© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN

Sitzung vom 25. Januar 1907.

Vorsitzender: Herr L. Kny.

Als ordentliche Mitglieder sind vorgeschlagen die Herren:

Niemann, G., Lehrer in **Magdeburg** (durch W. Detmer und E. Stahl),
Christensen, Carl, mag. scient. in **Kopenhagen** (durch Eug. Warming und Fr. Boergesen).

Der Vorsitzende macht der Gesellschaft Mitteilung von dem im Januar 1907 erfolgten Ableben unseres korrespondierenden Mitgliedes des

Herrn Lektor **Rostrup**

in Kopenhagen, der sich als Mykologe einen hervorragenden Namen gemacht hat.

Um das Andenken des Verstorbenen zu ehren, erheben sich die Anwesenden von ihren Sitzen.

Mitteilungen.

I. W. Benecke: Über stickstoffbindende Bakterien aus dem Golf von Neapel.

Eingegangen am 22. Januar 1907.

JUL 14 1922

In seiner Arbeit „Über die Bedeutung vertikaler Wasserbewegungen für die Produktion des Planktons im Meere“, in welcher er den Nachweis zu erbringen sucht, dass diejenigen Orte der See, „die durch reiches Organismenleben ausgezeichnet sind, auch die Bedingungen für vertikale Durchmischung der Wasser-

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

massen aufweisen", streift NATHANSOHN[1]) verschiedene meeresbakteriologische Fragen und berichtet bei dieser Gelegenheit, dass es ihm trotz lange fortgesetzter Versuche niemals gelungen sei, das Vorkommen nitrifizierender und stickstoffbindender Bakterien im Wasser oder am Grunde des Golfes von Neapel nachzuweisen. Er kommt daher zu dem Schluss, dass diese Bakterien, deren Tätigkeit von anderen Forschern als bedeutungsvoll für den Stoffwechsel des Meeres angesehen wird, tatsächlich im Meere keine Rolle spielen.

Der vorliegende Aufsatz soll lediglich die Frage beantworten, ob NATHANSOHN's Ansicht, dass stickstoffbindende Bakterien im Neapler Golf fehlen, stichhaltig ist. Eine Behandlung anderer Bakterien oder ein Eingehen auf allgemeine Fragen des Meeresstoffwechsels, die den Hauptinhalt der genannten Arbeit NATHANSOHN's bilden, ist an diesem Orte nicht beabsichtigt.

NATHANSOHN schreibt auf S. 431: „Betreffs der Fragen nach dem Umsatz der Stickstoffverbindungen im Meere stehen wir gleichfalls noch einer Reihe von ungelösten Problemen gegenüber. BENECKE und KEUTNER haben aus dem Wasser der Ostsee Formen aus der Gattung *Azotobacter* isoliert, also Bakterien, die die Fähigkeit haben, freien Stickstoff zu binden und in organische Form überzuführen. Wären diese Formen allgemein verbreitet, so würden sie gewiss im Stoffwechsel des Meeres eine grosse Rolle spielen, ich kann aber nur soviel sagen, dass ich schon früher in zahlreichen Versuchen vergeblich nach solchen Bakterien gesucht habe, und es erscheint nicht unwahrscheinlich, dass ihr Vorkommen in der Ostsee gleichfalls dem Einfluss des Süsswassers zuzuschreiben ist."

Hierzu möchte ich zunächst bemerken, dass NATHANSOHN mit dem Satz: „Wären diese Organismen allgemein verbreitet, so würden sie gewiss eine grosse Rolle spielen", prinzipiell vollständig den Ausführungen beistimmt, welche REINKE[2]) in seiner von NATHANSOHN nicht zitierten Mitteilung „Über die zur Ernährung der Meeresorganismen disponiblen Quellen an Stickstoff" gibt. Wenn er gleichwohl zu einem anderen Ergebnis als REINKE kommt und der bakteriellen Stickstoffbindung im Meere keine Bedeutung beimisst, so liegt das eben nur daran, dass er nicht so glücklich war, stickstoffbindende Formen im Neapler Golf zu finden. — Wenn dann NATHANSOHN, wie oben angeführt, weiter sagt, dass das von KEUTNER und mir nachgewiesene Vorkommen des *Azotobacter* in der Ostsee „dem Einfluss des Süsswassers" zuzuschreiben sei, so lässt sich das hören, falls NATHANSOHN mit dem etwas unbestimmten

1) A. NATHANSOHN, Abh. der math.-phys. Cl. der Kgl. sächs. Ges. der Wissensch., 1906, Bd. 29. Nr. 5, S. 335.

2) J. REINKE, diese Berichte 1903, Bd. 21, S. 371.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Ausdruck: „Einfluss des Süsswassers" sagen will, dass *Azotobacter* vielleicht vor Zeiten mit den Flüssen in die Ostsee eingeschwemmt worden sei. Diese Möglichkeit hat niemand bestritten. Will aber, wie ich vermute, NATHANSOHN der Meinung Ausdruck verleihen, dass *Azotobacter* zwar im schwach salzhaltigen Ostseewasser, aber nicht in dem stärker salzhaltigen anderer Meere leben kann, so ist diese Meinung schon widerlegt gewesen, ehe sie niedergeschrieben wurde. Denn KEUTNER[1]) hat in seiner von NATHANSOHN gleichfalls nicht zitierten Arbeit „Über das Vorkommen und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien im Meere" gezeigt, dass *Azotobacter* nicht nur in der Ost-, sondern auch in der Nordsee und dem indischen Ozean nachgewiesen werden, in der Kultur sogar noch bei einem Salzgehalt von 8 pCt. gezüchtet werden kann. —

NATHANSOHN führt dann weiter aus, dass das Fehlen stickstoffbindender Bakterien im Meere durchaus begreiflich sei; denn WINOGRADSKY habe nachgewiesen, dass „diese Bakterien" (in Wirklichkeit hat W. nur *Clostridium Pasteurianum* untersucht) sehr wenig ökonomisch arbeiten. *Clostridium Pasteurianum* z. B. brauche 1 *g* Zucker, um 3 *mg* Stickstoff festzulegen, so reichliche Kohlenstoffquellen stünden aber im Meere nur agarlösenden Bakterien zur Verfügung, und diese könnten, wie er selbst nachgewiesen habe, den gasförmigen Stickstoff nicht verwerten.

Es fällt auf, dass NATHANSOHN bei dieser Gelegenheit nicht mitteilt, ob der Nachweis von *Clostridium Pasteurianum* oder anderen anaëroben Nitrogenbakterien ihm ebenfalls misslungen ist. Übrigens steckt in seinen ebengenannten Ausführungen zweifellos ein richtiger Kern: denn der blosse Nachweis stickstoffbindender Bakterien genügt noch nicht, um das Mass ihrer Bedeutung für den Meeresstoffwechsel festzustellen, hierfür müssen die gesamten zum Teil noch sehr wenig bekannten Standortsverhältnisse mit berücksichtigt werden. Trotzdem geht er mit seinen theoretischen Erwägungen viel zu weit. Es ist keineswegs sicher, dass *Clostridium Pasteurianum* am natürlichen Standort ebenso wenig ökonomisch arbeitet, als in Reinkultur; und wenn agarlösende Bakterien freien Stickstoff nicht verwerten können, so ist doch wahrscheinlich, dass sie durch Hydrolyse des Agars Stoffe bilden, die ihrerseits stickstoffbindenden Bakterien als Nahrung dienen. Mit Rücksicht auf KEUTNER's Angabe, dass *Azotobacter* auf der Oberfläche von Meeresalgen angetroffen werden kann, wäre es nicht ohne Interesse, zu untersuchen, ob Mischkulturen von Agarbakterien und *Azotobacter*, die Agar als

---

1) J. KEUTNER, Wissensch. Meeresuntersuchungen. Kiel, N. F. 1904, Bd. 8 Seite 27.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

einzige C- und freien Stickstoff als einzige N-Quelle führen, zu gedeihen vermögen. —

Vor einem weiteren Eingehen auf derartige Fragen schien es nun vor allem wünschenswert festzustellen, ob wirklich im Wasser des Mittelmeeres stickstoffbindende Bakterien fehlen. Durch freundliche Vermittlung des Herrn Prof. Paul Mayer wurden mir zweimal im Laufe des vorigen Jahres Grundproben seitens der zoologischen Station aus dem Golf von Neapel geschickt. Dieselben waren mit offenem Eimer in verschiedener Entfernung vom Lande heraufgeholt, alsbald in sterile Glasröhrchen gefüllt und mir nach Kiel zugesandt worden. Ich führte sie sofort nach ihrer Ankunft in sterile Nährlösungen über, welche enthielten: 1—2 pCt. Mannit und 0,02 pCt. Dikaliumphosphat, gelöst in reinem filtrierten Nordseewasser von Helgoland. Einzelnen Nährlösungen wurde eine Messerspitze Kreide zugesetzt.

Das Ergebnis war, dass in einer grossen Zahl der Kulturen sich eine typische *Azotobacter*-Vegetation entwickelte. Andere Kulturen, in welchen *Azotobacter* nicht aufkam, zeigten, zumal wenn die Nährlösung eine nicht zu flache Schicht bildete, lebhafte Buttersäuregärung, bewirkt durch verschieden geformte Iogenbakterien. Es ist nach den vorliegenden Untersuchungen[1]) kein Zweifel daran möglich, dass auch in diesen Kulturen Stickstoffbindung erfolgte. Eine kleine Zahl von Kulturkolben zeigte nur eine geringe Bakterienentwicklung und nicht jene charakteristischen, stickstoffixierenden Bakteriengesellschaften. —

Die ersten mir übersandten Grundproben waren Anfang Juni 1906 aus Tiefen von 20, 30, 50 und 100 *m* (in der Richtung von Neapel auf Sorrent zu) dem Meeresboden entnommen worden. Sämtliche Kulturen, die mit Schlick aus 20 *m* Tiefe (Entfernung vom Lande: 500 *m*) angesetzt waren, zeigten über kurz oder lang — im Thermostaten bei 30° gezüchtet schon nach drei Tagen — typische, azotobakterführende Häute; Gasentwicklung blieb entweder ganz aus oder war nur sehr mässig. Das Mikroskop liess *Azotobacter chroococcum* Beyerinck in typischer Grösse, Gestalt und Lagerung der Zellen erkennen; der Durchmesser derselben betrug 5 μ. Reichlich waren auch kleinere, 2—3 μ dicke Bakterien vorhanden, die, abgesehen von der geringeren Grösse, viel Ähnlichkeit mit *Azotobacter* hatten, auf Jodzusatz auch die Glykogenreaktion sehr stark zu erkennen gaben.[2])

---

1) Vgl. ausser Winogradsky's Arbeiten:
E. Haselhoff und G. Bredemann, Landw. Jahrb. 1906, Bd. 35, S. 381.
H. Pringsheim, Bakt. Centralb., 2. Abt., 1906, Bd. 16, S. 795.

2) Nach H. Fischer (Journ. für Landwirtsch. 1905, Bd. 53, S. 289) kann der Durchmesser der *Azotobacter*-Zellen zwischen 2 und 5 μ schwanken.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Ausserdem zeigten sich die verschiedensten kleineren Bakterien, Spirillen, iogenführende Clostridien, farblose Flagellaten usw. Besonders auffallend in diesen und auch den meisten anderen Kulturen war ein kleiner, unregelmässig-eiförmiger Spaltpilz, der scharf umgrenzte, aus nur wenigen Zellen bestehende Zooglöen bildete und die Glykogenreaktion ebenso stark wie *Azotobacter* zeigte.

Auch in mehreren der mit Schlick aus 50 *m* Tiefe (Entfernung vom Ufer: 2 *km*) beimpften Kulturen trat *Azotobacter* auf; andere ergaben statt dessen eine lebhafte Buttersäuregärung; bei einem kleinen Teil von diesen zeigte sich später, nachdem die Gärung nachgelassen hatte, die *Azotobacter*-Kahmhaut. Die Gärung war bewirkt durch Clostridien, die zum grössten Teil eine ähnliche Gestalt und Grösse aufwiesen wie *Clostridium Pasteurianum* Winogr.

In Grundproben dieser ersten Sendung, die aus noch grösseren Tiefen stammten (bis 100 *m*), konnte *Azotobacter* nicht mehr mit Sicherheit nachgewiesen werden, die charakteristischen Kahmhäute fehlten; mikroskopisch konnten allerdings immer Bakterien gefunden werden, die durchaus dem *Azotobacter* glichen, ferner jene oben genannte etwas kleinere Form, über deren Zugehörigkeit ich im Zweifel bin. Stets war lebhafte Gasbildung und Geruch nach Buttersäure vorhanden, Clostridien waren wenig oder gar nicht zu finden statt ihrer Plectridien, ferner auch Iogenbakterien, die etwa die Form einer Zigarre hatten. Endlich sehr dünne, säbelförmig gekrümmte, iogenhaltige Paraplectren. —

Es ist bekannt, wie sehr der Verlauf von Rohkulturen stickstoffbindender Bakterien, die mit Bodenproben vom Festlande beimpft werden, abhängt von der chemischen Zusammensetzung und der gesamten Bakterienflora dieser Proben.[1]) Dass dies auch für das Meer gilt, zeigte die Untersuchung der zweiten Grundprobensendung aus dem Neapler Golf, die im Oktober eintraf. Hier versagten nämlich die Proben, die aus nächster Landnähe stammten, fast alle, ergaben keine *Azotobacter*-Vegetation und zeigten überhaupt nur eine geringe Bakterienentwicklung. Das hängt offenbar hauptsächlich damit zusammen, dass die betreffenden Proben sehr arm an organischen Stoffen waren. Dafür entwickelte sich dieses Mal in Kulturen, die mit Schlick aus 100 *m* Tiefe (3 *km* vom Land entfernt) beimpft waren, der *Azotobacter* sehr schön. Ich muss es allerdings fraglich lassen, ob derselbe nun wirklich vom Meeresgrund stammt, oder aus höheren Wasserschichten, da die Grundproben mit offenem Eimer heraufgeholt worden waren. Für die letztere Alternative

1) Als neueste Forscher, die diese Frage behandeln, nenne ich:
H. R. Christensen, Bakt. Centralbl., 2. Abt. 1906, Bd. 17, S. 109.
S. und H. Krzemieniewski, Bull. Ac. sc. Cracovie. Cl. math. nat. 1906, S. 560.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

spricht der Ausfall der oben genannten Versuche, vielleicht auch die Erwägung, dass grosse Meerestiefen keine allzu günstigen Vegetationsbedingungen für *Azotobacter* bieten dürften.[1])

Ausser typisch ausgebildetem *Azotobacter* traf ich in diesen zuletzt genannten Kulturen auch solchen, der durch den Besitz einer mit starker Jodlösung[2]) sich blau färbenden Gallerthülle ausgezeichnet war. Diese Hülle war stets einseitig stärker entwickelt, so dass die Zellen exzentrisch darin sassen; nicht selten sah ich auch leere Gallerthüllen, aus denen die Zellen selbst verschwunden waren. Schwache Jodlösungen liessen die Gallerthülle nicht blau werden. Ich lasse unentschieden, ob *Azotobacter chroococcum* unter bestimmten Bedingungen solche, mit Jod blau färbbare Hüllen bildet, oder ob es sich um besondere Sippen bezw. Spezies handelt, oder aber ob es überhaupt andere Bakterien sind, die sonst dem *Azotobacter* morphologisch ähnlich sind. Ich bemerke nebenbei, dass ich in meinen Kulturen auch sonst Bakterienarten antraf, die ebenfalls eine derartige mit starker Jodlösung sich bläuende Gallerthülle besassen; zum Teil waren ihre Zellen etwa halb so gross, wie die des *Azotobacter*, und lagen häufig zu dichten Klumpen geballt, zum Teil waren sie bedeutend kleiner. Ob die Zellhaut selbst sich mit Jod bläute, konnte ich in keinem Falle feststellen.[3])

Es erhebt sich nun die Frage, wie meine zum grossen Teil positiven Ergebnisse mit NATHANSOHN's zahlreichen durchweg vergeblichen Versuchen, den *Azotobacter* im Golf von Neapel nachzuweisen, in Einklang zu bringen sind. Man wird zunächst an die Möglichkeit denken, dass der von mir verwendete Schlick auf dem Transport irgendwie, z. B. durch Staub vom Lande her, infiziert worden sei. Es ist jedoch unmöglich, mit einer solchen Annahme meine Befunde zu erklären. Denn auf diese Weise hätten unmöglich so viele *Azotobacter*-Zellen in mein Material hineingelangen können, dass schon nach drei Tagen eine starke Kahmhaut sich entwickelt hätte. Auch der positive Ausfall so vieler Versuche lässt sich nicht durch zufällige Infektion erklären.

Es wäre ferner die Möglichkeit zu erwägen, ob *Azotobacter* vielleicht im Golf von Neapel nur ganz sporadisch vorkommt. Doch wäre es dann nicht recht zu verstehen, warum ich ihn trotz einer verhältnismässig geringen Zahl von Versuchen gefunden, NATHAN-

1) Nach E. VON FREUDENREICH (Bakt. Centralbl., 2. Abt. 1903, Bd. 10, S. 519) lässt sich *Azotobacter* in bestimmten Böden bis 50 *cm* Tiefe nachweisen. Beimpft man N-freie Lösungen mit Proben aus grösserer Tiefe, so tritt nur Buttersäuregärung auf.

2) ARTHUR MEYER, Praktikum der Botanischen Bakterienkunde. Jena 1903, Seite 151.

3) Vgl ARTHUR MEYER, diese Berichte 1901, Bd. 19, S. 428.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

SOHN aber ihn trotz zahlreicher Versuche nie gefunden hat. Ich muss aus NATHANSOHN's Angaben entnehmen, dass er viel intensiver nach *Azotobacter* gesucht hat, als ich selbst.

So bleibt wohl nur noch die eine Möglichkeit, dass Verschiedenheit der von uns verwendeten Kulturmethode die Verschiedenheit unserer Ergebnisse nach sich gezogen hat. Da NATHANSOHN über die von ihm gebrauchte Nährlösung nichts angibt, bat ich ihn brieflich um Mitteilung derselben. Er schrieb mir, dass er zuckerhaltige Nährlösungen benutzt habe (Rohr- und Traubenzucker). Ich halte es nun nicht für ganz ausgeschlossen, dass hierin des Rätsels Lösung liegt. Bereits in seiner ersten Mitteilung über *Azotobacter* gibt BEYERINCK[1]) an, dass von der Verwendung zuckerhaltiger Nährlösungen für *Azotobacter*-Rohkulturen abzuraten sei, da in diesen sehr leicht Gärung einsetzt, die, falls sie zu kräftig wird, den *Azotobacter* nicht aufkommen lässt. Nach meinen eigenen Erfahrungen können zuckerhaltige stickstofffreie Nährlösungen sogar dann, wenn sie mit sehr azotobakterreichem, gut durchlüftetem Gartenboden geimpft werden, einer Buttersäuregärung anheimfallen, und *Azotobacter* zeigt sich überhaupt nicht, oder erst nach Beendigung der Gärung, also viel später, als in mannithaltigen Nährlösungen. —

Die wenigen Versuche, über die ich hier berichten konnte, erlauben noch kein Urteil über die Häufigkeit des Vorkommens stickstoffbindender Bakterien im Golf von Neapel; zumal wäre noch zu untersuchen, ob sie auch im Mittelmeer an Algen oder Planktonorganismen anhaftend gefunden werden können, wie das nach KEUTNER für die Ost- und Nordsee gilt. Soviel ist aber gewiss, dass stickstoffbindende Bakterien auch im Golf von Neapel vorkommen, und dass kein Grund vorliegt mit NATHANSOHN anzunehmen, dass „der Zuwachs des Meeres an gebundenem Stickstoff nur von aussen her stattfindet.“

Nachdem somit stickstoffbindende Bakterien in allen Küstenmeeren, die man bisher darauf untersucht hat, nachgewiesen werden konnten, wäre es meines Erachtens besonders verdienstlich, zu untersuchen, ob solche Formen auch im Plankton der Hochsee anzutreffen sind.

Kiel, Botanisches Institut der Universität.

---

1) Bakt. Centralbl., 2. Abt. 1901, Bd. 7, S. 567, 570.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft

Jahr/Year: 1907

Band/Volume: 25

Autor(en)/Author(s): Benecke Wilhelm

Artikel/Article: Über stickstoffbindende Bakterien aus dem Golf von Neapel 1-7