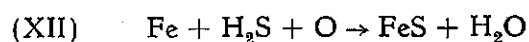


tueele rol van de microben bij deze omzetting van FeS in FeS₂, hoewel het proces ook exothermisch is.

Alvorens de opsomming van de bacteriën-werkingen bij den ijzer-kringloop te beëindigen wil ik nog even wijzen op een specialen vorm van sulfaat-reductie, n.l. niet ten koste van de oxydatie van organische stof, maar van metallisch ijzer. Het bij de gewone desulfatatie met organische stof ontstaande H₂S (VII) kan n.l. niet alleen op ijzeroxyde, maar ook op metallisch ijzer inwerken onder vorming van FeS, als er maar een acceptor voor de erbij vrijkomende waterstof aanwezig is. En deze acceptor is nu de zuurstof van de sulfaten, schematisch voorgesteld door:



Dit proces, waarbij het metallische ijzer dus de rol van de oxydabele organische stof bij de gewone desulfatatie overneemt, en dat voor het eerst door von Wolzogen Kühn enkele jaren geleden afdoende verklaard werd, leidt vaak tot een sterke aantasting van ijzeren voorwerpen in sulfaat-rijke anaërobe gronden. Voornamelijk gietijzeren waterleidingbuizen worden vaak op deze wijze beschadigd. Het proces staat bekend onder den naam van „grafiteering”, aangezien het in gietijzer aanwezige grafiet daarbij overblijft, terwijl het ijzer eruit verdwijnt en in FeS- en FeS₂-korsten overgaat. Voor een nadere uiteenzetting van dit proces zij verwezen naar de betreffende publicaties van von Wolzogen Kühn. Indirect is deze anaërobe aantasting der buisleidingen dus terug te voeren op de werking der sulfaat-reduceerende organismen.

Nu is het sulfaat niet de eenig mogelijke waterstof-acceptor bij de inwerking van zwavelwaterstof op ijzer. Bij voorloopige proeven in deze richting meen ik geconstateerd te hebben, dat nitraten daartoe eveneens in staat zijn, en dat de grafiteering nog vlugger verloopt, als de grond naast sulfaten ook veel nitraten bevat. In bepaalde omstandigheden, n.l. bij voortdurende toevoer van nitraten en in organische stof- en koolzuur-rijke gronden schijnt metallisch ijzer zelfs bij een zeer gering gehalte aan sulfaten en H₂S merkbaar aangetast te worden. Het koolzuur en de organische (humus-) zuren schijnen dan de rol van de zwavelwaterstof over te nemen en tasten het ijzer aan onder vorming van het ijzerbicarbonaat of de ijzer-humaten, terwijl de vrijkomende waterstof door het nitraat geoxydeerd wordt. Deze vorm van grafiteering zou dan vooral in sterk door organische stoffen verontreinigde gronden, waar in de bovenste lagen een levendige salpeter-vorming plaats heeft, verwacht moeten worden. De proeven hierover zijn echter nog te zeer in het beginstadium om er nu al vaste conclusies uit te kunnen trekken. Ik deel het hier dan ook slechts als een hypothese mede *).

*) Na het houden dezer voordracht bleek mij, dat von Wolzogen Kühn de hier aangeduide uitbreiding aan het begrip „graphiteering” reeds gegeven had in zijn recente publicatie in het tijdschrift „Water” 1938, No. 3 en No. 4.

631.461.7 : 631.416.856 : 631.416.871
OMZETTINGEN VAN KOPER- EN MANGAANVERBINDINGEN DOOR BACTERIËN EN SCHIMMELS *)

door

E. G. MULDER.

Koper en mangaan behooren tot de elementen, die noodig zijn voor een normalen plantengroei. De hoeveelheden van deze stoffen, die daarvoor vereischt zijn, zijn echter zoo klein, dat verschillende voorzorgsmaatregelen genomen moeten worden om in water- en kwartszandculturen verschijnselen van koper- en mangaangebrek te verkrijgen.

Er zijn echter tal van gronden, waarin de koper- en de mangaanvoorziening der planten te wenschen overlaten. Het is n.l. gebleken, dat de zgn. ontginningsziekte, die veelvuldig in ons land, Duitschland, Denemarken, Zweden en vermoedelijk ook in Florida in N.-Amerika voorkomt ¹⁾, een gevolg is van een onvoldoende voorziening van de planten met oplosbaar koper.

Voor de bepaling van het gemakkelijk oplosbare koper in grond wordt gebruik gemaakt van een microbiologische methode. Deze berust op het feit, dat ook de schimmel *Aspergillus niger* voor een normale ontwikkeling kleine hoeveelheden koper noodig heeft. Kweekt men haar in een voedingsoplossing, die door speciale voorzorgsmaatregelen van koper bevrijd is, dan vormt de schimmel geen sporen, terwijl ook de myceliumontwikkeling tamelijk slecht is. Toevoeging van 0.2 γ koper als CuSO₄ · 5 H₂O aan 40 cm³ voedingsoplossing geeft een beteren mycelium-groei, terwijl gele sporen gevormd worden. Bij 0.4 γ Cu is de sporenkleur licht grijsbruin, bij 1 γ grijsbruin, bij 2 γ zwartbruin en bij 2.5 γ zwart.

De kleur van de schimmelsporen is dus een maat voor de hoeveelheid koper, waarover de schimmel beschikt. Wanneer men nu aan de kopervrije voedingsoplossing 1 gram luchtdrogen grond toevoegt en vervolgens ent met een sporensuspensie, kan men na vier dagen, door de kleur van de gevormde schimmelsporen te vergelijken met die van een standaardserie, de hoeveelheid voor de schimmel bruikbaar koper bepalen. Uit het onderzoek van ruim 75 gronden is gebleken, dat er een zeer duidelijke correlatie bestaat tusschen gezondheidstoestand der planten en hoeveelheid voor *Aspergillus niger* opneembaar koper in den grond.

De oorzaak van het lage gehalte aan bruikbaar koper is bij sommige gronden een gevolg van het lage kopergehalte, bij andere daarentegen van het niet opneembaar zijn van wel aanwezig koper. Bij het vastleggen van koper spelen bepaalde humus-verbindingen een rol. Dit kon worden bewezen door aan verschillende veensoorten opklimmende hoeveelheden koper toe te dienen en ze daarna te brengen in *Aspergillus*-culturen, waarna het bruikbare koper kon worden bepaald. Deze vastlegging van koper wordt door verhitting versterkt. Drogen van de vochtige humus, waaraan koper is toegevoegd, heeft

*) Voordracht gehouden tijdens de Vijfde Wetenschappelijke Bijeenkomst van de Sectie Nederland van de Internationale Bodemkundige Vereeniging, op 26 Maart 1938 te Wageningen.

¹⁾ Zie mijn dissertatie, Wageningen, 1938.

tot op zekere hoogte hetzelfde effect. Micro-organismen zijn hierbij indirect van beteekenis, doordat zij werkzaam zijn bij de vorming van de humusverbindingen.

Met een meer directe microbiologische werking hebben we te maken bij de vastlegging van koper door zwavelwaterstofvormende bacteriën. Wanneer men aan een cultuur van *Vibrio desulfuricans*, een anaëroobe bacterie, die uit sulfaten H_2S kan vormen, 5% koper toevoegt, eenige dagen later gaat steriliseeren en vervolgens de uitgewerkte voedingsoplossing van de bacterie toedient aan een cultuur met *Aspergillus niger*, dan blijkt, dat de schimmel gele sporen vormt, d.w.z. dat het toegediende koper niet bruikbaar is voor *Aspergillus*. Hetzelfde resultaat wordt verkregen, indien men werkt met *Bll. putrificus*, een anaëroob organisme, dat uit eiwitten H_2S vormt, en met *B. coli*, die bij aanwezigheid van cystine groote hoeveelheden H_2S kan vormen. In culturen zonder H_2S -vorming, b.v. van *B. herbicola* en van *B. coli* in aërobe voedingsoplossingen met minerale zouten en glucose als eenige koolstofbron kon deze kopervastlegging niet worden waargenomen. Op welke manier de binding van koper in bovengenoemde culturen tot stand komt, is onbekend. Vorming van koper-sulfide zonder meer is het waarschijnlijk niet, daar deze verbinding in de aërobe schimmelculturen gemakkelijk wordt geoxydeerd tot oplosbare koperzouten en dan goed bruikbaar is.

Door proeven met haver en gerst in watercultuur is gebleken, dat het door H_2S -vormende microben gebonden koper ook door de hogere planten niet kan worden opgenomen. In welke mate deze microbiologische kopervastlegging in den natuurlijke grond voorkomt, is nog onbekend. Door het scheppen van anaëroobe voorwaarden, b.v. door dichte vulling en slechte bewerking van den grond in potproeven, konden in sommige gevallen de verschijnselen van kopergebrek worden verergerd. Men moet hier, naast een verminderde oplosbaarheid van het koper, echter ook rekening houden met een slechtere beworteling van de planten in de potten met slechte structuur.

Evenals koperzouten bij de genezing van de ontginningsziekte, kent men ook mangaanverbindingen als geneesmiddel van een bepaalde bodemziekte, n.l. van de zgn. veenkoloniale haverziekte. Deze ziekte, die reeds in 1909 door Hudig en Sjollemas²⁾ is beschreven, komt voor op gronden, die een zekere hoeveelheid organische stof bezitten en waarvan de reactie ongeveer neutraal is. Kleigronden b.v. zijn als regel weinig gevoelig voor deze ziekte; mengt men echter klei- en veengronden met elkaar, wat in de natuur bij de zgn. rodoorngronden is gebeurd, dan ziet men bij gunstige pH-waarden de ziekte vaak spoedig verschijnen. De werking van het geneesmiddel is meestal slechts van korten duur. Een veel beter middel is de verlaging van de pH. In dit geval is de ziekte meestal voorgoed verdwenen.

Door de onderzoekingen van Samuel en Piper³⁾ en van Gerretsen⁴⁾ is het zeer waarschijnlijk geworden, dat de oorzaak van de haver-

²⁾ J. Hudig en B. Sjollemas, Versl. v. landbk. onderz. der Rijkslandb. proefst. 5 (1909).

³⁾ G. Samuel and C. S. Piper, Ann. Appl. Biol. 16, 493 (1929).

⁴⁾ F. C. Gerretsen, Versl. landbk. onderz. Rijkslandb. proefst. Groningen 42 (1) A (1936).

ziekte een gevolg is van een onvoldoende mangaanvoorziening van de planten. Het is n.l. gebleken, dat de oplosbaarheid van het mangaan in nauw verband staat met den zuurgraad van den grond. Op dit verband is vóór Gerretsen reeds door Söhngen⁵⁾ en door von Wolzogen Kühr⁶⁾ gezezen.

Naar aanleiding van de resultaten van deze onderzoekers is het waarschijnlijk, dat mangaan in twee verschillende vormen in den grond kan voorkomen, n.l. in den vorm van oplosbare mangaanverbindingen, die stabiel zijn in zure omgeving, en in onoplosbare mangaanverbindingen.

De omzetting van mangaan tot mangani is een oxydatie, die zuiver chemisch verloopt bij een pH van 10 en hooger. Dergelijke pH-cijfers vindt men niet in den grond, zoodat deze omzetting daar geen rol zal spelen. Bij een pH < 10 kan deze chemische reactie echter ook nog plaats vinden, indien oxyzure zouten aanwezig zijn; deze katalyseeren de mangaan-oxydatie. Men kan dit demonstreeren met agarplaten, waaraan is toegevoegd 2% calciumgluconaat en 2% mangaansulfaat. Wanneer men in het midden van dergelijke platen een stukje natriumbicarbonaat legt, ziet men na verloop van 24 uur een bruin veld van mangaanoxijde. Bij aanwezigheid van vetzure of minerale zouten geschiedt deze omzetting niet, d.w.z. dat een plaat met calciumbutyraat en $MnSO_4$ geen bruine hof vormt. Naar aanleiding van deze proeven, die reeds in 1914 door Söhngen zijn beschreven, is het goed denkbaar, dat ook in den grond deze chemische mangaan-omzetting kan plaats hebben. Men kan dan zeer goed de schadelijke werking van een toediening van natriumnitraat aan dergelijke gronden verklaren. Doordat de planten meer NO_3^- dan Na^+ opnemen, krijgt men in de omgeving der wortels een overmaat Na^+ , dat met het uitgescheiden koolzuur $NaHCO_3$ zal vormen. Dit kan, bij aanwezigheid van oxyzuren, de mangaanomzetting tot stand brengen. Bij deze chemische mangaanomzetting kunnen micro-organismen een indirecte rol spelen, doordat ze in staat zijn uit allerlei plantenresten oxyzuren te vormen, b.v. de aërobe cellulosesplitters, die uit cellulose oxyzuren kunnen maken. Men kan nu de resultaten van Hudig begrijpen, die juist bij in aërobe rotting verkeerende stoffen als filtreerpapier en watten zeer hevige verschijnselen van de haverziekte kon verkrijgen.

Door het onderzoek van Söhngen is verder gebleken, dat verschillende gewone bodembacteriën op platen met een oxyzuur zout + mangaansulfaat mangaanoxiden kunnen vormen. Ook hier hebben we blijkbaar te maken met een indirecte werking der micro-organismen, daar het volgens Söhngen de door de micro-organismen veroorzaakte pH-verhoging is, die voor de mangaanomzetting verantwoordelijk is. Deze zelfde organismen, gekweekt op platen met een vetzuur zout, vormen daar geen mangaanoxijde.

Naast deze indirecte microbiologische mangaanprecipitatie kent men een door typische mangaan-organismen veroorzaakte, directe mangaanoxijdatie.

⁵⁾ N. L. Söhngen, Zentr. Bakt. Parasitenk. II 40, 545 (1914).

⁶⁾ C. A. H. von Wolzogen Kühr, J. Am. Water Works Assoc. 18, 1 (1927).

Deze mangaanorganismen, die door Beijerinck⁷⁾ en von Wolzogen Kühr zijn beschreven, benutten de energie, die vrij komt bij de oxydatie van mangaanverbindingen tot manganioxyden, voor den opbouw van hun celmateriaal. Men kan ze kweken op agarplaten, waaraan, behalve de gewone voedingszouten, een geringe hoeveelheid Na-acetaat en verder $\pm 1\%$ MnCO_3 zijn toegevoegd. Vooral schimmels vormen op dergelijke platen groote massa's bruinsteen; bacteriën ontwikkelen zich veel minder snel en verliezen meestal na korten tijd het mangaan-oxydeerend vermogen.

Door het onderzoek van Gerretsen is gebleken, dat deze micro-organismen hun optimale werkzaamheid bij ongeveer neutrale reactie bezitten.

Men kan nu goed verklaren, waarom op haverzieke gronden de werking van een toediening van MnSO_4 slechts van korten duur is. Men doet door deze handeling niet anders dan het bevorderen van de bruinsteenvormende organismen, die in korten tijd al de oplosbare mangaanverbindingen in onoplosbare manganioxyden zullen hebben omgezet.

Bij de omzetting van manganioxyden in oplosbare manganozouten, een proces, dat bij een lage pH plaats vindt, kunnen micro-organismen eveneens een rol spelen. Volgens Söhngen zijn het weer de organismen die oxyzuren vormen, die tot deze omzetting in staat zijn. Men kan dit demonstreeren door verschillende microben uit te strijken op agarplaten met minerale zouten, glucose en bruinsteen. Ontstaan van een helder veld om een entstreep wijst op de oplossing van het bruinsteen. Van de door mij onderzochte organismen waren *Acetobacter melanogenum* en in geringere mate *A. aceti* tot deze omzetting in staat.

Bij verschillende anaerobe processen kan eveneens MnO_2 tot mangaanverbindingen worden gereduceerd.

Tenslotte wil ik nog wijzen op het verband tusschen koper- en mangaanvoorziening van de planten in den grond. Wanneer men een ontginningszieken grond, die een ongeveer neutrale reactie heeft, geneest met kopersulfaat, ziet men vaak de verschijnselen van de veenkoloniale haverziekte voor den dag komen. De reden hiervan is waarschijnlijk te zoeken in een, door het koper gekatalyseerde, microbiologische mangaanprecipitatie. Wanneer men n.l. mangaan-oxydeerende schimmels kweekt op agarvoedingsbodems + manganocarbonaat, die door verschillende bewerkingen van koper zijn bevrijd, dan is de bruinsteenvorming aanzienlijk slechter dan wanneer $5 \gamma \text{Cu}$ per plaat is toegevoegd.

631.416.322

DE KRINGLOOP VAN DE ZWAVEL EN HAAR BELANG VOOR DE BODEMKUNDE *)

door

L. G. M. BAAS BECKING.

Het ligt niet in de bedoeling in deze voordracht een overzicht te geven van onze kennis van de bacteriën, die deelnemen aan den kringloop van de zwavel. Een

⁷⁾ M. W. Beijerinck, *Folia Microbiologica* II, 123 (1913).

*) Voordracht gehouden tijdens de Vijfde Wetenschappelijke Bijeenkomst van de Sectie Nederland van de Internationale Bodemkundige Vereeniging, op 26 Maart 1938 te Wageningen.

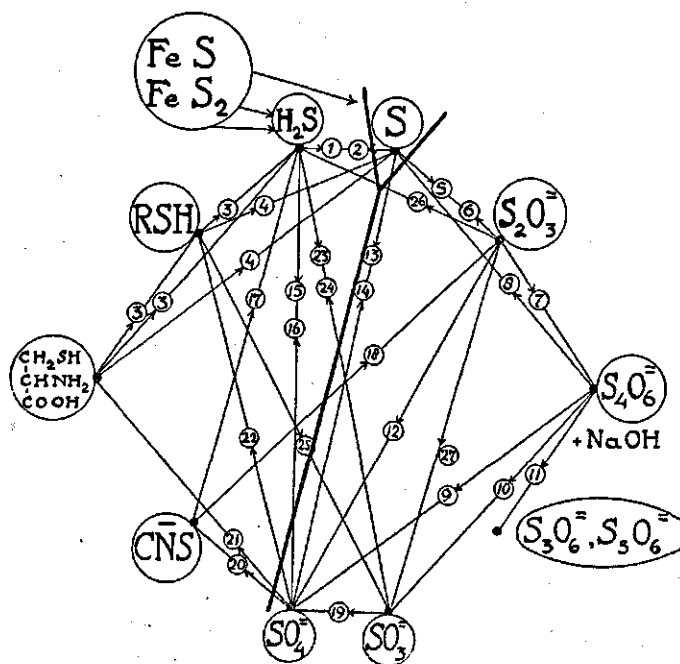
uitvoerig en helder geschreven overzicht van dezen cyclus is gegeven door Bunker¹⁾. Veeleer zal worden getracht de mogelijkheden van zwavelomzetting in de natuur te bezien als geochemisch gebeuren, waarbij dus de specificiteit van de bacterie op den achtergrond raakt.

Zwavel, ofschoon wijd verbreid, is een niet zeer frequent element, dat evenmin door levende wezens wordt geconcentreerd. De gehalten in zeewater, respectievelijk in dieren en planten zijn van dezelfde grootte-orde. De verbindingen waarin de zwavel voorkomt, kunnen in twee groepen worden verdeeld, n.l. die waarin de zwavel als tweewaardig-negatief element optreedt (grootte ionstraal) en de verbindingen waarin zij zeswaardig positief is (kleine ionstraal). De eerste groep van verbindingen, waarvan het sulfide het prototype is, omvat bij nadere beschouwing ook de mercaptanen, de cystine, de thiocyanaten — alle verbindingen die, vergeleken met die van de zeswaardige positieve zwavel, op een hoog energieniveau staan. De laatste groep, waarvan het sulfaat het prototype is, komt eveneens in het protoplasma voor en wel o.a. als geconjugeerde sulfaten, zooals in chondriotine, mucootine (heparine) etc.

Onder de omzettingen van zwavelverbindingen in de natuur zijn vooral die reacties belangrijk, die een omzetting van „sulfide”- tot „sulfaat”-niveau (of omgekeerd) bewerken.

In nevenstaand schema zijn de voornaamste, voor de bodemkunde belangrijke verbindingen vereenigd, waarbij de zware lijn het „sulfide”- van het „sulfaat”-gebied scheidt.

Gezien het groote verschil in dissociatieconstanten tusschen het zwavelzuur en de zwavelwaterstof zal



een overgang van het sulfaat- naar het sulfidegebied veelal parallel gaan met een vermindering van de waterstofionenconcentratie en vice versa. De eerste

¹⁾ H. J. Bunker, A review of the physiology and biochemistry of the Sulphur Bacteria. Sc. and Ind. Res. Chem. Spec. Report No. 3. 1936.