

## Stickstoff-Ausscheidung durch N<sub>2</sub>-fixierende Blaualgen, I

Züchtung von *Anabaena cylindrica* und *Nostoc muscorum* in verschiedenen Nährlösungen, bei unterschiedlichen Temperaturen und unter Licht verschiedener Wellenlänge

Nitrogen Excretion by Nitrogen Fixing Blue-green Algae, I  
Growth of *Anabaena cylindrica* and *Nostoc muscorum* in Various Media,  
at Different Temperatures, and under Light of Different Wavelengths

P. Pohl und G. Drath

Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München

(Z. Naturforsch. **28 c**, 285–291 [1973]; eingegangen am 13. November 1972/6. Februar 1973)

Nitrogen excretion, nitrogen fixing blue-green algae, *Anabaena cylindrica*, *Nostoc muscorum*

The nitrogen fixing blue-green algae, *Anabaena cylindrica* and *Nostoc muscorum*, were grown as 71 cultures in various media, at different temperatures (15 °C and 23 °C), and under light of different wavelengths. In all cases, the amount of combined nitrogen excreted into the medium reached a value of 700–800 µMol N/l of nutrient medium after 4–6 weeks of growth. Thereafter, this value did not increase significantly. When several cultures of algae were successively grown in the same medium, or when culturing was carried out for a long time with frequent harvesting, the nitrogen content of the nutrient medium remained at approximately the same level as mentioned. The possible reasons for these observations are discussed.

### Einleitung

Die N<sub>2</sub>-fixierenden Blaualgen nehmen im Pflanzenreich insofern eine Sonderstellung ein, als sie sowohl photosynthetisieren als auch molekularen Luftstickstoff fixieren, d. h. in organische Verbindungen überführen können<sup>1–5</sup>. Darüberhinaus scheiden viele dieser Organismen stickstofffreie und stickstoffhaltige organische Verbindungen, wie z. B. Polysaccharide und Peptide, in die Nährlösung aus<sup>6–19</sup>. Im Anschluß an unsere Arbeiten über den Einfluß des Gehaltes an anorganisch gebundenem Stickstoff (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>–</sup>) in der Nährlösung auf die Biosynthese von Lipiden und Fettsäuren in Algen<sup>20, 21</sup> waren wir daran interessiert, auch den von den N<sub>2</sub>-fixierenden Blaualgen ausgeschiedenen, organisch gebundenen Stickstoff als eventuelle Stickstoffquelle für andere Algen in unsere Untersuchungen miteinzubeziehen. Das Ziel dieser Arbeit war, die Höhe der Stickstoff-Ausscheidung durch N<sub>2</sub>-fixierende Blaualgen zu bestimmen und durch geeignete Züchtungsbedingungen eine möglichst hohe Stickstoff-Ausscheidung zu erreichen. Die Algen sollten außerdem in größeren Kulturen und über einen längeren Zeit-

raum gezüchtet werden. Von fünf untersuchten Organismen (*Anabaena cylindrica*, *Anabaena variabilis*, *Nostoc commune*, *Nostoc muscorum* und *Nostoc punctiforme*) erwiesen sich *Anabaena cylindrica* und *Nostoc muscorum* als besonders geeignet. Im folgenden wird deshalb über die Stickstoff-Ausscheidung durch diese zwei N<sub>2</sub>-fixierenden Blaualgen bei Züchtung in verschiedenen Nährmedien, bei verschiedenen Temperaturen und unter Belichtung mit Licht unterschiedlicher Wellenlänge berichtet.

### Material und Methoden

#### Algen

*Anabaena cylindrica* Lemmermann und *Nostoc muscorum* Kützing wurden als bakterienfreie Agar-Kulturen von der Indiana Collection of Algae, Bloomington, Indiana, USA, bezogen.

#### Nährlösungen

Die nachfolgend ausgeführte Nährlösung P (pH 7,8) wurde von uns für die Züchtung von N<sub>2</sub>-fixierenden Blaualgen entwickelt. Sie enthält außer sehr geringen Mengen an Na<sub>2</sub>EDTA (als Komplexbildner für FeCl<sub>3</sub>; ca. 16 µMol N/l) keinen gebundenen Stickstoff.

Nährlösung P: NaCl: 0,3 g/l; MgSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O: 0,2 g/l; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 0,2 g/l; CaCl<sub>2</sub>·2 H<sub>2</sub>O: 0,04 g/l;

Sonderdruckanforderungen an Dr. P. Pohl, Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität, D-8000 München 2, Karl-Str. 29, Germany.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition “no derivative works”). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

MnCl<sub>2</sub>·4 H<sub>2</sub>O: 10 mg/l; FeCl<sub>3</sub>·6 H<sub>2</sub>O: 6 mg/l; Na<sub>2</sub>EDTA·2 H<sub>2</sub>O: 3 mg/l; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>: 1 mg/l; ZnSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O: 0,4 mg/l; CoSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O: 0,4 mg/l; Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2 H<sub>2</sub>O: 0,3 mg/l; CuSO<sub>4</sub>·5 H<sub>2</sub>O: 0,03 mg/l.

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> wurde getrennt von den übrigen Salzen in Lösung sterilisiert und der Nährlösung erst nach dem Sterilisieren und Abkühlen zugefügt.

### Züchtungsbedingungen

Die Algen wurden bakterienfrei in 10 l-Steilbrustflaschen mit 7 l Nährlösung oder in 1 l-Erlenmeyerkolben mit 500 ml Nährlösung bei 23–24 °C und bei einer Belichtung von etwa 400 lux bis zum Erreichen der stationären Wachstumsphase gezüchtet. Die Algenkulturen wurden durch Einleiten von Luft oder durch regelmäßiges Schütteln belüftet. Als Maß für das Wachstum diente der Gehalt an Chlorophyll pro ml Algensuspension. Die Beleuchtungsstärke wurde mit einem Uva-Lux-Beleuchtungsmesser (Fa. Gossen) bestimmt.

### Züchtung in verschiedenen Nährlösungen und bei verschiedenen Temperaturen (Abb. 2–4)

Allen und Arnon<sup>22</sup> verwendeten für die Züchtung von Blaualgen eine eigene Nährlösung, die außer den üblichen Spurenelementen (Salze von Ca, Mn, Fe, B, Zn, Co, Mo, Cu) noch fünf weitere, selten verwendete Spurenelemente (Salze von Ti, W, V, Cr und Ni) enthält. Die Algen wurden deshalb bei 23 °C in Nährlösung P, in der von Allen und Arnon<sup>22</sup> beschriebenen Nährlösung sowie in Nährlösung P mit Zusatz von Ti-, V-, W-, Cr- und Ni-Salzen (in der von Allen und Arnon angegebenen Konzentration) gezüchtet.

Eine weitere Kultur von *A. cylindrica* wurde bei 23 °C in 7 l einer Mischung von 2 Volumenteilen Süßwasser und 1 Volumenteil Meerwasser gezüchtet. Bei diesem Versuch wurde keine Analyse der Nährlösung durchgeführt. Weiterhin wurde eine 7 l-Kultur von *A. cylindrica* in Nährlösung P bei 15 °C gezüchtet.

### Züchtung von mehreren Algen-Kulturen nacheinander in derselben Nährlösung (Abb. 5–10)

Die Algen wurden in 7 l-Steilbrustflaschen in Nährlösung P bei 23 °C gezüchtet. Die Nährlösungen wurden dazu mit je 10 ml einer Blaualgen-Stammkultur beimpft. Nach Erreichen der stationären Wachstumsphase wurden die Algen („1. Kultur“) 15 min bei 5000 × g abzentrifugiert, die Nährlösungen sterilisiert und erneut mit je 10 ml der Stammkultur beimpft. Nachdem wieder die stationäre Wachstumsphase erreicht war, wurden die Al-

gen („2. Kultur“) abzentrifugiert, die Nährlösungen sterilisiert und zum dritten Male mit je 10 ml der Blaualgen-Stammkultur beimpft. Nach Erreichen der stationären Wachstumsphase wurden auch diese Algen („3. Kultur“) abzentrifugiert.

### Züchtung mit häufiger Algenentnahme (Abb. 11 und 12)

Die Algen wurden als 7 l-Kulturen in Nährlösung P bei 23 °C gezüchtet. Sobald der Chlorophyllgehalt einen Wert von etwa 1–2 µg pro ml Algensuspension erreichte, wurden 1,5 l Algensuspension unter sterilen Bedingungen entnommen, die Algen 15 min bei 5000 × g abzentrifugiert, die überstehende Nährlösung sofort sterilisiert, abgekühlt und zu der ursprünglichen Algenkultur zurückgegeben. Dieses Verfahren wurde jedesmal wiederholt, wenn der

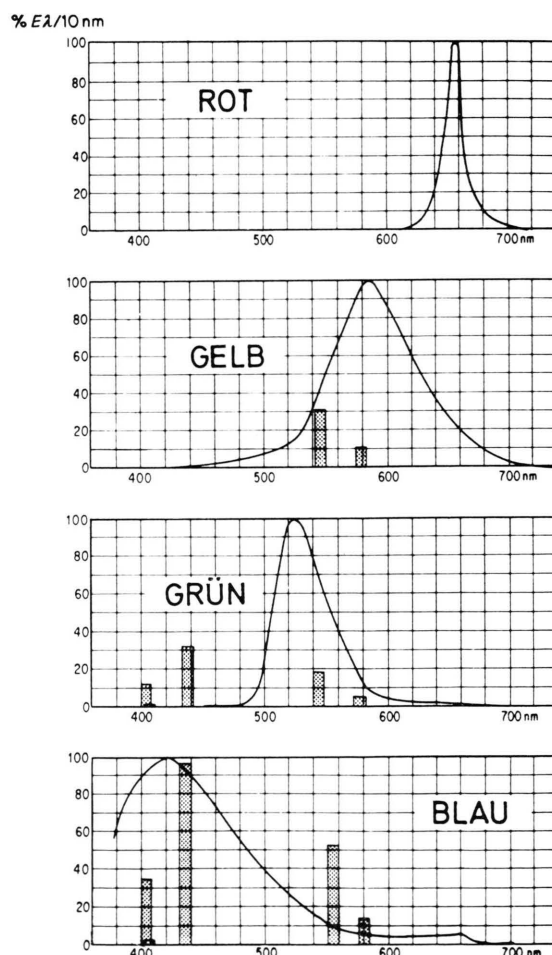


Abb. 1. Emissionsspektren der Leuchtstoffröhren. (Die Spektren wurden uns freundlicherweise von der Deutschen Philips GmbH, München, zur Verfügung gestellt.)

Chlorophyllgehalt wieder einen Wert von etwa 1–2 µg pro ml Algensuspension erreichte.

*Züchtung unter Belichtung mit Licht von unterschiedlicher Wellenlänge (Abbn. 13 und 14)*

Je vier 500 ml-Kulturen von *Anabaena cylindrica* und *Nostoc muscorum* wurde in 1 l-Erlenmeyerkolben in Blau-, Grün-, Gelb- und Rotlicht bei 24 °C und unter kontinuierlichem Schütteln gezüchtet. Als Lichtquellen dienten Leuchtstoffröhren (Fa. Philips; TL 40W/15 (Rot), TL 40W/16 (Gelb), TL 40W/17 (Grün), TL 40W/18 (Blau)). Die Emissionsspektren dieser Lampen sind in Abb. 1 wiedergegeben. Die in die Algenkulturen eingestrahlte Lichtenergie betrug etwa 250 erg/cm<sup>2</sup>·sec. Die Messung der Lichtenergie erfolgte mit einer Thermosäule (Fa. Kipp und Zonen).

### Stickstoff-Bestimmungen

Ca. 15 ml Algensuspension wurden 5 min in einer Tischzentrifuge abzentrifugiert. Aus 10 ml der überstehenden Lösung wurde der Gesamtstickstoff auf herkömmliche Weise mit einer Mikro-Kjeldahl-Apparatur bestimmt. Bei Verwendung eines Selen-Katalysators genügte eine Aufschlußzeit von 3 Std. Die Chlorophyll-Bestimmungen erfolgten nach der Methode von Arnon<sup>23</sup>.

## Resultate

### *Züchtung in verschiedenen Nährlösungen und bei verschiedenen Temperaturen*

Bei Züchtung von *Anabaena cylindrica* und *Nostoc muscorum* in Nährlösung P, in der von Allen und Arnon<sup>22</sup> beschriebenen Nährlösung sowie in Nährlösung P mit Zusatz von Ti-, V-, Cr-, W- und Ni-Salzen (in der von Allen und Arnon angegebenen Konzentration) verhielten sich beide Algen gleich (Abbn. 2 und 3). Der in die Nährlösungen ausge-

schiedene Gesamt-Stickstoff erreichte bei allen Kulturen im Verlauf von 6–7 Wochen etwa 700 µMol N pro Liter. Der Zusatz von Ti-, V-, W-, Cr- und Ni-Salzen hatte keinen Einfluß auf die Höhe der Stick-

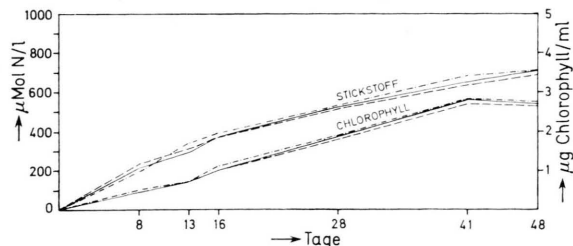


Abb. 3. Stickstoff-Ausscheidung durch *Nostoc muscorum*. A. Züchtung in Nährlösung P bei 23 °C (—). B. Züchtung in Nährlösung P mit Zusatz von Ti-, V-, W-, Cr- und Ni-Salzen; 23 °C (---). C. Züchtung in der Nährlösung von Allen und Arnon<sup>22</sup>; 23 °C (- · - · -).

stoff-Ausscheidung. Auch das Wachstum der Algen (ausgedrückt durch den Gehalt an Chlorophyll pro ml Algensuspension) war einheitlich und erreichte nach 6–7 Wochen einen Maximalwert von etwa 2,8 µg Chlorophyll pro ml.

*Anabaena cylindrica* wurde zusätzlich in einer Mischung von Süß- und Salzwasser (2+1) gezüchtet (Abb. 4). Hier betrug der ausgeschiedene Ge-

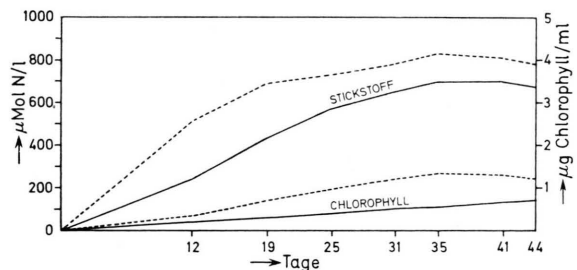


Abb. 4. Stickstoff-Ausscheidung durch *Anabaena cylindrica*. A. Züchtung in einer Mischung aus Süß- und Salzwasser (2+1) bei 23 °C (—). B. Züchtung in Nährlösung P bei 15 °C (---).

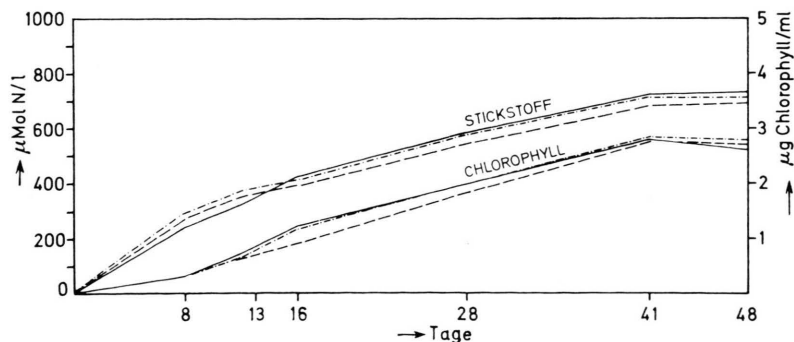


Abb. 2. Stickstoff-Ausscheidung durch *Anabaena cylindrica*. A. Züchtung in Nährlösung P bei 23 °C (—). B. Züchtung in Nährlösung P mit Zusatz von Ti-, V-, W-, Cr- und Ni-Salzen; 23 °C (---). C. Züchtung in der Nährlösung von Allen und Arnon<sup>22</sup>; 23 °C (- · - · -).

samt-Stickstoff nach 5 Wochen ca.  $700 \mu\text{Mol N}$ . Der Chlorophyllgehalt stieg auf etwa  $0,75 \mu\text{g/ml}$ . Bei Züchtung von *Anabaena cylindrica* in Nährlösung P bei  $15^\circ\text{C}$  (Abb. 4) stieg die Stickstoff-Ausscheidung nach 4–5 Wochen auf  $800 \mu\text{Mol N}$ , während der Chlorophyllgehalt einen Maximalwert von  $1,23 \mu\text{g/ml}$  Nährlösung erreichte.

#### Züchtung von mehreren Algen-Kulturen nacheinander in derselben Nährlösung

a) *Anabaena cylindrica* (Abbn. 5–7): Die Stickstoff-Ausscheidung der 1. Kultur erreichte nach 4 Wochen einen Maximalwert von etwa  $780 \mu\text{Mol N}$ .

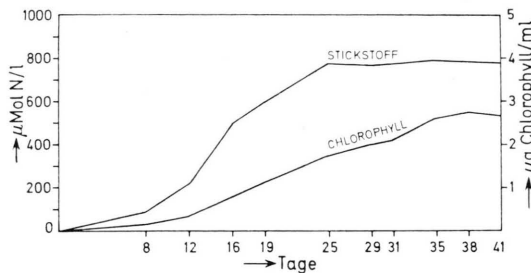


Abb. 5. Stickstoff-Ausscheidung durch *Anabaena cylindrica*. Züchtung der ersten Algen-Kultur in Nährlösung P.

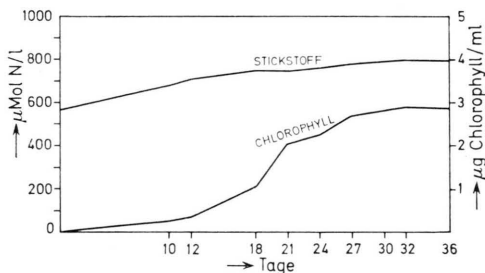


Abb. 6. Stickstoff-Ausscheidung durch *Anabaena cylindrica*. Züchtung der zweiten Algen-Kultur in Nährlösung P.

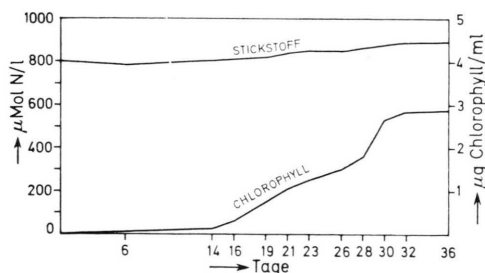


Abb. 7. Stickstoff-Ausscheidung durch *Anabaena cylindrica*. Züchtung der dritten Algen-Kultur in Nährlösung P.

Die stationäre Wachstumsphase war nach ca. 6 Wochen erreicht. Der Stickstoffgehalt in der Nährlösung erhöhte sich während der Züchtung der zweiten und dritten Kultur auf etwa  $900 \mu\text{Mol}$ .

b) *Nostoc muscorum* (Abbn. 8–10): Diese Alge verhielt sich ähnlich wie *Anabaena cylindrica*. Während der Züchtung der ersten Kultur erreichte die Stickstoff-Ausscheidung nach 3–4 Wochen  $700 \mu\text{Mol N}$  pro Liter Nährlösung. Dieser Wert veränderte sich im Verlauf der Züchtung der zweiten und dritten Kultur nur unwesentlich.

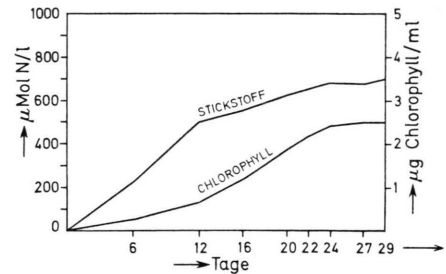


Abb. 8. Stickstoff-Ausscheidung durch *Nostoc muscorum*. Züchtung der ersten Algen-Kultur in Nährlösung P.

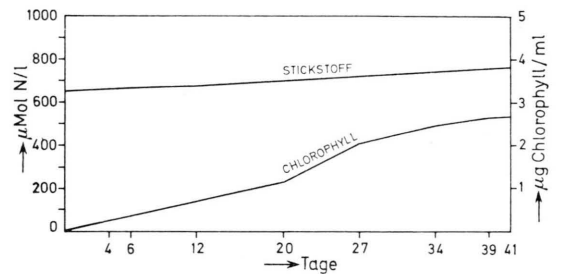


Abb. 9. Stickstoff-Ausscheidung durch *Nostoc muscorum*. Züchtung der zweiten Algen-Kultur in Nährlösung P.

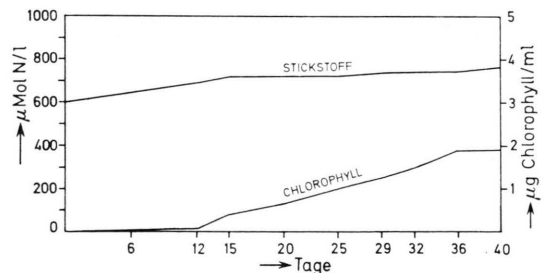
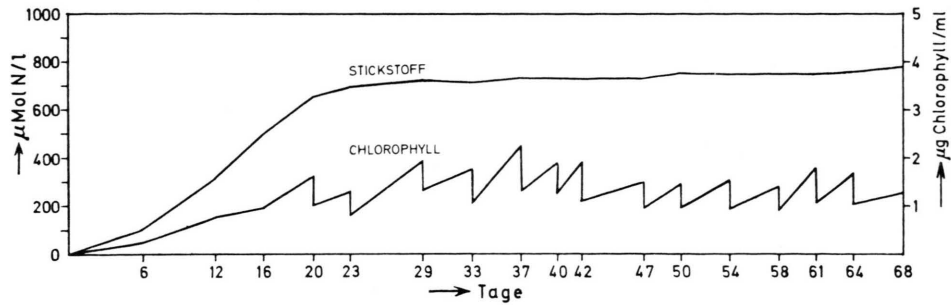
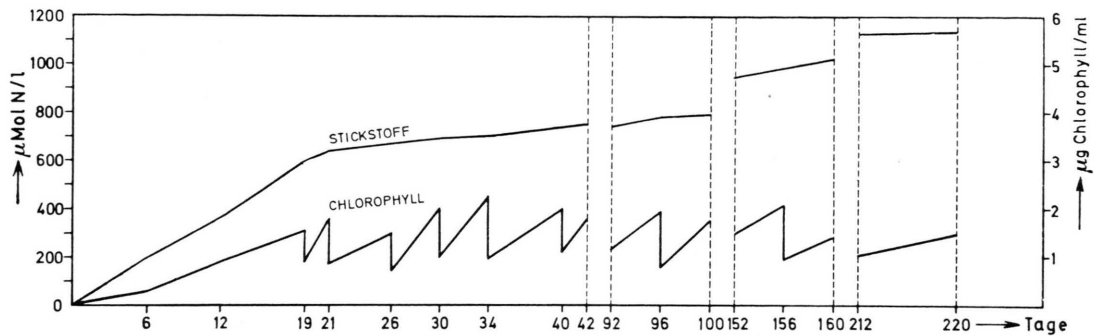


Abb. 10. Stickstoff-Ausscheidung durch *Nostoc muscorum*. Züchtung der dritten Algen-Kultur in Nährlösung P.

#### Züchtung mit häufiger Algenentnahme

a) *Anabaena cylindrica* (Abb. 11): Diese Alge wurde als 7 l-Kultur in Nährlösung P gezüchtet. Durch wiederholte Entnahme der Algen und Rückgabe der überstehenden und sterilisierten Nährlösung zur ursprünglichen Kultur wurde der Chlorophyllgehalt der Algensuspension zwischen etwa 1 und  $2 \mu\text{g}$  Chlorophyll pro ml gehalten. Durch diese

Abb. 11. Stickstoff-Ausscheidung durch *Anabaena cylindrica*. Züchtung in Nährlösung P mit häufiger Algenentnahme.Abb. 12. Stickstoff-Ausscheidung durch *Nostoc muscorum*. Züchtung in Nährlösung P mit häufiger Algenentnahme.

Entnahmen erklärt sich der senkrechte Abfall des Chlorophyllgehaltes an jedem Abnahmetag. Wie aus dem steilen Anstieg der Chlorophyllkurve zwischen den Abnahmen hervorgeht und wie auch die vorangegangenen Versuche (Abb. 2 und 3) gezeigt hatten, befanden sich die Algen bei etwa diesem Chlorophyllwert ( $1 - 2 \mu\text{g Chlorophyll/ml}$ ) in der logarithmischen Wachstumsphase. Die jeweiligen Maxima der Chlorophyllkurve (z. B. in Abb. 11 am 37. und 47. Abnahmetag) stellen die zum Zeitpunkt der Abnahme gerade bestehenden Chlorophyllwerte dar und können nicht miteinander verglichen werden. Die Stickstoffausscheidung erreichte nach 3–4 Wochen einen Maximalwert von  $700 - 750 \mu\text{Mol}$ , der sich bis zum Ende des Versuchs (nach 68 Tagen) nicht wesentlich veränderte.

b) *Nostoc muscorum* (Abb. 12): Das gleiche Experiment wurde auch mit *Nostoc muscorum*, jedoch über fast 7 Monate hinweg durchgeführt. Auch hier wurden die Algen durch wiederholte Entnahme von  $1,5 \text{ l}$  Algensuspension und Rückgabe der sterilisierten Nährlösung permanent in der logarithmischen Wachstumsphase gehalten. Der Stickstoffgehalt der Nährlösung stieg während der ersten 3 Wochen deutlich bis auf etwa  $650 \mu\text{Mol}$  an. Es fiel aber auf,

daß die Stickstoffwerte im Verlauf der weiteren, extrem langen Züchtung (bis 220 Tage) langsam, aber doch wahrnehmbar weiter anstiegen.

#### Züchtung unter Belichtung mit Licht unterschiedlicher Wellenlänge

Diese Versuche wurden absichtlich bei relativ schwacher Belichtung durchgeführt, wie aus den niedrigen Chlorophyll-Werten (Abb. 13 und 14) hervorgeht. Bei stärkerer Belichtung waren die Unterschiede zwischen Blau-, Grün-, Gelb- und Rotlicht hinsichtlich der Stickstoff-Ausscheidung weniger deutlich wahrnehmbar. Unsere Versuche ergaben eine etwas höhere Stickstoff-Ausscheidung in Rot- und Gelblicht. Hier wurden ähnlich hohe Stickstoff-Werte ( $700 - 800 \mu\text{Mol}$ ) wie bei den vorher beschriebenen Versuchen (Abb. 2–12) erreicht. Im Grünlicht betrugen die Stickstoffwerte etwa  $500 \mu\text{Mol}$ , im Blaulicht  $450 \mu\text{mol N}$  pro Liter Nährlösung.

#### Diskussion

Bei *Anabaena cylindrica* und anderen  $N_2$ -fixierenden Blaualgen ist bekannt, daß sie N-haltige



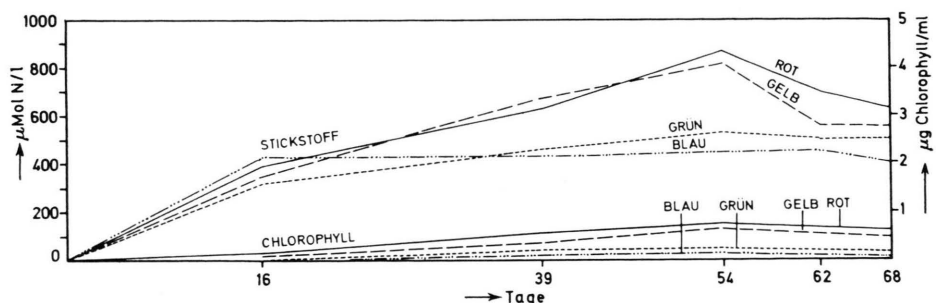


Abb. 13. Stickstoff-Ausscheidung durch *Anabaena cylindrica*. Züchtung in Nährlösung P unter Belichtung mit Licht unterschiedlicher Wellenlänge.

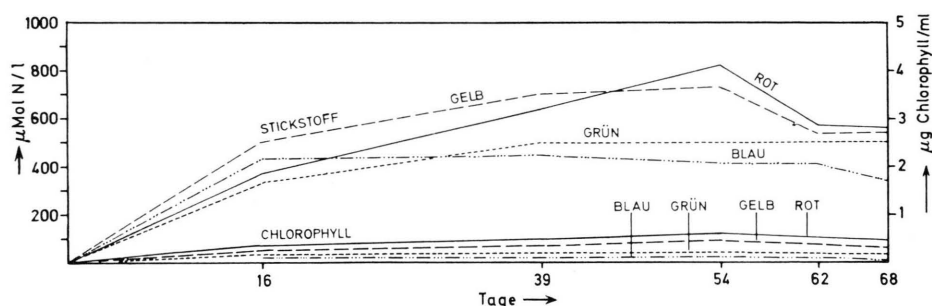


Abb. 14. Stickstoff-Ausscheidung durch *Nostoy muscorum*. Züchtung in Nährlösung P unter Belichtung mit Licht unterschiedlicher Wellenlänge.

organische Verbindungen, wie z. B. Amide, Peptide und Polypeptide, in die Nährlösung ausscheiden<sup>6, 12, 14, 16</sup>. Fogg<sup>6</sup> züchtete *Anabaena cylindrica* in 25 ml- und 50 ml-Kulturen und gab eine Stickstoff-Ausscheidung von ca. 300–400  $\mu\text{g}/25\text{ ml}$  entsprechend 850–1150  $\mu\text{Mol N/l}$  an. Diese Werte stimmen etwa mit unseren überein. Bei den hier beschriebenen Experimenten sollte mit Großkulturen (7 l) von *Anabaena cylindrica* und *Nostoc muscorum* versucht werden, durch geeignete Züchtungsbedingungen eine möglichst hohe Stickstoffausscheidung zu erreichen. Das auffallendste Ergebnis dieser Versuche ist, daß bei beiden Algen der Stickstoffgehalt der Nährlösung nach einer gewissen Züchtungsdauer (4–6 Wochen) einen ziemlich konstanten Wert erreichte, der im weiteren Verlauf der Züchtung nicht mehr oder nur noch wenig anstieg. So erbrachte die Züchtung in den drei von uns verwendeten Nährlösungen (Abbn. 2 und 3) vollkommen übereinstimmende Stickstoffwerte von etwa 700–800  $\mu\text{Mol N}$  pro Liter Nährlösung. Durch diese Versuche wurde gleichzeitig klargelegt, daß die Zugabe von Ti-, V-, W-, Cr- und Ni-Salzen zur Nährlösung keinen Einfluß auf die Höhe der Stickstoff-Ausscheidung durch *Anabaena cylindrica* und *Nostoc musco-*

*rum* hat. Auch in der Mischung aus Süß- und Salzwasser (2 + 1) und bei Züchtung bei 15 °C stieg der N-Gehalt der Nährlösung bis auf etwa 700–800  $\mu\text{Mol}$  an, obwohl aus den Chlorophyllkurven (Abbn. 2–4) hervorgeht, daß die Algen hier nur etwa halb so gut wuchsen. Auch bei Züchtung einer zweiten und einer dritten Kultur in derselben Nährlösung sowie bei kontinuierlicher Züchtung wurde der Stickstoffgehalt der Nährlösung nicht nennenswert erhöht. Ähnliche Werte wurden auch bei Züchtung der Algen unter Belichtung mit Rot- und Gelblight erhalten. In Grün- und Blaulicht lagen sie etwas niedriger.

Diese Beobachtungen zeigen, daß unter den hier beschriebenen Bedingungen die Stickstoff-Ausscheidung bis zum Erreichen einer bestimmten Konzentration an stickstoffhaltigen Verbindungen in der Nährlösung funktioniert. Bei weiterer Züchtung über diesen Zeitpunkt hinaus bleibt der Stickstoffgehalt der Nährlösung relativ konstant. Hierfür können mehrere Gründe verantwortlich sein. Möglicherweise wird die Stickstoff-Ausscheidung durch die Art oder die Konzentration der bereits in die Nährlösung ausgeschiedenen stickstoffhaltigen Verbindungen gehemmt. Ein ähnlicher Vorgang ist bei der  $N_2$ -Fixierung der Blaualgen bekannt. Diese wird nämlich

durch Zugabe von Ammoniumsalzen, Nitraten und organischen N-haltigen Verbindungen zur Nährlösung unterdrückt<sup>24</sup>.

Es könnte aber auch sein, daß die Blaualgen im Verlauf der Züchtung einen Teil der stickstoffhaltigen Verbindungen, vor allem die kleineren Moleküle, wieder resorbieren. Dann müßten in der Nährlösung bei längerer Züchtung die Verbindungen mit höherem Molekulargewicht zunehmen. Ein Hinweis hierfür könnte das langsame, aber doch wahrnehmbare Ansteigen der Stickstoff-Werte bei *Nostoc muscorum* nach extrem langer Züchtung (Abb. 12) sein. Möglicherweise finden aber auch beide Vorgänge (Hemmung und Resorption) statt.

Der nach einer Wachstumsdauer von etwa 4–6 Wochen zu beobachtende konstante Stickstoffwert in der Nährlösung scheint nicht auf einem Mangel an Mineralsalzen zu beruhen. Solch ein Mangel müßte sich primär auf die Chlorophyllbildung auswirken, die im allgemeinen bei Algen ein empfindlicher Indikator für Mineralsalz-mangel ist. Die Abbildungen 5–7 bzw. 8 und 9 zeigen, daß bei Züchtung von mehreren Algenkulturen nacheinander in derselben Nährlösung der Chlorophyllgehalt stets auf einen etwa gleich hohen Endwert ansteigt. So beträgt dieser Wert bei *Anabaena cylindrica* (Abbn. 5–7) etwa 2,7–2,9 µg Chlorophyll/ml Nährlösung, bei *Nostoc muscorum* (Abbn. 8 und 9) etwa 2,6 µg. Erst bei der 3. Kultur von *Nostoc muscorum* (Abb. 10) könnte ein Mineralsalz-mangel entstanden sein, weil hier der Chlorophyllgehalt nur noch auf ca. 1,9 µg Chlorophyll pro ml Nährlösung anstieg.

Bei unseren Versuchen ergab sich eine auffallende

Übereinstimmung zwischen *Anabaena cylindrica* und *Nostoc muscorum* hinsichtlich der Höhe der Stickstoff-Ausscheidung. Es muß durch weitere Versuche erst noch geklärt werden, ob diese Übereinstimmung zufällig ist, oder ob auch bei anderen N<sub>2</sub>-fixierenden Blaualgen die gleichen Stickstoff-Werte erhalten werden.

Die Frage, ob die Wellenlänge des Lichts einen Einfluß auf die Stickstoff-Ausscheidung hat, muß dahingehend beantwortet werden, daß bei niedrigen Licht-Intensitäten Rot- und Gelblicht die Stickstoff-Ausscheidung etwas stärker anregen als Grün- und Blaulicht. Bei höheren Licht-Intensitäten waren diese Unterschiede aber nur schwach ausgeprägt.

Da der Stickstoff der von *Anabaena cylindrica* und *Nostoc muscorum* ausgeschiedenen N-haltigen organischen Verbindungen letztlich vom Luftstickstoff geliefert wird, ist die Stickstoff-Ausscheidung abhängig vom Funktionieren der N<sub>2</sub>-Fixierung bei diesen Algen. Es bleibt daher zu untersuchen, ob die hier untersuchten und andere Faktoren gleichermaßen die N<sub>2</sub>-Fixierung und die Stickstoff-Ausscheidung beeinflussen, und ob überhaupt beide Vorgänge parallel oder aber teilweise unabhängig voneinander verlaufen.

Ein Teil dieser Arbeiten wurde am Scripps Institution of Oceanography in La Jolla, California, USA, ausgeführt. P. Pohl dankt der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Bewilligung eines Stipendiums sowie Herrn Prof. A. A. Benson, La Jolla, USA, für die Überlassung eines Arbeitsplatzes am obigen Institut.

- <sup>1</sup> G. E. Fogg, Ann. Rev. Plant Physiol. **7**, 51 [1956].
- <sup>2</sup> W. D. P. Stewart, Nitrogen Fixation in Plants, The Athlone Press, University of London 1966.
- <sup>3</sup> O. Holm-Hansen, Ann. Rev. Microbiol. **22**, 47 [1968].
- <sup>4</sup> W. D. P. Stewart, A. Haystead u. H. W. Pearson, Nature [London] **224**, 226 [1969].
- <sup>5</sup> W. D. P. Stewart, Plant and Soil **32**, 555 [1970].
- <sup>6</sup> G. E. Fogg, Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B **139**, 372 [1952].
- <sup>7</sup> L. Hough, J. K. N. Jones u. W. H. Wadman, J. chem. Soc. [London] **1952**, 3393.
- <sup>8</sup> C. T. Bishop, G. A. Adams u. E. O. Hughes, Canad. J. Chem. **32**, 999 [1954].
- <sup>9</sup> B. B. Biswas, Sci. Cult. **22**, 696 [1957].
- <sup>10</sup> G. E. Fogg, Brit. Phycol. Bull. **2**, 195 [1963].
- <sup>11</sup> W. D. P. Stewart, Nature [London] **200**, 1020 [1963].
- <sup>12</sup> B. A. Whitton, J. gen. Microbiol. **40**, 1 [1965].
- <sup>13</sup> B. G. Moore u. R. G. Tischer, Canad. J. Microbiol. **11**, 877 [1965].
- <sup>14</sup> A. E. Walsby, Brit. Phycol. Bull. **2**, 514 [1965].
- <sup>15</sup> E. B. Davis, R. G. Tischer u. L. B. Brown, Physiol. Plant **19**, 823 [1966].
- <sup>16</sup> G. E. Fogg, Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. **4**, 195 [1966].
- <sup>17</sup> A. E. Walsby, Protoplasma **65**, 223 [1968].
- <sup>18</sup> G. E. Fogg u. H. Pattnaik, Phycos **5**, 58 [1968].
- <sup>19</sup> R. G. Tischer u. E. B. Davis, J. exp. Bot. [London] **22**, 546 [1971].
- <sup>20</sup> P. Pohl, T. Passig u. H. Wagner, Phytochemistry **10**, 1505 [1971].
- <sup>21</sup> P. Pohl u. H. Wagner, Z. Naturforsch. **27b**, 53 [1972].
- <sup>22</sup> M. B. Allen u. D. I. Arnon, Plant Physiol. **30**, 366 [1955].
- <sup>23</sup> D. I. Arnon, Plant Physiol. **24**, 1 [1949].
- <sup>24</sup> G. E. Fogg u. M. Wolfe, Symposia Soc. Gen. Microbiol. **4**, 99 [1954].