(Aus dem bacter. Laboratorium der k. k. landw.-chem. Versuchs-Station
in Wien.)

Ueber die Infectionsfähigkeit der Pflanzen durch Milzbrandböden.

Von

Dr. **Th. Kasperek** und Dr. **K. Kornauth**.

Wie bekannt, gehört zu den ziemlich häufig auftretenden Thierkrankheiten der Fütterungsmilzbrand; dieser rafft nicht nur alljährig eine grosse Menge Vieh dahin, sondern gefährdet im Gefolge auch viele Menschenleben.

Dieser Thatsache ist schon sehr frühzeitig und von vielen Beobachtern näher getreten worden, noch ehe man den Milzbrandbacillus als den Erreger des Milzbrandes kennen gelernt hatte. Von verhältnismässig wenigen Fällen abgesehen, bei welchen die directe Ansteckung von Thier zu Thier eine gewisse Bedeutung erlangte, kamen die meisten Beobachter auf den Boden (Weide — Ackerland) als Infectionsträger und Vermittler zurück.

Dass der Boden für manche pathogene Microorganismen eine gelegentliche und dauernde Brutstätte abgeben kann, ist durch Pasteur, Koch, Hueppe, Flügge, Fodor u. A. hinreichend klargestellt, wenn auch in den Einzelheiten Differenzen bestehen. Ferner ist feststehend, dass der Boden in grösseren Tiefen steril ist und Bakterien, die von der Bodenoberfläche aus in die Tiefe dringen wollen, durch die bedeutende Filtrationsfähigkeit des Bodens hieran gehindert werden. In dieser Beziehung verhalten sich aber die verschiedenen Böden wesentlich verschieden.

Nach v. Pettenkofer liegt die Eignung eines Bodens als Infections-herd dienen zu können (örtliche und zeitliche Disposition) weniger in der geologischen Beschaffenheit als in einer gewissen mechanisch-physikalischen Eigenthümlichkeit, in der Porösität und Permeabilität des Bodens, ferner in gewissen Schwankungen der Feuchtigkeit und Temperatur. Eine bestimmte Bodenbeschaffenheit wirke sowohl auf die Entwicklung der Krankheitskeime

als auch den Transport derselben eigenthümlich ein. Ein poröser, mit organischen Abfallstoffen durchsetzter und wechselweise durchfeuchteter Boden sei für die Entwicklung und eine Art Reifung der Infectionsträger unerlässlich; eventuell böte derselbe Boden bei einem bestimmten Grade der Austrocknung die Möglichkeit zum Entweichen der infectiösen Keime durch transportirende Luftströme.

Die neueren Forschungen haben ergeben, dass eine Vermehrung pathogener Keime im Boden kaum oder höchstens nur in sehr begrenztem Maasse stattfinden kann, indem in tieferen Schichten die niedrige Temperatur das Wachsthum der Krankheitskeime ungünstig beeinflusst, selten entsprechende Nährsubstrate vorhanden sind und die im Boden massenhaft vorhandenen Saprophyten bei den ihnen besser angepassten Lebensbedingungen im Kampfe um das Dasein die pathogenen Keime überwuchern.

Eine Vermehrung der pathogenen Keime könnte daher bei sonst günstigen Bedingungen nur an der Oberfläche des Bodens stattfinden.

Bedeutsamer und jedenfalls bei Bodenmilzbrand zutreffend ist es aber, dass in den Boden eingebrachte Sporen in demselben lange conservirt werden und durch verschiedene Einflüsse wie z. B. periodische Schwankungen des Grundwasserspiegels (v. Pettenkofer), Wasserbewegungen (Koch u. A.), durch die capillare Wirkung der Bodentheilchen (Soyka, Hueppe u. A.) oder durch die Wanderungen von Regenwürmern und Larven im Boden (Pasteur) an die Oberfläche gebracht werden und dort sich weiter entwickeln. Und gerade für den Milzbrand, einem so evident amphigenen Microorganismus, dessen Sporen eine nahezu unbegrenzte Keimfähigkeit behalten, sind alle diese Infectionsmodi günstig.

Es ist aber auch die Frage erwogen worden, ob die Pflanzen, welche auf Milzbrandböden gewachsen waren, und als Futter dienen, als Infectionsträger wirken können, oder als solche nicht in Betracht zu ziehen sind.

Diese Frage drängt sich unsomehr auf, als in nicht wenigen Fällen der Infectionsherd streng localisirt blieb, periodisch auftrat, und in ganz ausserordentlich weitem Umkreise von der Infectionsstelle keine Milzbrandfälle vorkamen, eine Verschleppung der Milzbrandsporen demnach kaum anzunehmen war.

In einem der uns vorgelegenen Fälle stand das periodische Auftreten eines solchen Milzbrandherdes (Weizenacker) weder mit der Grundwasserbe-

wegung, noch den klimatischen und sonstigen Verhältnissen in irgend einem nachweisbaren Zusammenhang. Der Milzbrand trat nur auf, wenn das Stroh von diesem Acker verfüttert wurde und die bacteriologische Untersuchung des Futtevvorrathes sowie des Bodens von verschiedenen Stellen ergab ein negatives Resultat. Nachfragen haben ergeben, dass vor Jahren auf diesem Acker einzelne Milzbrandcadaver vergraben worden sind, ohne aber dass die Orte, wo dies geschehen, noch auffindbar waren.

Von den bisher über das Eindringen von Microorganismen, namentlich pathogener Natur, gemachten Arbeiten heben wir nur jene hervor, welche eingehender vorgenommen worden sind und dem deutschen Publikum nur im kurzen Referaten bekannt geworden sein dürften. Es haben Jorisson, Galippe und Bernheim das Eindringen von Bodenbakterien in verschiedene Pflanzensamen beobachtet und die Bildung von Diastase bei der Keimung geradezu auf die Anwesenheit von Bakterien zurückgeführt. Dem entgegengetreten sind vor allem Pasteur, dann seine Mitarbeiter Duclaux und Fernbach, welcher letzterer an einer ausserordentlich grossen Versuchsreihe nachwies, dass, die pflanzlichen Gewebe im normalen Zustande ein sicheres Filter für Bakterien bilden, und letztere nur in ganz besonderen Fällen in die Gewebe eindringen können.

Ob aber durch irgend einen Zufall in die Pflanzen eingedrungene pathogene Keime sich darin entwickeln können oder zu Grunde gehen müssen, darüber haben sich die Genannten nicht ausgesprochen.

Von den rein parasitisch lebenden pathogenen Microorganismen ist dies ja a priori sicher, hingegen blieb diese Frage in Bezug auf die facultativen Parasiten ungelöst.

Diesem Punkte trat Lomnitzky¹⁾ näher und zeigte an der

1) Auf Grund der bekannten Thatsache, dass Pflanzentheile den Nährboden für verschiedene Microorganismen abgeben können, versuchte Lomnitzky zu erforschen, ob die für Thiere pathogenen Microorganismen auf gesundem, lebendem Pflanzengewebe gedeihen können. In seiner, in russischer Sprache veröffentlichten Arbeit (Wratsch. 1890. No. 6. O parositismie niktorych boliesne-bornych mikrobor no schiwuschtschich rasstieniach) berichtet L. über eine grosse Reihe von diesbezüglichen Versuchen. Er benutzte *Trifolium pratense*, *Triticum vulgare*, *Agapanthus*, *Sambucus*, *Hyacinthus* und *Tulipa*. Von pathogenen Bakterien wählte L. Anthrax-, Typhus- und *Staphylococcus pyog. aureus*. Lomnitzky liess Weizenkörner in mit pathogenen

Hand von eingehenden Untersuchungen, dass namentlich Milzbrand-Typhus und Staphylococcusorganismen in den Geweben (Blättern) höherer Pflanzen sich ausgiebig vermehren können und sich auf die umgebenden Gewebe verbreiten. Wenn nun auch Lomnitzky auf Grund seiner Versuche angiebt, dass dieses Umsichgreifen der pathogenen Organismen eine bedeutende Beschränkung erfahre und ganze Pflanzenorgane (z. B. Blätter, Stengel) bei künstlichen Infectionen nicht im ausgedehnten Maasse angegriffen werden, ist doch die Möglichkeit eines ausgiebigen Umsichgreifens von pathogenen Microorganismen in lebenden Pflanzen nach den Lomnitzky'schen Versuchen nicht von der Hand zu weisen, umsomehr als der Autor die Gänge zwischen den Pflanzenzellen (Intercellular-Räume) als den Weg, den die proliferirenden Organismen einschlagen, bezeichnet. Am wichtigsten erschien uns aber die Angabe Lomnitzky's, dass beim Wachsthum des Weizens auf mit pathogenen Bakterien inficirtem Boden diese in die Gewebe der

Microorganismen inficirten Boden keimen und führte auch in Blätter verschiedener Pflanzen diese und noch andere Bakterien in der Weise ein, dass er an vorher desinficirten Stellen einen Einstich machte und in diese Oeffnung mittels Platindrath die Microorganismen einführte. Sodann wurde die Einstichöffnung mit Collodium verklebt. Nach 3—42 Stunden wurden die inficirten Blätter und Pflänzchen mikroskopisch und bacteriologisch untersucht, sowie Thierimpfungen vorgenommen. Von den zahlreichen Schlussfolgerungen L.'s seien folgende hervorgehoben:

1. Pathogene Microorganismen können sich unter Umständen in den Geweben höherer Pflanzen entwickeln.
2. Die intacte Oberhaut der Blätter und Stengel bildet einen Schutz gegen das Eindringen von Bakterien.
3. Bei künstlicher Impfung (mittels Einstich) vermehren sich die Milzbrandbacillen und breiten sich auf die benachbarten Parthien des geimpften Gewebes aus. Diese Ausbreitung ist aber nicht besonders gross.
4. Den Weg der Ausbreitung der eingeimpften Mikroben bilden die Gänge zwischen den Pflanzenzellen.
5. Milzbrandbacillen vermehren sich nach der Impfung auf den Agapanthusblättern sehr rasch und wachsen zu langen Fäden aus.
6. Aus dem inficirten Boden können Milzbrandbacillen und andere pathogene Microorganismen in die Gewebe der Weizenwurzeln eindringen. Das Eindringen der Microorganismen hängt von deren Grösse ab.
7. Das Verbreiten der Microorganismen aus vom Boden inficirten Wurzeln des Weizens in dessen Stengel und Blätter wurde nicht beobachtet.

Weizenwurzeln eindringen können, und dass bei Wachsthum des Weizens in mit Mikrobengemischen inficirtem Boden auch alle diese Species in den Wurzelgeweben nachzuweisen waren.

Unsere Versuche sollten uns Anhaltspunkte dafür geben, ob und auf welche Weise Pflanzen, die in milzbrandhaltigem Boden gewachsen waren, als Transportmittel für die Verbreitung des Milzbrandes dienen können. Um uns an möglichst natürliche Verhältnisse zu halten, haben wir Pflanzen ausgewählt, deren Anbau im Grossen betrieben wird, und zwar Hafer, Gerste Weizen, Raps und Mais. Wenn schon die Versuche Fernbach's, wie oben erwähnt, eine Einwanderung des Milzbrandes in die keimenden Samen und aus diesen in das Kraut unwahrscheinlich erscheinen liessen, haben doch die Versuche Lomnitzky's und Anderer wieder die Unmöglichkeit einer solchen Einwanderung in Frage gestellt, und es erschien uns deshalb nicht ohne Werth, nochmals dieser eminent wichtigen Frage näher zu treten.

Die Versuchsanordnung war folgende:

In sterilisirte Blumentöpfe wurde bis zur Hälfte steriler Boden angefüllt, dann auf denselben je 10 cm einer reichlich Sporen und Fäden des *Bac. anthracis* enthaltenden Bouillon aufgegossen, auf den so befeuchteten Boden die keimfrei gemachten Samen von Gerste, Weizen, Hafer, Raps und Kukurutz eingebettet und dann die Blumentöpfe bis nahe dem Rande d. i. ca. 8 cm hoch mit sterilem Boden angefüllt.

Behufs Entfernung der den Samen anhaftenden Microorganismen wurden dieselben kurze Zeit in 2% ige Sublimatlösung gelegt, dann auf einem sterilen Papierfilter mit sterilisirtem Wasser, Alkohol und Aether bis zum Verschwinden der Chlorreaction ausgewaschen und mit einer frisch ausgeglühten Pincette in Nährbouillon übertragen, um einer 24 stündigen Brutwärme ausgesetzt zu bleiben. Aus dem Klarbleiben der Bouillon konnten wir auf die sichere Entfernung der Samen etwa anhaftender Microorganismen schliessen; trüb gewordene Bouillonröhrchen wurden entfernt und nicht zu den Versuchen verwendet. Die Keimfähigkeit der so behandelten Samen hatte nicht gelitten¹⁾.

1) Die Pflanzen wurden bei Zimmertemperatur gezogen und jeden zweiten Tag mit mässigen Mengen sterilen Wassers begossen.

Nach Ablauf von 2 Monaten bei der ersten Versuchsreihe und von 3 Monaten bei der zweiten Versuchsreihe wurden die Versuche abgebrochen und Erde und Pflanzen mikroskopisch und bacteriologisch untersucht.

Die mikroskopische Untersuchung des Bodens ergab, dass derselbe sowohl an der Stelle (Mitte des Topfes), an welcher die milzbrandhaltige Bouillon aufgegossen wurde, als auch an allen oberhalb gelegenen Schichten, bis zur Oberfläche, reichlich mit Milzbrandporen durchsetzt war. Milzbrandfäden oder Bacillen wurden keine vergefunden. Die Impfung der verschiedenen Bodenproben auf weisse Mäuse ergab in allen Fällen typischen Milzbrand, sowie auch die Plattenculturen zahlreiche Milzbrandcolonien aufwiesen.

Die nicht vorher mit Sublimat gewaschenen Wurzeln und im Boden befindlichen Theile der Versuchspflanzen riefen ebenfalls an den Versuchsmäusen typischen Milzbrand hervor; wurden aber die vorsichtig ausgezogenen Pflänzchen wie ehemals die Samen mit Sublimat, Alkohol und Aether gewaschen, gelang es nicht mehr die Mäuse durch Impfung kleiner Pflanzenstückchen (aus Wurzel und Stamm) an Milzbrand erkranken zu machen, ebenso blieben die gegossenen Agarplatten steril.

Die mikroskopische an feinen Schnitten durchgeführte Untersuchung der Wurzel etc. von in der Milzbranderde gewachsenen Pflanzen ergab ebenfalls die völlige Abwesenheit des Milzbrandes in den pflanzlichen Geweben.

Wir können demnach auf Grund unserer Versuche nur die Angabe jener Forscher bestätigen, welche die Möglichkeit eines Eindringens von Milzbrandbacillen in die Gewebe lebender und wachsender Pflanzen negiren; ob ein Proliferiren des Milzbrandes in lädirten Stellen lebender Pflanzen stattfindet und wenn, ob dann von diesen Stellen aus ein Durchwachsen des umgebenden intacten Pflanzengewebes stattfindet, darüber wird nach Abschluss einer eben im Gange befindlichen Versuchsreihe berichtet werden.

Es kann uns allerdings eingewendet werden, dass der Milzbrandbacillus eine ganz besondere Grösse hat und dadurch schon sein Eindringen in die Pflanzengewebe erschwert wurde, und wir, wenn wir statt des grossen Anthraxbacillus kleine Microorganismen in den Versuch einbezogen hätten, vielleicht zu anderen Resultaten gekommen wären. Wir hatten auch anfänglich andere kleinere

Microorganismen noch in die Versuche einbeziehen wollen, sind aber dann davon abgegangen, weil wir vorerst denjenigen Microorganismus in Betracht ziehen wollten, welcher nachgewiesener Maassen spontane Epizootien hervorruft und bei welchem die Infection der Thiere durch Aufnahme der Nahrung am meisten sichergestellt ist.

In unseren Versuchen ist aber eine Erscheinung zu Tage getreten, welche für die Beurtheilung der Milzbrandherde nicht ohne wesentliche Bedeutung ist. Wir haben schon erwähnt, dass in der Erde keine Bacillen gefunden wurden, dass hingegen auch jene Theile des Bodens, die mit der eingegossenen Milzbrandcultur in gar keine Berührung gekommen sind, von vollvirulenten Milzbrandsporen durchsetzt waren.

Ein Transport der Milzbrandsporen durch Steigen und Fallen des Grundwasserspiegels war in unserem Falle natürlich ausgeschlossen, ebenso die Anwesenheit von Würmern oder Larven etc. im Boden, welche mechanisch bei ihren Wanderungen die Sporen hätten verschleppen können. Diejenigen Sporen, welche die emporwachsende Pflanze etwa mechanisch mit in die Höhe gezogen hätte, wären offenbar nur auf den nächsten Umkreis des Stämmchens beschränkt geblieben, wenn aber dennoch auch die weitere Umgebung des Pflanzenstämmchens von Milzbrandsporen durchsetzt war, muss dies eine andere Ursache haben und diese glauben wir dem capillaren Aufsaugungsvermögen des Bodens zuschreiben zu sollen¹⁾. Für diese Ansicht spricht auch die Erfahrung, dass gerade in den heissen Monaten am häufigsten der Darmmilzbrand auftritt, also zu einer Zeit, wo die oberen Bodentheilchen am wenigsten Wasser enthalten und ihr Wasseraufsaugungsvermögen am grössten ist. Mit dieser Anschauung steht ferner auch im Einklange, dass Milzbrandherde vorwiegend in humösen, lockeren Böden nachgewiesen worden sind. Es würden also hierdurch die durch R. Koch, Nocard, Wald, Soyka u. A. ausgesprochenen Bedingungen für die Entstehung von Milzbrandherden noch eine fernere Bestätigung und Erweiterung finden und manche in der Literatur vorkommenden spontan auftretenden Fälle von Fütterungsmilz-

1) Falls nicht angenommen werden soll, dass im Anfange ein Durchwachsen der Erde mit Milzbrandfäden stattgefunden hat, welche dann wegen Erschöpfung des Nährsubstrates sistirte und der Sporenbildung Platz machte.

brand, welche auf die von den genannten Forschern erwähnten Infektionsmöglichkeiten nicht passen, aufzuklären sein.

Bei der hohen Unempfindlichkeit der Milzbrandsporen, die ja als Bodenmilzbrand nahezu allein in Frage kommen, gegenüber vielen sonst Microorganismen schädigenden Factoren, namentlich deren nahezu unbegrenzt lange dauernde Virulenz sollte doch die Vertilgung der Milzbrandcadaver und sonstiger Abfälle auf thermo-chemischem Wege vorgenommen und von dem, wenn auch tiefen Vergraben solchen milzbrandhaltigen Materiales abgegangen werden.

Literatur.

A. Fernbach, De l'absence des microbes dans les tissus végétaux.

Annal. de l'Inst. Pasteur 1888. October. (No. 10.)

A. Di Vestea, De l'absence des microbes dans les tissus végétaux.

ibidem.

A. Jorissen, Acad. royale de Belgique, 1891.

Theod. Kitt u. O. Bollinger, Zur Aetiologie des Milzbrandes.

Sitzungsberichte d. Ges. f. Morphologie u. Physiologie. 10. Febr. 1885.

Wilh. Koch, Milzbrand u. Rauschbrand. Stuttgart 1886.