

(Aus dem Institut für Mikrobiologie der Universität Göttingen)

Untersuchungen über die Zusammensetzung von Bakterien Schleimen und deren Lösungsvermögen gegenüber schwerlöslichen anorganischen Verbindungen

Von

D. CLAUS, H. WITTMANN und A. RIPPEL-BALDES*

(Eingegangen am 5. November 1957)

Die vorliegenden Untersuchungen gehen davon aus, daß im Anschluß an die günstige Wirkung geringer Agarmengen auf die Resorption des Eisens RIPPEL (1936) sowie RIPPEL u. Mitarb. (1938) die Vermutung äußerten, daß die Schleimhülle der Bakterien unmittelbar an der Resorption schwerlöslicher anorganischer Stoffe beteiligt sei, zumal die Mikroorganismen im Boden eine typische Aufwuchsflora darstellen. Schon vorher hatte BASSALIK (1912/13) dem Bakterien Schleim insofern Bedeutung bei der Lösung von Silikaten beigemessen, als dieser mit Kohlensäure gesättigt und dadurch bei der gleichzeitig festen Umhüllung der Mineralpartikel lösend wirken sollte.

NEUBERG u. Mitarb. veröffentlichten mehrere bemerkenswerte Arbeiten über die Löslichkeit und Verwendung von unlöslichen Stoffen in der Natur. Danach haben unter anderem auch die gepaarten Uronsäurederivate ein großes Lösungsvermögen für schwerlösliche anorganische Salze, wie z. B. $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ oder CaCO_3 . NEUBERG führte in diesem Zusammenhang den Begriff „Mineralysis“ ein (vgl. MANDL u. NEUBERG 1956).

Alle diese Beobachtungen lassen vermuten, daß nicht allein die im Verlauf des Stoffwechsels der Bakterien gebildeten organischen Säuren und andere Stoffwechselprodukte mit Chelatbildungsvermögen (SCHATZ u. Mitarb. 1954; SCHEFFER u. Mitarb. 1957), sondern auch die Schleime (und diese vielleicht durch ihren Uronsäuregehalt) mit an der Lösung der im Boden befindlichen schwerlöslichen Substanzen beteiligt sind, zumal Carboxylgruppen-tragende Polysaccharide, wie es die Schleime sind, die einzigen „Säuren“ sind, die sich im Boden unter aeroben Bedingungen anreichern.

Eine die Zellmembran umgebende Schleimschicht gehört im allgemeinen zum normalen Aufbau einer Bakterienzelle. Die Dicke dieser

* RICHARD HARDER zum 70. Geburtstag.

Schleimhülle hängt, neben Wachstumsbedingungen, von der Art des Organismus ab.

Die Bakterien Schleime sind in der Mehrzahl Polysaccharide, die entweder aus gleichartigen Bausteinen (Glucose:Dextrane, Fructose:Lae-vane) oder aus einem Gemisch verschiedener Monosaccharide mit Uronsäuren (= Polyuronide) und/oder Hexosamin aufgebaut sind (vgl. die Sammelreferate von STACEY 1946 und EVANS u. HIBBERT 1946). Gelegentlich finden sich als Schleimschicht der Bakterien Polypeptide oder Nucleinsäuren, letztere bislang nur bei halophilen Organismen (SMITHIES u. GIBBONS 1955).

Eingehende Untersuchungen liegen über die chemische Zusammensetzung der Schleime vor. Durch die ausgebauten Methodik war es möglich, neben den in älteren Arbeiten aufgefundenen Glucose- und Fructose-Bausteinen auch andere Monosaccharide sowie Hexosamin und Uronsäuren nachzuweisen. FORSYTH u. WEBLEY (1949) untersuchten die Schleime von über 30 Bodenbakterien und fanden nach Hydrolyse der Polysaccharide neben Glucose und Fructose auch Mannose, Rhamnose, Xylose und Uronsäuren in verschiedener Kombination. DZULYUSKA u. MIKULASZEK (1954) gaben nach Untersuchungen an 180 Stämmen verschiedener Bakterien Glucose, Galaktose, Mannose, Rhamnose, Xylose, Arabinose (diese jedoch nicht bei Eubakterien) und Uronsäuren als Bausteine an. Fucose fanden kürzlich EAGON u. DEDONDER (1955) bei *Pseudomonas* und WILKINSON u. Mitarb. (1955) bei *Aerobacter aerogenes*. Bei der Untersuchung verschiedener *Salmonella*- und *Shigella*-Stämme konnte DAVIES (1955) Glucose, Galaktose und Mannose in den *Salmonella*-Stämmen, und Hexosamin neben Galaktose, Glucose und Rhamnose bei der *Shigella*-Gruppe nachweisen. Das Vorhandensein von Uronsäuren im Schleim verschiedener Cellulosezerersetzer haben NORMAN u. BARTHOLOMEW (1940) angegeben.

Über den strukturellen Aufbau der Schleimstoffe — die Verknüpfung der Zucker — liegen bis heute relativ wenig Angaben vor. Sie beziehen sich vor allem auf die Polysaccharide der Pneumokokken und anderer, medizinisch wichtiger Bakterien und haben dort zu bemerkenswerten Erkenntnissen zwischen Struktur und serologischer Spezifität geführt (BURGER 1950). Weiterhin ist die Struktur eines Polysaccharides von *Azotobacter chroococcum*, von *Rhizobium*, *Leuconostoc mesenteroides* und einigen anderen Bakterien bekannt (STACEY 1946, STACEY u. RICKETTS 1952).

Eine quantitative Erfassung der Polysaccharidbausteine erfolgte nur bei wenigen Untersuchungen. Neben den Angaben bei Pneumokokken (BURGER 1950) soll der auf Rohrzucker gebildete Schleim von *Azotobacter chroococcum* 87% Glucose und 3% Uronsäuren enthalten, der einer *Rhizobium*-Art 67% Glucose und 23% Uronsäuren (EVANS u. HIBBERT 1946). Doch konnten DE LEIZOLA u. DEDONDER (1955) bei mehreren *Rhizobium*-Stämmen keine Uronsäuren nachweisen, dagegen neben Glucose auch Galaktose, Rhamnose und Mannose. LAWSON u. STACEY (1954) fanden bei *Azotobacter chroococcum* neben Glucose und Glucuronsäure ebenfalls Galaktose. WILKINSON u. Mitarb. (1955) stellten bei *Aerobacter aerogenes* 50% Glucose, 10% Fucose und 29% Uronsäuren fest. Das Polysaccharid von *Azotobacter indicum* ist nach QUINNELL u. Mitarb. (1957) ein Polymeres der Glucose, Glucuronsäure und einer Aldoheptose im Verhältnis 3 : 2 : 1.

PFENNIG (1958) konnte erstmalig aus dem Kulturfiltrat eines *Streptomyces*-Stammes 2 Schleimfraktionen gewinnen. Fraktion A erwies sich als Polyglucose; in der Fraktion B konnten neben N-haltigen Verbindungen Galaktose, Glucose, Mannose, Fucose, Ribose und Xylose papierchromatographisch nachgewiesen werden.

Vermutlich lassen sich die angeführten unterschiedlichen Befunde in der Schleimzusammensetzung gleicher Bakterienarten auf die Verschiedenheit der zur Untersuchung herangezogenen Stämme gleicher Arten zurückführen. So fanden auch EAGON u. DEDONDER (1955) eine qualitative Verschiedenheit in der Schleimzusammensetzung verschiedener *Pseudomonas fluorescens*-Stämme und DUDMAN u. WILKINSON (1956) qualitative und quantitative Unterschiede bei verschiedenen *Aerobacter-Klebsiella*-Stämmen.

Wieweit die Ernährung der Organismen bei diesen Vorgängen eine Rolle spielt, ist nicht bekannt. Allerdings soll die Art der gebotenen C-Quelle die qualitative (*B. circulans*, FORSYTH u. WEBLEY 1949) und quantitative (*Aerobacter aerogenes*, WILKINSON u. Mitarb. 1955) Zusammensetzung der Schleime nicht beeinflussen. Lediglich die Menge der gebildeten Schleime scheint unter diesen Bedingungen zu variieren. Bei geringem Angebot von Stickstoff und Phosphor wird nach DUGUID u. Mitarb. (1953) die Schleimbildung stark gefördert, vorausgesetzt, daß genügend assimilierbare C-Quelle vorhanden ist. Ob unter diesen Bedingungen qualitative oder quantitative Unterschiede in der Schleimzusammensetzung auftreten, ist nicht bekannt.

Im Verlauf der vorliegenden Untersuchungen sollten mehrere, aus dem Boden isolierte, schleimbildende Bakterien und bekannte Arten unserer Sammlung auf ihre Schleimzusammensetzung geprüft werden. Außerdem sollten erste Versuche unternommen werden, die die Wirkung von Bakterien Schleim auf schwerlösliche anorganische Stoffe zeigen.

Methodik

1. Organismen und Kulturbedingungen

Aus der Instituts-Sammlung wurden zur Untersuchung auf ihre Schleimzusammensetzung folgende Stämme verwendet: *Aerobacter aerogenes* (Stamm Nr. 1559) auf Molke-Pepton Nährlösung: 500 ml Molke; 500 ml dest. Wasser; 0,5% Pepton; 0,1% KH_2PO_4 ; pH 6,8. — *Azotobacter chroococcum* (Stamm Nr. 1602). Nährlösung: Mannit 2%; KH_2PO_4 0,1%; CaCO_2 0,1%; $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,05%; $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ und $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ Spuren; pH 7,2. — *Bacterium radicum* (Stamm Nr. 1552). Nährlösung: Mannit 1%; K_2HPO_4 0,05%; $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,02%; NaCl 0,01%; CaCO_3 0,3%; 50 ml Hefewasser/1000 ml dest. Wasser; pH 6,8. — *Pseudomonas tumefaciens* (Stamm Nr. 1547). Nährlösung: Glucose 1%; Pepton 0,1%; KH_2PO_4 0,1%; pH 7,2. — *Bacterium violaceum* (Stamm Nr. 1612). Nährlösung: Glucose 1%; Pepton 0,1%; KH_2PO_4 0,1%; pH 7,2.

Neu-Isolierungen: Stamm *W 3 G*, aus Walderde isoliert. Nährlösung: Glucose 1%; Pepton 0,1%; KH_2PO_4 0,1%; pH 7,2. — Stamm *W 4 G*, aus Walderde isoliert. Nährlösung wie bei *W 3 G*. — Stamm *W 5 R*, aus Walderde isoliert. Nährlösung: Rohrzucker 1%; Pepton 0,1%; KH_2PO_4 0,1%; pH 7,2. — Stamm *F 3 R*, aus Ackererde isoliert. Nährlösung wie bei *W 5 R*.

Alle Organismen wurden zur Schleimgewinnung in Schüttelkulturen herangezogen (*Ps. tumefaciens* in Standkulturen, vgl. EAGON 1956). Die Wachstumsdauer betrug 3—6 Tage bei 27° C.

2. Isolierung und Reinigung der Polysaccharide

Die Flüssigkeitskulturen, die meist viscos waren, wurden mit destilliertem Wasser verdünnt, kurz aufgeköcht und 1 Std bei 7000 U/min zentrifugiert. Hierbei konnten, durch die Viscosität der Lösungen bedingt, noch nicht alle Zellen aus der Schleimlösung entfernt werden. Im Überstehenden erfolgte die Fällung der Polysaccharide mit der 4fachen Menge 95%igen Äthylalkohols, nach vorheriger Einstellung der Lösung auf pH 6—7. Die weitere Reinigung erfolgte nach WILKINSON u. Mitarb. (1955, Methode C). Nach Stehenlassen über Nacht wurden die gefällten Polysaccharide abzentrifugiert und in dest. Wasser gelöst. Nach wiederholtem Umfällen, Lösen und Zentrifugieren konnten alle noch verbliebenen Zellreste entfernt werden. Die Lösung war dann klar und je nach Polysaccharidgehalt mehr oder weniger viscos.

Eiweiß wurde in Anlehnung an SEVAC (1934) durch Schütteln von 1 Teil Schleimlösung mit 0,25 Teilen Chloroform und 0,1 Teil Butanol und anschließendem Zentrifugieren abgetrennt. Zur Herabsetzung des Aschegehaltes wurde 48 Std gegen dest. Wasser dialysiert, die Polysaccharide dann erneut gefällt, mehrmals mit Äthanol und Äther gewaschen und im Vacuumexsiccator bei Zimmertemperatur getrocknet.

3. Identifizierung der Polysaccharidbausteine

Hydrolyse (nach FORSYTH u. WEBLEY 1949). 20 mg Polysaccharid wurden mit 1 ml 1 n H_2SO_4 48 Std bei 100° C hydrolysiert. Die lange Hydrolysenzzeit war zum vollständigen Aufschluß der Polysaccharide unbedingt nötig. Eine 2. Probe wurde mit 0,1 n H_2SO_4 30 min bei 100° C hydrolysiert und diente zur Prüfung auf Fructose und andere säureempfindliche Furanose-Zucker. Nach der Hydrolyse wurde mit festem, fein gepulvertem $BaCO_3$ neutralisiert (Kongorot), und die überstehende Lösung nach kurzem Zentrifugieren zur Papierchromatographie verwendet.

Die Identifizierung der Polysaccharidbausteine erfolgte papierchromatographisch nach Angaben von SMITH u. POLLARD (1952) mit Butanol:Pyridin:Wasser im Verhältnis 3 : 2 : 1,5 im Durchlaufchromatogramm (Papier Schl. & Sch. 2043 b). Die in den Bakterien Schleimen gefundenen Zucker und Uronsäure trennten sich damit gut. Als Sprühreagens wurde Anilinphthalat verwendet, für Ketozucker Naphthoresorcin-HCl.

Eine quantitative Bestimmung der einzelnen Hydrolysenprodukte war für die vorliegenden Zwecke nicht erforderlich, eine grobe Bestimmung erfolgte durch Vergleich der Fleckgröße bzw. Farbintensität der Test- und Hydrolysenzucker.

Ergebnisse

1. Zusammensetzung der Bakterien Schleime

In Tab. 1 sind die nach Hydrolyse der verschiedenen Bakterien Schleime nachweisbaren Zucker und Glucuronsäure zusammengestellt. Sie sind später (S. 176) zusammengefaßt besprochen. Für unsere Zwecke genügte die Angabe in Relativwerten.

2. Lösungsversuche

Für die Lösungsversuche haben wir *Aerobacter aerogenes* und *Pseudomonas tumefaciens* ausgewählt. Der Schleim dieser Organismen unterschied sich vor allem im Uronsäuregehalt und war deshalb zum Nachweis einer möglichen spezifischen Uronsäurewirkung besonders geeignet.

Zunächst interessierte, ob während des Wachstums der Bakterien schwerlösliche anorganische Stoffe gelöst werden.

A. Aerobacter aerogenes

1. Eine Nährlösung, bestehend aus 1,5% Glucose, 0,5% Asparagin und 50 ml quartzdest. Wasser, wurde bei p_H 7,2 mit einer Suspension von *Aerobacter aerogenes* beimpft und auf der Schüttelmaschine bei 28° C vorkultiviert. Der Organismus wuchs ohne einen Zusatz von KH_2PO_4

Tabelle 1. *Papierchromatographischer Nachweis und prozentualer Anteil von Zucker und Glucuronsäure in Hydrolysaten verschiedener Bakterien Schleime*

Organismen	Glucose	Galaktose	Rhamnose	Mannose	Fucose	Xylose	Glucuron-säure
<i>Aerobacter aerogenes</i>	40	35	—	—	Spur	—	25
<i>Bact. radi-cicola</i>	50	30	Spur	Spur	—	—	20
<i>Azotobact. chroococcum</i>	Spur	45	30	Spur	—	—	25
<i>Ps. tume-faciens</i>	100	—	—	—	—	—	—
<i>Bact. violaceum</i>	40	20	Spur	30	10	—	Spur
Stamm W 3 G	40	20	—	20	—	Spur	20
Stamm W 4 G	25	30	—	30	Spur	—	15
Stamm W 5 R	30	30	Spur	30	—	—	10
Stamm F 3 R	30	30	—	30	—	—	10

Die Zahlen geben für jeden Organismus die Relativwerte an. Fructose wurde in keinem Falle festgestellt.

verhältnismäßig gut und bildete vor allem gut Schleim. Nach 36 Std wurde in die Kolben 300 mg $BaSO_4$, $Ba_3(PO_4)_2$ oder $Fe_3(PO_4)_2$ gegeben und unter Schütteln weiter bebrütet. Die verschiedenen Zusätze bewirkten Unterschiede in der Größe der Schleimhüllen. In den Kulturen mit Zusatz von Bariumphosphat oder Bariumsulfat war das weitere Wachstum mäßig bis gut, die gebildeten Schleimhüllen waren ungewöhnlich groß. Die relativ geringe Giftwirkung des Bariums läßt sich vielleicht auf die ausgeprägte Adsorptionswirkung der Bakterien Schleime gegenüber Ionen zurückführen (ROREM 1955). Schwächer war die Ausbildung der Schleimhüllen bei Zugabe von Eisenphosphat, die Zellen waren stark verkleinert, das Wachstum mäßig bis gut. Als Kontrollen dienten Kolben mit Nährlösung und 300 mg $BaSO_4$, $Ba_3(PO_4)_2$ oder $Fe_3(PO_4)_2$, die unbeimpft blieben. Nach 5 Tagen wurde der Versuch abgebrochen, Kulturen

und Kontrollen scharf zentrifugiert. Die p_H -Werte der Kulturen und auch der Kontrollen waren gesunken:

Eisenphosphat-Kultur	p_H 4,5	Kontrolle	p_H 5,5
Bariumphosphat-Kultur	p_H 5,0	Kontrolle	p_H 6,5
Bariumsulfat-Kultur	p_H 4,0	Kontrolle	p_H 5,7

Die Prüfung auf Phosphat, das bei einem Lösungsvermögen des Schleimes in der ursprünglichen phosphatfreien Nährlösung vorhanden sein mußte, erfolgte colorimetrisch nach der Methode von FISKE u. SUBBAROW (1925), während der Nachweis der SO_4^{--} Ionen durch Zugabe von festem $BaCl_2$ in salzsaure Lösung erfolgte. Der auftretende Niederschlag von $BaSO_4$ wurde im Lange-Colorimeter densidometrisch ausgewertet.

Die Ergebnisse, Mittelwerte aus mindestens drei verschiedenen Ansätzen mit jeweils mehreren Kulturen, sind in Tab. 2 zusammengestellt. Die Wirkung der Bakterien auf das Löslichmachen von P und SO_4^{--} ist deutlich zu erkennen.

Tabelle 2. P- und SO_4 -Gehalt der zellfreien Kulturlösungen von *Aerobacter aerogenes* in $\gamma/5$ ml (in Klammern Relativwerte bezogen auf Kontrolle = 100)

	P aus $Fe_3(PO_4)_2$	P aus $Ba_3(PO_4)_2$	SO_4^{--} aus $BaSO_4$
Kultur	86	230	135
Kontrolle	12 (100)	57 (100)	45 (100)
Differenz*	74 (616)	173 (303)	90 (200)

* Lösung durch Bakterieneinfluß.

2. Mit quarzdest. Wasser wurde eine 0,75%ige *Aerobacter aerogenes*-Schleimlösung, p_H 7, hergestellt.

Es wurden 2 Proben angesetzt:

50 ml Schleimlösung p_H 7 + 300 mg Bariumphosphat,

50 ml Schleimlösung p_H 7 + 300 mg Eisenphosphat.

Phosphat konnte vor Zusatz in der Schleimlösung mit der oben angeführten Methode nicht nachgewiesen werden.

Die Kontrollen enthielten keinen Schleim, lediglich quarzdest. Wasser.

Zur Verhütung von Infektionen wurde den Kolben Chloroform (0,5 ml) zugesetzt. Die Kolben standen 14 Tage auf der Schüttelmaschine.

p_H -Werte nach Ablauf des Versuches:

Schleimlösung + Bariumphosphat	p_H 5,5
Kontrolle	p_H 6,0
Schleimlösung + Eisenphosphat	p_H 5,3
Kontrolle	p_H 6,0

Die Lösungen wurden bis zur völligen Klarheit zentrifugiert (etwa 1 Std bei 7000 U/min) und zur Prüfung auf Phosphat verwendet.

In Abwandlung der vorstehend angegebenen Methode wurden alle auf Phosphat zu prüfenden Lösungen nach Zugabe der Reagentien 5 min im kochenden Wasser-

bad erhitzt. Die Erhitzung war erforderlich, da anderenfalls keine Blaufärbung der Reaktionsgemische auftrat, was auf die Viscosität der Schleimlösung oder auf eine verhältnismäßig feste Bindung des gelösten Phosphates an den Schleim zurückgeführt werden kann.

Tabelle 3. P-Gehalt der Schleimlösungen und Kontrollen in $\gamma/5$ ml (*Aerobacter aerogenes*)

	P aus $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$	P aus $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$
Schleim	140	465
Kontrolle	55 (100)	155 (100)
Differenz*	85 (154)	310 (200)

* Lösung durch Schleimeinfluß.

Die Ergebnisse zeigt Tab. 3. Die Löslichkeit wird also durch den isolierten Schleim ebenfalls erhöht. Es fällt dabei auf, daß durch dest. Wasser mehr P gelöst wurde als durch Nährlösung (ohne Bewuchs, Tab. 2). Der Grund dafür könnte möglicherweise in der Zurückdrängung der Löslichkeit durch die Bestandteile der Nährlösung zu suchen sein.

B. *Pseudomonas tumefaciens*

(Die Versuchsanordnung entsprach den Angaben unter A 1)

Das Wachstum war in den Bariumsulfat-Kulturen verhältnismäßig gut, die gebildeten Schleimhüllen waren außergewöhnlich groß. Nach Zusatz von Bariumphosphat bildete *Ps. tumefaciens* ebenfalls sehr gut Schleim, das Wachstum war mäßig bis gut. Schleimbildung unter Eisenphosphatzusatz sehr gut, Wachstum mäßig.

Die pH -Werte betragen nach Ablauf der Kultivierung:

Eisenphosphat-Kultur	pH 8,0	Kontrolle pH 5,5
Bariumphosphat-Kultur	pH 7,8	Kontrolle pH 6,5
Bariumsulfat-Kultur	pH 8,0	Kontrolle pH 5,8

Tabelle 4. P- und SO_4 -Gehalt der Nährlösungen in $\gamma/5$ ml (*Pseudomonas tumefaciens*)

	P aus $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$	P aus $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$	SO_4 aus BaSO_4
Kultur	22	135	375
Kontrolle	12 (100)	50 (100)	55 (100)
Differenz*	10 (83)	85 (170)	320 (581)

* Lösung durch Bakterieneinfluß.

Tab. 4 zeigt die erhaltenen Ergebnisse, die qualitativ den vorigen entsprechen. Die sehr geringe Löslichkeit von P aus $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$ ist zweifellos auf den hohen pH -Wert der Kultur (8.0; Pepton als N-Quelle) zurückzuführen, wodurch die Löslichkeit noch weiter heruntergedrückt wird, die sowieso stets wesentlich geringer ist als bei $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$.

2. Mit Trockenschleim, der von *Ps. tumefaciens*-Kulturen gewonnen worden war, wurde eine 0,75%ige Schleimlösung vom pH 7 mit quarzdest. Wasser hergestellt. Die Schleimlösung enthielt geringe Mengen nachweisbaren Phosphates, das bei der Berechnung der Werte mit berücksichtigt wurde.

Je 50 ml der Schleimlösung wurden mit 300 mg Bariumphosphat oder Eisenphosphat versetzt und 14 Tage auf der Maschine geschüttelt.

pH-Werte nach Ablauf des Versuches:

Schleimlösung + Bariumphosphat	pH 5,8
Kontrolle	pH 6,0
Schleimlösung + Eisenphosphat	pH 5,7
Kontrolle	pH 6,0

Bei der Prüfung auf Phosphat wurden die in Tab. 5 gezeigten Werte erhalten. Noch deutlicher als in Tab. 4 zeigt sich hier die sehr viel geringere Löslichkeit des P aus $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$ gegenüber $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$, die schon in Tab. 2 und 3 hervortritt. Das mag mit spezifischen Eigenschaften der Schleime zusammenhängen, da in Tab. 2 u. 3 der pH-Wert nicht entscheidend sein kann.

Tabelle 5. P-Gehalt der Schleimlösungen und Kontrollen in $\gamma/5$ ml (*Pseudomonas tumefaciens*)

	P aus $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$	P aus $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$
Schleim	53	337
Kontrolle	50 (100)	165 (100)
Differenz*	3 (3)	172 (106)

* Lösung durch Schleimeinfluß.

Besprechung der Ergebnisse

In den Hydrolysenprodukten der Schleime von 9 Bakterienstämmen konnten insgesamt 6 verschiedene Zucker und Glucuronsäure nachgewiesen werden (Tab. 1). Am häufigsten waren Glucose, Galaktose, Mannose und Glucuronsäure vertreten, während Rhamnose (*Azotobacter*), Fucose (*Bact. violaceum*) und Xylose-(Stamm *W 4 G*) nur selten und oft nur in Spuren auftreten. Fructose konnte bei keinem der untersuchten Stämme nachgewiesen werden. Im Vergleich zu vorliegenden Literaturangaben zeigte *Aerobacter aerogenes* einen relativ hohen Galaktoseanteil, während bei *Azotobacter chroococcum* der Schleim keine Glucosebausteine enthielt und neben Glucuronsäure vor allem aus Galaktose und Rhamnose aufgebaut war. Letzterer Bestandteil wurde unseres Wissens nach bislang nicht im Schleim von *Azotobacter* nachgewiesen. Die Beispiele zeigen noch einmal die oben schon erwähnte Stammspezifität der Schleimzusammensetzung bzw. die Bedeutung veränderter Kulturweise. Glucuronsäure war in 8 der 9 Stämme nachzuweisen, wobei der Gesamt-

anteil den bisher bekannten Befunden entspricht. Keine Glucuronsäure enthielt der Schleim von *Ps. tumefaciens*.

Die Löslichkeit der schwerlöslichen Phosphate wurde durch wachsende Bakterienkulturen gegenüber sterilen Kontrollen bedeutend erhöht (Tab. 2 u. 4). Dieser Befund entspricht den von anderen Autoren an Reinkulturen und Bodenversuchen mitgeteilten Beobachtungen. Für die Ursache der Löslichkeitssteigerung können wir neben den sich ändernden p_{H} -Werten die chelatisierende Wirkung vieler Stoffwechselprodukte (organischer Säuren usw.) verantwortlich machen. Eine Beteiligung des Bakterien Schleimes an diesen Vorgängen läßt sich bei dieser Versuchsanstellung natürlich nicht nachweisen.

In Tab. 3 u. 5 haben wir die P-Mengen angegeben, die durch die alleinige Einwirkung der Schleime und der damit verbundenen Ausschaltung störender Faktoren gelöst werden. Die Löslichkeitssteigerung gegenüber den schleimfreien Kontrollen betrug bei *Aerobacter aerogenes* für $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$ 154%, für $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$ 200%, bei *Ps. tumefaciens* 3% bzw. 106%. Wieweit die stärkere Beeinflussung der Löslichkeit durch den Schleim von *Aerobacter aerogenes* auf dessen Glucuronsäuregehalt (bei *Pseudomonas tumefaciens* fehlend) zurückgeführt werden kann, ist aus den angeführten ersten Versuchen noch nicht zu entscheiden.

Fest steht jedenfalls, daß neben dem starken Einfluß wachsender Bakterienkulturen auf schwerlösliche anorganische Verbindungen auch dem Bakterien Schleim eine lösende Eigenschaft zugeschrieben werden kann. Wir haben schon eingangs darauf hingewiesen, daß sich im Boden uronsäurehaltige Polysaccharide im Gegensatz zu organischen Säuren auch unter aeroben Bedingungen anreichern können und glauben deshalb, daß die Bakterien Schleime auch am natürlichen Standort, neben ihrer Bodenkrümel stabilisierenden Wirkung (MARTIN u. Mitarb. 1955) einen Einfluß auf schwerlösliche Mineralstoffe ausüben können, selbst, wie gezeigt wurde, wenn Uronsäuren fehlen. In diesem Zusammenhang ist erwähnenswert, daß bei anderen Beobachtungen über Silikat- oder Gesteinszersetzungen durch Mikroorganismen (z. B. TEŠIĆ u. TODORVIĆ 1952, PAINE u. Mitarb. 1933) von einer auffällig schleimigen Beschaffenheit der dabei beteiligten Organismen berichtet wird, ohne daß allerdings eine mögliche Beziehung zwischen Schleim und Lösungsvermögen in Betracht gezogen wird.

Die Mikroorganismen stellen daher einen wichtigen Faktor bei der Gesteinsverwitterung dar.

Zusammenfassung

1. In den Hydrolysaten der Schleime von 9 Bakterienstämmen wurden Glucose, Galaktose, Mannose, Rhamnose, Xylose, Fucose und Glucuronsäure in wechselnden Mengenanteilen nachgewiesen.

2. Der Schleim von *Azotobacter chroococcum* war hauptsächlich aus Galaktose und bisher nicht beschriebenen Rhamnose-Bausteinen aufgebaut.

3. Wachsende Kulturen von *Aerobacter aerogenes* und *Pseudomonas tumefaciens* zeigten ein beträchtliches Lösungsvermögen für Eisen- und Bariumphosphat sowie Bariumsulfat.

4. Der von den beiden Organismen gebildete Schleim unterschied sich hauptsächlich durch das Fehlen von Glucuronsäure bei *Ps. tumefaciens*.

5. Durch isolierten Schleim beider Organismen konnten Barium- und Eisenphosphat gelöst werden. Die stärkere Lösungswirkung des Schleimes von *Aerobacter aerogenes* kann vielleicht auf dessen hohen Glucuronsäureanteil zurückgeführt werden.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Bereitstellung der Mittel, die das Durchführen dieser Arbeit ermöglichten.

Literatur

BASSALIK, K.: Z. Gärungsphysiologie, **2**, 1—12, (1912), **3**, 15—42 (1913). — BURGER, M.: Bacterial Polysaccharides, Springfield: Charles C. Thomas Publ. 1950.

DAVIES, D. A. L.: Biochemic. J. **59**, 696—704 (1955). — DUDMAN, W. F., and J. F. WILKINSON: Biochemic. J. **62**, 289—295 (1956). — DUGUID, J. P., and J. F. WILKINSON: J. Gen. Microbiol. **9**, 174—189 (1953). — DZULYUSKA, J., u. E. MIKULASZEK: Bull. Acad. Polon. Sci. Cl. II, **2**, 101—104 (1954).

EAGON, R. G., et R. DEDONDER: C. r. Acad. Sci. (Paris) **241**, 527 u. 579 (1955). — EAGON, R. G.: Canad. J. Microbiol. **2**, 673 (1956). — EVANS, T. H., and H. HIBBERT: Adv. Carbohydrate Chem. **2**, 204—233 (1946).

FISKE, C. H., and Y. S. SUBBEAROW: J. Biol. Chem. **66**, 375—400 (1925). — FORSYTH, W. G. C., and D. M. WEBLEY: J. Gen. Microbiol. **3**, 395—399 (1949). — GEOHEGAN, M. J., and R. C. BRIAN: Biochemic. J. **43**, 5—13 (1948).

LAWSON, G. J., and M. STACEY: J. Chem. Soc. (Lond.) **1954**, 1925—1931. — DE LEIZOLA, M., et R. DEDONDER: C. r. Acad. Sci. (Paris) **240**, 1825—27 (1955).

MANDL, J., and C. NEUBERG: Adv. Enzymol. **17**, 135—155 (1956). — MARTIN, J. P., W. P. MARTIN, J. B. PAGE, N. A. RANEY and J. O. De MENT: Adv. in Agronomy **7**, 2 (1955).

PAINE, S. G., F. V. LINGGOOD, F. SCHIMMER and T. C. THURPP: Trans. Roy. Soc. (Lond.) B **222**, 97 (1933). — PFENNIG, N.: Arch. Mikrobiol. **29**, 90—100 (1958).

QUINNELL, CH. M., S. G. KNIGHT and P. W. WILSON: Canad. J. Microbiol. **3**, 277—288 (1957).

RIPPEL, A.: Arch. Mikrobiol. **7**, 590 (1936). — RIPPEL, A., G. BEHR u. K. NABEL: Arch. Mikrobiol. **9**, 375—409 (1938). — ROREM, E. S.: J. Bacteriol. **70**, 691 (1955).

SCHATZ, A., N. D. CHERONIS, V. SCHATZ and G. S. TRELAWNY: Proc. Pennsylv. Acad. Sci. **28**, 44—51 (1954). — SCHEFFER, F., B. ULRICH u. P. HIESTERMANN: Z. Pflanzenernährg. **76**, 146—155 (1957). — SEVAG, M. G.: Biochem. Z. **243**, 419—429 (1934). — SMITH, P. B., and A. L. POLLARD: J. Bacter. **63**, 129 (1952). — SMITHIES, W. R., and N. E. GIBBONS: Canad. J. Microbiol. **1**, 614—621 (1955). — STACEY, M.: Adv. Carbohydrate Chem. **2**, 162—201 (1946). — STACEY, M., u. R. C. RICKETTS: Fortschr. Chem. organ. Naturstoffe **8**, 28—46 (1952).

TEŠIĆ, Z. T., u. M. S. TODOROVIĆ: Zemljišt i Biljka (Soil and Plant, Belgrad), **1**, 3—18 (1952).

WILKINSON, F. J., W. F. DUDMAN and G. O. ASPINAL: Biochemic. J. **59**, 446 bis 451 (1955).