Anregungen. Die zentrale Bedeutung der mikrobiellen Methylglyoxal-Bildung für die Huminsäure-Bildung drängt geradezu darauf hin, zu untersuchen, wo und in welchem Umfang sich die obenerwähnten Faktoren für die mikrobielle Autolyse bei der natürlichen Huminsäure-Bildung beteiligen und besonders, ob es spezifisch resistente Mikroorganismen gegenüber diesen Faktoren gibt. Dabei wäre zu untersuchen, wo die Autolyse-Optima der verschiedenen Mikroorganismen in Abhängigkeit von den oben genannten zur Fermentdesorganisation führenden Faktoren liegen. Die Humus-Bildung geht offenbar um so besser vor sich, je öfter sich die Mikroorganismenabtötung und das üppige Mikroorganismenwachstum wiederholen. Es wäre vielleicht ein Weg zur Steigerung der Humus-Bildung dadurch gegeben, daß die jahreszeitlich und täglich mehr oder weniger zufälligen Schwankungen durch eine systematisch wiederholte Sterilisation und Wiederbeimpfung der zu humifizierenden Materialien ersetzt werden. Womöglich kann auch eine Steigerung der Huminsäure-Bildung ermöglicht werden, indem der Mensch in den natürlichen Ablauf in der Weise eingreift, daß solche Mikroorganismen dem Boden zugeführt werden, welche unter den jeweils ortsgewöhnlichen Klimaverhältnissen die Periodizität des Absterbens und Wiederauflebens besonders garantieren.

Durch die Anwendung geeigneter analytischer Untersuchungsmethoden müßte weiter darauf hingearbeitet werden, die rationelle Humus-Bildung in den verschiedensten humifizierenden Materialien dadurch zu erreichen, daß die zur Dauer-Humus-Bildung, gemäß dem Schema, als notwendig erkannten Faktoren eingehalten werden. Insbes. muß dem Verhältnis der Stickstoff-Verbindungen zu den Carbonyl-Verbindungen, der Anwesenheit von geeigneten Mikroorganismen, die die Aufspaltung der Eiweiß-Stoffe bis zu Amino-Verbindungen ermöglichen, der Einhaltung der zur Bildung der echten Huminsäuren durch Kondensation ihrer Vorstufen günstigen Temperatur und der Anwesenheit der zur Fällung der gebildeten Huminsäuren befähigten Elektrolyte Beachtung geschenkt werden. Besonders der letztergenannte Punkt ist wichtig, weil der gesamte Prozeß der Huminsäure-Bildung u. U. nutzlos für den Boden ist, wenn aus Mangel an Elektrolyten die Huminsäuren nicht im Boden niedergeschlagen, sondern weggeschwemmt werden. Aus diesen wenigen Hinweisen dürfte die Bedeutung der hier mitgeteilten Untersuchungsergebnisse bereits hervorgehen. Sie ermöglichen nämlich, indem sie an Stelle von statistischen und mehr oder weniger tastenden Arbeitsweisen eine auf der Kenntnis der ursächlichen Zusammenhänge bei der Huminsäure-Bildung beruhende Vorstellung setzen, auf dem dunklen Gebiet der Humusforschung erstmalig programmatische Arbeiten in Angriff zu nehmen.

In Abb. 3 sind die aufgefundenen Zusammenhänge schematisch dargestellt, u. zw. ist der bisher bestehende experimentell unterbaute Huminsäure-Bildungsmechanismus aus Kohlenhydraten hervorgehoben.

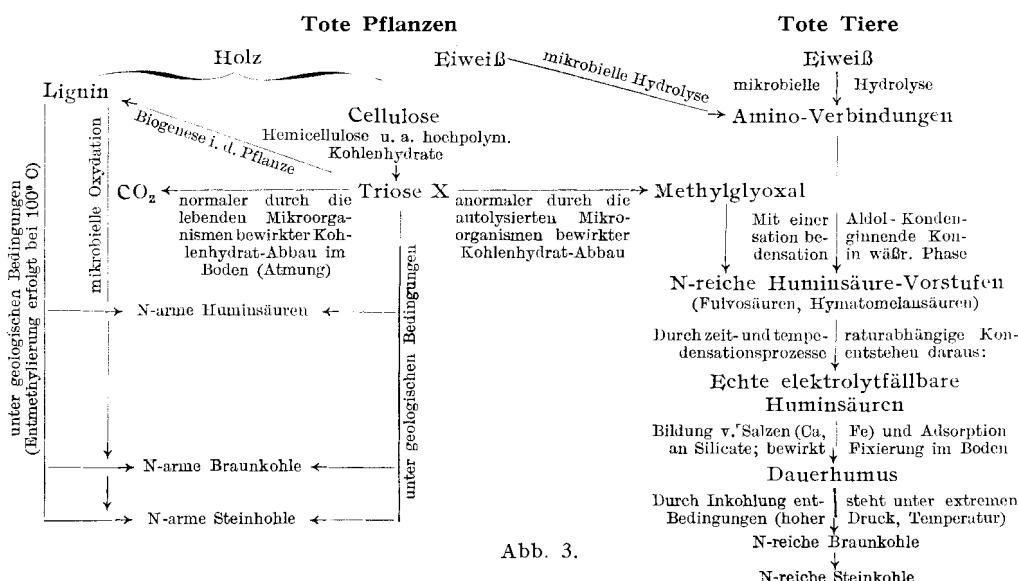


Abb. 3.

Für die in dem Schema angenommene Bildung von Braun- und Steinkohlen aus den Huminsäuren spricht die ausgeprägte Inkohlungstendenz dieser Körper, d. h. ihre Fähigkeit, bei relativ niedriger Temperatur durch stetig fortschreitende CO_2 - und Wasserabgabe, sich immer mehr mit Kohlenstoff anzureichern und schließlich in graphit-ähnliche Körper überzugehen.

Wie bereits erwähnt, muß nach heutiger Ansicht auch das **Lignin** als Muttersubstanz der Huminsäure betrachtet werden (*Fischer, Waksman, Sauerlandt u. a.*). Im Gegensatz zu dem von den Kohlenhydraten ausgehenden bisher besprochenen Humifizierungsprozeß können über den Verlauf der Humifizierung des Lignins nur Vermutungen geäußert werden. Die Ursache hierfür liegt in der mangelhaften Kenntnis der chemischen Struktur des genuinen Lignins, wie es in der verholzten Faser vorkommt, begründet. Daß dem unter mehr oder minder extremen Bedingungen aus der verholzten Faser isolierten Kunst Lignin aromatische Kondensationsgebilde mit Phenylpropan-Kernen als Grundkörper zugrunde liegen, ist nach den Untersuchungen von *Freudenberg*³⁾ unzweifelhaft.

Es sind jedoch sehr beachtenswerte Zweifel geäußert worden, ob diese aromatische Struktur auch den genuinen Ligninen zukommt. Es wurde vermutet (*Hilpert*⁴⁾), daß die Aromaten erst bei der Aufbereitung des Holzes aus empfindlichen Kohlenhydraten gebildet werden. Wir wollen diese vorläufig hypothetischen genuinen Vorstufen der aromatisch aufgebauten Lignine der Einfachheit halber als „Ligninogene“ bezeichnen.

Nachdem auf Grund eigener eingehender Abbauversuche mit Oxydationsmitteln und durch Alkali-Schmelze⁵⁾, sowie durch Aufgliederung der faßbaren Atomgruppen (alkoholische und phenolische OH-, Carbonyl- und Acetyl-Gruppen⁶⁾) als sicher angenommen werden darf, daß die Melanoidine und die natürlichen Huminsäuren keinesfalls eine so hocharomatische Struktur besitzen wie die bisher untersuchten Kunst-Lignine nach *Bergius*, *Freudenberg*, *Scholler* und *Willstätter*, muß bei den unzweifelhaften Analogien, die zwischen den Kunst-Ligninen und den Huminsäuren bzw. Melanoidinen in den physikalischen und chemischen Eigenschaften bestehen, angenommen werden, daß unter den extremen Bedingungen der Lignin-Gewinnung aus Holz der in den Ligninogenen offenbar vorhandenen Neigung zur Aromatisierung mehr nachgegeben wird als unter den milden Bedingungen der Huminsäure-Bildung in der Natur bzw. der Bildung der Melanoidine *in vitro*.

In der höher aromatischen Struktur der Kunst-Lignine muß ein weiteres Argument gegen die *Fischer-Schradersche Theorie* der Humus-Bildung und Kohleentstehung gesehen werden. Nach dieser Theorie sollen bekanntlich die Huminsäuren über die sog. Protohuminsäuren durch Oxydation aus Lignin entstehen. Nachdem aber unter Lignin bisher durchweg das aus aromatischen Kernen aufgebaute Kunst-Lignin verstanden wird, müßte beim Übergang vom Lignin zu den Huminsäuren eine Aliphatisierung stattfinden. Das dürfte jedoch bei der Stabilität der Kunst-Lignine ziemlich ausgeschlossen sein.

Diese Schwierigkeiten bestehen nicht, wenn man in Übereinstimmung mit der praktischen Erfahrung in der Landwirtschaft, daß auch die inkrustierenden Substanzen des Holzes Humus bilden können, in das *Fischer-Schradersche Schema* an Stelle des Begriffs Lignin den Begriff Ligninogen einführt.

Umgekehrt geht aus der Richtigkeit der solchermaßen modifizierten *Fischer-Schraderschen Theorie* wiederum hervor, daß das native Lignin keine aromatische Struktur besitzen kann. Man nimmt zwar an, daß auch aus dem genuinen Lignin lösliche Huminsäure-Vorstufen (Ligno-Huminsäuren) nach *Simon*⁷⁾ gebildet werden. Der Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme kann natürlich erst erbracht werden, wenn der Übergang vom reinen nativen Lignin in Huminsäure-Vorstufen bzw. huminsäure-ähnliche Körper eindeutig experimentell feststeht. Daß solche wasserlöslichen, wahrscheinlich oxydativ gebildeten Umwandlungsprodukte der Ligninogene als Zwischenprodukte bei der Huminsäure-Bildung auftreten können, erscheint auch wahrscheinlich, weil es gelingt, aus wasserlöslichen Holzextrakten nach *Schütz*⁸⁾ die den nativen Ligninen nahestehenden dürften, durch Oxydation, Säure und Alkali-Behandlung huminsäure-ähnliche, braun gefärbte Lösungen zu erhalten.

Es ist möglich, daß die beim Humifizierungsprozeß der Kohlenhydrate stattfindende fortschreitende Kondensationsgrad erhöhung, die zu den elektrolytfällbaren echten Huminsäuren führt, auch bei der Humifizierung des Lignins eine Rolle spielt.

Eine von Methylglyoxal ausgehende Totalsynthese, wie bei der zweistufigen Überführung der Cellulose in Huminsäure, dürfte bei der Humifizierung des nativen Lignins nicht in Frage kommen. Dafür spricht der Befund, daß die Holzextrakte, obwohl sie stark positiv auf *Ariyamas Reagens* ansprechen, kein Methylglyoxal enthalten. Vielmehr ist anzunehmen, daß die Humifizierung direkt von den wenigsten teilweise wasserlöslichen genuinen Ligninen aus erfolgt.

Diese genuinen Lignine oder Ligninogene bestehen offenbar aus mehr oder minder hochmolekularen Gebilden, die größtentheils fest in dem Fasergefüge verankert sind und gewissermaßen seine Form bestimmen; darauf weist die Tatsache hin, daß bekanntlich bei der Humifizierung der Hölzer und Kräuter die Holzstruktur zum großen Teil erhalten bleibt und aus diesem festen Material echte Huminsäuren gewinnbar sind; die elementare Zusammensetzung schwankt zwar sehr erheblich, jedoch liegen die Analysendaten innerhalb der für Huminsäuren bekannten weiten Grenzen.

	Kohlenstoff %	Wasserstoff %	Stickstoff %
Holz: NaOH-Auszug	54,5	6,4	1,54
Wasserauszug	50,65	7,31	7,24
Farn: NaOH-Auszug	60,7	9,88	3,29

Die sich aus der Humus-Chemie ergebende Vorstellung, daß das genuine Lignin eine aliphatische Struktur besitzt, wurde bereits früher von *Fuchs*⁹⁾ auf Grund der Untersuchungen von *Emil Fischer* über das Glucal entwickelt. Eine experimentelle Stütze für diese Ansicht sieht *Fuchs* in der Tatsache, daß nach schonender Oxydation und anschließender Hydrolyse von Holz erhöhte Zuckerausbeuten erhalten werden. Von *Hilpert* wurden bekanntlich in neuerer Zeit beachtenswerte Untersuchungen durchgeführt, die ebenfalls für die nichtaromatische Natur des nativen Lignins sprechen. In jüngster Zeit wurden die *Hilpert*-schen Vorstellungen durch *Schütz* unterstrichen.

Die Tatsache, daß die Huminsäuren aus verschieden aufgebauten Körpern, nämlich aus der Cellulose und dem nativen Lignin, gebildet werden können, kann vielleicht dadurch erklärt werden, daß bei der Biogenese des Lignins in der Pflanze ähnliche Kondensationsprozesse — jedoch ohne Beteiligung von Amino-Stickstoff — stattfinden, wie sie durch gemischte Polykondensation von Methylglyoxal und Amino-Verbindungen zu den Huminsäuren führen. Nachdem gezeigt wurde, daß die Kondensation des Methylglyoxals in der ersten Phase eine Aldol-Kondensation ist, wäre auch bei der Biogenese des Lignins an eine Aldol-Kondensation zu denken. Von *Hibbert*¹⁰⁾ wurde bereits versucht, das Methylglyoxal als Muttersubstanz der verschiedenen Aromaten vom Phenylpropan-Typ, die das Lignin aufbauen, heranzuziehen. *Hibbert* zieht jedoch eine aliphatische Natur des Lignins nicht in Betracht.

Wie wir kürzlich zeigen konnten, stehen die Zucker und vielleicht auch hochpolymere Kohlenhydrate in einem Gleichgewicht mit einer Triose, die wir vorläufig mangels einer genauen Kenntnis ihrer Struktur als Triose X bezeichnet haben¹¹⁾. Sie stabilisiert sich leicht zu Methylglyoxal. Es wäre nun mehr denkbar, daß die Biogenese des Lignins in der Pflanze von diesem 3-Kohlenstoff-Körper aus erfolgt und dadurch die Möglichkeit zur Bildung der Phenylpropan-Struktur im Kunst-Lignin geschaffen wird. Gemäß dem Obengesagten wäre dann für das native Lignin ein durch Reduktion und Wasserabspaltung aus 3 Mol Triose X gebildetes aldol-ähnliches Kondensationsprodukt anzunehmen, das sich offenbar vom Nonatetraen ableitet, einer Substanz, die von *Freudenberg* bei der Aufstellung seiner Lignin-Formel bereits in Betracht gezogen wurde¹²⁾.

Der leichte Übergang des nativen Lignins in das aromatische Kunst-Lignin muß anscheinend in der besonderen sterischen Anordnung dieser Nonatetraen-Abkömmlinge, in der die 6-Ringe bereits weitgehend vorgebildet sind, zu suchen sein. Vielleicht wird das in Abb. 4 gezeigte Prinzip dem Aufbau dieser Ligninogene gerecht.

In dieser hypothetischen Konstitutionsformel des Ligninogenen ist ähnlich, wie es von *Astbury* und *Wrinch* für die Eiweiß-Molekel angenommen wurde, eine Faltung ungesättigter Oxypolyen-Ketten in der Weise vorgenommen, daß durch einen einfachen Wasseraustritt, der z. B. bei der Isolierung des Lignins aus dem Holz durch die dabei zu treffenden Maßnahmen erfolgt, die Cyclisierung zu dem für das Kunst-Lignin vertretenen Phenyl-propan-Kettensystem mit dem Coniferylalkohol oder einem Derivat desselben als Grundkörper verständlich.

³⁾ S. diese Ztschr. **52**, 362 [1939].

⁴⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. 1935—1938,
Enders u. Botteri, München 1939, unveröffentlicht, Enders u. Bussmann, München 1941,
unveröffentlicht.

⁵⁾ Bodenkunde u. Pflanzenernähr. **1** (46), 257 [1936].

⁶⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. 1935—1938,

⁷⁾ Enders, u. Mitarb. (I. c.).

⁸⁾ Diese Ztschr. **56**, 179 [1948].

⁹⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. **60**, 776 [1927].

¹⁰⁾ J. Amer. chem. Soc. **61**, 725 [1939].

¹¹⁾ Naturwiss. **31**, 92 [1943].

¹²⁾ S. Klein: Hdbch. d. Pflanzenanalyse III/1, S. 130, Springer, Wien 1932.

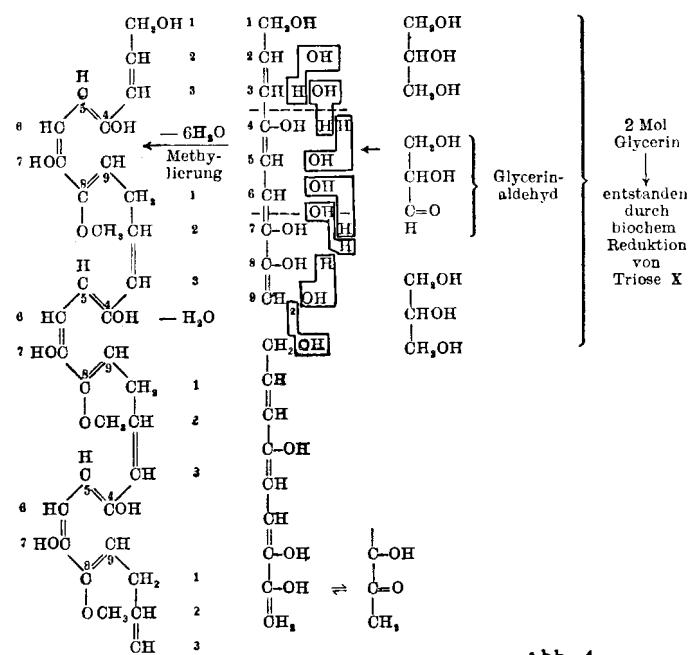


Abb. 4.

Selbstverständlich handelt es sich bei dieser Vorstellung nur um eine spekulative Hypothese, die aber tatsächlich eine Reihe schwer verständlicher Tatsachen, wie z. B. auch die leichte Oxydierbarkeit des nativen Lignins, erklärt, und u. a. auch die Ergebnisse von Hilpert zwanglos verstehen lassen könnte. Möglicherweise werden durch diese Faltung die festigenden Eigenschaften des Lignins in der Faser hervorgerufen.

Nebenbei bemerkt würde die Nachprüfung der Richtigkeit dieser Ansicht auch von praktischem Interesse sein. Wenn es z. B. gelänge, diese ungesättigten Ligninogene chemisch so schenend zu verändern, daß ihre aliphatische Struktur erhalten bleibt — sei es durch milde Oxydation und anschließende Hydrolyse zu Zuckern, sei es durch katalytische Hydrierung bei niedriger Temperatur zu Kohlenwasserstoffen —, dann wären neue Möglichkeiten des Holzaufschlusses bzw. der Holzverwertung gegeben.

Die Bildung der Huminsäure aus dem nativen Lignin wäre dann durch eine wahrscheinlich mikrobiell bewirkte

Oxydation und eine allerdings nicht so weitgehende Aromatisierung, wie sie bei der Darstellung der Kunst-Lignine stattfindet, verständlich. Solange wir jedoch über die Struktur der Huminsäuren keine Klarheit haben, kann über diese Reaktionen nichts Bestimmtes ausgesagt werden. Die von den Humifizierungsvorgängen ausgehenden Betrachtungen des Lignin-Problems unter dem Gesichtspunkt der zentralen Bedeutung, die der Triose X auch bei der Umwandlung der Kohlenhydrate in Lignin bzw. Huminsäuren zukommen dürfte, entsprechen dem Bestreben, das auf diesem dunklen Sektor der Chemie gemeinsame Prinzip zu erkennen. Tatsächlich wird eine Reihe von bisher bestehenden Widersprüchen dadurch beseitigt. Es ist zu hoffen, daß trotz der Schwierigkeit der außerordentlich komplexen Materie, die offenbar der Grund dafür ist, daß sich die exakte organische Chemie diesem Arbeitsgebiet bisher noch nicht in einem der Bedeutung des Humus entsprechenden Maße zugewendet hat, durch experimentelle Untersuchungen die Richtigkeit der vorgebrachten Vorstellungen, soweit sie nicht bewiesen sind, nachgeprüft werden kann.

Für die Praxis der Humus-Bereitung ergibt sich, daß die Rolle der Mikroben bei der Humus-Bildung aus der Cellulose und aus dem Lignin zum mindesten eine doppelte ist. Während die Bodenmikroben bei der Humifizierung der Cellulose absterben müssen und durch ihren Tod gewissermaßen die Wegbereiter für das Leben der höheren Pflanzen werden, ist für die Humifizierung, d. h. die Oxydation des Lignins, vermutlich eine intensive Lebenstätigkeit von Mikroorganismen notwendig. Dieser zweifachen Beteiligung der Mikroorganismen bei den Humifizierungsvorgängen entsprechend werden auch die in der Praxis zur Förderung der Humus-Bildung stattfindenden Maßnahmen, die offenbar in der Beeinflussung der mikrobiellen Tätigkeit bestehen müssen, doppelter Art sein:

Einmal muß entsprechend dem Vorhergesagten zur Steigerung der Cellulose-Humifizierung auf eine wiederholte Abtötung der Mikroben unter Vermeidung der Fermentinaktivierung geachtet werden, zum anderen muß zum Zweck der Lignin-Humifizierung ein möglichst intensives Mikrobenwachstum angestrebt werden. Wie sich dieses komplizierte Spiel der Natur durch den Menschen zum Zwecke der gelenkten Humus-Anreicherung der Böden im Zuge der ständigen Bemühungen läßt, muß weiteren Untersuchungen und praktischen Erfahrungen überlassen werden.

Eingeg. 15. Juli 1943. [A. 32.]

Bekämpfung von Getreidekrankheiten durch chemische Mittel

Von Prof. Dr. AUGUST KLAGES, Göttingen

Die vier Hauptgetreidekrankheiten Weizensteinbrand (*Tilletia*), Schneeschimmel (*Fusarium*), Streifenkrankheit (*Helminthosporium*) und Haferflugbrand (*Ustilago avenae*) können mit vollem Erfolg durch Beizen des Saatgutes bekämpft werden. Die Saatgutbeizen sind Zubereitungen für den praktischen Gebrauch des Landwirts. Sie enthalten den wirksamen Stoff in Verbindung mit indifferenten wasserlöslichen Substanzen (Naßbeizen) oder mit indifferenten Pulvern (Trockenbeizen). Die Beizen werden auf einen bestimmten Gehalt an wirksamen Stoffen eingestellt, deren Gehalt gewährleistet wird. Sind sie gegen alle vier Getreidearten sowohl als Naß- als auch als Trockenbeize wirksam, so werden sie als Universalbeizmittel bezeichnet. Die Anwendungsf orm der Beizmittel besteht darin, daß man entweder wäßrige Lösungen der Beize benutzt und damit das Saatgut eine bestimmte Zeit behandelt: Tauch- oder Benetzungsbeize. Oder man bestäubt das Saatgut mit dem feingemahlenen Wirkstoff, der mit einem indifferenten Pulver, z. B. Talkum, verdünnt ist: Staub- oder Trockenbeize. Bei dem erstenen Vorgang bedarf das Getreide vor der Aussaat einer Nachrocknung, bei der Staubbeize erübrigts sie sich. Dadurch ist es möglich, große Mengen Getreide schnell und sicher zur Aussaat zu bringen. Diese Vorteile haben es mit sich gebracht, daß jetzt nahezu zwei Drittel der Saatgutmenge mit Trockenbeizmitteln behandelt wird. Durch Konstruktion geeigneter Apparate hat man erreicht, die beim Einstauben entstehenden Belastigungen der Arbeiter zu beheben und den Vorgang auch in hygienischer Hinsicht einwandfrei zu gestalten. Der Verbrauch an Saatbeizmitteln liegt bei Trockenbeize etwas höher

als bei Naßbeize, man rechnet für Weizen, Roggen und Gerste je 1000 kg Saatgut 2 kg, für Hafer 3 kg Trockenbeize.

Die große wirtschaftliche Bedeutung, die die Saatgutbeizung für die Steigerung der Ernteerträge besitzt, hat dazu geführt, auf dem Verordnungswege die Anwendung der Beizmittel für das gesamte Reichsgebiet zu regeln. Ein Beizzwang als solcher besteht jedoch nicht. Die Zulassung einer Saatbeize erfolgt durch die Biologische Reichsanstalt nach gründlicher Erprobung durch mehrjährige Feldversuche. Auf diese Weise werden die als Saatbeize brauchbaren Mittel aus der Fülle der von Wissenschaft und Technik vorgeschlagenen Stoffe ausgesondert und in dem Pflanzenschutzmittelverzeichnis bekanntgegeben. Diese von der Biologischen Reichsanstalt herausgegebenen Merkblätter bilden daher ein wichtiges Material für die Feststellung des Standes der Technik, so daß, vom rein wissenschaftlichen Erwägungen abgesehen, der Fortschritt, der auf dem Beizgebiet erzielt worden ist, durch die vom Pflanzenschutz ermittelten Werte am klarsten zum Ausdruck kommt.

Sämtliche für die Getreidebeizung zurzeit empfohlenen Mittel, mit Ausnahme von Formaldehyd, dem Spezifikum für Hafer, enthalten komplexe Quecksilber-Verbindungen. Es ist bisher nicht gelungen, quecksilber-freie Mittel von gleicher Wirkung herzustellen. Beachtenswerte Anläufe in dieser Richtung¹⁾ liegen jedoch vor.

Die Entwicklung auf dem Saatbeizgebiet²⁾, die heute zu einem gewissen Abschluß gelangt ist, hat sich in den letzten 25 Jahren folgendermaßen vollzogen:

¹⁾ D. R. P. Anm. 68013 IVa/45, I. G. Farbenindustrie A.-G., 10. 10. 40.

²⁾ Diese Ztschr. 40, 559 [1927]; 49, 136 [1936]. G. Gassner, Phytopathol. Z. 14, 385 [1943].