

Im Herbst ist das ganze Mark von *Sambucus* an den einjährigen Sprossen von oben bis unten lufthaltig, und seine Zellen sind tot.

Wenn ich die Resultate der Nachprüfung der Arbeit URSPRUNG's kurz zusammenfassen soll, so lautet das Ergebnis folgendermassen:

Bei *Sambucus nigra* wächst nach Anlage des geschlossenen Holzkörpers das Mark nicht mehr in die Dicke. Ein nachträgliches Wachstum der verholzten Membranen der Gefässe, Librifasern und Markzellen tritt nicht ein; ebenso keine Zellvermehrung. Alle von URSPRUNG in der Zusammenfassung seiner Resultate aufgestellten Sätze erweisen sich darum als unrichtig.

3. Peter Thomsen: Über das Vorkommen von Nitrobakterien im Meere.

Vorläufige Mitteilung aus dem botanischen Institut der Universität Kiel.

Eingegangen am 22. Januar 1907.

Durch die Arbeiten WINOGRADSKY's sind wir mit der Lebensweise der Nitrobakterien auf dem Festlande bekannt gemacht worden; dagegen fehlten bis jetzt eingehende Angaben über die Verbreitung und Morphologie von Nitrifikationsserregern im Meere. Die einzigen Beobachtungen hierüber stammen von BRANDT, der in seiner Abhandlung¹⁾ „Über den Stoffwechsel im Meere“ das Vorkommen nitrifizierender Bakterien in Schlickproben von verschiedenen Stellen der Kieler Förhde nachweist. Es war zu beobachten, dass ammoniakhaltige Nährlösungen, die mit Schlickproben von Bellevue und Boje D beimpft waren, nach einiger Zeit auf Zusatz von Diphenylamin-Schwefelsäure Blaufärbung ergaben. Daher schien es von Wichtigkeit, auf Grund eingehender Beobachtungen die Verbreitung und die Morphologie jener nitrifizierenden Organismen im Meere festzustellen.

Aus diesem Grunde begann ich vor einem Jahre eine Untersuchung dieser Verhältnisse in verschiedenen Küstengebieten. Über die bisherigen Ergebnisse soll diese Mitteilung unterrichten. Die Untersuchungen beschränkten sich zunächst auf die Kieler Förhde. Inzwischen erschien eine Abhandlung NATHANSOHN's „Über die Be-

1) Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen, Kiel. Neue Folge, Bd. 6, S. 73.

deutung vertikaler Wasserbewegungen für die Produktion des Planktons im Meere“.)

In dieser Schrift greift NATHANSOHN auf die Arbeit BRANDT's zurück und glaubt auf Grund umfangreicher eigener Untersuchungen, die er in Neapel anstellte, mit Bestimmtheit das Fehlen der nitrifizierenden Bakterien im Golf von Neapel annehmen zu müssen. Er weist an dieser Stelle noch auf die ebenfalls negativen Ergebnisse GRAN's bei dessen Untersuchungen an der norwegischen Küste hin und zieht daraus den Schluss, dass die nitrifizierenden Bakterien im Meere normaler Weise nicht vorkommen. In bezug auf die Kieler Förde führt NATHANSOHN aus, dass dieses Meeresgebiet durch grosse Landnähe und schwachen Salzgehalt stark beeinflusst sei, dass daher positive Ergebnisse, wie BRANDT sie fand, wenig beweiskräftig seien für die Verbreitung nitrifizierender Bakterien im Meere überhaupt.

Diese Arbeit NATHANSOHN's machte es wünschenswert, die fraglichen Verhältnisse auch in anderen Küstengebieten zu untersuchen. Durch Vermittlung des Herrn Prof. PAUL MAYER erhielt ich Schlickproben aus Neapel. Ausserdem sandte mir Herr Professor KUCKUCK eine Schlammprobe aus der Fahrinne bei Helgoland.

Diese vorläufige Mitteilung betrifft hauptsächlich Nitritbakterien; denn es hat sich aus meinen bisherigen Versuchen ergeben, dass diese Organismen in allen Proben vorhanden waren, sofern dieselben von der Oberfläche des Meeresbodens stammten. Über das Vorkommen der nitratbildenden Organismen im Seeschlick sollen in der späteren ausführlichen Arbeit nähere Angaben gemacht werden. Nach den bisherigen Beobachtungen hat es nämlich den Anschein, als ob diese Bakterien nur in grosser Landnähe (z. B. im Golf von Neapel bis 500 *m* vom Ufer) vorhanden sind; denn alle Schlickproben, die aus grösserer Entfernung vom Lande stammten und mit Nitritnährlösung angesetzt wurden, ergaben ein negatives Resultat. Nirgends konnte eine Umwandlung von Nitrit in Nitrat konstatiert werden. Die Kolben zeigten selbst nach monatelangem Stehen eine tiefschwarze Nitritreaktion, während Schlickproben aus unmittelbarer Landnähe in wenigen Wochen alles Nitrit in Nitrat umgesetzt hatten. Falls diese Ergebnisse allgemeinere Gültigkeit besitzen, so wäre vielleicht damit eine Deutung gewisser NATTERER'scher Resultate möglich. Dieser Forscher konnte nämlich in Wasserproben, die aus grösseren Tiefen des Mittelmeeres stammten, nur salpetrige Säure, nie Salpetersäure nachweisen.

Da meine Beobachtungen nur Küstengebiete betreffen, so muss

1) Abh. der math.-phys. Cl. der Kgl. Sächs. Ges. der Wiss. 1906. Bd. 29, S. 335.

die Frage unbeantwortet bleiben, ob die Nitritbildner auch im offenen Ozean vorkommen. Hier müssen spätere Forschungen einsetzen. Dass sie jedoch im Golf von Neapel auch noch in Tiefen von 100 *m* und 2000 *m* vom Lande entfernt vorhanden sind, scheint mir durch meine bisherigen Untersuchungen einwandfrei festgestellt zu sein.

Ich gehe nun zu einer näheren Beschreibung meiner Versuche über. Als Nährlösung für Nitritbildner wurde die bewährte WINOGRADSKY'sche Nährlösung benutzt. [Zusammensetzung: Ammoniumsulfat 2—2,5 *g*, Dikaliumphosphat 1 *g*, Magnesiumsulfat 0,5 *g*, Chlorcalcium: Spuren, destilliertes Wasser 1 *l*.] Statt des destillierten Wassers verwandte ich für die Mudproben aus der Ostsee entweder Ostseewasser oder eine 1,5- bis 2prozentige Seesalzlösung. Das Impfmateriel aus der Nordsee (Helgoland) und aus dem Golf von Neapel wurde dagegen in einer 3,3- bis 3,7prozentigen Seesalzlösung angesetzt. Für die Kultur der Nitratbildner wurde in der eben erwähnten Nährlösung das Ammoniumsulfat durch 1 *g* Natriumnitrit ersetzt. ERLÉNMEYER-Kolben wurden mit der Kulturflüssigkeit beschickt, die durchschnittlich 1 *cm* hoch den Boden bedeckte. Basisch kohlensaure Magnesia wurde im Überschuss zugefügt und bildete einen Belag von etwa 2 *mm* Stärke. Vor der Impfung wurden die Kolben im Autoklaven sterilisiert. Als Impfmenge diente ungefähr 0,1—0,5 *ccm* Substanz. Zur Untersuchung auf Ammoniak wurde NESSLER's Reagens benutzt, auf Nitrite das Reagens von TROMMSDORFF [Zinkjodidstärkelösung]. Zur Prüfung der Kulturen auf Nitrate diente Diphenylamin-Schwefelsäure (nach Zerstörung des Nitrits durch Aufkochen mit Harnstoff in saurer Lösung).

Zunächst berichte ich über die Befunde in der Kieler Förhrde. Im Laufe des Jahres 1906 wurden an mehreren Stellen des Binnenhafens, der Kieler Förhrde und Aussenförhrde eine grössere Zahl von Schlickproben entnommen und die vorhin erwähnten Kulturgefässe damit beimpft. Die Schlickproben stammten aus Tiefen von 3—20 *m*. Gleichzeitig wurden zur Kontrolle stets Kolben nach der Impfung sterilisiert und im gleichen Raum aufbewahrt. Das Impfmateriel der Kieler Förhrde wurde selbstverständlich vor jeder Infektion geschützt. Es gelangte nach Herausheben mit der Schlammröhre sofort in sterilisierte, mit Watte verschlossene Kolben und wurde daraus zwecks Impfung mittels steriler Platinöse entnommen. Nach einigen Wochen zeigten alle Ammoniakkulturen eine starke Nitritreaktion. Mit dem allmählichen Anwachsen derselben wurde die Ammoniakreaktion schwächer und verschwand schliesslich ganz, so dass die Kolben statt des Ammoniaks jetzt nur noch Nitrit enthielten. Die zur Kontrolle sterilisierten

Gefässe zeigten jedoch während der ganzen Zeit nur Ammoniakreaktion. Sie wiesen auch nach mehrmonatlichem Stehen kein Nitrit auf. Somit war nachgewiesen, dass die Nitritbildung von Organismen herrühren musste und nicht in Verunreinigungen der Laboratoriumsluft usw. ihre Ursache hatte. Dafür sprach weiter, dass der Prozess der Umwandlung des Ammoniaks in Nitrit bei niedriger Temperatur (10—15° C.) viel langsamer verlief, als bei einer Temperatur von 28° C., wie sie im Thermostaten erreicht werden konnte.

Im Gegensatz zu dieser stets erfolgenden Oxydation des Ammoniaks zu Nitrit behielten die Nitritnährlösungen stets ihre Nitritreaktion, wenn das Impfmateriale aus etwas grösserer Entfernung vom Lande stammte. Nur in Schlammproben, die nicht weit vom Lande entnommen waren (z. B. in Kiel: Seeburgbrücke, Wittlingskühle), liessen sich die Nitratbakterien nachweisen.

In den oberen Schichten des Seewassers, auf festsitzenden und auf Planktonalgen liessen sich nitrifizierende Bakterien in keinem Falle auffinden.

Anfang Juni 1906 erhielt ich vier Schlickproben aus Neapel aus 20, 30, 50 und 100 *m* Tiefe. Zur Beschleunigung des Nitrifikationsprozesses gelangten diese Kulturen in den Thermostaten (28° C.). Nach 16 Tagen gaben sämtliche Neapler Kulturen die erste Nitritreaktion. Dass diese positiven Ergebnisse vollständig einwandfrei waren, sollte durch eine zweite Untersuchung seine Bestätigung finden. Deshalb wurden Ende Oktober 1906 nochmals Schlickproben aus Neapel bezogen. Diese stammten von verschiedenen Stellen des Golfes aus 20, 30, 50 und 100 *m* Tiefe. Die Entfernung vom Ufer war 500, 700, 1000 und 2000 *m*. Auch diese Kulturen ergaben nach 18 Tagen sämtlich starke Nitritreaktion.

Dagegen konnten Nitratbildner auch im Neapler Material nur dann nachgewiesen werden, wenn dieses höchstens aus 500 *m* Entfernung vom Ufer stammte. Mit solchem Mud angesetzte Nitritnährlösungen wandelten sämtlich ihr Nitrit in Nitrat um, während dies bei den anderen Schlammproben nicht beobachtet werden konnte.

Um den Gegensatz meiner Befunde mit den NATHANSOHN'schen Resultaten aufzuhellen, waren gleichzeitig auch mit dessen Nährlösung Kulturen angesetzt worden. Diese Kulturflüssigkeit hat wegen ihrer unvollkommenen Zusammensetzung (sie enthält ausser basischem Magnesiumkarbonat und 0,1prozentigem Ammoniumchlorid nur Seewasser, ihr fehlen daher vor allem die Phosphate) eine weniger günstige Wirkung. Es ist kaum anzunehmen, dass die nötigen Phosphorsalze im Impfschlick und im Seewasser in ausreichender Menge vorhanden sind. Daher gaben diese Kulturen erst 16 Tage

später als die vorhin erwähnten eine starke Nitritreaktion. Vielleicht hat NATHANSOHN seine Kulturen nicht hinreichend lange Zeit beobachtet, so dass darin die Ursache seiner negativen Resultate läge.

Man könnte geneigt sein zu glauben, dass der Neapler Schlick vielleicht auf der Reise verunreinigt sei und dadurch Organismen in ihn gelangt seien, die ihm ursprünglich nicht eigen waren. Dies ist jedoch ausgeschlossen, da die verwendeten Bodenproben aus dem Golf von Neapel sofort nach Heraufholen in sterilisierte, mit eingeschliffenem Stöpsel versehene Fläschchen gefüllt waren, auch das völlig gleiche Ergebnis beider Untersuchungsreihen lässt Verunreinigungen ausgeschlossen erscheinen.

Im Juni 1906 traf eine Schlammprobe aus der Fahrinne bei Helgoland ein. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung der Neapler Kulturen. Auch diese Kolben wurden in den Thermostaten (28° C.) gestellt. Es konnte die Bildung von Nitrit und das Verschwinden der Ammoniakreaktion konstatiert werden. Weitere Untersuchungen mit Helgoländer Material sind vorgesehen.

Der triftigste Grund dafür, dass die Nitrifikationserreger wirklich aus der Föhrde bzw. dem Neapler Golf stammen, scheint mir ihr Verhalten gegenüber anderen Seesalzkonzentrationen als denen, die ihrem natürlichen Medium entsprechen würden. Arbeitet man nämlich mit Schlickproben aus der Kieler Föhrde, denen voraussichtlich ein Seesalzgehalt der Nährlösung von 1,5—2,5 pCt. am besten zusagen würde, so beobachtet man, dass in einer Nährlösung, die mit destilliertem Wasser angesetzt ist, keine Nitrifikation auftritt, oder falls es dazu kommt, diese doch bedeutend später erscheint, als in einer mit 2 pCt. Seesalz angesetzten Kultur. Gleiche Hemmung zeigen auch Steigerungen der Konzentration auf 3 bis 4 pCt. Seesalzgehalt. Bei 5 pCt. konnte bei Ostseeschlick überhaupt keine Nitritbildung mehr beobachtet werden. Ganz analog verhielten sich auch die Schlammproben aus Neapel. Hier enthielt die gebräuchliche Nährlösung 3,3—3,7 pCt. Seesalz, was etwa dem Mittelmeerwasser entspricht. Wird jedoch das Impfmateriale gleichzeitig in Nährlösungen von 1,5 pCt. und 5 pCt. Seesalzgehalt eingebracht, so verzögert sich die Nitrifikation um die doppelte Zeit. Die Verzögerung ist also noch grösser, als bei der vorhin erwähnten NATHANSOHN'schen Nährlösung, trotzdem hier kein Nährsalz fehlt, sondern nur eine unpassende Konzentration der Kulturflüssigkeit vorliegt. Es sind dies also Anpassungserscheinungen der nitrifizierenden Organismen an das natürliche Medium, die es ausgeschlossen erscheinen lassen, dass der verwendete Schlick durch Festlandsorganismen verunreinigt worden ist.

In morphologischer Hinsicht bieten die Nitrifikationserreger des Salzwassers, soweit ich bis jetzt beobachtet habe, dasselbe Bild, wie

die durch die Arbeiten WINOGRADSKY's bekannt gewordenen nitrifizierenden Organismen des Festlandes.

Wird eine ammoniakhaltige Nährlösung beobachtet, die mit einer gut vegetierenden Kultur beimpft worden ist, so zeigt sich zunächst äusserlich nichts. Die Flüssigkeit bleibt vollkommen klar. Wenn die Kultur die erste starke Nitritreaktion zeigt, so ist dicht über der ruhenden Magnesiaschicht eine schwach bläuliche, wolkige Trübung zu bemerken. Entnimmt man der oberen klaren Flüssigkeit einen Tropfen, so zeigt sich bei mikroskopischer Untersuchung, dass er keine Bakterien enthält. Ausser ganz unbedeutenden anorganischen Verunreinigungen, ist in ihm bei Jodjodkaliumfärbung überhaupt nichts zu erkennen. Dagegen zeigt ein aus dem Bodensatz stammendes Präparat ein ganz anderes Bild. Selten sind isolierte Zellchen zu beobachten. Sehr häufig zeigen sich jedoch kleinere und grössere, rundliche, fest umgrenzte Kolonien, die sich scharf von lockeren Anhäufungen unterscheiden lassen. Ihr Durchmesser beträgt etwa 5—50 μ . In diesem Stadium zeigt die Kultur noch eine starke Ammoniakreaktion. Allmählich verbreitet sich die Trübung in der ganzen Flüssigkeit, doch bleibt sie sehr schwach, so dass sie erst bei aufmerksamer Betrachtung sichtbar wird. Dann lässt sich durch eine erneute mikroskopische Prüfung feststellen, dass die Bakterien auch in den oberen Schichten der Nährlösung vorhanden sind. Die Ammoniakreaktion ist jetzt schwächer als früher. Die Zellen liegen frei oder in kleinen Gruppen. Fast alle Zellen sind oval verlängert und sehr viele Bakterien zeigen bisquitförmige Teilungsfiguren. Im Bodensatz überwiegen jetzt freie Zellen, während die früher fest umgrenzten Zoogloen am Rande gelockert erscheinen. Überall wo Magnesiasteilchen liegen, kann man auch die typischen Formen der Nitritbakterien beobachten. Magnesiasplitterchen scheinen das Substrat zu sein, auf dem diese Organismen leben. Verstärkt man die Kultur fortwährend durch einige Tropfen einer 10prozentigen Lösung von Ammoniumsulfat, so kann die schwache Trübung der Nährlösung andauern. Wird jedoch das Ammoniumsulfat vollständig verbraucht, so tritt nach einigen Tagen eine Klärung der Flüssigkeit ein. Man findet jetzt die Bakterien nur in grösseren und kleineren lockeren Anhäufungen im Bodensatz vor, während die oberen Flüssigkeitsschichten frei davon sind.

Andererseits wurden auch Kulturen beobachtet, die scheinbar ausschliesslich ein Wachstum in Zoogloen aufwiesen, so dass ein Bodenpräparat aus einer häufig mit Ammoniumsulfat angereicherten Kultur stets und ausschliesslich grosse Mengen der typischen, fest umrandeten Zoogloen enthielt. Dagegen liessen sich keine freiliegenden Zellen auffinden. Im hängenden Tropfen konnte zuweilen

das Schwärmen isolierter Zellen beobachtet werden, Geisselfärbungen sind jedoch nicht gemacht worden.

Magnesiagipsplatten nach OMELIANSKI wurden dazu benutzt, den Nitritbildner aus der Kieler Förde zu isolieren. Aus einer mehrfach überimpften Rohkultur, die stark Ammoniak zu Nitrit oxydierte, wurde mittelst Platinöse ein Tropfen entnommen und auf der Platte ausgebreitet. Bei günstiger Temperatur zeigte sich schon nach wenigen Tagen starke Nitritreaktion. Gleichzeitig konnte man auf den Impfstreichen winzige, gelbe Pünktchen erkennen. Diese erwiesen sich als Anhäufungen von zahlreichen Nitritbakterien. Durch vorsichtiges Abimpfen mittels steriler Platinnadel und Übertragen in sterilisierte Ammoniaknährlösungen gelang es, diesen Organismus in Reinzucht zu erhalten.

Da der Nitratbildner erst in letzter Zeit in Schlickproben aus der Nähe des Landes bemerkt wurde, ist er bis jetzt noch nicht genauer untersucht worden.

4. Alfred Fischer: Erklärung.

Eingegangen am 24. Januar 1907.

Die im Novemberheft 1906 dieser Berichte erschienene Mitteilung GARBOWSKI's über Plasmootyose nötigt mich zu einer Erklärung. Der Verfasser hat im Sommer 1906 bei mir über Plasmootyose gearbeitet, ohne zu einem befriedigenden Abschluss seiner Untersuchungen zu gelangen. Die Veröffentlichung der teils unfertigen, teils fehlerhaften Beobachtungen ist ohne meine Erlaubnis geschehen. Ebenso könnten weitere Mitteilungen, die Herr GARBOWSKI über seine in Basel angestellten Untersuchungen ankündigt, nicht anders als ohne meine Zustimmung erfolgen.

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): Thomsen Peter

Artikel/Article: [Über das Vorkommen von Nitrobakterien im Meere. 16-22](#)