

Atmosphärischer Stickstoff als Aufrechterhalter des Lebens auf der Erde

Von Prof. Dr. ATUTRI I. VIRTANEN, Helsinki¹⁾

Biochemisches Institut Helsinki

Der wesentlichste Anteil des für das Pflanzenwachstum der Erde notwendigen Stickstoffes wird biologisch durch Mikroorganismen gebunden. Nur wenige Prozente gebundenen Stickstoffes werden auf anderem Wege, etwa künstliche Stickstoff-Düngemittel, verfügbar. Die Voraussetzungen und die Primärschritte der biologischen Stickstoff-Bindung werden diskutiert. Versuche und neue Forschungsergebnisse zeigen, daß es möglich ist, die Ausnützung biologischer Stickstoff-Bindung systematisch weiterzuentwickeln und derart die Bodenfruchtbarkeit und landwirtschaftliche Produktion wesentlich zu erhöhen.

Wege der Stickstoff-Bindung

Biologische Stickstoff-Bindung

Als im Morgengrauen der modernen Chemie, am Ende des 18. Jahrhunderts, die Bedeutung des Sauerstoffs für die Atmung erkannt worden war, schien für den Hauptteil der Luft keine positive Aufgabe übrigzubleiben. Zwar war dieser Bestandteil wichtig dadurch, daß er als Verdünnungsmittel des Sauerstoffs hemmend auf die Verbrennungsprozesse einwirkte. An sich war er aber der Erfahrung nach ein Feind des Lebens, wie es auch die ihm gegebenen Namen, „l'ázote“, „Stickstoff“, andeuten. Es dauerte aber nicht lange, so fand man, daß dieser selbe Stickstoff einen von den zentralen Grundstoffen in jedem lebenden Organismus bildete. Durch das ganze 19. Jahrhundert bestand nun als großes Problem die Frage, wie sich die Pflanzen mit dem nötigen Stickstoff versehen. Schon in der ersten Hälfte des Jahrhunderts wurde man sich klar darüber, daß die im Boden in geringen Mengen vorkommenden Stickstoff-Verbindungen biologischer Herkunft sind und der einzige wirkliche Stickstoff-Vorrat der Erde der atmosphärische, gasförmige Stickstoff ist. Ungefähr um diese Zeit fand auch die Auffassung allgemeine Zustimmung, daß sich die Pflanzen nicht unmittelbar des gasförmigen Stickstoffs bedienen können, auch wenn freilich die Leguminosen laut gewisser Versuchsbefunde und insbesondere der praktischen Erfahrung, in dieser Hinsicht eine Sonderstellung allen anderen Pflanzen gegenüber einzunehmen schienen. Es ist interessant zu verfolgen, wie mit der größten Sorgfalt angeordnete Versuche zu negativen Ergebnissen betreffs der Sonderstellung der Leguminosen in bezug auf die Stickstoff-Nahrung führen, während bei grober Versuchsausführung Resultate erzielt werden, die sich mit den positiven Erfahrungen der Praxis decken. Erst 1886 gelang es dem Deutschen Hellriegel²⁾ zusammen mit seinem Mitarbeiter Wilfahrt, hinter die Ursache dieser Widersprüche zu kommen. Wie bekannt, wies Hellriegel nach,

daß sich die Leguminosen des gasförmigen Stickstoffs in dem Falle als Stickstoff-Quelle bedienen, wenn ihre Wurzeln mit Bakterien enthaltenden Wurzelknöllchen ausgerüstet sind. Ohne diese Knöllchen sind die Leguminosen im Hinblick auf ihre Stickstoff-Nahrung jeder anderen grünen Pflanze gleichgestellt, erfordern also mit anderen Worten geeignete Stickstoff-Verbindungen zu ihrer Ernährung. Als es dann dem berühmten holländischen Bakteriologen M. W. Beijerinck³⁾ zwei Jahre später gelang, die Knöllchenbakterien zu isolieren und mit deren Reinkulturen Stickstoff-bindende Knöllchen auf Leguminosenwurzeln zu erzeugen, war die Rolle der Leguminosenbakterien als Binder des gasförmigen Stickstoffs sichergestellt.

Neben den Befunden Hellriegels darf die gleichfalls grundlegende Entdeckung des Franzosen M. Berthelot⁴⁾ nicht vergessen werden. Er wies durch Experimente in den 1880er Jahren nach, daß in einem Boden, der keinen sichtbaren Pflanzenwuchs trägt, der Stickstoff-Gehalt im Laufe der Monate in analytisch nachweisbarer Menge zunimmt und diese Zunahme ausbleibt, wenn der Boden auf 120° erhitzt wird. Aus diesem Befund schloß Berthelot, daß die im Boden befindlichen Bakterien den Stickstoff der Luft binden. Berthelot und Hellriegel schufen dadurch einen festen Grund für die Auffassung, daß die Bindung des atmosphärischen Stickstoffs auf der Erde durch Vermittlung bestimmter Bakterien, d. h. auf sog. biologischem Wege geschieht. Dieses Bild hat immer noch seine Gültigkeit. Neben den von Beijerinck in Reinkultur gewonnenen Leguminosenbakterien, den von S. Winogradsky⁵⁾ gefundenen freilebenden anaeroben Buttersäurebazillen sowie den gleichfalls freilebenden aeroben Azotobakterien von M. W. Beijerinck⁶⁾ ist in den letzten Jahrzehnten und Jahren biologische Stickstoff-Bindung auch bei manchen anderen Bakterien, des weiteren bei gewissen blaugrünen Algen^{7,8)} nachgewiesen worden. Die Algen

¹⁾ Vorgetragen am 24. Juni 1952 in Lindau auf der Tagung der Nobelpreisträger der Chemie.

²⁾ H. Hellriegel, Landwirtsch. Versuchsstat. 33, 464 [1887]; H. Hellriegel u. H. Wilfahrt, Beil. zur Z. Ver. Rübenzucker-Ind. Dtsch. Reichs [1888].

³⁾ M. W. Beijerinck, Botan. Z. 46, 725, 741, 757, 781, 797 [1888].
⁴⁾ M. Berthelot, C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. 101, 775 [1885]; 104, 205 [1887].

⁵⁾ S. Winogradsky, ebenda 116, 1385 [1893]; 118, 353 [1894].

⁶⁾ M. W. Beijerinck, Zbl. Bakteriologie, 11, 7, 561 [1901].

⁷⁾ K. Drewes, ebenda 11, 76, 88 [1928].

⁸⁾ G. E. Fogg, Endeavour 6, 172 [1947].

befinden sich insofern in einer Sonderstellung, als sie durch CO_2 -Assimilation auch ihre Kohlenstoff-Verbindungen selbst aufbauen und dadurch die meist autotrophen Organismen der Erde sind.

Nicht-biologische Stickstoff-Bindung

Die neuerdings vom Inder *Dhar*⁹⁾ mitgeteilten Befunde über eine gewaltige Stickstoff-Bindung ohne Mikroorganismen im Boden oder auf der Oberfläche von Metalloxyden, wie z. B. dem Fe_2O_3 , sowie über den stimulierenden Einfluß des Sonnenlichts auf diesen Prozeß, haben sich nicht bestätigen lassen. In unserem Laboratorium (*Erkama* und *Nurmikko*¹⁰⁾) konnte unter entsprechenden Versuchsbedingungen während sieben Monaten keine Stickstoff-Bindung beobachtet werden.

Dagegen kommt es wahrscheinlich recht wohl zu einer von Mikroorganismen unabhängigen Stickstoff-Bindung in der Atmosphäre durch elektrische Entladungen, ferner auf photochemischem Wege und möglicherweise auch durch Einwirkung der Ultraschallwellen. Der im Regenwasser dem Erdboden zugeführte Nitrat- und Nitrit-Stickstoff scheint für eine atmosphärische Stickstoff-Bindung zu zeugen. Doch muß hierbei berücksichtigt werden, daß beim mikrobiellen Abbau der Nitrate im Boden, der sog. Denitrifikation, neben Stickstoff-Gas auch beträchtliche Mengen von Distickstoffmonoxyd gebildet werden. Dieses wurde zuerst von *Adel*¹¹⁾ in der Atmosphäre nachgewiesen, in deren höheren Lagen er photochemisch in N_2 , O_2 und NO aufgespalten wird. Man kann wohl annehmen, daß das letztgenannte in niedere, dichtere Lagen geraten, oxydiert werden kann. Inwiefern der im Regenwasser vorhandene Nitrat- und Nitrit-Stickstoff vielleicht zum Teil von dem N_2O des Bodens her stammt, ist vorläufig noch völlig ungeklärt.

Die Angaben über die mit dem Regenwasser dem Boden zugeführten Mengen Nitrat-Stickstoff sind in hohem Maße widersprechend. Läßt man gewisse, in Industriegebieten erzielte hohe Werte in diesem Zusammenhang außer Betracht, erscheint es auf Grund der in der Literatur mitgeteilten Regenwasseranalysen am wahrscheinlichsten, daß südlich des Polarkreises bis an den Nordrand der Tropenregion nur etwa 1 kg Nitrat-Stickstoff je Hektar und Jahr mit dem Regenwasser zum Boden gelangt. Ähnliche Werte, etwas unter 1 kg/ha, sind auch in Finnland gefunden worden. Die Menge des Nitrit-Stickstoffs ist im allgemeinen praktisch belanglos. In den Regengebieten der Tropen, wo starke Gewitter eine häufige Erscheinung sind, wird dem Boden offenbar mehr Nitrat-Stickstoff mit dem Regenwasser zugeführt. Hektarwerte von 2–5 kg erscheinen in jenen Gegenden keineswegs fremd, obwohl freilich die Literatur auch Tropenwerte um nur 1 kg herum aufweist.

Der Ammoniak-Gehalt des Regenwassers ist viel höher als der Nitrat-Gehalt. Das Ammoniak ist aber möglicherweise durch Verdunstung dem Boden entflohen und hätte damit mit der atmosphärischen Stickstoff-Bindung nichts zu tun¹²⁾. In Island¹³⁾, das ja auf jeder Seite von Ozeanen umgeben ist, wo die Wälder fehlen und wo man nicht in erwähnenswertem Maße von Landwirtschaft und noch weniger von Industrie sprechen kann und wo auch wegen der

Stickstoff-Armut des Bodens und niederen Temperatur nur minimale Mengen Ammoniak dem Boden entweichen, sind in der jährlichen Regenmenge kaum 0,3 kg/ha Nitrat-Stickstoff und nicht ganz 1 kg/ha Ammoniak-Stickstoff gefunden worden.

Obwohl unsere Kenntnis von der Stickstoff-Bindung in der Atmosphäre höchst mangelhaft ist, kann jedoch auf Grund der vorhandenen Regenwasseranalysen geschlossen werden, daß auf diesem Wege dem Boden nur relativ geringe Mengen von Stickstoff-Verbindungen zugeführt werden. Sofern die Voraussetzungen für eine effektivere Stickstoff-Bindung in der Atmosphäre während früherer Epochen der Erdentwicklung nicht wesentlich günstiger gewesen sind, hat es zu der Entwicklung einer kräftigen Vegetation sowie von höheren Pflanzen und Tieren ohne biologische Stickstoff-Bindung überhaupt nicht kommen können. Auch die unseren Erdball heute bevölkernde Pflanzen- und Tierwelt würde bei Fehlen der biologischen Stickstoff-Bindung rasch untergehen, denn die im Boden enthaltenen geringen Mengen von Stickstoff-Verbindungen biologischen Ursprungs, die dazu noch größtenteils sehr schwierig oder überhaupt nicht von Pflanzen verwertbar sind, würden nicht lange den Stickstoff-Bedarf der Pflanzen decken können. Auch in guten Kulturböden sind gewöhnlich nur 20–30 t Stickstoff je Hektar in Form von verschiedenen Stickstoff-Verbindungen vorhanden. Diesen entsprechen 77000 t molekularen Stickstoffs in der darübergelegenen Atmosphäre. Das Leben auf der Erde ist somit fortwährend entscheidend von der biologischen Stickstoff-Bindung abhängig. Die Lage hat sich, wenn man die gesamte lebende Natur im Auge behält, nicht nennenswert durch die nunmehr im großen, technischen Maßstab ausgeführte Ammoniak-Synthese geändert. Von dem Totalstickstoff des jährlichen Weltertrags der Kulturpflanzen rühren wohl nur ein paar Prozente von synthetisch hergestellten Stickstoff-Düngemitteln her, deren ertragssteigernde Bedeutung jedoch in bestimmten intensiv bewirtschafteten Gebieten zumal Europas und Nordamerikas groß ist. Vom Stickstoff der gesamten Vegetation unserer Erde ist nur ein verschwindender Bruchteil Erzeugnis der chemischen Industrie. Die Chemiker übersehen oft diese Tatsache und denken, daß durch die industrielle Ammoniak-Synthese das Stickstoff-Problem mit einem Schlage erledigt sei.

Voraussetzungen der biologischen Stickstoff-Bindung

Als ein Naturphänomen ist die biologische Stickstoff-Bindung nur in bescheidenem Maße vom Menschen beherrscht. Es ist aber klar, daß eine zunehmende Kenntnis dieses Prozesses uns neue Möglichkeiten zur Ausnutzung desselben in die Hand geben wird. Besonders die Stickstoff-Bindung bei den Leguminosen bildet schon jetzt ein mächtiges Mittel, wenn es gilt, die Stickstoff-Düngung und Protein-Produktion in der Landwirtschaft zu heben. Ein gutes Beispiel, um welch gewaltige Stickstoff-Mengen es sich hierbei handeln kann, bietet ein an der Pflanzenabteilung unseres Laboratoriums ausgeführter Versuch mit Rotklee in Quarzsand ohne Stickstoff-Nahrung, aber mit einem sehr wirkungsvollen Stamm des Kleebakteriums geimpft. Während der sechsmonatigen Vegetationsperiode lieferte dieser Klee drei Ernten, die auf das Hektar berechnet, durchschnittlich etwas über 1000 kg Stickstoff enthielten¹⁴⁾. In der Natur sind solche Erträge nicht erreichbar. Es

⁹⁾ N. R. Dhar u. N. N. Pant, Nature [London] 153, 115 [1944]; N. R. Dhar, Nat. Acad. Sci. India 15, 15 [1946].

¹⁰⁾ J. Erkama u. V. Nurmikko, Suomen Kemistilehti B. 22, 21–22 [1949].

¹¹⁾ A. Adel, Astrophysic. J. 90, 627 [1939]; 93, 509 [1941].

¹²⁾ G. Torstenson und H. Egnér haben in Ultuna (Schweden) ein ziemlich konstantes Verhältnis zwischen $\text{NO}_3\text{-N}$ und $\text{NH}_4\text{-N}$ (1 : 2) in Regenwasser gefunden, was möglicherweise auf einen gemeinsamen Ursprung dieser N-Verbindungen deutete (*Ångström* u. *Högberg*, Tellus 4, 31 [1952]). Die Analysen vieler anderer Autoren zeigen aber nicht ein solches Verhältnis.

¹³⁾ E. J. Russel u. E. H. Richards, J. agric. Sci. 9, 309 [1919].

¹⁴⁾ A. I. Virtanen: Cattle Fodder a. Human Nutrition, Cambridge University Press, Cambridge [1938].

kommt aber auf guten Klee- und Luzernfeldern im Laufe des Sommers immerhin zur Bindung von nicht weniger als 200–400 kg Stickstoff je Hektar — eine an sich gewaltige Menge, deren Bedeutung man am leichtesten erkennt, wenn man bedenkt, daß sich die höchsten Hektarbeträge an Stickstoff-Düngemitteln auch bei intensivster Bodenbewirtschaftung auf etwa 100 kg reinen Stickstoffs belaufen.

Im Vergleich hierzu sind die durch die Tätigkeit der freilebenden Stickstoff-bindenden Mikroorganismen gebundenen Stickstoff-Mengen bescheiden. Dies beruht in erster Linie auf dem Mangel an geeigneter Kohlenstoff-Nahrung im Boden. Es herrscht im Boden ein ständiger Kampf zwischen den verschiedenen Mikroorganismen, und in diesem Kampf sind die Stickstoff-bindenden Organismen nur ein im allgemeinen mehr oder minder zurücktretender Mitbeteiligter. Die Azotobakterien binden im Laboratoriumsversuch 10–20 mg Stickstoff je 1 g der von ihnen verbrauchten Kohlenstoff-Verbindung, die anaeroben Buttersäurebazillen weniger als die Hälfte davon. Diese sind imstande, wie *Vartiovaara*¹⁵⁾ in unserem Laboratorium gezeigt hat, in Mischkultur mit Cellulose-zersetzenden Pilzen mit Cellulose als einziger Kohlenstoffnahrung N_2 zu binden, weil sie die bei der Hydrolyse der Cellulose unter anaeroben Bedingungen angereicherte Glukose verwenden. Diese Fähigkeit besitzen aber auch viele nicht-Stickstoff-bindende Mikroorganismen des Bodens. In verschiedenen Böden ist der jährliche Betrag der durch die freilebenden Bakterien geschaffenen Stickstoff-Bindung den vorerwähnten, aber auch anderen Einflüssen zufolge sehr verschieden. Wir sind über die hierbei in Frage kommenden Mengen noch äußerst mangelhaft unterrichtet. Schwankungen von ein paar bis 30 Kilogramm pro Hektar und Jahr sind wahrscheinlich.

Die Bedeutung der eingangs erwähnten Kohlendioxyd-assimilierenden und Stickstoff-bindenden Algen im Stickstoff-Haushalt der Natur ist unklar. In Süßwassern und in Reisfeldern sollen sie als Stickstoff-Binder eine beachtenswerte Bedeutung haben (*Pearsall, De, Singh*¹⁶⁾). Stickstoff-Bindung in Symbiose mit Algen und grünen Pflanzen ist auch gefunden (*Winter, Bortels*¹⁶⁾). Es sei noch erwähnt, daß man eine symbiotische Stickstoff-Bindung sogar in einigen Insekten wie Blattläusen und Termiten durch spezielle Darmbakterien gefunden hat (*Peklö, Toth*¹⁶⁾).

Die biologische Stickstoff-Bindung wird stark beeinflusst durch den Gehalt des Nährbodens an löslichen Stickstoff-Verbindungen. In Nährlösungen wird die Stickstoff-Bindung durch Azotobacter und andere freilebende Mikroorganismen nach *Burris und Wilson*¹⁷⁾ schon bei Zusatz von winzigen Mengen von Ammoniumsalzen momentan eingestellt, bei Zugabe von Nitrat und anderen Ammoniak-bildenden Stickstoff-Verbindungen nach kurzer Adaptationszeit. In guten Kulturböden hätten die Mikroorganismen nur wenig Gelegenheit zur Stickstoff-Bindung, wenn nicht die löslichen Stickstoff-Bindungen durch andere Mikroorganismen oder durch die Wurzeltätigkeit der höheren Pflanzen wenigstens lokal aufgebraucht würden.

In den Leguminosenknöllchen wird der Stickstoff dagegen auch dann gebunden, wenn bedeutende Mengen Ammoniumsalze oder lösliche organische Stickstoff-Verbindungen im Nährboden der Pflanzen zugegen sind. Nach unseren Versuchen¹⁸⁾ mit Erbsen wird Stickstoff noch in einer Nährlösung mit 50–100 mg Ammoniumstickstoff im

Liter fixiert, obgleich die Pflanzen gleichzeitig auch den zu Gebote stehenden Ammoniumstickstoff ausnutzen. Gegen Nitrat sind die Knöllchen viel empfindlicher. Schon 25 mg Nitrat-Stickstoff in 1 l Nährlösung hemmen praktisch vollständig die Stickstoff-Bindung¹⁸⁾. Je nach dem Gehalt des Bodens an löslichen Stickstoff-Verbindungen und insbesondere an Nitrat variiert die Stickstoff-Bindung in den Leguminosenkulturen. In Stickstoff-armen Böden werden die Leguminosen praktisch nur mit Luftstickstoff ernährt, in Böden reich an löslichen Stickstoff-Verbindungen zum Teil mit diesen. Wir haben neuerdings eine Methode entwickelt zur Bestimmung der Stickstoff-Bindung in Erbsenkulturen in verschiedenen Böden und haben dabei gefunden, daß die Erbse in einem mullreichen Lehm-boden mit 0,3% Stickstoff etwa 70% von ihrem Totalstickstoff aus der Luft empfangt¹⁹⁾. Weil die Wurzeln mitsamt den unteren Teilen des Stengels bei der Ernte im Boden bleiben, wird ein bedeutender Teil des Stickstoffs dem Boden einverleibt. Dabei steigt der Stickstoff-Gehalt der Stickstoff-armen Boden, derjenige der Stickstoff-reichen Böden bleibt unverändert oder sinkt nur wenig.

Von anderen Faktoren, die die Stickstoff-Bindung beeinflussen, möge die Acidität des Nährbodens erwähnt werden. Sowohl die frei als die symbiotisch lebenden Stickstoff-bindenden Bakterien gedeihen mit einigen Ausnahmen bei neutraler oder schwach saurer Reaktion. Die Azotobakterien kommen überhaupt nur in kalkreichen, annähernd neutralen Böden vor. Bei manchen Leguminosen kann man die Beobachtung machen, daß die Pflanzen selbst nicht so empfindlich gegen die Acidität sind wie die Bakterien²⁰⁾. So wächst z. B. Klee mit Ammoniumnitrat noch etwas bei pH 4, mit molekularem Stickstoff dagegen überhaupt nicht (Bild 1). Auf die große Bedeutung der Effektivität verschiedener Stämme der Leguminosenbakterien werde ich noch zurückkommen.



Das Wachstum von Bastardklee in Quarzsand bei verschiedener Acidität. Oben: ungeimpft, mit Ammoniumnitrat. Unten: geimpft mit effektivem *Rhizobium*-Stamm, ohne zugesetzte N-Nahrung. Die mineralische Nährlösung ist dagegen in beiden Fällen dieselbe

Mechanismus der Stickstoff-Bindung

Die Stickstoff-Bindung ist dermaßen eng mit dem Leben der Zellen verknüpft, daß es bisher nicht gelungen ist, den Vorgang außerhalb der lebenden Zellen zuwege zu bringen. Dieser Umstand hat natürlich die Erklärung des chemischen

¹⁵⁾ U. Vartiovaara, Maataloustieteellinen Aikakauskirja 10, 241 [1938].
¹⁶⁾ Literatur s. A. I. Virtanen, Ann. Rev. Microbiology 6, 485 [1948].
¹⁷⁾ R. H. Burris u. P. W. Wilson, J. biol. Chemistry 166, 595 [1946].
¹⁸⁾ A. I. Virtanen, J. Jorma, H. Linkola u. A. Linnaalmi, Acta Chem. Scand. 1, 90 [1947].

¹⁹⁾ A. I. Virtanen u. S. Saubert-v. Hausen, Plant a. Soil 4, 171 [1952].
²⁰⁾ A. I. Virtanen, Biochem. Z. 193, 300 [1928].

Mechanismus der Stickstoff-Bindung und des dabei reagierenden Enzymsystems erschwert. Schon am Ende des vorigen Jahrhunderts, als man den Mechanismus der biologischen Stickstoff-Bindung zu diskutieren begann, äußerte Winogradsky⁵⁾ die Auffassung, der molekulare Stickstoff werde bei diesem Prozeß direkt zu Ammoniak reduziert, welches somit das primäre Produkt der Stickstoff-Bindung darstellt. Irgendwelche direkten Beweise zugunsten dieser Auffassung waren nicht vorhanden, doch erschien das Ammoniak auch im Lichte neuerer Befunde als Produkt der Stickstoff-Bindung sehr natürlich, nimmt es doch auch bei der Aminosäure-Synthese eine zentrale Stellung ein. Tatsächlich hat sich die Bildung von Ammoniak als Endprodukt der Stickstoff-Bindung neuerdings auch nachweisen lassen.

Die Bildung von Ammoniak liefert uns indessen an sich noch keine Klarheit über die Stickstoff-Bindung selbst, also über die ersten Phasen des Vorgangs. Das Ammoniak braucht keineswegs ein direktes Reduktionsprodukt des Stickstoffs darzustellen, wie dies schon die biologische Reduktion einer selbst so weit oxydierten Stickstoff-Verbindung, wie des Nitrats, zu Ammoniak erweist. Meiner Ansicht nach ist denn auch die Hauptfrage in bezug auf den Mechanismus der Stickstoff-Bindung heute so zu stellen: Ist die erste Phase der Stickstoff-Bindung oxydativ oder reduktiv? Letzteres erschien wohl natürlich, hätte man nicht auf die bei der aeroben Stickstoff-Bindung beobachtete Bildung von gebundenem Hydroxylamin Rücksicht zu nehmen. Blom²¹⁾ wies zuerst in Kulturen von Azotobacter mit molekularem Stickstoff als Stickstoff-Quelle Hydroxylamin nach, und Endres²²⁾ konstatierte später, daß in Azotobacter-Kulturen sowohl mit molekularem als mit Nitrat-Stickstoff, aber nicht mit Ammonium-Stickstoff, Oxim-Stickstoff gebildet wird, denn die Kulturen gaben nach Schwefelsäurehydrolyse und darauf folgender Oxydation mit Jod die Nitrit-Reaktion. Wir haben beobachtet, daß solche Verbindungen auch in den Wurzelknöllchen der Leguminosen gebildet werden. Das Vorkommen von freiem Hydroxylamin in lebenden Zellen bzw. in Bakterienkulturen ist nicht zu erwarten, weil das eventuell gebildete Hydroxylamin mit großer Geschwindigkeit unter Oximbildung mit den zentralen Ketosäuren der Zellen, wie der Brenztrauben-, Oxalessig- und Ketoglutarinsäure, reagiert²³⁾. Das von Blom und einigen anderen nachgewiesene freie Hydroxylamin ist offenbar während der Behandlung des Materials aus Oximen oder auch aus Hydroxamsäuren entstanden. Die enzymatische Bildung von Hydroxamsäuren aus Hydroxylamin und gewissen organischen Säuren bzw. deren Amidn ist von Speck²⁴⁾, Waelsch und Mitarbeitern²⁵⁾, Stumpf und Loomis²⁶⁾ sowie in unserem Laboratorium²⁷⁾ gezeigt worden.

I Glutamat + $\text{NH}_2(\text{NH}_2\text{OH}) \rightarrow \text{Glutamin (Hydroxamsäure)}$

II Glutamin (Asparagin) + $\text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{Hydroxamsäure} + \text{NH}_3$

Die Beobachtungen über die Bildung von gebundenem Hydroxylamin tragen zur Stütze der Auffassung bei, daß Hydroxylamin sowohl bei der aeroben Stickstoff-Bindung als bei der Reduktion von Nitrat gebildet wird. Azotobacter produziert allerdings gebundenes Hydroxylamin auch mit Ammonium-Stickstoff als Stickstoff-Quelle,

nach unseren Bestimmungen jedoch viel langsamer als mit molekularem oder Nitrat-Stickstoff²⁸⁾ (Bild 2). Dies spricht nicht dafür, daß das Hydroxylamin bei der aeroben

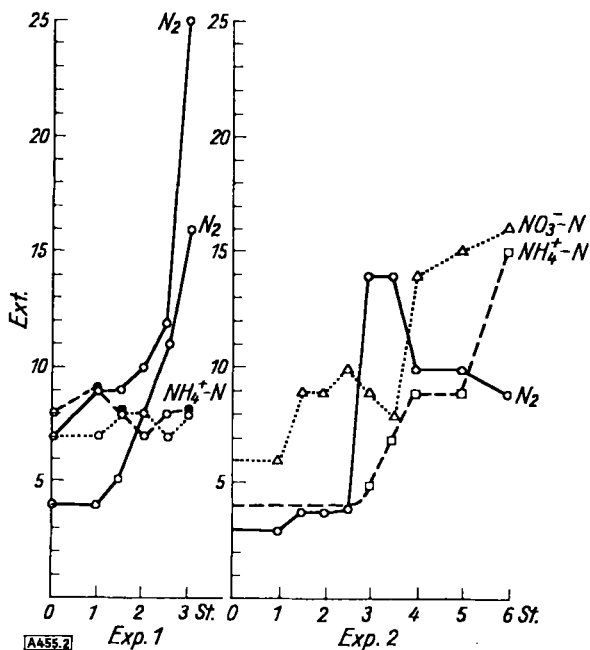


Bild 2

Bildung von gebundenem Hydroxylamin durch Suspension von Azotobacter. Hydroxylamin bestimmt nach Hydrolyse in Bakterienmasse. Exp. 1: zwei Parallelversuche mit molekularem und Ammonium-Stickstoff. Exp. 2: Parallelversuche mit molekularem, Nitrat- und Ammonium-Stickstoff

Stickstoff-Bindung und der Nitrat-Reduktion durch Oxydation des zuerst gebildeten Ammoniaks entsteht. Die Tatsache, daß die Konzentration der Ammonium-Ionen mit molekularem und Ammonium-Stickstoff sehr verschieden sein muß, verringert doch die Beweiskraft dieser Versuche.

Gegen die Behauptung, daß das Hydroxylamin den Zellen völlig fremd wäre, sowie daß es bei eventueller Bildung nicht imstande wäre, sich am N-Stoffwechsel zu beteiligen, sprechen die Befunde von Czaky und mir²⁹⁾.

Wir haben bei der Torula-Hefe mit Nitrat als Stickstoff-Nahrung gefunden, daß die organisch gebundene NOH-Gruppe in gelüfteten Kulturen schon binnen 10–15 min ihren maximalen Wert erreicht, um danach wieder rasch abzunehmen (Bild 3). Wir deuten diesen Befund so, daß die Zelle nach kurzer Adaptation das gebundene Hydroxylamin durch reduktive Überführung in die Amino-Gruppe

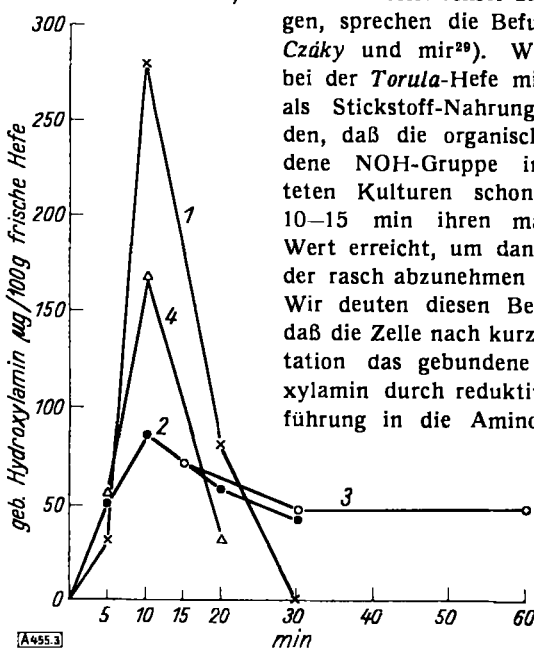


Bild 3

Bildung von gebundenem Hydroxylamin in stark belüfteter Suspension von Torula-Hefe mit Nitrat als N-Nahrung. Kurven 1–3 mit „niedrig-N-Hefe“, Kurve 4: mit „normal-N Hefe“

²¹⁾ J. Blom, Zbl. Bakteriologie, 11, 84, 60 [1931].

²²⁾ G. Endres, Liebigs Ann. Chem. 518, 109 [1935].

²³⁾ A. I. Virtanen, Ann. Acad. Sci. Fennicae, A. 11. Chem. No. 43 [1952].

²⁴⁾ J. F. Speck, J. biol. Chemistry 168, 403 [1947].

²⁵⁾ H. Waelsch, P. Owades, E. Borek, N. Grossowicz u. M. Schou, Arch. Biochem. 27, 237 [1950].

²⁶⁾ P. K. Stumpf u. W. D. Loomis, ebenda 25, 451 [1950]; 30, 126 [1951].

²⁷⁾ A. I. Virtanen u. A.-M. Berg, Acta Chem. Scand. 5, 909 [1951].

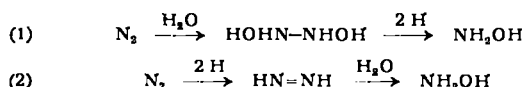
²⁸⁾ A. I. Virtanen u. H. Järvinen, ebenda 5, 220 [1951].

²⁹⁾ A. I. Virtanen u. T. Z. Czaky, Nature [London] 161, 814 [1948].

verwertet. *Yamafuji*³⁰⁾ hat die Reduktion des Oxim-Stickstoffs zum Amino-Stickstoff mit Gewebepreparaten aus Seidenraupen bewiesen.

Die bisherigen Beobachtungen haben mich zu der Annahme veranlaßt^{30a)}, daß die erste Phase bei der aeroben Stickstoff-Bindung eine oxydative wäre und das Oxydationsprodukt des Stickstoffs danach auf dem gleichen Wege wie das Nitrat reduziert werde (Bild 4). Das als Zwischenprodukt entstehende Hydroxylamin würde zum größten Teil auf die Ammoniak-Stufe reduziert, wäre aber in gewissem Umfang auch zur Bildung von Oximen oder Hydroxamsäuren fähig.

Wir haben, um Klarheit über den Bildungsmechanismus des Hydroxylamins zu erhalten, die eventuelle Bildung von Oxim bzw. Hydroxamsäure auch bei der anaeroben Stickstoff-Bindung durch Buttersäurebazillen untersucht. Käme es dabei zu der Bildung von Hydroxylamin, so könnte man es nicht mit einer primären Oxydation des Stickstoffs bei der Stickstoff-Bindung zu tun haben. Entweder der Reaktionsweg 1 oder 2 wären dann möglich. Bei



unseren zahlreichen Versuchen mit *Clostridium butyricum* unter anaeroben Bedingungen mit molekularem Stickstoff als Stickstoff-Quelle wurden nie auch nur Spuren von gebundenem Hydroxylamin gefunden (*Virtanen* und *Hakala*³¹⁾). Die Reaktionswege 1 und 2 sind daher bei der Hydroxylamin-Bildung unwahrscheinlich.

Das Fehlen des gebundenen Hydroxylamins in *Clostridium*-Kulturen spricht stark für die Auffassung, daß die anaerobe Stickstoff-Bindung eine Reduktion von Stickstoff zu Ammoniak ohne Sauerstoff-haltige Zwischenprodukte ist (Bild 4). Keine experimentellen Befunde sind

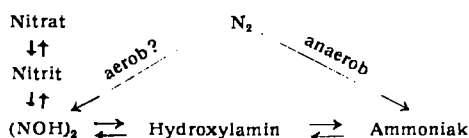


Bild 4

Reaktionswege der N_2 -Bindung unter der Annahme, daß die Reaktion bei anaeroben Organismen eine reduktive, bei aeroben eine oxydative ist.

Die Existenz von $(\text{NOH})_2$ als Zwischenprodukt ist hypothetisch und die Natur des evtl. Zwischenprodukts unbekannt. Sie ist offenbar nicht Untersalpetersäure.

gegen diese Auffassung. Die Stickstoff-Bindung durch aerobe und anaerobe Organismen fände demnach auf verschiedenen Wegen statt. Zugunsten dieser Auffassung spricht auch die verschiedene Einwirkung von Wasserstoff-Gas auf die aerobe und anaerobe Stickstoff-Bindung. *Wilson* und Mitarbeiter³²⁾ hatten schon vor Jahren gefunden, daß Wasserstoff spezifisch die Stickstoff-Bindung sowohl bei *Azotobacter* als bei der *Nostoc*-Alge und in den Wurzelknöllchen der Leguminosen verhindert. Mit *Hakala* habe ich dagegen keine Verhinderung der Stickstoff-Bindung durch gasförmigen Wasserstoff bei Buttersäurebazillen finden können³¹⁾. *Rosenblum* und *Wilson*³³⁾ kamen zu

demselben Ergebnis. Von Interesse ist in diesem Zusammenhang die Beobachtung von *Ellfolk* und mir³⁴⁾, daß die Bindung von molekularem Stickstoff im Ultraschallfeld, die sicher oxydativ ist, auch durch Wasserstoff-Gas gehemmt wird. Als Ursache dessen kann man sich wohl denken, daß der molekulare Wasserstoff mit dem molekularen Stickstoff erfolgreich um den Sauerstoff konkurriert. Ebenso kann es sich auch hinsichtlich der aeroben biologischen Stickstoff-Bindung verhalten. Andere Erklärungen sind jedoch auch möglich³⁵⁾.

Die Buttersäurebazillen geben einen großen Teil des von ihnen gebundenen Stickstoffs an die Nährlösung ab^{28,31,33)}. Der höchste Betrag dieser Sekretion hat sich in unseren Versuchen auf 60% belaufen, gewöhnlich bewegen sich die Werte bei 30–40%. In der Lösung wurden von uns die Asparagin- und Glutaminsäure nebst deren Amidin, dazu α -Alanin und Valin, nicht aber andere freie Aminosäuren nachgewiesen. Ammoniak ist in der Lösung stets zugegen. Der in Lösung gegangene Stickstoff ist, in Prozenten vom gebundenen Totalstickstoff berechnet, während der ganzen Dauer des Versuches von gleicher Größenordnung. Demnach handelt es sich also um eine Art von Sekretion und nicht etwa um eine Autolyse der Zellen. *Wilson*, *Burris* und Mitarbeiter^{33,35)} haben den hohen Sekretionsbetrag bestätigt. Bei Verwendung von ^{15}N als Indikator machten sie die wichtige Beobachtung, daß ^{15}N in erster Linie in dem ausgeschiedenen Ammoniak angereichert wird, welches dadurch ein Produkt der Stickstoff-Bindung darstellt und nicht durch Desaminierung der Aminosäuren gebildet ist.

In diesem Zusammenhang darf erwähnt werden, daß eine kräftige Sekretion von Stickstoff-Verbindungen aus den Wurzelknöllchen der Leguminosen von uns schon in den 1920er Jahren gefunden wurde^{36,37)}. Wir stellten fest,

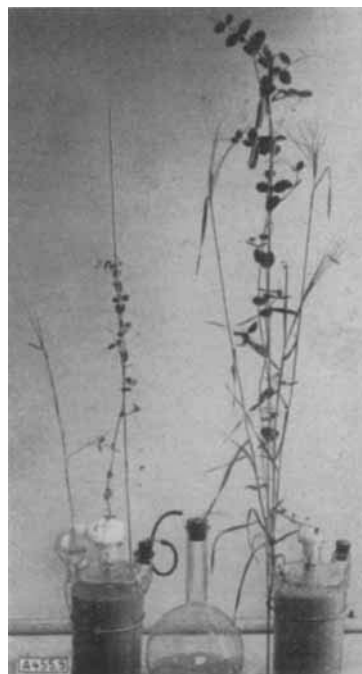


Bild 5

Mischkultur von Erbse und Gerste im Quarzsand ohne zugesetzte N-Nahrung unter sterilen Bedingungen. Links: ungeimpfte Erbse, rechts: mit effektivem *Rhizobium*-Stamm geimpfte Erbse

³⁰⁾ K. Yamafuji, T. Kawakami u. K. Shinohara, *Enzymologia* 15, 199 [1952].

^{30a)} Diese Auffassung wurde von *Virtanen* zum ersten Mal im Vortrag am 2. Nov. 1940 in der Versammlung der Soc. pro Fauna et Flora Fennica, Helsinki, vorgelegt (vgl. *Laine*, T. u. *Virtanen* A. J.: „Die Stickstoff-Assimilation“, in *Bamann-Myrbäck*: Die Methoden der Fermentforschung; Leipzig 1941, S. 2719; *Virtanen* A. J., *Arhimo*, A. A., *Sundmann*, J. u. *Jönner*, L., J. prakt. Chem. 162, 71 [1943].

³¹⁾ A. I. *Virtanen* u. M. *Hakala*, *Acta Chem. Scand.* 3, 1044 [1949].

³²⁾ P. W. *Wilson*: *Biochemistry of Symbiotic Nitrogen Fixation*, University Wisconsin Press, Madison [1940].

³³⁾ E. D. *Rosenblum* u. P. W. *Wilson*, *J. Bacteriol.* 59, 83 [1950].

³⁴⁾ A. I. *Virtanen* u. N. *Ellfolk*, *Acta Chem. Scand.* 3, 93 [1950].

³⁵⁾ I. *Zelitch*, E. D. *Rosenblum*, R. H. *Burris* u. P. W. *Wilson*, *J. biol. Chemistry* 191, 295 [1951].

³⁶⁾ A. I. *Virtanen* u. S. v. *Hausen*, *Biochem. Z.* 232, 1 [1931].

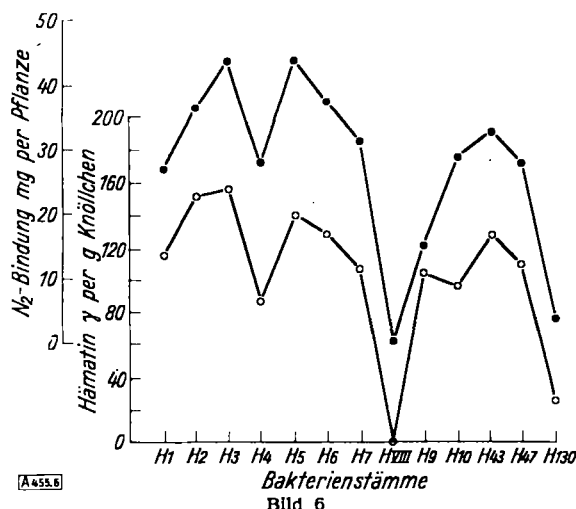
³⁷⁾ A. I. *Virtanen*, S. v. *Hausen* u. H. *Karström*, *Biochem. Z.* 258, 106 [1933].

daß der ausgeschiedene Stickstoff fast durchgehend Amino-Stickstoff war und in erster Linie der Asparaginsäure zugehörte. Man hat es hier offenbar mit Aminosäuren zu tun, die die Wirtspflanze normal als das Produkt der Stickstoff-Bindung aus den Wurzelknöllchen erhält. Ist die Wirtspflanze u. U. nicht imstande, diese Aminosäuren in hinreichender Menge zu verwerten, so werden sie in das feste Substrat ausgeschieden. Diesem Phänomen kommt naturgemäß eine große praktische Bedeutung zu, weil durch sie auch Nicht-Leguminosen Zugang zum atmosphärischen Stickstoff als Stickstoff-Nahrung erhalten können (Bild 5). Leider kennt man die Faktoren, von denen die Sekretion abhängig ist, vorläufig noch nicht näher.

Enzyme der Stickstoff-Bindung. Leghämoglobin

Das bei der Stickstoff-Bindung wirkende Enzymsystem ist noch unbekannt. Weil Kohlenmonoxyd die Stickstoff-Bindung hemmt, hat man vermutet, daß Häm-Eisen dem Enzymsystem zugehört. Molybdän ist nach *Bortels*³⁸⁾, *Jensen*³⁹⁾, *Anderson*⁴⁰⁾ und *Mulder*⁴¹⁾ unerlässlich bei der Stickstoff-Bindung, wie auch bei der Nitrat-Reduktion, und zwar bei jener in größeren Mengen als bei dieser. Seine Funktion ist aber nicht näher bekannt. Die Stickstoff-Bindung und Atmung der aeroben Mikroorganismen gehen parallel, was danach angetan ist, die Klärung des bei der Stickstoff-Bindung tätigen Enzymsystems zu erschweren. *Wilson*⁴²⁾ macht besonders auf das Vorkommen von Hydrogenase ($H_2 \rightleftharpoons 2H^+ + 2e$) in den Stickstoff-bindenden Mikroorganismen aufmerksam und hält es für wahrscheinlich, daß zwischen der hypothetischen Nitrogenase und der Hydrogenase eine Parallelität besteht. Andererseits ist in den Wurzelknöllchen keine Hydrogenase gefunden worden; auch sind lange nicht alle Mikroorganismen die Hydrogenase enthalten, zur Stickstoff-Bindung fähig. Die Rolle der Hydrogenase bei der Stickstoff-Bindung ist demnach noch unklar.

Während der letzten zwölf Jahre sind jedoch Beobachtungen über den in den Wurzelknöllchen der Leguminosen vorkommenden Farbstoff und dessen Beziehung zur



N₂-Bindung in Erbsenknöllchen und deren Hämatin-Gehalt. Topfkulturen mit Quarzsand ohne zugesetzte N-Nahrung. 13 Parallelkulturen (je mit drei Töpfen = 9 Pflanzen) mit verschiedenen *Rhizobium*-Stämmen geimpft. *Rhizobium*-Stamm H VIII ist völlig ineffektiv

³⁸⁾ H. Bortels, Arch. Mikrobiol. 1, 333 [1930].

³⁹⁾ H. L. Jensen, Proc. Linn. Soc. N. S. W. 68, 1 [1943]; 70, 203 [1946].

⁴⁰⁾ H. J. Anderson, J. Council Sci. Ind. Research 19, 1 [1946].

⁴¹⁾ E. G. Mulder, Planta Soil 1, 94 [1948].

⁴²⁾ A. S. Phelps u. P. W. Wilson, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 47, 473 [1941].

Stickstoff-Bindung gemacht worden. Diese Beobachtungen werfen ein Licht auf den bei der symbiotischen Stickstoff-Bindung wirkenden Mechanismus. Das in den Wurzelknöllchen der Leguminosen enthaltene rote Pigment wurde 1939 von *Kubo*⁴³⁾ als Hämoglobin erkannt. Die Hämoglobin-Natur des Pigments wurde in unserem Laboratorium bestätigt und die Unerlässlichkeit desselben für die Stickstoff-Bindung erwiesen⁴⁴⁾. Es zeigte sich nämlich, daß ineffektive Wurzelknöllchen, die keine Stickstoff-Bindung zeigen, auch kein Hämoglobin enthalten. Dagegen ist es in effektiven Bakterienknöllchen stets vorhanden. Das Stickstoff-Bindungsvermögen der effektiven Knöllchen scheint in bemerkenswertem Maße von ihrem Hämoglobin-Gehalt abhängig zu sein, wie es die in Bild 6 dargestellten, zusammen mit Dr. *Erkama* und Frau *Linkola*⁴⁵⁾ ausgeführten Versuche zeigen.

Somit war zum erstenmal ein deutlicher chemischer Unterschied zwischen effektiven und ineffektiven Wurzelknöllchen gefunden worden. Das Hämoglobin der Leguminosenknöllchen, dem ich der Kürze halber den Namen Leghämoglobin gab, wurde nun zum Gegenstand eines besonderen Interesses. Das Pigment ist nach verschiedenen Richtungen hin untersucht worden, und wir wissen jetzt darüber folgendes: Das Pigment geht leicht aus losgelösten Wurzelknöllchen in Wasser über. Mit Ammoniumsulfat gefällt, erhält man zwischen 65–75% Sättigungsgrad ein Präparat, dessen Eisengehalt etwa 0,27% beträgt⁴⁶⁾. Bei der Elektrophorese zerfällt es nach *Ellfolk* und *mir*⁴⁷⁾ in zwei Komponenten, wobei die raschere den isoelektrischen Punkt von 4,4, die trägere denjenigen von 4,7 hat⁴⁷⁾. Die erstere ist nach unserer Auffassung das reine Leghämoglobin, mit demselben Eisengehalt wie das Bluthämoglobin, oder etwa 0,34%, aber einem Molekulargewicht von etwa 17000⁴⁸⁾, also dem gleichen wie das Myoglobin. Die Häm-Gruppe ist identisch mit der entsprechenden Gruppe im Bluthämoglobin. Dagegen weicht die Aminosäuren-Zusammensetzung des Leghämoglobins ganz wesentlich von derjenigen sowohl des Bluthämoglobins als auch des Myoglobins ab. Der Histidin-Gehalt des Leghämoglobins beträgt knappe 3% (bestimmt in einem Präparat mit 0,27% Fe), während das Bluthämoglobin und das Myoglobin über 12% Histidin enthalten. IP des Leghämoglobins, 4,4, ist niedriger als bei jedem anderen Pigment aus der Gruppe der Hämoglobine. Beim Bluthämoglobin sowie beim Myoglobin liegt dieser Wert bekanntlich ungefähr bei 7. Der pk-Wert des Eisen(III)-leghämoglobins weicht vom entsprechenden Wert des Eisen(III)-myoglobins mehr als von dem des Eisen(III)-hämoglobins des Blutes ab. Zweiwertiges Eisen wird im Leghämoglobin leichter als im Hämoglobin des Blutes autoxydiert. Die relative Affinität des Leghämoglobins zu Sauerstoff und Kohlenmonoxyd ist von gleicher Größenordnung wie die des Myoglobins, aber eine wesentlich andere als des Bluthämoglobins. Der Verteilungskoeffizient $k \frac{[HbCO]pO_2}{[HbO_2]pCO}$ beträgt nach *Keilin* und *Wang*⁴⁹⁾ beim Leghämoglobin und Myoglobin etwa 30, beim Bluthämoglobin der Vertebraten 125–550.

Das Leghämoglobin wird nicht in den Leguminosebakterien und auch nicht in den Wirtspflanzen selbst, sondern

⁴³⁾ H. Kubo, Acta Phytochim. 11, 195 [1939].

⁴⁴⁾ A. I. Virtanen, Sitz.-Ber. Finn. Akad. Wiss. Vorgelegt 12. I. 1945; Nature [London] 155, 747 [1945].

⁴⁵⁾ A. I. Virtanen, J. Erkama u. H. Linkola, Acta Chem. Scand. 1, 861 [1947].

⁴⁶⁾ A. I. Virtanen, J. Jorma u. T. Laine, Suomen Kemistilehti B. 18, 49 [1945].

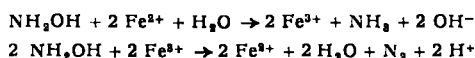
⁴⁷⁾ N. Ellfolk u. A. I. Virtanen, Acta Chem. Scand. 4, 1014 [1950].

⁴⁸⁾ N. Ellfolk u. A. I. Virtanen, ebenda 6, 411 [1952].

⁴⁹⁾ D. Keilin u. Y. L. Wang, Nature [London] 155, 227 [1945]; Biochemic. J. 40, 855 [1946].

ausschließlich in den Wurzelknöllchen als das Resultat der Symbiose zwischen Bakterie und Pflanze gebildet. Weil den Pflanzen ein hervorragendes Vermögen zur Bildung des Porphyrin-Ringes zukommt, kann angenommen werden, daß die Wirtspflanze die Häm-Gruppe bildet, während sich die Bakterien irgendwie an der Bildung des spezifischen Proteins beteiligen. Doch ist der Anteil beider Partner bei dieser merkwürdigen Synthese — ist doch Hämoglobin im ganzen Pflanzenreich nur in den Wurzelknöllchen der Leguminosen gefunden worden — vorläufig noch völlig unklar. Daß sowohl Wirtspflanze als auch Bakterienstamm für die Entstehung des Leghämoglobins und zugleich auch für die Bildung effektiver Wurzelknöllchen von größter Bedeutung sind, zeigen die Beobachtungen über die Spezifität der Leguminosenbakterien (s. u.).

Über die Aufgabe des Leghämoglobins in den Wurzelknöllchen sind wir noch unvollständig unterrichtet. Als Aufnehmer und Überträger von Sauerstoff mag es für die Sauerstoff-Versorgung der Bakterien in den Knöllchen sowie für die Aufrechterhaltung der oxydativen Prozesse sorgen. Das Fehlen von Leghämoglobin in den freilebenden Stickstoff-bindenden Azotobakterien wäre dadurch verständlich, gestalten sich doch die Möglichkeiten des Sauerstoff-Bezugs bei diesen Bakterien ganz anders als bei den in Wurzelknöllchen eingeschlossenen Leguminosenbakterien. Gemäß den Versuchen von *Smith*⁵⁰⁾ käme indessen dem Leghämoglobin praktisch keine Bedeutung als Sauerstoff-Überträger in den Wurzelknöllchen zu. Ich habe schon früh auf die Möglichkeit hingewiesen, daß das Leghämoglobin unmittelbar an der Stickstoff-Bindung beteiligt sein könnte. Z. B. könnte das Leghämoglobin-Eisen sich mit Stickstoff vereinigen ($\text{LHb}-\text{Fe}-\text{N}_2$), wodurch die Bindung zwischen beiden Stickstoff-Atomen lockerer wird und die Stickstoff-Molekel aktiviert wird, oder so, daß es durch Valenzänderung die Reduktion des Hydroxylamins bewirkt. *Colter* und *Quastel*⁵¹⁾ haben nun vor einigen Jahren die Enzymwirkung des Hämoglobins bei der Dismutation von Hydroxylamin zu Ammoniak und N_2 gefunden. In Gegenwart von Ascorbinsäure oder Cystein wird praktisch nur Ammoniak gebildet, weil sowohl Ascorbinsäure als Cystein Eisen(III)-hämoglobin kräftiger zu Eisen(II)-hämoglobin reduziert als Hydroxylamin.



Das Leghämoglobin ist aber kein universeller Faktor bei der symbiotischen Stickstoff-Bindung, denn es fehlt z. B. in den stark Stickstoff-bindenden, durch eigenartige Mikroorganismen hervorgerufenen Wurzelknöllchen der Erle. Das Auftreten des Hämoglobins ist somit lediglich auf die Wurzelknöllchen der Leguminosen beschränkt. Nichtsdestoweniger ist der Hämin-Gehalt in den Wurzelknöllchen der Erle sowie gewisser anderer Nicht-Leguminosen nach *Egle* und *Munding*⁵²⁾ ausnahmsweise hoch, etwa 5–20mal höher als in den Wurzeln der betreffenden Pflanzen selbst. Auch in diesen Wurzelknöllchen kann somit den Hämin-Verbindungen eine Funktion auferlegt sein, die sich wenigstens teilweise mit den Aufgaben deckt, die das Leghämoglobin in den Wurzelknöllchen der Leguminosen hat. Nach *Colter* und *Quastel* reduziert auch Hämin, das nicht mit Eiweiß gebunden ist, kräftig Hydroxylamin in Gegenwart von Ascorbinsäure oder Cystein. In welcher Form das Hämin in jenen Knöllchen auftritt, ist unbekannt.

Unsere neuesten Untersuchungen haben gezeigt, wie verschieden der N-Stoffwechsel in den Wurzelknöllchen der Leguminosen und der Erle ist, obgleich die Stickstoff-Bindung selbst bei beiden wahrscheinlich übereinstimmend verlaufen dürfte. Die Wurzelknöllchen der Leguminosen enthalten reichlich Asparagin und Glutamin, die der Erle dagegen überhaupt nicht. Statt dessen hat *Miettinen* mit mir⁵³⁾ in den Wurzelknöllchen der Erle außerordentlich reichlich L-Citrullin gefunden, welches in den Wurzelknöllchen der Leguminosen nie nachgewiesen wurde. Im Spätherbst kann der Citrullin-Gehalt der Erleknöllchen auf nicht weniger als zwei Prozente vom Trockengewicht der Knöllchen ansteigen. Der Grund zur Anreicherung des Citrullins in den Wurzelknöllchen der Erle liegt wahrscheinlich in der Hemmung der Arginin-Synthese. Das Citrullin bei der Erle und die Amide der Amino-carbonsäuren in den Wurzelknöllchen der Leguminosen spielen in erster Linie wohl die Rolle von leicht verwertbaren Stickstoff-Vorräten bei diesen Pflanzen.

Eigenartig und dem Studium schwierig zugänglich ist die Frage nach der Spezifität der Leguminosenbakterien. Weiter aufgefaßt, beschränkt sich diese Spezifität

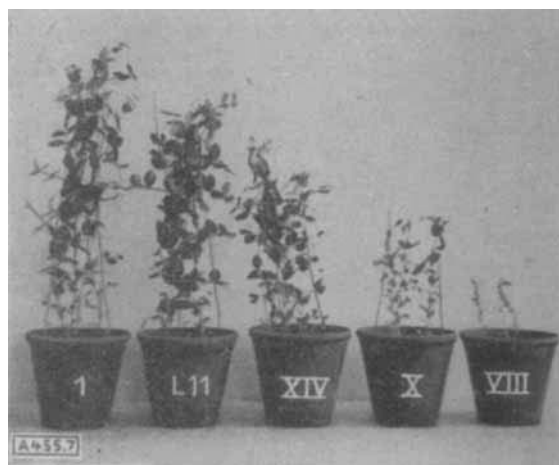


Bild 7
Topfkulturen von Erbsen in Quarzsand ohne zugesetzte N-Nahrung. In verschiedenen Töpfen die Erbsensamen geimpft mit verschiedenen *Rhizobium*-Stämmen. Stamm VIII vollständig ineffektiv, und das Wachstum der Erbse entspricht demselben der ungeimpften Kontrollpflanzen



Bild 8
Topfkulturen von Rotklee in Quarzsand ohne zugesetzte N-Nahrung. VI, XXIX, XXVIII, XXIII geimpft mit entsprechenden *Rhizobium*-Stämmen

⁵⁰⁾ J. D. Smith, Biochemic. J. 44, 591 [1949].

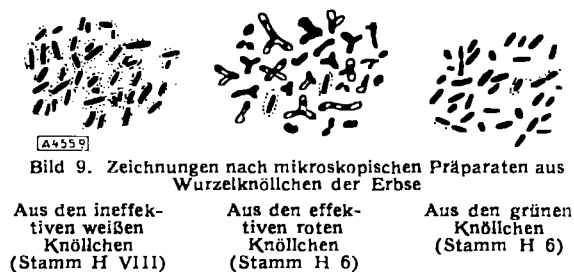
⁵¹⁾ I. S. Colter u. J. H. Quastel, Arch. Biochem. 27, 368 [1950].

⁵²⁾ K. Egle u. H. Munding, Naturwiss. 38, 548 [1951].

⁵³⁾ A. I. Virtanen u. J. K. Miettinen, Nature [London] 170, 283 [1952].

bekanntlich auf größere oder kleinere Gruppen innerhalb der Leguminosen. So verursachen z. B. Klee Bakterien keine Knöllchenbildung bei anderen Leguminosen, die Wurzelbakterien der Gattungen *Pisum* und *Vicia* nicht bei anderen Gattungen, usw. Man kennt heute schon mehr als 20 Großgruppen der Leguminosenbakterien, deren jede nur an ganz bestimmten Leguminosen-Gattungen zur Knöllchenbildung fähig ist. Innerhalb derselben Großgruppe ist jedoch die Wirksamkeit verschiedener Bakterienstämme sehr verschieden. Einige bilden höchst wirkungsvolle Wurzelknöllchen, andere im extremen Falle völlig wirkungslose (Bild 7 u. 8).

Die Spezifität ist nicht beschränkt auf die Großgruppen. Aus wirksamen Wurzelknöllchen von *Trifolium pratense* isolierte Bakterien riefen in unseren Versuchen zwar auch bei *Trif. alexandrinum* Knöllchen hervor, diese sind aber unwirksam, und es bildet sich in ihnen kein Hämoglobin. Ebenso sind die durch wirkungskräftige Erbsenbakterien an *Vicia faba* hervorgerufenen Wurzelknöllchen oft farblos und völlig ohne Wirkung. Es gibt auch Bakterienstämme, die, soviel man weiß, bei keiner Wirtspflanze wirksame Knöllchen bilden. Ein solcher ist z. B. der Stamm H VIII des Erbsenbakteriums in unserem Laboratorium. Die Spezifität ist also äußerst kompliziert. Die Leguminosenbakterien sind bei Freikultur und in unwirksamen Wurzelknöllchen von einer Schleimschicht umgeben. Sie verlieren sie aber in effektiven Knöllchen und verwandeln sich in Bakterioide (Bild 9). Dies hat mich auf den Gedanken gebracht, daß vielleicht die Wirtspflanze mittels irgendeines



Enzyms diese Schleimschicht angreift, wonach es erst zur wirklichen Symbiose zwischen Bakterium und Wirtspflanze kommen kann. Der Schleim ist nach Hopkins und Mitarbeiter⁵⁴⁾ ein Komplex von Glucose und Glucuronsäure. Fehlt das Enzym, so bleibt das Bakterium isoliert in den Knöllchen. Die experimentelle Prüfung dieser Hypothese ist schwierig.

Interessant und vom praktischen Standpunkt aus überaus wichtig ist der Umstand, daß der ineffektive Stamm durch die Bildung der ersten Wurzelknöllchen an der Wirtspflanze die spätere Ansteckung durch den effektiven Stamm verhindern kann. Impfen wir Erbsen mit unserem ineffektiven Erbsenbakterium H VIII, so wachsen die Erbsen mit molekularem Stickstoff auch dann nicht, wenn man die Pflanzen nach dem Erscheinen der ersten unwirksamen Knöllchen mit effektiven Bakterienstämmen wieder impft⁵⁵⁾. Diese Immunität wurde in unserem Laboratorium ausgenutzt bei der Ausarbeitung des oben erwähnten Verfahrens, nach welchem es möglich ist zu bestimmen, wieviel Stickstoff eine mit effektiven Knöllchen ausgerüstete Erbsenpflanze einerseits der Luft, andererseits dem Boden entnimmt²¹⁾.

Das Rote der effektiven Wurzelknöllchen verwandelt sich nach unseren Beobachtungen in Grün^{44, 45, 46)}, wenn eine im vollen Wachstum befindliche Erbsenpflanze wäh-

⁵⁴⁾ E. W. Hopkins, W. H. Peterson u. E. B. Fred, J. Amer. Chem. Soc. 52, 3659 [1930].

⁵⁵⁾ A. I. Virtanen u. H. Linkola, Antonie van Leeuwenhoek 12, 65 [1947].

⁵⁶⁾ A. I. Virtanen u. T. Laine, Nature [London] 155, 747 [1945].

rend 2–3 Tagen dem Licht entzogen wird. Eine ähnliche Farbänderung vollzieht sich auch bei Licht nach abgeschlossenem Blühen und beim Aufhören der Stickstoff-Bindung. Bei einjährigen Pflanzen, wie bei Sojabohne und Erbse, sind die ganzen Wurzelknöllchen dabei grün, bei den mehrjährigen Leguminosen, wie z. B. beim Großen Erbsenstrauch (*Caragana arborescens*), wächst jährlich die Spitze des Knöllchens zu einem neuen effektiven Teil aus, der Hämoglobin enthält. Der frühere wirksame Teil wird dagegen grün, und so sind alte Knöllchen schließlich perl-schnurartig aus aufeinanderfolgenden runden Kügelchen aufgebaut, die mit Ausnahme des zuletzt gebildeten grün sind.

Wir haben insbesondere bei der Erbse, bei welcher das rote Pigment im Dunkel relativ schnell ins Grüne übergeht ohne Denaturierung, die Natur des grünen Farbstoffs untersucht. Spektroskopisch ist zu finden, daß beim Farbumschlag in grün die für das Hämoglobin typischen Maxima zwischen 500 und 650 m μ verschwinden (Bild 10),

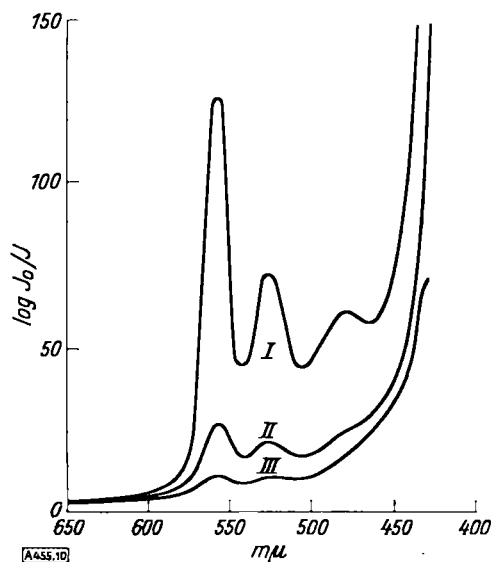
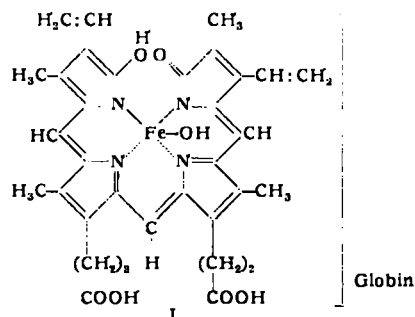


Bild 10
Absorptionsspektrum des Pyridin-Extrakts von Erbsenknöllchen.
I Rote Knöllchen gebildet durch *Rhizobium*-Stamm H 7 (Exp. 28. 6.–6. 8. 1947).
II Durch Stamm H 7 gebildete Knöllchen, teilweise schon grün verwandelt (Exp. 29. 8.–17. 10. 1947).
III Durch Stamm 5 gebildete Knöllchen, deren rote Farbe zu grün verwandelt war nach Stehen im Dunkel 66 St. (Exp. 29. 8. bis 17. 10. 1947).
Das gereinigte grüne Pigment hat keine Maxima zwischen 450 und 600 m μ .

woraus schon geschlossen werden kann, daß der Porphin-Ring hierbei gesprengt wird. Das durch Fällung mit Ammoniumsulfat gereinigte grüne Pigment enthält noch das Eisen und das Protein, die durch Einwirkung von Essigsäure leicht abgespalten werden, wobei Biliverdin entsteht^{56, 57)}. Die Struktur des grünen Pigments kann somit durch Formel I dargestellt werden, wonach das grüne



⁵⁷⁾ A. I. Virtanen u. J. K. Miettinen, Acta Chem. Scand. 3, 17 [1949].

Pigment nach der neuen Nomenklatur von Lemberg und Mitarbeiter⁵⁸⁾ ein Verdoglobin ist.

Es ist interessant festzustellen, daß das Leghämoglobin in den Wurzelknöllchen prinzipiell ähnlich dem Hämoglobin im Tierorganismus abgebaut wird und das Zwischenprodukt dieser zu den Gallenfarbstoffen führenden Reaktion in bedeutender Konzentration und praktisch frei von Hämoglobin in den grünen Wurzelknöllchen zu finden ist. Es muß in diesem Zusammenhang erwähnt werden, daß gemäß Versuchen von Erkama und mir die Bildung von Leghämoglobin beim Fehlen von Kupfer in der Nährlösung unterbleibt; es ist also dieses Schwermetall neben dem Eisen unerlässlich sowohl für die Hämoglobin-Bildung im Tierorganismus als auch für die Entstehung von Leghämoglobin in den Wurzelknöllchen. Wir haben es also bei den Wurzelknöllchen bildlich gesagt mit höchst „animalischen“ Gebilden zu tun, ein Umstand, der insofern auch die Leguminosen selbst betrifft, als diese ihre Stickstoff-Nahrung meiner Auffassung nach aus den Wurzelknöllchen in Form von Aminosäuren erhalten.

Symbiose Wirtspflanze — Stickstoffbakterie

Bei der symbiotischen Stickstoff-Bindung hat uns auch die Frage interessiert, wie der in den Wurzelknöllchen gebundene Stickstoff der Wirtspflanze zugute kommt. Die von uns beobachtete Sekretion von Aminosäuren aus den Wurzelknöllchen in das Nährsubstrat brachte mich schon

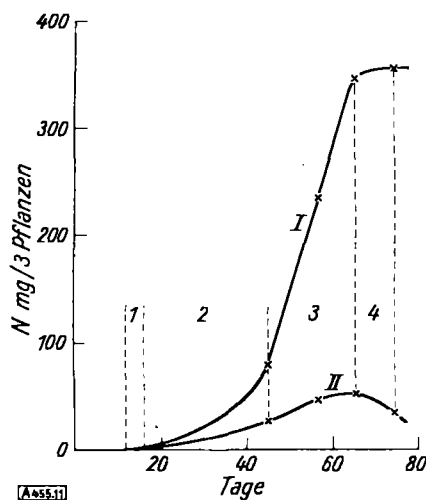


Bild 11

N₂-Bindung in Wurzelknöllchen der Erbse und der Übertritt des gebundenen Stickstoffs in die Wirtspflanze

Kurve I: N in Pflanzen
Kurve II: N in Wurzelknöllchen

früh auf den Gedanken, daß die als Produkte der Stickstoff-Bindung entstandenen Aminosäuren von den Bakteroiden in das Cytoplasma der Wurzelzellen ausgeschieden werden. Es ist denkbar, daß sich die Stickstoff-Bindung an den Oberflächen der Bakterioide abspielt, die etwa als eine Art ruhende Zellen (*resting cells*) aufzufassen wären. Bond⁵⁹⁾ wies denn auch bei Sojapflanzen nach, daß vom gebundenen Stickstoff regelmäßig 80–90%, wahrscheinlich durch Sekretion, in die Wirtspflanze gelangen. Bild 11 zeigt die Resultate eines in unserem Laboratorium mit geimpften Erbsenpflanzen ausgeführten Versuches, bei welchem die Bindung und der Übertritt des Stickstoffs in die Wirtspflanze während der ganzen Dauer des Wachs-

tums verfolgt wurde. Nach ihrer Bildung sind die Wurzelknöllchen anfangs ein paar Tage weiß und erhalten ihre Stickstoff-Nahrung von der Wirtspflanze (Phase 1). Während dieser Zeit vermehren sich die Bakterien stark. Sie beginnen sich allmählich in Bakterioide zu verwandeln, wobei auch das Leghämoglobin in den Wurzelknöllchen erscheint. Die Stickstoff-Bindung setzt jetzt ein (Phase 2). Im Verlauf dieser Phase werden reichlich neue Knöllchen gebildet, und vom gesamten gebundenen Stickstoff bleibt ein bedeutender Teil — im Anfang der Phase mindestens die Hälfte, am Ende derselben reichlich 20% — größtenteils als Bakterienprotein in den Knöllchen zurück. Während der dritten Phase, die die Periode des kräftigsten vegetativen Wachstums und die gesamte Blüteperiode bis zum Aufhören des Längenwachstums umfaßt und in deren Verlauf der Hauptteil des Stickstoffs gebunden wird, ist die Neubildung von Wurzelknöllchen gering, und es werden nur etwa 10% des gebundenen Stickstoffs in den Knöllchen zurückgehalten, während gleichmäßig etwa 90% vom Stickstoff der Wirtspflanze zugeführt werden. Während dieser Phase beginnt das rote Pigment zuerst im Wurzelende der Knöllchen grün zu werden, und schließlich, am Ende der Phase, sind schon fast alle Knöllchen total grün. Die Stickstoff-Bindung hört jetzt auf, und es vollziehen sich in den Bakterienknöllchen rasch Zersetzungsprozesse, die Bakterioide werden zerstört, und es erscheinen in den Knöllchen wieder die stäbchenförmigen Bakterien (vgl. Bild 9). Nach dem Abbau des Proteins sinkt der Stickstoff-Gehalt der Knöllchen rasch, indem die bei dem Abbau entstandenen Stickstoff-Verbindungen wahrscheinlich teilweise von der Wirtspflanze aufgebraucht werden.

Dieses Bild vom Weg des in den Wurzelknöllchen gebundenen Stickstoffs in die Wirtspflanze findet m. E. keine Erklärung durch die ältere Auffassung, daß die Stickstoff-Bindung zur Protein-Synthese in den Bakterienzellen führt, und erst die Abbauprodukte der Proteine, wahrscheinlich Ammoniak, der Wirtspflanze zugute kommen. Vergewärtigt man sich, daß die Wirtspflanze während der ersten Hälfte der Phase 3, wenn die Wurzelknöllchen noch sowohl makroskopisch als mikroskopisch durchaus gesund erscheinen und keinerlei Anzeichen von Zersetzung wahrzunehmen sind, fortdauernd etwa 90% von der Gesamtmenge des gebundenen Stickstoffs erhält, so kann der Übertritt des Stickstoffs in die Wirtspflanze schwerlich ohne Sekretion erklärt werden.

Bild 12 zeigt die Stickstoff-Bindung und den Hämin-Gehalt der Wurzelknöllchen in den verschiedenen Wachstumsphasen von Sojapflanzen, die mit Knöllchenbakterien eines effektiven Stamms geimpft waren.

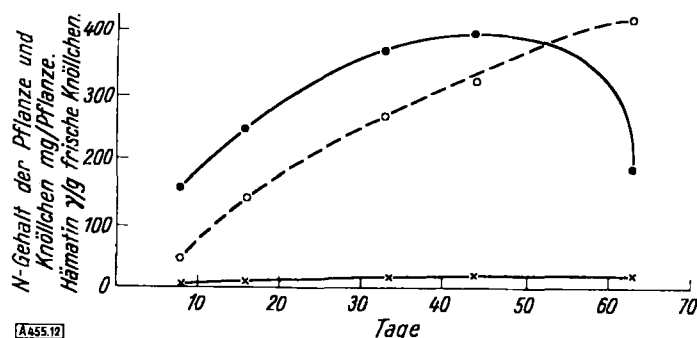


Bild 12

N-Gehalt der Pflanzen und Hämatin-Gehalt der Wurzelknöllchen während des Wachstums von Soja

o — N mg/Pflanze (Wurzelknöllchen separiert)
x — N in Wurzelknöllchen mg/Pflanze
• — Hämatin γ/g frische Knöllchen

⁵⁸⁾ E. C. Foulkes, R. Lemberg u. P. Purdom, Proc. Roy. Soc. 138, 386 [1951].

⁵⁹⁾ G. Bond, Ann. Bot. 50, 559 [1936]; Zbl. Bakteriol. 11, 96, 32 [1938].

Landwirtschaftliche Bedeutung

Wenigstens schon die Griechen und Römer bauten Leguminosen und kannten erfahrungsmäßig die bodenverbessernde Wirkung dieser Pflanzen. Unsere heutige Kenntnis gibt uns indessen ganz andere Möglichkeiten in die Hand, mit Hilfe der Leguminosen die Protein-Produktion und den gesamten Stickstoff-Haushalt im Rahmen der modernen intensiven Landwirtschaft zu organisieren. Das Erscheinen der Stickstoff-Düngemittel auf dem Weltmarkt und insbesondere die den Untersuchungen von *Haber* entsprungene, heute schon in gewaltigem technischem Maßstab ausgeführte Ammoniak-Synthese sowie die darauf gestützte technische Produktion von verschiedenen Stickstoff-Düngemitteln haben es zwar bewirkt, daß die landwirtschaftliche Versuchs- und Forschungstätigkeit in diesem Jahrhundert zur Hauptsache auf das Getreide, die Hackfrüchte sowie andere Nicht-Leguminosen gerichtet gewesen ist. Die Erträge dieser Pflanzen lassen sich ja – wenn der Fruchtfolge genügend Leguminosen nicht einverleibt sind – mit Hilfe von Stickstoff-Düngemitteln in der Tat ganz ungemein steigern, und dem Pflanzenzüchter bietet sich eine dankbare Aufgabe beim Hervorbringen von Sorten, die mehr als bisher imstande sind, die ihnen dargebotene Stickstoff-Nahrung zu verwerten. Die Erzeugung solcher Mengen von Stickstoff-Düngemitteln, daß die landwirtschaftliche Produktion der Welt auf sie gebaut werden könnte, ist indessen eine praktische Unmöglichkeit. Wie ich eingangs bereits erwähnte, sind nur ein paar Prozente von dem in der jährlichen Welternte enthaltenen Stickstoff synthetischen Ursprungs oder stammen aus anderen Stickstoff-Düngemitteln der Industrie. Mindestens die Hälfte der gesamten Menschheit ist gegenwärtig unterernährt, und ganz besonders groß ist der verhängnisvolle Mangel an Proteinen. Die Leguminosen, deren Protein-Gehalt denjenigen der meisten Nicht-Leguminosen weit übertrifft, rücken dadurch notgedrungen immer mehr in den Mittelpunkt der Weltlandwirtschaft. Dazu ist um so mehr Anlaß vorhanden, als die Intensivierung des Anbaus der Leguminosen, besonders der mehrjährigen, das mächtigste Mittel gegen die Raubkultur ist, welche noch heute in großen Teilen der Erde herrscht und Böden unaufhaltsam verarmt. In ganz besonderem Grade betrifft dies den Humusgehalt und die Stickstoff-Reserven des Bodens.

Bild 13 gibt eine von dem bekannten Agrikulturwissenschaftlern *Lipman* mit *Conybeare*³²⁾ 1936 zusammengestellte

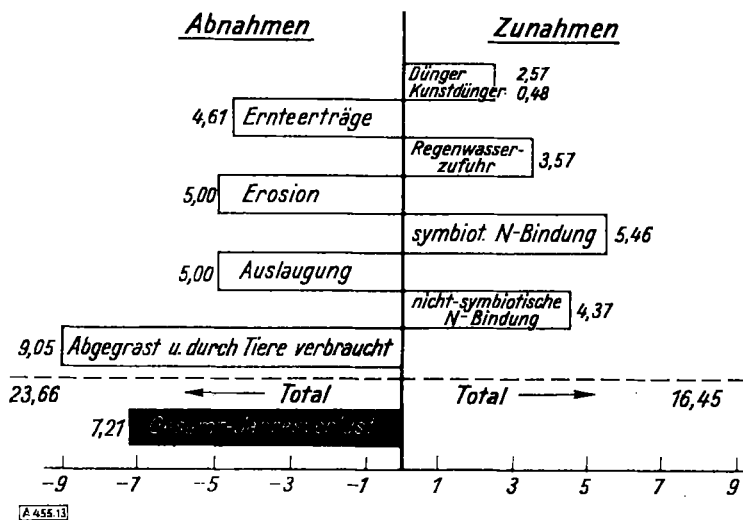


Bild 13. Stickstoff-Bilanz für das bewirtschaftete Gebiet von den USA. Nach *Lipman* u. *Conybeare* (1936). Alle Zahlen bedeuten Millionen Tonnen

Übersichtsberechnung der Stickstoff-Bilanz im landwirtschaftlich ausgenutzten Gebiet der Vereinigten Staaten Nordamerikas wieder. Danach belief sich das jährliche Stickstoff-Defizit allein in den Vereinigten Staaten auf mehr als 7 Millionen Tonnen Stickstoff – während gleichzeitig die Jahresproduktion von Stickstoff-Düngemitteln in der ganzen Welt nur etwa 2,5 Millionen t Stickstoff entsprach. Von dieser Menge verbrauchte die Landwirtschaft der Vereinigten Staaten nicht ganz eine halbe Million, dagegen belief sich die Menge des symbiotisch gebundenen Stickstoffs dort im genannten Jahr auf 5,5 Millionen t, also auf mehr als die doppelte Produktion der gesamten Stickstoff-Industrie der Welt! Und doch war die Anbaufläche der Leguminosen und die Intensität des Anbaus verhältnismäßig bescheiden.

Die erwähnten Forscher schätzen die jährliche Stickstoff-Bindung durch die freilebenden Stickstoff-bindenden Bodenbakterien auf 4,4 Millionen Tonnen. Die durch die biologische Stickstoff-Bindung dem bebauten Gebiet der USA zugeführte Stickstoff-Menge hätte sich demnach auf nahezu 10 Millionen t im Jahre oder auf 60% von allem zugeführten Stickstoff belaufen, während auf den Stickstoff der industriellen Düngemittel nicht volle 3% entfallen wären. Auch wenn derartige Berechnungen stets mit gewissem Vorbehalt zu nehmen sind, können sie doch immerhin richtunggebend sein.

Die Intensität der landwirtschaftlichen Produktion in den Vereinigten Staaten ist jedoch, und war besonders zur Zeit von *Lipmans* Berechnungen, viel niedriger als in den effektiv bewirtschafteten Ländern Europas. Ganz allgemein verbreitet ist denn auch die Ansicht, daß erst eine reichliche Verwendung von Stickstoff-Düngemitteln eine intensive landwirtschaftliche Produktion ermöglicht. Dies stimmt auch ganz gewiß in Gebieten des ziemlich einseitigen Getreideanbaus. In einer Landwirtschaft, in welcher Viehzucht und Milchproduktion neben dem Getreideanbau eine wichtige Stellung einnehmen, sind indessen die Voraussetzungen zur Verwertung der biologischen Stickstoff-Bindung ganz anders.

Um zu ermitteln, zu einer wie intensiven Produktion man es ausschließlich mit wirtschaftseigenem Stickstoff bringen kann, kaufte ich mir vor 20 Jahren ein Landgut, auf welchem seitdem käuflicher Stickstoff in keiner Form, also weder Stickstoff-Düngemittel noch proteinreiches Kraftfutter, verwendet worden ist. In der Fruchtfolge bilden die kleereichen Felder den Kern. Eine eingehendere Erörterung meiner Landwirtschaftsführung ist in diesem Zusammenhang nicht möglich. Ich gebe hier nur als Beispiel von der Größe der Stickstoff-Bindung die Stickstoff-Bilanz eines Jahres auf meinem Gut wieder (Tabelle 1).

Die Stickstoff-Bindung auf dem Gut hätte sich demnach auf mehr als 2000 kg Stickstoff, entsprechend im Mittel wenigstens 55 kg Stickstoff je Hektar belaufen. Hierbei ist vorausgesetzt worden, daß sich der Stickstoff-Gehalt des Bodens unverändert erhalten hat. Nach den Bodenanalysen zu schließen, ist der Stickstoff-Gehalt des Bodens in den meisten Fällen etwas gestiegen; die Ungleichmäßigkeit des Bodens macht jedoch die zuverlässige Bestimmung dieser Zunahme schwierig. Da lösliche Stickstoff-Verbindungen in nicht unbedeutenden Mengen, besonders durch Auswässerung, jährlich verlorengehen, muß die Stickstoff-Bindung in Wirklichkeit noch höher sein. Tabelle 2 zeigt die Erträge der wichtigsten Produkte auf meinem Gut. Ein Vergleich mit den mittleren Ernten des Landes liefert einen klaren Beweis dafür, daß die biologische Stickstoff-Bindung in solchem Umfang ausgenutzt

Die Ernten enthielten 2900 kg N	Im Harn wurden ausgeschieden 900 kg N
(ausschl. des Saatgutes)	Im Kot gingen ab 650 kg N
2900 kg N	1550 kg N
Vom Stickstoff des Harns kommen schätzungsweise den Pflanzen zugute 70 % = 630 kg N	
Vom Stickstoff des Kotes kommen schätzungsweise den Pflanzen zugute 30 % = 200 kg N	
	830 kg N
Durch Stickstoff-Bindung erhalten die Pflanzen 2900–830 kg N =	2070 kg N

Die Ernten enthielten: Futtereinheiten 119400 FE. oder 3180 FE./ha
Rohprotein 18900 kg oder 159 g/FE.

Tabelle 1. Die Stickstoff-Bilanz auf dem Gut Joensuu im Jahre 1947. Größe der bewirtschafteten Fläche 38 ha.
(FE. = Skandinavische Futtereinheiten)

	Gut Joensuu		Ganz Finnland	
	Bebaute Fläche % von Kulturland	Ernte	Bebaute Fläche % von Kulturland	Ernte
Getreide	18,4	ca. 2900 kg/ha	15,6	1570 kg/ha
Hafer	18,4	ca. 3500 kg/ha	20,8	1630 kg/ha
Kartoffel	7,9	ca. 22000 kg/ha	5,1	15500 kg/ha
Klee-Timotheefelder, 1. und 2. Jahr	{ 39,5	ca. 4000 FE./ha	{ 41,8	{ 1430 FE./ha*)
Klee-Timotheefelder, 3. Jahr		ca. 2500 FE./ha		
Milch (4% Fett)		ca. 2300 kg/ha		
				ca. 1000 kg/ha

*) Alle Wechselwiesen des Landes mitberechnet. Sie enthalten oft nur wenig oder gar nicht Klee.
FE. = Skandinavische Futtereinheiten

Tabelle 2. Produktion auf dem Gut Joensuu und durchschnittlich in Finnland 1948–1950

werden kann, daß sie die Ansprüche einer intensiven Landwirtschaft, in welcher der Schwerpunkt bei der animalischen Produktion liegt, zu erfüllen vermag. Eine Bedingung hierfür ist eine geeignete Fruchtfolge mit intensivem Anbau von Leguminosen, insbes. Klee oder Luzerne sowie deren effektive Konservierung schon auf verhältnismäßig frühem Stadium des Wachstums, wobei der Proteingehalt und die Verdaulichkeit hoch sind. Durch fortgesetztes Studium der biologischen, insbes. der symbiotischen Stickstoff-Bindung und der darauf einwirkenden Faktoren wird es Hand in Hand mit der Pflanzenzüchtung sicherlich möglich sein, allmählich zu immer besseren Resultaten zu gelangen.

Die biologische Stickstoff-Bindung wird sich möglicherweise erfolgreich auch zur Förderung des Waldwachses auf Stickstoff-armen Böden heranziehen lassen. In den nordischen Ländern bietet die Erle hierfür große Möglichkeiten. Wir haben gefunden, daß Erlen in Topfkulturen mit Quarzsand ohne jegliche Stickstoff-Düngung den Sand in dem Grade mit Stickstoff-Verbindungen anreichern, daß Fichten oder Kiefern mit den Erlen zusammen in demselben Sand gut wachsen können. Bild 14 zeigt einen von unseren diesbezüglichen Versuchen aus den 1930er Jahren.

Bei diesen Versuchen wurde das abgefallene Erlenlaub, das sehr reich an Stickstoff ist, vom Sande aufgesammelt. Die Fichte erhielt also ihre Stickstoff-Nahrung in diesem Versuch zur Hauptsache durch Vermittlung der Erlenwurzeln. Läßt man das Erlenlaub im Herbst unberührt auf der Oberfläche des Sandes liegen, wie es ja alljährlich auch in der Natur unter den Bäumen liegenbleibt, so bildet sich eine Schicht von schwarzer Stickstoff-reicher Erde über dem Sand, und die Fichte bzw. Kiefer erhält nun bedeutend mehr Stickstoff-Nahrung als ausschließlich durch die Erlenwurzeln. Es sind in Finnland gegenwärtig Feldversuche mit Mischkulturen von Nadelbäumen und Erle auf armen Sandböden im Gange.

Die biologische Stickstoff-Bindung ist neben der Kohlendioxyd-Assimilation ein Prozeß von fundamentaler Bedeutung für das gesamte Leben auf unserer Erde. Sämtliche Maßnahmen zur Förderung der Bindung molekularen Stickstoffs sind darum danach angetan, die Ernteerträge

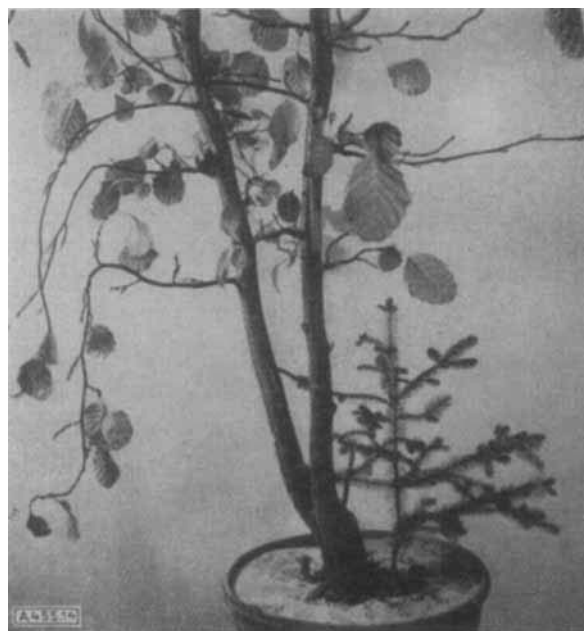


Bild 14

Mischkultur von Erle und Fichte im Quarzsand ohne zugesetzte N-Nahrung. Fünfjährige Pflanzen im Jahre 1938. Allein wächst die Fichte unter diesen Bedingungen aus Mangel an N-Nahrung nicht

zu erhöhen, die Protein-Produktion zu steigern und der sich stark vermehrenden Menschheit bessere Lebensmöglichkeiten zu schaffen. Leider liegen die Interessen der chemischen Industrie ausschließlich in der Stickstoff-Industrie, während die Erforschung der gewaltigen Möglichkeiten, die uns die Natur in der biologischen Stickstoff-Bindung in die Hand bietet, in Ermangelung an Mitteln und Arbeitskräften völlig unverdient in den Hintergrund treten muß. Angesichts dessen, daß es sich um ein universales, die ganze Menschheit am engsten berührendes Problem handelt, sollten sowohl die einzelnen Staaten als internationalen Landwirtschaftsorganisationen eine ganz andere Beachtung sowohl der theoretischen als angewandten Forschung auf diesem Gebiete schenken, als es bisher der Fall gewesen ist. Eingeg. am 2. September 1952 [A 455]