

Wie wirken
Stickstoffkunstdünger auf
Vorkommen und
Entwicklung von *Azotobacter
chroococcum* im Boden?

WIE WIRKEN STICKSTOFFKUNSTDÜNGER AUF VORKOMMEN UND ENTWICKLUNG VON AZOTOBACTER CHROOCOCCUM IM BODEN?

VON DER
TECHNISCHEN HOCHSCHULE MÜNCHEN
ZUR
ERLANGUNG DER WÜRDE EINES DOKTORS
DER
TECHNISCHEN WISSENSCHAFTEN
(DOKTORS DER LANDWIRTSCHAFT)
GENEHMIGTE ABHANDLUNG
VORGELEGT VON
DIPLOMLANDWIRT **EDUARD SCHNEIDER**
GEB. ZU MÜNCHEN

1. BERICHTERSTATTER: O. PROF. GEH. REGIERUNGSRAT
DR. DER TECHN. WISSENSCHAFTEN LUDWIG KIESSLING

2. BERICHTERSTATTER:
A. O. PROF. DR. PHIL. TRAUGOTT BAUMGÄRTEL
TAG DER EINREICHUNG DER ARBEIT: 15. JULI 1929
TAG DER ANNAHME DER ARBEIT: 3. DEZEMBER 1929

ISBN 978-3-662-37076-6 ISBN 978-3-662-37784-0 (eBook)

DOI 10.1007/978-3-662-37784-0

Erschienen im „Archiv für Pflanzenbau“,
(Wissenschaftliches Archiv für Landwirtschaft), Abt. A, Bd. 5, H. 2. 1931

Vorwort.

Die vorliegende Arbeit wurde im Institut für Acker- und Pflanzenbau an der Technischen Hochschule München unter Zugrundelegung der im Versuchsfeld dieses Institutes ausgeführten Stickstoffdüngungsversuche angefertigt.

An dieser Stelle sei mir gestattet, daß ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimen Regierungsrat Prof. Dr. *L. Kießling*, dem Vorstand dieses Institutes, meinen ergebensten Dank zum Ausdruck bringe für die Zuweisung des Themas, für die Überlassung des benötigten Materials und für die Erlaubnis zur Benützung sämtlicher Instituts-einrichtungen.

Nicht minder danke ich dem Konservator an der Bayerischen Hauptversuchsanstalt für Landwirtschaft, Herrn Prof. Dr. *Tr. Baumgärtel*, dem Leiter des Bakteriologischen Laboratoriums an dieser Anstalt, für die wohlwollende Unterweisung und Überwachung bei der Durchführung der Arbeit.

Ferner danke ich Herrn Konservator Dr. *H. Kreutz* für das stets bereitwillige Eingehen auf alle meine Wünsche, sowie den Herren Dipl.-Ing. *A. Schmidt*, Dr. *H. Döhner* und Dr. *L. Kießling* für vielfache Beratung und Belehrung.

Inhaltsverzeichnis.

- A. Einleitung (S. 305).
- B. Experimentelle Untersuchungen (S. 307).
 - I. Allgemeiner Teil (S. 307).
 - II. Besonderer Teil (S. 309).
 - a) Erste Versuchsgruppe (Azotobacternachweis bei Freiland- bzw. Gefäßdüngungsversuchen) (S. 309).
 - 1. Versuchsreihe (Azotobacternachweis in Böden mit verschiedenen Düngungskombinationen) (S. 309).
 - 2. Versuchsreihe (Azotobacternachweis in Sandböden mit und ohne Pflanzenbestand bei steigenden Harnstoffgaben) (S. 315).
 - 3. Versuchsreihe (Azotobacternachweis in Böden eines Dauerdüngungsversuches mit steigenden Ammoniumsulfatgaben) (S. 328).
 - 4. Versuchsreihe (Azotobacternachweis in Böden eines Stickstoffdüngungsversuches mit steigenden Ammoniumnitratgaben) (S. 330).
 - 5. Versuchsreihe (Azotobacternachweis in Böden eines Dauerdüngungsversuches mit verschiedenen Stickstoffgebrauchsformen) (S. 336).
 - b) Zweite Versuchsgruppe (Modellversuche zur Untersuchung der verschiedenen Wirkungen der einzelnen Stickstoffformen auf Azotobacter) (S. 339).
 - 1. Versuchsreihe (Versuch mit Boden vom Versuchsfeld I) (S. 341).
 - 2. Versuchsreihe (Versuch mit Boden vom Versuchsfeld II) (S. 345).
 - 3. Versuchsreihe (Versuch mit Gartenboden) (S. 347).
 - 4. Versuchsreihe (Versuch mit Wiesenboden von der Garchingener Heide) (S. 349).
 - 5. Versuchsreihe (Versuch mit Ackerboden von der Garchingener Heide) (S. 351).
 - 6. Versuchsreihe (Versuch mit Almboden von Lochhausen) (S. 352).
 - 7. Versuchsreihe (Versuch mit reinem Lehm Boden von Lochhausen) (S. 354).
 - 8. Versuchsreihe (Versuch mit moornahem Wiesenboden von Lochhausen) (S. 356).

9. Versuchsreihe (Versuch mit Boden vom Lehmhügel von Lochhausen) (S. 358).

10. Versuchsreihe (Versuch mit Boden von einem aus Schlammassen zusammengesetzten Ackerland in Lochhausen) (S. 360).

C. Schlußbetrachtungen (S. 370).

Schrifttum (S. 372).

A. Einleitung.

Die vorliegende Arbeit soll in enger Anlehnung an die Untersuchungen, die *Baumgärtel* und seine Mitarbeiter *Bihler*, *Butenschön*, *Kiessling-Sohn* zur biologischen Erforschung eines langjährigen Dauerdüngungsversuches im Versuchsfeld des Institutes für Acker- und Pflanzenbau an der Technischen Hochschule München anstellten, die Frage klären, *welchen Einfluß die Stickstoffdüngung auf das Vorkommen und die Entwicklung von *Azotobacter chroococcum* im Boden ausübt.*

Die Anregung zu dieser Fragestellung gab der Umstand, daß bei den vorangegangenen Arbeiten zwar immer eindeutig die Phosphorsäure und in geringerem Maße auch das Kali als azotobacterfördernd sich ergeben haben, während die Rolle des Stickstoffs ganz ungeklärt blieb. Schon *Bihler*⁶ berichtet über starke Schwankungen in der Stickstoffwirkung. Während im Frühjahr die Böden mit Stickstoffdüngung bei der *Beijerinckschen*⁴ Anreicherungskultur nur schwaches *Azotobacter*-wachstum zeigten, ergab sich im Sommer und Herbst ein ganz andersartiges Bild. Eingehender mit der Stickstofffrage beschäftigt sich *Butenschön*⁸, der ebenfalls recht schwankende Ergebnisse durch Stickstoffdüngung erhalten hatte, kommt jedoch zu keiner bestimmten Schlußfolgerung. Er berichtet zusammenfassend, daß schlechthin von einer Schädigung der *Azotobacter*-entwicklung durch Düngung mit Ammonsulfat nicht gesprochen werden kann, daß eine solche nur kurz nach der Düngung eingetreten war, während die seit 14 Jahren einseitig nur mit Ammonsulfat gedüngten Böden im Verlaufe der Vegetation ein sich rasch verbesserndes *Azotobacter*-wachstum zeigten. Ebenso hat *Kiessling Sohn*⁵² einen zum Teil recht guten Stickstoffeinfluß festgestellt, namentlich, wie auch *Bihler* und *Butenschön*, bei Düngungskombinationen von Stickstoff mit anderen Nährstoffen.

Wenn bei den Untersuchungen des Dauerdüngungsversuches auch öfters Schädigungen durch Ammonsulfat auftraten, so muß doch dabei bedacht werden, daß diese Schäden nur immer direkt nach der Düngung im Frühjahr auftraten und mit der fortlaufenden Vegetation schnell und stark abnahmen, daß ferner der in der Praxis wohl nur selten vorkommende Fall einer langjährigen einseitigen Düngung mit Ammoniumsulfat vorlag, mit ihrer spezifischen Einwirkung auf die Pufferung sowie die sonstigen physikalischen und chemischen Verhältnisse im Boden. Es lag auch die Überlegung nahe, daß die fortschreitende Verbesserung

des Azotobacterwachstums im Laufe der Vegetation durch die fortschreitende Nitrifizierung des ursprünglichen Ammonstickstoffs veranlaßt wurde (*Bucherer*⁷). Auch in der übrigen Literatur (z. B. *Hartung*²⁴) finden sich widersprechende Befunde über den Einfluß der Stickstoffdüngung auf Azotobacter. *Beijerinck*⁴ weist bereits in seiner ersten Veröffentlichung darauf hin, daß das Vorhandensein einer wenn auch nur geringen Menge Stickstoffs (Oligonitrophilie) zum Gelingen des Azotobacterkultur unbedingt nötig ist. Wichtig sind vor allem auch die Feststellungen von *Remy*⁴². Dieser Forscher schreibt auf Grund eingehender Untersuchungen: „Von einer umgekehrten Proportionalität zwischen Stickstoffgehalt des Bodens und Größe der Stickstoffsammlung kann allgemein gar nicht die Rede sein. So lange sich der Stickstoffgehalt in den bei unseren Ackerböden üblichen Grenzen hält, scheint zu hoher Gehalt an Bodenstickstoff eine ausgiebige Stickstoffsammlung nicht zu behindern. Anders verhalten sich die sehr stickstoffreichen Moorböden, bei welchen eine Stickstoffsammlung in keinem Fall stattgefunden hat. Eine offene Frage bleibt es dabei natürlich, ob der Stickstoffreichtum oder irgendeine andere den Moorböden eigentümliche Eigenschaft die Stickstoffsammlung verhindert hat, oder ob gar eine solche stattgefunden hat, aber lediglich wegen gleichzeitiger Stickstoffverluste des Moors nicht in die Erscheinung tritt. Daß das den gekalkten Moorböden eigentümliche Klima den Azotobacter-Bakterien nicht spezifisch feindlich ist, zeigen verschiedene Versuchsreihen, die erkennen lassen, daß die bei Versuchsbeginn mit dem Impfboden zugeführten Bakterien sich bis zum Versuchsabschluß durchaus lebenskräftig erhalten haben.“ *Remy* hält demnach eine Stickstoffdüngung für das Gedeihen des Azotobacters für absolut unschädlich und läßt lediglich für die Moorböden, die aber an sich schon für Azotobacter ein denkbar ungünstiges Bodenmedium darstellen und zufolge ihrer Aciditätsverhältnisse biologisch auf eine ganz andere Stufe zu stellen sind als alle unsere gewöhnlichen Kulturböden, die Frage offen.

Angesichts der Tatsache, daß einerseits die Stickstoffdüngung der Kulturböden eine große praktische Bedeutung in der heutigen Landwirtschaft besitzt und daß andererseits der Stickstoffgewinn aus der Luft in unseren Böden der Lebenstätigkeit gewisser freilebender Bakterien, unter denen *Azotobacter chroococcum* weitaus an erster Stelle steht, zuzuschreiben ist, erschien es als eine dankbare Aufgabe, die Verträglichkeit des Azotobacters mit der Stickstoffdüngung klarzulegen. Wesentlich erleichtert wurde diese Aufgabe dadurch, daß in den auf dem Versuchsfeld des Instituts durchgeführten exakten Stickstoffdüngungsversuchen hierzu wertvolles Bodenmaterial zur Verfügung stand.

Über die Ergebnisse dieser Untersuchungen sei im folgenden berichtet.

B. Experimentelle Untersuchungen.

I. Allgemeiner Teil.

Allen hier mitgeteilten Untersuchungen liegt die Erfahrungstat-
sache zugrunde, daß die *Azotobacter*anreicherungsmethode nach
Beijerinck immer noch das beste Verfahren darstellt, um Fragen über
Wachstumsförderung oder -schädigung dieses Mikrobiums zu klären.
Alle Versuche wurden daher auch in dieser Weise durchgeführt, in ein-
zelnen Fällen wurde daneben auch die Füllkörpermethode nach *Simon*⁴⁵
herangezogen, die sich ebenfalls gut bewährte.

Zur *Beijerinckschen* Anreicherungskultur verimpft man 10 g luft-
trockenen und durch ein 2-mm-Sieb geschickten Boden in 100 ccm
Aqua dest. mit 2% Mannit und 0,02% Dikaliumphosphat in einem
500 ccm fassenden Erlenmeyer-Kolben. Das Eintreten und der Verlauf
der *Azotobacter*entwicklung zeigen sich bei dieser Kulturmethode in
der Entstehung und Ausbildung treibender Oberflächenüberzüge
(Kahmhaut).

Wirklich fruchtbare Ackererde liefert bei der *Beijerinckschen*
*Azotobacter*probe nach *Baumgärtel* und *Hartung*³ im allgemeinen fol-
gende Wachstumsbilder: Zunächst entsteht innerhalb von 48—72 Stun-
den auf der Oberfläche der Kulturflüssigkeit ein farblos-glasiger Über-
zug, der meist von einigen stechnadelkopfgroßen Gasbläschen durch-
setzt ist und sich im Verlauf von weiteren 24—48 Stunden zu einer
pergamentartigen, undurchsichtigen Haut verdichtet. Mit fortschreiten-
dem Wachstum erleidet dann diese Haut unter allmählicher Runzelung
auch eine charakteristische Färbung, indem die äußere, d. h. der Luft
ausgesetzte Oberfläche — über ockergelb bis rostbraun — eine leder-
braune Färbung annimmt und dabei nicht selten sogar mit tiefschwarzen
Punkten und Flecken sich durchsetzt. Dieser Hautbildung, die für
Azotobacter typisch ist und insgesamt 8—10 Tage beansprucht, ent-
spricht schließlich auch die Menge des hierbei fixierten Luftstickstoffs,
von dem nahezu 10 mg Stickstoff pro Gramm veratmeten Mannits
gebunden wird.

Ganz anders verläuft demgegenüber die *Azotobacter*entwicklung,
wenn sie überhaupt zustande kommt, in einem ausgesprochen unfrucht-
baren Boden. Auch hier zeigt sich zunächst eine Gasblasenentwicklung,
die aber so stark werden kann, daß die ganze Oberfläche der Kultur-
flüssigkeit sich mit fein- bis grobblasigem Schlamm überdeckt. Mit
dieser Gasentwicklung ist gleichzeitig auch eine mehr oder weniger
starke Trübung der Kulturflüssigkeit verbunden. Fortwährend werden
mit aufsteigenden Gasblasen Bodenpartikelchen an die Oberfläche
transportiert, die dann wieder zu Boden sinken, sobald die Gasblasen
die Oberfläche erreicht haben. Von einem häutigen Überzug oder gar

von einer charakteristischen Hautbildung ist nichts wahrzunehmen; lediglich die oberflächlichen Schaumpartien können sich unter Trübung etwas verdichten und dabei einen gelblichbräunlich schillernden Glanz annehmen. Dem Ausbleiben der typischen Azotobacterhaut entspricht auch der äußerst geringe Stickstoffgewinn, wenn es überhaupt zu einer Bindung von Luftstickstoff kommen kann.

Zwischen dem typischen Azotobacterbild und dem Vegetationsbild, welches ein azotobacterarmer bzw. -freier Boden bietet, können alle möglichen Zwischenstufen auftreten. So kann es zwar zur Ausbildung der pergamentartigen, undurchsichtigen Haut kommen, aber die sonst so typische Runzelung und Verfärbung können ausbleiben. Unter Umständen kann die Haut sogar rissig werden und unter Wulstbildung in Fetzen zerfallen, die zu Boden sinken. In anderen Fällen kommt eine typische Azotobacterhaut überhaupt nicht zur Entwicklung, sondern es entsteht lediglich ein zunächst irisierender, später sich gelbbraunlich verfärbender Überzug. Auch hinsichtlich der Kulturflüssigkeit selbst können recht unterschiedliche Entwicklungsbilder beobachtet werden. Neben starker Trübung können Verfärbungen von graugrünlich über schmutziggelb bis rostbraun auftreten. Daneben können mehr oder weniger große Gasmengen gebildet werden, so daß über der Kulturflüssigkeit eine Schaumsäule entsteht, die gleichfalls verschiedenartige Verfärbungen annehmen kann.

Um Versuche größeren Maßstabes durchführen zu können, und um gleichzeitig die für Azotobacter optimalen Lebensbedingungen zu schaffen, wurde als Ort zur Versuchsdurchführung ein eigener, vollständig verdunkelter Brutraum gewählt, dem durch einen Ventilator stets frische Luft zugeführt werden konnte. Ein elektrischer Ofen sorgte für die nötige Temperatur, die durch einen Thermostat für den gesamten Raum auf 25° konstant erhalten wurde. Auch die Luftfeuchtigkeit wurde nach Möglichkeit konstant auf 60—70% erhalten. Temperatur und Wassergehalt der Luft wurden durch Registrierapparate dauernd überwacht.

Der Verlauf der Azotobacterkulturen wurde in täglichen Bonitierungstabellen genau festgelegt, wobei sich die Beobachtungen und die Aufzeichnung derselben auf alle Veränderungen, wie Stärke und Form der Kahmhaut, Runzel-, Risse-, Sprüngebildung, Gasblasenproduktion, Schaumbildung, Intensität der Pigmentabsonderung usw. erstreckte. Da eine eingehende Beschreibung des Wachstumsbildes in jedem Kulturkolben unmöglich erschien und außerdem Klarheit und Übersicht über die täglichen Befunde unbedingt dabei leiden könnten, wurden nach vielfachem Vorbild an Stelle der beschreibenden Worte Schriftzeichen gesetzt. Diese werden auch in vorliegender Arbeit ausnahmslos verwendet, wodurch eine gute Übersicht gewährleistet ist. Es bedeuten die Zeichen 0, 00, 000, die verschiedenen Mengen der auftretenden Gasblasen und zwar in dem Sinne, daß 0 deutliche, aber vereinzelte Gasblasen anzeigt, während 000 besagt, daß die ganze Kulturflüssigkeit von einem dichten Gasblasennetz überzogen ist. Zur genaueren Angabe sind außer 0, 00 und 000 noch die Zwischenstufen 0, 00, 000, eingeschoben. Stehen die Zeichen in Klammern, etwa (00), so besagt dies, daß die Gasblasen von der Kahmhaut vollständig eingesponnen wurden. Die Schriftzeichen ±, +, ++, +++ geben die verschiedene Stärke und typische

Ausbildung der Kahmhaut an. \pm zeigt einen hauchdünnen Schleier, den Beginn einer Hautbildung an, $+$ eine bereits typische, aber noch schwache Haut, eine gut ausgebildete Membran wird mit $++$ angegeben, während $+++$ der Ausdruck für eine typische, lederartige, runzelige und kräftige Haut gilt. Das Zeichen $++++$ findet nur zur Bezeichnung für eine ganz außergewöhnlich starke Kahmhaut, mit allen typischen Eigenschaften, Verwendung. Auch hier sind Zwischenstufen eingeschaltet, diese werden mit $+ / ++$, $++ / +++$, $+++ / ++++$ angegeben. Als dritter zur Charakterisierung einer *Azotobacter*haut unbedingt notwendiger Faktor ist die Pigmentbildung anzusprechen. Die Zeichen: $!$, $!!$, $!!!$, $!!!!$ sollen die Intensität der Pigmentierung, also Dunkelfärbung der Kahmhaut zum Ausdruck bringen. Es bedeutet: $!$ gelbe, $!!$ gelbbraune oder rötlichbraune, $!!!$ dunkelbraune und $!!!!$ total schwarze Farbe. Daneben dienen noch die Zeichen s oder S für etwa auftretende schwache oder starke Schimmelbildung. Nach diesem Schema wurden alle Tabellen, die das *Azotobacter*wachstum erläutern sollen, angelegt.

Um die immer etwas unklar wirkende Beschreibung zu unterstützen, wurden nach Möglichkeit die wichtigsten Hautbilder nach der von *Kiessling Sohn*⁵² angegebenen Methode photographisch festgehalten.

Jeder Versuch wurde mit 3—6 Kontrollen ausgeführt, um Zufallsergebnisse zu vermeiden. Von jedem Kolben wurden Aufzeichnungen protokolliert. In Würdigung der großen Bedeutung des jeweiligen Aciditätszustandes der Böden für alle Untersuchungen dieser Art, wurde für jeden Boden knapp vor Anlegen der Kultur die Wasserstoffionenkonzentration gemessen. Dazu diente der Apparat nach *Luers* (von der Firma Lautenschläger, München). Gemessen wurde mit der Chinhydronelektrode. Die Prüfung der Böden wurde hierbei nach den von der II. Kommission der Internationalen Bodenkundlichen Gesellschaft gegebenen Richtlinien durchgeführt. Um die von *Kiessling Sohn*⁵² festgestellten jahreszeitlichen Schwankungen in der Wachstumsintensität des *Azotobacters* auszuschließen, wurden alle verwendeten Bodenproben mit einer Ausnahme zur Zeit des Herbstwachstumsoptimums genommen und in lufttrockenen Zustand übergeführt. Nur die Bodenentnahme für die „Modellversuche“ erfolgte zur Zeit des Frühjahrs-optimums. Zweck dieser Maßnahmen war, Wachstumsverschiebungen, veranlaßt durch andere Faktoren an Stelle der gewünschten, nach Möglichkeit auszuschließen.

II. Besonderer Teil.

Erste Versuchsgruppe.

a) Erste Versuchsreihe. *Azotobacter*nachweis in Böden mit verschiedenen Düngungskombinationen.

Es sollte zunächst festgestellt werden, ob eine Schädigung der *Azotobacter*vegetation bei Böden mit Stickstoffdüngung gegenüber solchen mit Kali- bzw. Phosphorsäuredüngung auftritt. Das hierzu benötigte Bodenmaterial lieferte ein im Jahre 1927 im Versuchsfeld des Instituts von Geheimrat Professor Dr. *Kiessling* ausgeführter Düngungsversuch zu Weizen in Mitscherlich-Töpfen. Als Boden fand ausgeglichener Versuchsfeldboden Verwendung, das ist humusarmer, lehmiger Sand, der nach früheren Untersuchungen als guter *Azotobacter*träger bekannt ist. Nach erfolgter Ernte wurde der Inhalt der Töpfe nach längerem Trockenstehen auf 2 mm gesiebt und lufttrocken aufbewahrt.

Der Düngungsplan war so aufgestellt worden, daß ein Topf ungedüngt blieb. dann Stickstoff, Kali und Phosphorsäure je einzeln, ferner in Kombinationen von je zwei und endlich von den drei Nährstoffen N, K₂O, P₂O₅ gegeben wurden. Die Kalkgabe blieb für alle Töpfe konstant, dagegen wurden Kali, Stickstoff und Phosphorsäure in zwei verschiedenen hohen Mengen als kleine bzw. große Gabe verabreicht. Dabei wurde pro Gefäß (= 6 kg Boden) gegeben:

als kleine Stickstoffgabe = n	0,605 g N
„ große „ = N	1,210 g N
„ kleine Kaligabe = k	0,670 g K ₂ O
„ große „ = K	1,340 g K ₂ O
„ kleine Phosphorsäuregabe = p	0,395 g P ₂ O ₅
„ große „ = P	0,790 g P ₂ O ₅

Die große Gabe entspricht dabei jeweils der von *Mitscherlich*³⁷ angegebenen Höchstmenge. An Kalk erhielt jeder Topf 1,25 g kohlensuren Kalk zugeteilt. Es wurde gegeben: Stickstoff als Ammoniumnitrat, Ammoniumphosphat (2 basisches), Kaliumnitrat; Kalidünger als Kaliumnitrat, Kaliumphosphat, Kaliumbicarbonat; Phosphorsäuredünger als Ammoniumphosphat, Kaliumphosphat, Calciumphosphat. Die Durchführung der Düngung ist aus folgender Tabelle ersichtlich:

Düngung	Es wurden gegeben (in ccm einer 10proz.-Lösung)						CaCO ₃	Darin sind enthalten in g			
	NH ₄ NO ₃	(NH ₄) ₂ HPO ₄	KNO ₃	K ₃ PO ₄	KHCO ₃	CaH ₄ (PO ₄) ₂	in g	N	K ₂ O	P ₂ O ₅	CaO
1. Ungedüngt	—	—	—	—	—	—	1,25	—	—	—	0,502
2. Stickst. (n)	17,3	—	—	—	—	—	1,25	0,605	—	—	0,502
3. „ (N)	34,6	—	—	—	—	—	1,25	1,210	—	—	0,502
4. Kali (k)	—	—	—	—	17,2	—	1,25	—	0,670	—	0,502
5. „ (K)	—	—	—	—	34,4	—	1,25	—	1,340	—	0,502
6. Phosphors.(p)	—	—	—	—	—	14,7	0,63	—	—	0,395	0,502
7. „ (P)	—	—	—	—	—	29,4	—	—	—	0,790	0,502
8. n + k	10,4	—	17,35	—	—	—	1,25	0,605	0,670	—	0,502
9. N + K	20,8	—	34,70	—	—	—	1,25	1,210	1,340	—	0,502
10. N + k	27,7	—	17,35	—	—	—	1,25	1,210	0,670	—	0,502
11. n + K	3,52	—	34,70	—	—	—	1,25	0,605	1,340	—	0,502
12. n + p	7,12	16,80	—	—	—	—	1,25	0,605	—	0,395	0,502
13. N + P	14,24	33,60	—	—	—	—	1,25	1,210	—	0,790	0,502
14. N + p	24,40	16,80	—	—	—	—	1,25	1,210	—	0,395	0,502
15. n + P	—	28,60	—	—	—	4,45	1,065	0,605	—	0,790	0,502
16. k + p	—	—	—	12,14	—	8,22	0,902	—	0,670	0,395	0,502
17. K + P	—	—	—	24,28	—	16,10	0,567	—	1,340	0,790	0,502
18. K + p	—	—	—	24,28	—	1,55	1,188	—	1,340	0,395	0,502
19. k + P	—	—	—	12,14	—	23,10	0,268	—	0,670	0,790	0,502
20. n + k + p	11,65	9,28	—	12,14	—	—	1,25	0,605	0,670	0,395	0,502
21. N + K + P	23,30	18,56	—	24,28	—	—	1,25	1,210	1,340	0,790	0,502
22. N + k + p	28,95	9,28	—	12,14	—	—	1,25	1,210	0,670	0,395	0,502
23. N + K + p	33,50	1,75	—	24,28	—	—	1,25	1,210	1,340	0,395	0,502
24. N + k + P	18,75	26,10	—	12,14	—	—	1,25	1,210	0,670	0,790	0,502
25. n + K + P	6,02	18,56	—	24,28	—	—	1,25	0,605	1,340	0,790	0,502
26. n + K + p	16,23	1,75	—	24,28	—	—	1,25	0,605	1,340	0,395	0,502
27. n + k + P	1,48	26,10	—	12,14	—	—	1,25	0,605	0,670	0,790	0,502

Der ganze Versuch umfaßte 6 Wiederholungen, so daß gute Durchschnittsergebnisse zu erwarten waren. Der Pflanzenertrag aus den einzelnen Töpfen ist aus folgender Tabelle ersichtlich (in Gramm):

Düngung	a	b	c	d	e	f
1. 0	13,9	24,0	19,7	18,0	18,3	23,2
2. n	77,0	74,5	81,4	62,2	82,4	87,9
3. N	103,0	124,5	111,0	120,0	107,5	115,6
4. k	15,2	15,7	20,5	28,3	9,0	17,0
5. K	21,1	17,5	15,6	26,4	19,7	21,9
6. p	18,2	17,5	21,1	21,6	8,4	9,9
7. P	22,7	18,5	22,1	22,0	17,0	22,8
8. n + k . .	99,0	98,5	90,5	97,5	94,5	105,0
9. N + K . .	134,0	149,6	145,7	147,5	140,5	40,5
10. N + k . .	126,5	124,5	78,5	105,7	129,0	97,5
11. n + K . .	110,2	100,5	116,5	95,7	10,1	114,5
12. n + p . .	95,6	88,0	88,2	76,5	78,5	82,0
13. N + P . .	61,6	93,0	96,0	108,0	108,5	128,5
14. N + p . .	102,0	98,5	109,5	112,5	110,5	114,5
15. n + P . .	106,6	88,7	103,5	72,1	100,0	38,8
16. k + p . .	22,9	22,3	21,2	21,2	17,4	22,6
17. K + P . .	13,2	10,0	19,7	25,9	20,8	21,0
18. K + p . .	19,1	7,8	25,2	23,9	10,2	18,7
19. k + P . .	17,5	20,9	25,6	120,0	19,7	90,0
20. n + k + p	98,7	99,2	97,0	103,0	94,0	148,5
21. N + K + P	131,0	127,5	140,5	90,5	168,6	163,0
22. N + k + p	161,5	102,3	139,0	121,0	132,0	121,2
23. N + K + p	153,0	131,5	139,4	124,0	143,5	132,5
24. N + k + P	131,0	145,5	126,0	111,0	127,0	149,0
25. n + K + P	118,2	95,9	98,5	103,5	95,5	106,2
26. n + K + p	107,0	106,0	101,0	122,0	93,0	117,0
27. n + k + P	116,5	109,0	108,9	109,6	102,5	100,5

Die Stickstoffdüngung beeinflusste bei diesem Versuch das Pflanzenwachstum so entscheidend, daß die Wirkung von Kali und Phosphorsäure dagegen fast vollständig in den Hintergrund trat.

Am Tage der Aufstellung des Versuches zur Azotobacterprobe wurden bei je drei parallel gedüngten Böden die p_H -Werte ermittelt. Sie betragen (Mittelwerte aus 3 Kontrollen):

Düngung	p_H - Wert	Größter Fehler	Düngung	p_H - Wert	Größter Fehler
1. 0	6,93	$\pm 0,07$	15. n+P . .	6,92	$\pm 0,08$
2. n	7,06	$\pm 0,06$	16. k+p . .	7,00	$\pm 0,04$
3. N	7,04	$\pm 0,01$	17. K+P . .	7,00	$\pm 0,09$
4. k	7,06	$\pm 0,02$	18. K+p . .	6,97	$\pm 0,03$
5. K	7,13	$\pm 0,02$	19. k+P . .	6,97	$\pm 0,03$
6. p	7,07	$\pm 0,05$	20. n+ k+p	7,11	$\pm 0,04$
7. P	7,05	$\pm 0,05$	21. N+K+P	7,02	$\pm 0,03$
8. n+k . .	7,00	$\pm 0,05$	22. N+ k+p	7,00	$\pm 0,09$
9. N+K . .	7,09	$\pm 0,00$	23. N+K+p	7,13	$\pm 0,05$
10. N+k . .	7,11	$\pm 0,09$	24. N+ k+P	7,06	$\pm 0,05$
11. n+K . .	7,04	$\pm 0,02$	25. n+K+P	6,97	$\pm 0,01$
12. n+p . .	7,09	$\pm 0,03$	26. n+K+p	7,11	$\pm 0,05$
13. N+P . .	7,04	$\pm 0,02$	27. n+ k+P	7,06	$\pm 0,08$
14. N+p . .	7,04	$\pm 0,03$			

Die Reaktion der Böden zeigte demnach nur geringe Unterschiede zwischen den verschiedenen gedüngten Böden und war auch in den Kontrollen sehr ausgeglichen. Sie lag bei allen Düngungskombinationen innerhalb der optimalen Grenzen, so daß von dieser Seite keinerlei Beeinträchtigung des Versuches zu erwarten war.

Die nach *Beijerinck* mit Proben sämtlicher Böden angelegten Azotobacterkulturen zeigten bereits am 2. Tage in allen Kolben Bildung von kleinen Gasbläschen, bei sonst wasserklarer Kulturflüssigkeit. Dann aber trat das Azotobacterwachstum rasch in Erscheinung, gekennzeichnet durch einen hautartig die Kulturflüssigkeit überspannenden Überzug. Am 4. Tage der Vegetation war in allen Kolben je eine weißgraue, undurchsichtige Kahmhaut entstanden, die jedoch, wie nachstehende Tabelle zeigt, je nach Düngung des Bodens von verschiedener Mächtigkeit war.

0	n	N	k	K	p	P	nk	NK
(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
+	++	++	+	+/++	++	++	+/++	+/++
Nk	nK	np	NP	Np	nP	kp	KP	Kp
(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
++	+/++	++	++	+/++++	++	++	+/++++	++
kP	nkP	NKP	Nkp	NKp	NkP	nKP	nKp	nkP
(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
++	++	+/++++	+/++++	+/++++	+/++++	+/++++	++	+/++++

Erklärung: (0) = eingesponnene Gasbläschen. + - + + + + = verschiedene Hautstärke.

Die Gasbläschen waren in allen Kolben von der Kahmhaut eingesponnen. Es fiel auf, daß die Böden mit Stickstoff- oder Phosphorsäuredüngung etwas stärkere Kahmhäute erzeugten als die mit Kali gedüngten. Bei letzteren traten schon bei den frischen Häuten eigentümliche Risse und Sprünge auf, eine Erscheinung, über die schon *Baumgärtel* und *Hartung*³ berichteten. Hier wurde das charakteristische Wachstumsbild photographisch festgehalten (Abb. 1 und 2):

Die schwächsten Kahmhäute bildeten die Böden ohne Düngung, die stärksten die mit Kombinationen Stickstoff-Phosphorsäure sowie mit Volldüngung aus, wobei jedoch immer Kali, wenn auch nur in geringem Maße, als störend für die Hautbildung empfunden wurde. Dabei stimmten die Wachstumsbilder in den je 6 Kontrollkolben recht gut überein.

Diese Beobachtungen erfuhren im Verlaufe der ruhig und störungslos sich abwickelnden Vegetation auch keine besonderen Veränderungen. Am 7. Tage setzte bereits, wieder in guter Übereinstimmung der Kontrollen, eine mehr oder minder starke Braunfärbung der Kahmhäute ein. Ein Auszug aus den Versuchsprotokollen ergibt für den neunten Tag der Kultur folgende Tabelle:

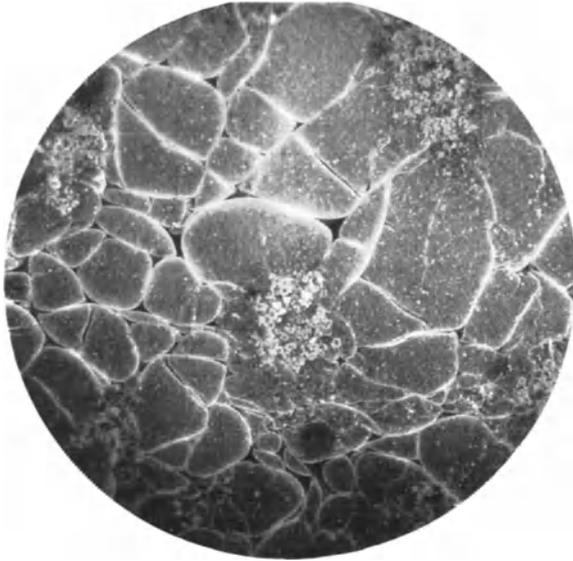


Abb. 1. Kleine Kalgabe.

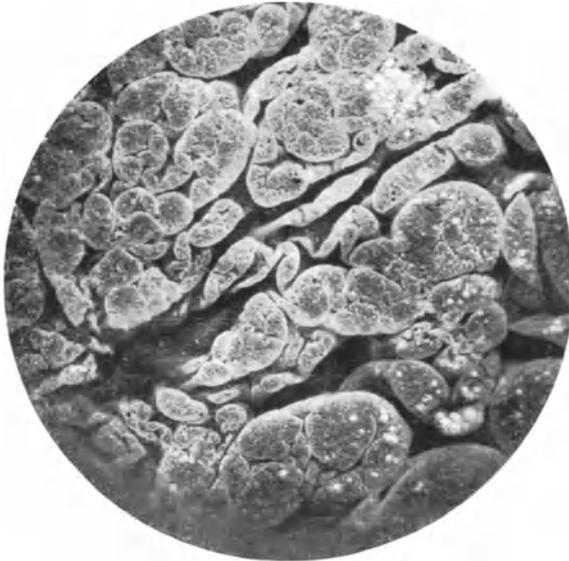


Abb. 2. Große Kalgabe.

0 (00)	n (00)	N (0)	k (00)	K (00)	p (0)	P (0)	nk (0)	NK (0)
++ !!!	++/++ !!!	+++ !!!	++ !!	++ !!	++/++ !!!	++ !!!	++/++ !!!	++/++ !!!
NK (00)	nK (00)	np (00)	NP (0)	Np (00)	nP (00)	kp (0)	KP (00)	Kp (0)
+++ !!!	++ !!	++/+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	++ !!	++/+++ !!!	+++ !!!
kP (00)	nkP (0)	NKP (00)	Nkp (00)	NkP (00)	NkP (00)	nKP (00)	nKp (00)	nkP (000)
+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	++/+++ !!!	++/+++ !!!	+++ !!!

Erklärung: (0)–(000) = steigende Anzahl eingesponnener Gasbläschen. ++ +++ = wachsende Hautstärke. !–!!! = ansteigende Intensität der Pigmentierung.

Abgesehen von den nicht allzu großen Unterschieden zwischen den einzelnen Düngungsgruppen in Gasblasenproduktion, Hautstärke und Pigmentierung, fielen doch die Böden mit k, K, nK, pK, nKp durch starke und nk, NK, kp, Kp, nKP durch schwächere Risse und Sprünge der Haut, die besonders bei ersteren oft große Ausmaße annahmen, aus dem Rahmen der Gesamtheit. Die besten Kahmhäute, von brauner Farbe und mit schönen Runzeln durchzogen, hatten die Böden mit Stickstoff- bzw. Phosphorsäuredüngung zu verzeichnen, sowie die Kombinationen der beiden Nährstoffe, wogegen Kali gewisse Störungen in der Hautbildung hervorrief.

Diese Beobachtungen konnten sich im Verlaufe der nächsten Tage noch verstärken. In den meisten Kolben verschwanden die Gasblasen gänzlich, die Kolben, welche schon anfangs das bessere Wachstum zeigten, bildeten ihre Überzüge zu ganz trockenen, tief gerunzelten und dunkelpigmentierten Kahmhäuten aus, während die Störungserscheinungen bei den Kalihäuten sich nicht mehr ausglich. Am achtzehnten Kulturtag wurde der Versuch aufgegeben, mit folgendem Schlußergebnis:

0	n	N	k (0)	K	p	P
++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	++ !!!	++ !!!	+++ !!!	+++ !!!
nk	NK	Nk	nK	np	NP	Np
+++ !!!	++/+++ !!!	+++ !!!	++ !!	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!
nP	kp	KP	Kp (00)	kP	nkP	NKP
++/+++ !!!	++/+++ !!!	++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!
Nkp	NKp	NkP	nKP	nKp (00)	nkP (00)	
++/+++ !!!	++/+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	++/+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!

Erklärung: ++ +++ = wachsende Hautstärke. !–!!! = ansteigende Intensität der Pigmentierung.

Die mikroskopische Untersuchung ließ erkennen, daß in allen Kolben kräftige Azotobacterzellen zur Entwicklung gekommen waren,

aber das Bild war nicht überall das gleiche. Die Böden mit P, Nk, NP, Np, nP, NKP, Nkp, NkP, nkP zeigten fast Reinkulturen von großen, dicht verklebten *Azotobacter*-Zellen, nur vereinzelt waren encystierte Protozoen zu finden. Dagegen zeigten die Präparate aus den Kolben mit n, N, NK, np, nkp neben sehr kräftig ausgebildeten *Azotobacter* auch Blaualgen, während in den Häuten der mit Kali gedüngten Böden massenhaft Protozoen gefunden wurden, teils encystiert, zum größeren Teil aber frei beweglich, prall mit *Azotobacter*-Zellen gefüllt, in lebhaftem Freßakt begriffen. In den Böden mit n, k, p, Kp, Kn, kp, Kp fanden sich dann noch außerdem in geringerer, dagegen bei „ungedüngt“ in großer Anzahl Stäbchen- und Kugelformen, teils beweglich, teils unbeweglich. Bei diesen Präparaten erschienen die *Azotobacter*-Zellen auch etwas schwächer gebaut.

Zusammenfassung. Im vorliegenden Versuch war bei 6facher Kontrolle nicht festzustellen, daß eine einseitige Phosphorsäuredüngung eine bessere Wachstumswirkung auf *Azotobacter* erzielt als eine einseitige Stickstoffdüngung. Von einer Schädigung durch Stickstoff konnte gar nicht die Rede sein. Dagegen waren die Kahmhäute der mit Kali gedüngten Böden in ihrem ganzen Aufbau lockerer, zum Teil hingen sie auch zerfetzt zum Boden hinab. Bei den Düngungskombinationen war ebenfalls eine mindestens gleiche starke Förderung durch Stickstoff, wie durch Phosphorsäure festzustellen. Die mikroskopische Untersuchung deckte sich dabei vollständig mit der makroskopischen Bonitierung.

Zweite Versuchsreihe.

Azotobacternachweis im Sandboden mit und ohne Pflanzenbestand bei steigenden Harnstoffgaben.

Der bereits im Frühjahr 1927 angelegte Versuch in Mitscherlich-Töpfen war nach folgenden Gesichtspunkten ausgeführt worden:

Als Boden fand steriler, völlig nährstoffarmer Sand von Etzenhausen Verwendung. Dieser erhielt in allen Töpfen eine gleichmäßige Grunddüngung mit Dikaliumphosphat und präzipitiertem kohlensaurem Kalk. Als einzige Nährstoffvariante wurde Stickstoff gewählt, der in Form einer Harnstofflösung eingebracht wurde. Es erhielt:

Gruppe	A	B	C	D	E	F	G	H	
	0	3	6	9	12	15	18	21	g N.

Jede Gruppe bestand aus 4 Töpfen, von denen ständig je 2 bebaut und je 2 unbebaut waren, so daß gleichzeitig der Einfluß der Entnahme von Bodennährstoffen durch die Pflanzen auf *Azotobacter* beobachtet werden konnte. Die Töpfe wurden gleichmäßig mit einer *Azotobacter*-aufschwemmung geimpft und in der Vegetationshalle des Versuchsfeldes aufgestellt. Wasser (Regenwasser) wurde allen Töpfen in gleicher Menge zugeführt.

Als Indices für die bebauten Töpfe wurden die Zahlen 1 und 2 verwendet, für die unbebauten 3 und 4. Es bedeutet also z. B. D₃: Topf mit 9 g N, unbebaut.

Die starke Düngung sollte durch wiederholten Pflanzenanbau verbraucht werden. Als Verfasser den Versuch übernahm, waren die Töpfe bereits 2 mal mit Pflanzen bestanden gewesen. Darüber wurden folgende Angaben übernommen:

Der erste Anbau schlug, wohl infolge der zu hohen Salzkonzentrationen, fehl. Der folgende Anbau mit Rüben, die ja besonders befähigt sind, Böden nährstoffarm zu machen, glückte. Die Ernte erfolgte am 5. bis 7. IX. 1927 und brachte als Ergebnisse (in Gramm):

Topf	Frischgewicht	Trockengewicht	Topf	Frischgewicht	Trockengewicht
A ₁	7,0	1,5	A ₂	6,5	1,3
B ₁	174,0	41,5	B ₂	192,8	49,8
C ₁	388,5	90,7	C ₂	357,8	85,7
D ₁	416,5	94,5	D ₂	405,4	89,2
E ₁	373,5	85,5	E ₂	370,0	82,5
F ₁	542,5	125,2	F ₂	409,4	105,8
G ₁	418,5	94,8	G ₂	365,2	85,6
H ₁	308,5	71,8	H ₂	291,8	76,5

Bei jeder Ernte wurden die Reste, soweit möglich auch die Wurzeln, peinlichst entfernt. Der zweite Anbau mit Senf erfolgte am 15. IX. 1927. Jeder Topf erhielt 40 Körner. Leider fielen die Pflanzen zu Ende der Vegetationszeit einem plötzlichen Raupenfraß zum Opfer. Das Ziel, den Boden auszusaugen, war aber dennoch erreicht. Der dritte Anbau mit Gerste (Hado) kam am 21. IV. 1928 zur Durchführung. Das Wachstum ging nur ganz kümmerlich vor sich, der zweimalige Anbau, sowie sonstige Verluste durch Stickstoffentbindung (Auswasehung war unmöglich) schienen den Boden bereits sehr nährstoffarm gemacht zu haben. Am 31. VII. 1928 erfolgte die Ernte. Sie betrug (in Gramm Trockensubstanz):

Topf	Trockengewicht	Topf	Trockengewicht
A ₁	14,1	A ₂	14,65
B ₁	16,3	B ₂	17,10
C ₁	19,9	C ₂	17,7
D ₁	23,2	D ₂	25,6
E ₁	23,2	E ₂	23,4
F ₁	24,8	F ₂	25,4
G ₁	25,8	G ₂	25,8
H ₁	20,0	H ₂	15,2

Vor dem vierten Anbau wurden aus allen bebauten und unbebauten Töpfen, letztere hatten in allen Dingen die ganz gleiche Behandlung erfahren, wie erstere, je 100 g Boden entnommen, an der Luft getrocknet und auf *Azotobacter* untersucht.

a) *Untersuchungen auf Azotobacter nach der dritten Ernte.*

Aus jedem Topf wurden je 3 Kontrollen nach *Beijerinck* angesetzt, so daß im ganzen immer je 6 Kolben ein möglichst gutes Durchschnittsbild liefern konnten.

Am *zweiten* Vegetationstag begann in den meisten Kolben mehr oder minder starke Gasproduktion, angedeutet durch kleine Bläschen. Am *vierten* Tage waren überall dünne Häutchen aufgetreten, die schon deutliche Unterschiede zeigten. Das Wachstumsbild vom *fünften* Tag hatte folgendes Aussehen:

	A	B	C	D	E	F	G	H
					bebaut:			
1.	00	000	00	00	(00)	(00)	(0)	(00)
	+	+	+	+	+ / + +	+ / + +	+ / + +	+ / + +
2.	00	000	000	00	(00)	(00)	(00)	(00)
	+	+	+	+	+ / + +	+	++	++
					unbebaut:			
3.	00	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(000)
	+	++	++	++	++	+ + / + + +	+ + / + + +	+ / + +
4.	00	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(000)	000
	+	++	++	++	+ + / + + +	+ + / + + +	+ + / + + +	+

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. + - + + + + = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut.

Von Anfang an war in allen Kolben der unbebauten Reihe ein lebhafteres Wachstum zu bemerken gegenüber der bebauten Reihe. In letzterer waren bei den drei niedersten Stickstoffgaben und in der Gruppe ohne Stickstoff die weißgrauen Häute ausgesprochen schwach, um dann mit steigender Stickstoffgabe etwas besser zu werden. In der unbebauten Reihe hatten die Kolben ohne Stickstoff ebenfalls nur dünne Kahmhäute, die dann aber rasch an Derbheit zunahmen, gleichsinnig mit der Stickstoffgabe. Lediglich die höchste Gabe hatte einen allerdings sehr starken Rückgang des *Azotobacter*wachstums im Gefolge. Die Gasproduktion war in allen Kolben verhältnismäßig groß. Die Farbe der Häute war überall gleich, weißgrau und hob sich von dem weißen Sand am Boden kaum ab.

In den nächsten Tagen hoben sich die Unterschiede noch deutlicher hervor. Tabelle des *achten* Vegetationstages:

	A	B	C	D	E	F	G	H
					bebaut:			
1.	00	000	00	00	(00)	(000)	(00)	(00)
	+	+	+	+	++	++	++	+++
2.	00	000	000	00	(00)	(00)	(0)	(00)
	+	+	+	+	++	+ / + +	++	+++
					unbebaut:			
3.	00	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	000
	+ / + +	++	++	+++	+++	+++	+++	+ / + +
4.	00	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	000
	+ / + +	++	+ + / + + +	+++	+++	+++	+++	+

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. + - + + + + = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut.

Hier zeigte sich schon das charakteristische Ergebnis des Versuches. Die unbebaute Reihe hatte nur schwaches *Azotobacter*wachstum, das sich mit zunehmender Stickstoffgabe langsam verbesserte.

Nur bei der höchsten Stickstoffmenge hatte sich eine typische *Kahmhaut* gebildet. In der unbebauten Reihe dagegen nahmen die Membranen mit der Stickstoffgabe an Stärke rasch zu, waren am kräftigsten bei der zweithöchsten Gabe, um dann bei der höchsten rasch abzufallen. Die Kontrollen stimmten unter sich vorzüglich überein. An diesem Tage war auch zum erstenmal eine leichte Verfärbung, nach der gelb-bräunlichen Seite zu, wahrnehmbar.

Im Laufe der nächsten Tage trat neben lebhafter Pigmentierung eine zweite starke Gasblasenbildung auf, welche zum Teil die Häute auftrieb, so daß diese etwas geschädigt wurden. In einigen Kolben bildeten sich die schwachen Kahmhäute zu gallertig-grießigen Substanzen um, besonders in den Kolben B₁ und B₂. Dagegen erlitten die starken Häute nur wenig Schaden. Nach 2 Tagen waren die gasigen Auftriebsbildungen fast gänzlich wieder verschwunden. Auf den trockenen, runzeligen Kahmhäuten bildeten sich tiefbraune Pigmente, Veränderungen von Bedeutung waren nicht mehr zu beobachten. Am *sechzehnten* Tage der Kultur gestaltete sich das abschließende Bild folgendermaßen:

	A	B	C	D	E	F	G	H
					bebaut:			
1.	+	+ / + +	+	+	+	+	+	+
	!!	!	!	!!	!!	!!!	!!	!!!
2.	+	+	+	+	+ / + +	+	+ + / + + +	+ + +
	!!	!	!	!!	!!	!!	!!!	!!!
					unbebaut:			
3.	+	+	+	+	+	+	+	+
	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!
4.	+	+	+	+	+	+	+	+ / + +
	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!

Erklärung: + - + + + = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut. ! - !!! = steigende Intensität der Braunfärbung durch Pigmentausscheidung.

Es zeigte sich in diesem Versuch demnach eine ausgiebige Verbesserung des *Azotobacter*wachstums, hervorgerufen durch die Stickstoffdüngung, da alle übrigen Faktoren vollständig ausgeglichen gehalten worden waren. Nur die höchste N-Gabe der unbebauten Reihe, die aber in solcher Konzentration in der Praxis nie vorkommen dürfte, konnte der *Azotobacter*vegetation Abbruch tun. Zu bemerken ist noch, daß der reine Sand für dieses Mikrobium ein sehr schlechtes Bodenmedium darstellt, und dieses gerade deshalb auf die leichtesten Störungen sofort reagiert.

Ein vortreffliche Ergänzung zum Versuchsergebnis lieferte die *mikroskopische Untersuchung*. Es ergab sich, daß in allen Kolben die Hautbildung durch *Azotobacter chroococcum* hervorgerufen worden war. In der bebauten Reihe waren die *Azotobacter*zellen von A bis D nur klein und schwach, was sowohl bei den Einzelformen wie bei den verquollenen Paketen beobachtet wurde. Daneben zeigten sich viele

bewegliche und unbewegliche Kugel- und Stäbchenformen. Auch Protozoen waren zu finden, aber fast durchwegs in encystierter Form. Von E bis H wurden die *Azotobacter*zellen deutlich größer und kräftiger, von typischer Ausbildung. Daneben fanden sich seltener Kugel- und Stäbchenformen, dafür aber in größerer Zahl Amöben in Bewegung und Blaualgen. In der un bebauten Reihe waren die einzelnen und verquollenen *Azotobacter*zellen analog der Hautstärke sehr groß und kräftig und von typischer Ausbildung. Fremde Bakterien wurden nur vereinzelt gefunden, dagegen von A bis C phagocytierende Amöben in großer Menge. In den Gruppen D, E, F, G waren *Azotobacter* fast in Reinkultur, dazwischen encystierte Amöben und Blaualgen, während bei H Amöben in größter Zahl zu finden waren, vollgepfropft mit *Azotobacter*zellen, ständig weitere in sich aufnehmend. Wahrscheinlich waren die Störungen in den Kahmhäuten auf Amöbenfraß zurückzuführen.

Dieser Versuch sollte als Vorversuch für die genaueren Untersuchungen nach der 4. Ernte dienen.

b) Die Untersuchungen nach der vierten Ernte.

Der vierte Anbau mit Senf wurde am 2. VIII. 1928 vollzogen. Das Wachstum war äußerst kümmerlich und zeigte einen vollständigen Hungerzustand an. Wenn auch die Töpfe mit hohen Stickstoffgaben mehr Pflanzenmasse bildeten als die ohne bzw. mit geringer Stickstoffdüngung, so bewegte sich doch das Wachstum auch bei diesen in so bescheidenen Grenzen, daß von einer Harnstoffwirkung keine Rede mehr sein konnte. Eher war dabei an Stickstoffbindung durch *Azotobacter*tätigkeit zu denken.

Als Erträge wurden bei der am 22. X. 1928 vorgenommenen Ernte festgestellt (in Gramm):

Topf	Frischgewicht	Trockengewicht	Topf	Frischgewicht	Trockengewicht
A ₁	7	0,97	A ₂	6	1,03
B ₁	8	1,35	B ₂	9	1,69
C ₁	9	1,51	C ₂	12	2,37
D ₁	13	2,23	D ₂	12	2,24
E ₁	12	2,19	E ₂	14	2,17
F ₁	15	2,58	F ₂	17	2,67
G ₁	14	2,69	G ₂	19	3,01
H ₁	18	3,32	H ₂	15	2,65

Die niederen Erntezahlen, die in keiner Beziehung zur Düngung mehr stehen, beweisen, daß der Zweck des 4maligen Pflanzenbestandes, den Boden bis zur äußersten Grenze eines Wachstums nährstoffarm zu machen, vollständig erreicht war. Von einem weiteren Anbau wurde deshalb Abstand genommen.

Nach Entfernung der Wurzelrückstände wurden noch am Tage der Ernte sämtliche Böden auf 2 mm gesiebt und aus dem frischen Material sofort Kulturen auf Azotobacter angesetzt, nach Vorbild des Vorversuches.

1. Versuche mit frischem Boden.

Die frischen Böden hatten folgende p_H -Werte zu verzeichnen:

	Bebaut		Unbebaut	
A	7,61	7,62	7,67	7,65
B	7,65	7,60	7,76	7,70
C	7,81	7,74	7,80	7,86
D	7,58	7,63	7,68	7,68
E	7,45	7,55	7,74	7,72
F	7,56	7,79	7,94	7,82
G	7,37	7,60	7,84	7,80
H	7,60	7,43	7,79	7,75

Diese Zahlen lassen keine Gesetzmäßigkeit im Zusammenhang zwischen Stickstoffdüngung (Harnstoff) und Bodenreaktion erkennen. Auffallend ist jedoch, daß die Werte der bebauten Reihe näher am Neutralpunkt liegen als die entsprechenden Zahlen der unbebauten Reihe. Der Grund dafür sollte durch den Kalkverbrauch der Pflanzen gegeben sein, eine Annahme, die sich später durch die chemischen Kalkanalysen als richtig erwies. Naturgemäß sind die Unterschiede nicht groß, die Bodenreaktion ist in allen Böden für Azotobacter günstig.

Die Acotobacterkulturen zeigten am dritten Tage schon zahlreiche kleine Gasblasen, hauptsächlich in den Gruppen A und B. Dann trat auch sofort Hautbildung ein, die sich schon in wenigen Tagen lebhaft verstärkte. Am sechsten Tage war das Wachstumsbild folgendermaßen:

	A	B	C	D	E	F	G	H
				bebaut:				
1.	0Ø	(0Ø)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0Ø)
	+	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
2.	0Ø	(0Ø)	(0Ø)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0Ø)
	+	+++	+++	+++	++	++	++	++
				unbebaut:				
3.	(00)	(0)	(0)	(00)	(0)	(0)	(0)	(0)
	+++	++	++	++++	++++	+++	+++	+++
4.	(00)	(0Ø)	(0)	(00)	(0)	(0)	(0)	(0)
	+++	++	++	++++	+++	+++	+++	+++

Die Hautfarbe war in allen Kolben gleichmäßig weißgrau. Das Gesamtwachstum verlief entschieden schneller und kräftiger als im Vorversuch, wies jedoch von Anfang an die gleichen Unterschiede auf. Eine Veränderung war nur insofern zu verzeichnen, als bei diesem Versuch die höchste Stickstoffgabe der unbebauten Reihe die besten Kahl-

häute hervorrief, die im Vorversuch noch stark abfallende Tendenz gezeigt hatte. Die steigende Stickstoffgabe rief in beiden Reihen verbessertes *Azotobacter*wachstum hervor, wobei in der Gesamtheit die unbebaute Reihe weit über der bebauten stand. Die Kontrollen stimmten in allen Fällen sehr gut überein. Mit dem *achten* Versuchstage trat eine lebhafte Pigmentierung auf, beginnend mit den Gruppen A und B, die wohl als erste das *Azotobacter*wachstum abgeschlossen hatten. Auch diesmal trat wieder eine starke zweite Gasbildung ein, die die starken Kahmhäute beulenartig auftrieb, ohne ihnen jedoch etwas anhaben zu können. Während dieser Zeit war ein Stillstand im Hautwachstum zu verzeichnen, der aber sofort wieder aufgehoben wurde als die Häute wieder zu trockenen, runzeligen, gut pigmentierten Membranen einschrumpften. Dagegen schienen die schwachen Häute der bebauten Reihe etwas geschädigt zu sein. Übersicht vom *zwölften* Kulturtage:

	A	B	C	D	E	F	G	H
				bebaut:				
1.	0	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(00)
	+	+/++	+/++	+/++	++	++	++	++
	!!!	!!!	!!	!!	!!!	!!	!!!	!!!
2.	(00)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
	+	+/++	+/++	-+/++	++	++	++	++
	!!!	!!!	!!	!!	!!!	!!!	!!!	!!!
				unbebaut:				
3.	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)
	++	+/++++	+/++++	+++	+/++++	+/++++	+/++++	+/++++
	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!
4.	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)
	++	+/++++	+/++++	+++	+/++++	+/++++	+/++++	+/++++
	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingespinnene Gasblasen. +-++++ = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut. !-!!! = steigende Intensität der Braunfärbung.

Immer traten aber noch gewisse Veränderungen auf, so daß der Versuch noch weiter beobachtet wurde. Die Gasbildung hörte in der unbebauten Reihe zuletzt ganz auf, die starken Häute machten noch Fortschritte in Stärke und Pigmentierung. Am *21. Versuchstage* ergab sich folgendes abschließendes Bild:

	A	B	C	D	E	F	G	H
					bebaut:			
1.	(00)	(0)	(00)	(00)	(0)	(0)	(00)	(00)
	+	+/++	+/++	+/++	++	++	++	+/++++
	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!
2.	00	(00)	(000)	(0)	(0)	(00)	(00)	(0)
	+	+/++	+/++	+/++	++	++	++	+/++++
					unbebaut:			
	(0)							
3.	++	+/++++	+++	+++	+/++++	+++	+++	+++
	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!
4.	++	+/++++	+++	+++	+/++++	+++	+++	+++
	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!

Erklärung siehe oben!

In diesem Versuch bestätigen sich deutlich die Ergebnisse des Vorversuches. Die Stickstoffdüngung hatte auf die Azotobacterentwicklung den besten Einfluß. Wie die Tabellen zeigen, fiel in beiden Reihen das beste Wachstum mit der höchsten N-Gabe zusammen. Besonders in der unbebauten Reihe wurden die denkbar besten Kahmhäute erzielt, wobei sich die jeweiligen Kontrollen ungemein genau deckten, so daß man sehr gut die Kahmhäute als Indikatoren für Förderung bzw. Schädigung des Azotobacterwachstums benützen kann. Auffallend war die schon im Verlauf des Vorversuches gemachte Wahrnehmung, daß die Wachstumsunterschiede innerhalb der einzelnen Düngungsstufen sich gerade zwischen den Gruppen D und E am ruckartigsten vollzogen, d. h. zwischen 12 und 15 g N pro Topf. In der Gesamtheit war bei diesem Versuch eine weit stärkere Azotobactertätigkeit festzustellen als im Vorversuch, auch war der Unterschied zwischen „bebaut“ und „unbebaut“ wesentlich stärker.

Mikroskopische Untersuchung.

Bezeichnung	N-Gabe g	Mikroskopische Befunde
A ₁ , A ₂	0	Azotobacterzellen sehr klein und schwächlich, einzeln und verquollen. Daneben viele Kugel- und Stäbchenformen, letztere zum Teil mit endständiger Spore (Geruch nach Buttersäure). Vereinzelt auch Protozoencysten.
A ₃ , A ₄	0	Azotobacter etwas kräftiger, in Einzelformen und in verquollenen Paketen. In geringer Anzahl andere Bakterienarten und encystierte Protozoen.
B ₁ , B ₂	3	Viele amorphe Körper, wahrscheinlich Bodenpartikelchen. Azotobacter meist in schwächlichen Einzelformen. Viele Stäbchen, teils Sporenträger, auch Kugeln und Spirillen in lebhafter Bewegung. Protozoen in Cystenform, nur vereinzelt.
B ₃ , B ₄	3	Zahlreiche Azotobacterzellen, zum Teil in durchsichtige Gallerten eingebettet. Daneben zahlreiche Protozoen in Bewegung, mit Azotobacter prall gefüllt. Auch Grün- und Blaualgen, fremdartige Bakterien nur selten.
C ₁ , C ₂	6	Zahlreiche amorphe Stücke, besonders in Präparaten aus den Schaumbezirken, wahrscheinlich kleine Bodenteilchen. Auch viele sporentragende Stäbchen, vereinzelt Protozoen. Azotobacter schwächlich, aber in größerer Menge in Mono-, Diplo- und Tetraformen zum Teil auch zu kleineren Paketen verklebt.
C ₃ , C ₄	6	Kräftig gestaltete und große Azotobacterzellen, meist zu gelbbraunen gallertigen Paketen verquollen. Andere Bakterien nur selten. Dagegen in größerer Anzahl Blau- und Grünalgen sowie Protozoen in Bewegung, dicht mit Azotobacter gefüllt, in lebhafter Freßtätigkeit.

Mikroskopische Untersuchung (Fortsetzung).

Bezeichnung	N-Gabe g	Mikroskopische Befunde
D ₁ , D ₂	9	Mittelgroße <i>Azotobacter</i> zellen, Einzelformen und verklebt zu gallertigen Paketen. Bewegliche Kugeln und Stäbchen, Spirillen und unbewegliche Stäbchen. Protozoen in geringer Anzahl in Cystenform.
D ₃ , D ₄	9	Ungefähr das gleiche Bild wie bei C ₃ , C ₄ nur etwas weniger Protozoen.
E ₁ , E ₂	12	Durchsichtige gallertige Massen, darin meist <i>Azotobacter</i> zellen, aber auch andere Bakterien eingebettet. Stäbchenformen nur selten. Schwärmende Protozoen in großer Zahl, im Freßakt begriffen. Vereinzelt auch Grün- und Blaualgen.
E ₃ , E ₄	12	Massenhaft <i>Azotobacter</i> , meist dicht verklebt, dicke, undurchsichtige, schwarzbraune Pakete bildend. Ferner in größerer Anzahl encystierte Protozoen, Grünalgen selten, Blaualgen zahlreicher.
F ₁ , F ₂	15	Gut entwickelte <i>Azotobacter</i> zellen zu lockeren Verbänden verquollen. Ferner Kugel- und Stäbchenformen, jedoch in geringerer Anzahl. Protozoen zahlreicher, meist in Bewegung. Daneben auch viele Grünalgen, etwas seltener Blaualgen.
F ₃ , F ₄	15	Fast Reinkultur von <i>Azotobacter</i> , ganz dicht zu schwarzen, undurchsichtigen und zähen Verbänden zusammengeklebt. Nur selten Protozoen im Zustand der Cyste, etwas häufiger Blaualgen.
G ₁ , G ₂	18	Ziemlich kräftige <i>Azotobacter</i> zellen, gallertig verbunden, ferner viele schwärmende Protozoen, Grün- und Blaualgen. Fremde Bakterien nur vereinzelt.
G ₃ , G ₄	18	Wie F ₃ , F ₄ .
H ₁ , H ₂	21	Bild ähnlich G ₁ , G ₂ , nur Grünalgen stark vermindert. Blaualgen in größerer Zahl.
H ₃ , H ₄	21	Wie F ₃ , F ₄ .

Die mikroskopischen Befunde deckten sich demnach sehr gut mit den makroskopischen Beobachtungen. Hier äußerte sich die günstige Stickstoffwirkung vor allem in der Größe und kräftigen Durchbildung (starkes Lichtbrechungsvermögen) der einzelnen Zellen. Die günstige Wirkung äußerte sich auch darin, daß die hohen Stickstoffgaben fast Reinkulturen von *Azotobacter* hervorriefen, d. h. daß *Azotobacter* so günstig beeinflußt wurde, daß es die vielen anderen Mikrobenarten in der Anreicherungskultur fast vollständig verdrängte. Auch Blaualgen schienen durch Stickstoff eine Förderung zu erfahren, in gewissem Sinne auch die Protozoen, die für *Azotobacter* eine besondere Vorliebe zu haben scheinen.

2. Versuche mit gelagertem Boden.

Da nach vielen Versuchen festgestellt ist, daß das Azotobacterwachstum nach der Methode von *Beijerinck* bei frischen Böden anders verlaufen kann als bei gelagerten, lufttrockenen, wurden die Böden, die durch 6 wöchentliche Aufbewahrung, geschützt vor direktem Licht und unerwünschten äußeren Einflüssen, vollständig lufttrocken geworden waren, einer neuerlichen Untersuchung unterworfen.

Für die Bodenreaktion wurden am Tage der Versuchsanstellung folgende Werte ermittelt:

	Bebaut		Unbebaut	
	1	2	3	4
A	7,59	7,56	7,73	7,69
B	7,61	7,61	7,69	7,74
C	7,37	7,45	7,68	7,64
D	7,57	7,52	7,76	7,71
E	7,37	7,47	7,74	7,81
F	7,57	7,66	7,76	7,54
G	7,64	7,59	7,66	7,73
H	7,64	7,55	7,71	7,66

Auch diesmal ließen sich aus den p_H -Zahlen wenig Schlüsse ziehen. Die Werte sind ausgeglichener als bei den frischen Böden, sind alle auf der alkalischen Seite, in der unbebauten Reihe deutlich stärker als in der bebauten. Sie gewährleisteten ein optimales Azotobacterwachstum.

Bei diesem Versuch bildeten sich bereits am *dritten* Vegetationstage in verschiedenen Kolben dünne Häutchen, ohne daß die Azotobacter-tätigkeit vorher durch Gasblasen angezeigt worden wäre. Diese Hautgebilde waren besonders in den Gruppen A, C, E, F, G, H deutlich. Dann ging die Kahlhautbildung in allen Kolben rasch vor sich, das Wachstumsbild des *fünften* Vegetationstages wird durch folgende Tabelle erläutert:

	A	B	C	D	E	F	G	H
				bebaut:				
1.	0	00	(0)	(0)	(00)	(00)	(00)	(00)
	+	+	+	+/++	++	++	++	++
2.	00	00	00	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)
	+	+	+	+/+++	++	++	++	++
				unbebaut:				
3.	(00)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(00)	(00)
	+/++	++	++	+/++++	+++	+++	+++	+++
4.	(00)	(0)	(0)	(0)	(0)	(00)	(00)	(00)
	+/++	++	++	+/++++	+++	+++	+++	+++

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. +-++ = steigende Mächtigkeit der Kahlhaut.

In allen Kolben waren die Kahlhäute von einheitlicher grauer Farbe. Der Versuch unterschied sich in keiner Weise von seinen beiden Vor-

gängern. In beiden Reihen war mit zunehmender N-Düngung verbessertes *Azotobacter*-Wachstum, die unbebaute Reihe stand in allen Düngungsstufen weit über der bebauten. Die Gasblasenbildung erschien gegenüber dem Versuch mit frischem Boden etwas geringer und demgemäß boten die Kahmhäute ein weit ruhigeres Gesamtbild.

Mit dem *sechsten* Vegetationstag begann in allen Kolben leichte Pigmentierung, die sich in den folgenden Tagen verstärkte und ebenfalls Differenzierungen je nach Düngung zeigte. In ruhigem Wachstum bildeten sich besonders bei den höchsten N-Gaben der unbebauten Reihe wieder äußerst kräftige, runzelige und typisch lederartige Häute aus, während die bebauten Reihe keine weiteren Fortschritte mehr erzielen konnte.

Der Versuch wurde am *fünfzehnten* Vegetationstage aufgegeben, mit nachfolgendem Ergebnis:

	A	B	C	D	E	F	G	H	
				bebaut:					
1.	+	+	+	+ /+++	++	++	++	+ + /+++	
	!!!	!!	!!!	!!!	!!	!!	!!	!!	
2.	+	+	+	+ /+++	++	++	++	+ + /+++	
	!!!	!!	!!!	!!!	!!!	!!	!!	!!	
				unbebaut:					
3.	++	+ + /+++	+++	+++	+++	++++	++++	++++	
	!!!	!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	
4.	++	+ + /+++	+++	+++	+++	++++	++++	++++	
	!!!	!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	!!!	

Erklärung: + - + + + + = wachsende Hautstärke. ! - !!! = ansteigende Intensität der Pigmentierung.

Die mikroskopische Untersuchung ergab im wesentlichen die gleichen Befunde wie bei den beiden vorangegangenen Versuchen. Bei den kräftigsten, typischen Kahmhäuten, die durch die höchsten N-Gaben in der unbebauten Reihe entstanden waren, waren fast Reinkulturen von *Azotobacter* zu sehen, durchsetzt mit Blaualgen und encystierten Protozoen. Je weiter sich die Kahmhäute von der optimalen Ausbildung entfernten, um so mehr zeigten sich im Mikroskop Grünalgen, fremde Bakterien (meist Stäbchen) und Bodenpartikelchen, die durch den Schaum auf die Oberfläche transportiert worden waren.

Neben dem Versuch nach der *Beijerinckschen* Kulturmethode wurden die Böden auch mit der Füllkörpermethode nach *Simon*⁴⁵ auf *Azotobacter* geprüft. Auch nach diesem Verfahren, das sich besonders für Massenuntersuchungen auf *Azotobacter*-Vorkommen glänzend eignet, haben sich deutliche Unterschiede gezeigt. Mit steigenden Stickstoffgaben wurden *Azotobacter*-ringe von zunehmender Stärke ausgebildet, auch der Unterschied zwischen den Gesamtreihen „bebaut“ und „unbebaut“ trat sehr deutlich zutage.

3. Chemische Untersuchungen.

Zweck der chemischen Untersuchungen war, genauen Aufschluß über die im Sandboden vorhandenen Mengen von Stickstoff, Phosphorsäure, Kali und Kalk zu gewinnen, um daraus unter Umständen Rückschlüsse auf den Verlauf des Azotobacterwachstums ziehen zu können. Ferner sollte versucht werden, durch Vergleich der Stickstoffanalysergebnisse der einzelnen Böden mit den entsprechenden Stickstoffwerten der daraus gewonnenen Azotobacterkulturen den Stickstoffgewinn, hervorgerufen durch das Vermögen des Azotobacters, Luftstickstoff zu seinem Aufbau zu verwenden, zu ermitteln und so das verbesserte Azotobacterwachstum auch zahlenmäßig zu erfassen.

Dabei ergab sich für die Sandböden folgendes Ergebnis (die Zahlen geben den Prozentgehalt an):

Düngungs- gruppe	P ₂ O ₅ in %	K ₂ O in %	CaO in %
A ₁ , A ₂	0,09416	0,03845	1,527
A ₃ , A ₄	0,09631	0,04978	1,555
B ₁ , B ₂	0,09196	0,04875	1,479
B ₃ , B ₄	0,1027	0,05586	1,568
C ₁ , C ₂	0,09392	0,04704	1,517
C ₃ , C ₄	0,09993	0,05283	1,558
D ₁ , D ₂	0,08741	0,04017	1,513
D ₃ , D ₄	0,09066	0,04532	1,525
E ₁ , E ₂	0,08473	0,04532	1,510
E ₃ , E ₄	0,08969	0,05699	1,524
F ₁ , F ₂	0,08497	0,04257	1,532
F ₃ , F ₄	0,09405	0,05081	1,561
G ₁ , G ₂	0,09359	0,04601	1,527
G ₃ , G ₄	0,09839	0,05905	1,566
H ₁ , H ₂	0,08912	0,04463	1,540
H ₃ , H ₄	0,09806	0,05528	1,547

Aus diesen Zahlen ergibt sich, daß die Unterschiede bezüglich des Gehaltes der Böden an Kali, Phosphorsäure und Kalk nur gering sind. Es liegen aber bei allen 3 Nährstoffen die Werte der unbebauten Reihe jeweils um ein Geringes höher als die entsprechenden Werte der bebauten Reihe. Diese Unterschiede beruhen wohl auf Entnahme von Nährstoffen durch die Pflanzen. Interessant ist auch das Übereinstimmen zwischen den Kalkmengen und der jeweils entsprechenden, vor den Versuchen durch die p_{H} -Zahlen festgelegten Bodenreaktion.

Bei der Untersuchung auf Stickstoff ergab sich die etwas überraschende Tatsache, daß die Böden insgesamt fast vollständig gleich stickstoffarm waren. Die Werte lagen für alle Töpfe der bebauten wie der unbebauten Reihe durchschnittlich bei 0,0027%, bei einer größten Abweichung von 0,0006% (die Unterschiede waren chemisch nur schwer

noch zu erfassen). Wahrscheinlich war im Verlauf des 1½-jährigen Versuches der größte Teil des Stickstoffs durch Bakterientätigkeit an die Luft verlorengegangen. Trotzdem hatte die Stickstoffdüngung noch so gute Nachwirkungen auf das *Azotobacter*-Wachstum, sicherlich war die Virulenz der *Azotobacter*-Zellen sehr gesteigert worden.

Zur Ermittlung des Stickstoffgewinnes wurde jeweils der gesamte Kolbeninhalt auf Stickstoff untersucht. Hierbei wurden folgende Werte gefunden:

Düngungs- gruppe	N-Gehalt in %	Größter Fehler	N-Gewinn des Bodens in %
A ₁ , A ₂	0,2377	0,0061	0,2350
A ₃ , A ₄	0,4400	0,0068	0,4373
B ₁ , B ₂	0,3168	0,0056	0,3141
B ₃ , B ₄	0,5148	0,00	0,5121
C ₁ , C ₂	0,3479	0,0028	0,3452
C ₃ , C ₄	0,5844	0,004	0,5817
D ₁ , D ₂	0,3628	0,00	0,3601
D ₃ , D ₄	0,6168	0,0056	0,6141
E ₁ , E ₂	0,4288	0,0012	0,4261
E ₃ , E ₄	0,6704	0,0028	0,6677
F ₁ , F ₂	0,4864	0,00	0,4837
F ₃ , F ₄	0,7212	0,0028	0,7185
G ₁ , G ₂	0,5136	0,0056	0,5109
G ₃ , G ₄	0,8160	0,01	0,8133
H ₁ , H ₂	0,5204	0,00	0,5177
H ₃ , H ₄	0,9168	0,0056	0,9141

Die Stickstoffanalysen wurden nach der *Kjeldahl*-Methode ausgeführt. Aufgeschlossen wurde mit Phenolschwefelsäure und einem Gemisch von Kaliumsulfat und Kupfersulfat im Verhältnis 9:1. Zur Durchführung der Analysen ist zu bemerken, daß durch andauernde Siedeverzüge, hervorgerufen durch den Sandboden, bei den Aufschlüssen sich Schwierigkeiten einstellten. Die konstantesten Ergebnisse wurden auf folgende Weise erzielt: Der gesamte Inhalt einer Original-*Beijerinck*-Kultur wurde mit Wasser in *Kjeldahl*-Kolben übergespült, etwas Phenolschwefelsäure dazugegeben, um N-Verluste zu vermeiden und dann bis auf einen zähflüssigen Rückstand eingedampft. Darauf wurden Kaliumsulfat-Kupfersulfatgemisch und etwa 40 ccm Phenolschwefelsäure dazu gegeben und so lange aufgeschlossen, bis sich eine rotbraune, homogene Masse gebildet hatte. Dann wurde der Inhalt des *Kjeldahl*-Kolbens mit konzentrierter Schwefelsäure in Meßkölbchen von 100 ccm Inhalt gespült und zur Marke aufgefüllt. Im Verlaufe von 12 Stunden hatten sich alle Sandteilchen abgesetzt. Von der darüber stehenden Flüssigkeit wurden 25 ccm abpipettiert und weiter aufgeschlossen.

Wenn sich auch ein kleiner Fehler dadurch ergab, daß dabei das an sich geringe Sandvolumen unberücksichtigt blieb, so war dieser Fehler für alle Analysen konstant und wurde reichlich dadurch aufgewogen, daß der folgende Aufschluß schnell und ungestört vor sich ging.

Zusammenfassung. Aus den 3 Versuchen hat sich ergeben, daß die Stickstoffdüngung auf *Azotobacter* einen sehr günstigen Einfluß ausübte. Die höchsten Stickstoffgaben, die weit über allen üblichen

Konzentrationen lagen, hatten nach 1 $\frac{1}{2}$ jähriger Brache das bestmögliche Azotobacterwachstum zur Folge, es brachte die besten Kahmhäute wie auch die kräftigsten Einzelzellen hervor. Besonders wertvoll waren die Versuche deshalb, weil jeweils auch die Kontrollen sehr gut und selbst in unwesentlichen Einzelheiten übereinstimmten. Auch in weiteren Versuchen, die zur Beischaffung des Materials zu chemischen Untersuchungen noch angesetzt wurden, hier aber nicht mehr näher angegeben sind, wurden jedesmal mit unbedingter Sicherheit die gleichen Ergebnisse erzielt. Die gefundenen Stickstoffwerte stellen eine wertvolle Ergänzung der makroskopischen Befunde dar und sind zugleich eine deutliche Bestätigung für deren Zuverlässigkeit. Im gleichen Maße wie die Ausbildung der Kahmhaut verlief auch der natürliche Stickstoffgewinn. Sie zeigen ebenfalls, daß die Entwicklung eines gesunden Bakterienlebens im Boden stark von der Stickstoffdüngung abhängig ist.

Dritte Versuchsreihe.

Azotobacternachweis in Böden eines Dauerdüngungsversuches mit steigenden Ammoniumsulfatgaben.

Für diesen Versuch wurden Bodenproben aus einem Dauerdüngungsversuch, der im Versuchsfeld des Instituts durchgeführt wird, verwendet. Der Düngungsversuch wird durch Drahtgitter vor äußeren Einflüssen geschützt, ist in Betonzylindern von 1 qm Oberfläche und $\frac{1}{2}$ m Tiefe untergebracht und hat seit nunmehr 5 Jahren alljährlich die nämliche Düngung bekommen.

Es erhielt Zylinder A = 0 g Ammoniumsulfat

„ „ „ B = 10 g „

„ „ „ C = 20 g „

„ „ „ D = 40 g „

„ „ „ E = 60 g „

In der letzten Vegetationsperiode waren die Versuche mit Gerste bestanden. Die Erträge waren:

Parzelle	Gesamtgewicht g	davon Körner g
A	330	106,70
B	560	175,30
C	715	224,05
D	985	297,15
E	975	267,00

Vorfrucht war 1927 Kartoffeln mit den Erntezahlen:

Parzelle	Zahl der Knollen	Knollengewicht g
A	40	1541
B	59	1771
C	58	1931
D	71	2095
E	77	1702

Auch in den Vorjahren hatten sich ähnliche Unterschiede gezeigt.

Es sollte nun festgestellt werden, in welcher Weise die 5jährige, einseitige Düngung mit steigenden Ammoniumsulfatgaben das *Azotobacter*wachstum beeinflusste. Der Versuch wurde mit jeweils 5 Kontrollen durchgeführt. Die p_H -Messung brachte folgende Zahlen:

A $p_H = 6,96$ B $p_H = 6,89$ C $p_H = 6,81$
 D $p_H = 6,74$ E $p_H = 6,67$ (Durchschnittswerte aus 6 Messgn.)

Eine Veränderung des Aciditätszustandes der Böden durch die 5jährige, einseitige physiologisch saure Düngung ließ sich demnach zwar nur in geringem Umfange feststellen, immerhin aber fallen die Werte mit der steigenden Ammoniumsulfatdüngung regelmäßig nach der sauren Seite zu ab.

Die Untersuchung auf *Azotobacter* brachte einen sehr ruhigen und gleichmäßigen Wachstumsverlauf. Am *zweiten* Versuchstage zeigten sich vereinzelt Gasblasen, die sich zunächst verstärkten. Am *fünften* Tage waren bereits Unterschiede in der Hautbildung festzustellen, die sich am *sechsten* Tage noch deutlicher hervorhoben, wie die Tabelle zeigt:

A	B	C	D	E
00	(0)	(0)	(0)	(00)
±	+ / + +	+ +	+ +	+

Es ergab sich also für „ungedüngt“ eine sehr schlechte Hautbildung, mit steigender Stickstoffdüngung wurde diese besser, um aber bei der gegenüber anderen Versuchen nicht besonders hohen Gabe von 60 g (= 120 kg N/ha) schon wieder deutlich nachzulassen. Die besten Kahlhäute waren bei C und D, die in Stärke und Form ziemlich gleichwertig erschienen.

Diese Unterschiede blieben während des ganzen Versuches bestehen. Die Membranen in den Kolben C und D bildeten sich immer stärker und typischer aus, hatten tiefe Runzeln und kräftige Pigmentierung. Die Übersichtstabelle für den *neunten* Versuchstag zeigt folgendes Bild:

A	B	C	D	E
000	(0)	(0)	(0)	(00)
+	+ + / + + +	+ + +	+ + +	+ +
!	!!!	!!!	!!!	!!

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. + - + + + + = steigende Mächtigkeit der Kahlhaut. ! - !!! = steigende Intensität der Braunfärbung.

Während im weiteren Verlauf der Kulturen die Kahlhäute bei C und D die bestmögliche, durch keine Gasblasen gestörte Ausbildung erfuhren und mit trockenen, tiefen Runzeln und schwarzbraunem Pigment ein äußerst typisches Bild einer optimalen *Azotobacter*kultur abgaben, trat bei „ungedüngt“ und in schwächerem Maße auch bei der höchsten Stickstoffgabe Schaumbildung auf, die die an sich nur schwachen Häute noch mehr schädigte und die Unterschiede noch mehr hervorhob. Als sich keine weiteren Veränderungen mehr ergaben, wurde der Versuch am *zwanzigsten* Tag aufgegeben.

A	B	C	D	E
000				(00)
+	+ + +	+ + + +	+ + + +	+ +
!!!	!!!	!!!!	!!!!	!!!

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. + - + + + + = steigende Mächtigkeit der Kahlhaut. ! - !!! = steigende Intensität der Braunfärbung.

Mikroskopische Befunde.

A. Zahlreiche, jedoch sehr kleine Azotobacterzellen, vermengt mit amorphen Körpern, wahrscheinlich Bodenpartikel. Daneben viele Kugelzellen und sporentragende Stäbchenformen (starker Geruch nach Buttersäure!). Ferner viele Grünalgen, Protozoen wenig, im encystierten Zustand.

B. Verquollene Azotobacterzellen, klein und dicht aneinanderliegend, in Schleim eingebettet. Weit weniger fremde Bakterien. Auch Protozoen und Grünalgen in mäßiger Anzahl.

C. Azotobacter zu dichten Paketen vereinigt, zahlreiche Einzelzellen, daneben Diplo- und Tetralagerung. Nur wenige andere Mikroben wie Kugelformen, Protozoen, Grün- und Blaualgen.

D. Große, kräftige Azotobacterzellen, in dichte Gallerten gebettet. Protozoen in Cystenform, aber dicht gefüllt mit Azotobacter. Auch Blaualgen etwas zahlreicher.

E. Azotobacter von kräftiger Konstitution in großer Menge. Daneben aber viele fremde Bakterien aller Art. Schwärmende Protozoen, Grün- und Blaualgen ziemlich häufig.

Zusammenfassung. Dieser Versuch, bei dem wieder eine gute Übereinstimmung zwischen den 5 Kontrollen zu verzeichnen war, ergab im allgemeinen ebenfalls eine gute Förderung des Azotobacterwachstums durch Stickstoffdüngung. Dies trat besonders bei den Stickstoffstufen 0—10—20—40 g entsprechend 0—20—40—80 kg N/ha in Erscheinung. Auffallend war jedoch das bei anderen Versuchen nicht beobachtete starke Nachlassen der Hautbildung bei der Gabe von 60 g, entsprechend 120 kg N pro ha. Diese Gabe lag bei anderen Versuchen noch weit innerhalb der aufsteigenden Linie. Ob diese Erscheinung mit einem weniger günstigen Einfluß des Ammoniumsulfats auf Azotobacter im allgemeinen oder nur durch dessen dauernde Anwendung zu erklären war, ob Ammonsulfat bereits in geringeren Konzentrationen als andere Stickstoffformen nachteilig wirkt, oder ob hier die besonderen Verhältnisse der einseitigen Dauerdüngung die Schuld trugen, darüber konnte nicht entschieden werden. Gegen eine Schädigung durch Ammonsulfat sprach das vorzügliche Azotobacterwachstum bei den Gaben von 20—40—80 kg N/ha gegenüber den schlechten Kulturen aus dem ungedüngten Boden.

Vierte Versuchsreihe.

Azotobacternachweis in Böden eines Stickstoffdüngungsversuches mit steigenden Ammoniumnitratgaben.

Die Böden stammten aus einem von *Seischab*⁵³ im Versuchsfeld des Instituts durchgeführten Stickstoffdüngungsversuch in Mitscherlich-Töpfen. Der Gesamtversuch zerfällt in zwei Teile, da er teils mit gutem Ackerboden vom Versuchsfeld II, teils mit reinem Sand von Etzenhausen vorgenommen wurde.

Versuch in Erdtöpfen.

Nach chemischen Untersuchungen, die vom Institut ausgeführt wurden, hatte der Boden an Nährstoffen (in Prozenten):

N	P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO	MgO
0,298	0,077	0,219	1,50	0,99

Der Boden war also von Natur aus reich an Nährstoffen und befand sich in gutem Kulturzustand, so daß ein gutes *Azotobacter*-Wachstum zu erwarten war. Aus den, vom Versuchsansteller freundlichst überlassenen Protokollen, sei entnommen:

Der Düngungsplan war so, daß Phosphor- und Kalisäure für alle Töpfe gleich blieben und Stickstoff in 10 Varianten gegeben wurde, während immer ein Topf ohne Stickstoffzufuhr blieb. Stickstoff wurde als Ammoniumnitrat verabreicht, in folgenden Konzentrationen:

Nr.	g N pro Topf	kg N pro ha	Nr.	g N pro Topf	kg N pro ha
1	0	0	7	0,38	120
2	0,06	20	8	0,44	140
3	0,12	40	9	0,50	160
4	0,19	60	10	0,57	180
5	0,25	80	11	0,63	200
6	0,31	100			

Die Phosphorsäureabgabe pro Topf war 0,75 g P_2O_5 , entsprechend 210—225 kg P_2O_5 /ha. Die Kalidüngung betrug pro Topf 0,85 g K_2O = 225—250 kg K_2O pro ha.

Phosphorsäure und Kali wurde bei Einfüllung der Töpfe in fester Form, Stickstoff später flüssig in zwei Gaben gegeben. Der Versuch wurde mit zwei Gerstensorten (Hado und Hilde) bepflanzt. Aus 10 parallelen Reihen wurden 6 nach Schluß der Vegetation einer Bodenuntersuchung auf *Azotobacter* unterzogen. Die Erntezahlen aus den ausgewählten Reihen betragen:

Nr.	a	b	c	d	e	f
1	18,70	19,10	17,9	18,6	17,7	20,2
2	26,40	27,20	25,7	26,7	27,0	25,7
3	35,2	35,2	32,9	34,6	33,1	35,5
4	44,4	41,5	41,5	42,4	45,0	44,6
5	54,4	50,6	52,5	51,4	55,0	54,3
6	60,7	58,7	62,2	58,1	61,7	60,6
7	71,5	68,0	69,6	69,5	70,5	72,0
8	79,2	76,6	78,7	80,5	79,4	77,1
9	87,7	82,6	90,3	84,7	87,4	84,7
10	94,4	88,0	95,2	90,4	93,4	91,9
11	104,1	96,0	100,4	97,5	104,4	95,0

Bezüglich aller weiteren Angaben sei auf die demnächst erscheinende Veröffentlichung von *Seischab* verwiesen.

Die Bodenproben wurden ebenfalls zur Zeit des Herbst-Wachstums optimums genommen. Die Bodenreaktion war weder durch die Differenzdüngung, noch durch die verschiedenen starken Pflanzenbestände beeinflußt worden. Sie bewegte sich bei allen Erdtöpfen zwischen p_H 6,92 und p_H 7,00, war also dem *Azotobacter*-Wachstum günstig.

Die Anreicherungskulturen zeigten am zweiten Tage in allen Kolben ziemlich gleich stark stecknadelkopfgroße Gasbläschen, am dritten Tage waren bereits in allen Kolben von 5 (= 80 kg N/ha) bis 11 (200 kg N/ha) deutliche, geschlossene, grau durchsichtige Membranüberzüge festzustellen. In den Kolben der Düngungsgruppen 1—4

waren die Flüssigkeitsoberflächen wasserklar. Am vierten Tage hatte die Hautbildung große Fortschritte gemacht, es zeigten sich gute Unterschiede. Die Proben aus den parallel gedüngten Töpfen waren sehr ausgeglichen, auch war kein Unterschied zwischen den mit Sorte „Hado“ und mit Sorte „Hilte“ bebauten Reihen zu bemerken. Das Wachstumsbild wird durch folgende Tabelle wiedergegeben:

Nr.	1 (0 \emptyset) +	2 (00) +/++	3 (00) +/++	4 (00) ++	5 (00) ++	6 (00) ++
Nr.	7 (0 \emptyset) +++	8 (00) +++	9 (00) +++	10 (00) +++	11 (00) +++	

Erklärung: (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. +-++++ = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut.

In allen Kolben waren die Gasblasen von der Kahmhaut dicht eingesponnen, die Farbe war überall grau. Schon am nächsten Tag hatten die Membranen bei den drei höchsten Düngungsgruppen optimalen Charakter mit tiefen Runzeln, zugleich setzte intensive Braunfärbung ein.

Im weiteren Verlauf des Versuches verringerten sich die Unterschiede dadurch, daß auch die Gruppen mit den niederen N-Gaben ziemlich starke Häute ausbildeten. Der Boden war ja von Natur aus ein sehr guter Azotobacterwirt, aber die Entwicklung ging bei den niederen N-Stufen langsamer vor sich, erreichte auch während des ganzen Versuches nicht die optimale Kahmhautbildung wie bei den hohen N-Zufuhren. Charakteristisch war auch, daß die Gasblasenproduktion in den Kolben mit niederen Stickstoffgaben nie ganz aufhörte und so stets ein etwas bewegteres, gestörtes Bild erzeugten, gegenüber den stark runzeligen, trocken lederartigen und gleichmäßig schwarzbraun pigmentierten Azotobacterhäuten bei den höheren und höchsten N-Gaben. Die Böden mit höchster N-Düngung hatten die kräftigsten Kahmhäute des ganzen Versuches ausgebildet.

Düngung	1	2	3	4	5	6
0 N	(0) ++ !!!	(0) ++ !!!	(0) ++ !!!	(0) ++ !!!	(0) ++ !!!	(00) ++ !!!
20 kg N pro ha .	(\emptyset) +/+/++ !!!	+/+/++ +/+/++ !!!	+/+/++ +/+/++ !!!	(0) +/+/++ !!!	(0) +/+/++ !!!	(0) ++ !!
40 „ „ „ „ .	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!
60 „ „ „ „ .	(0) +++ !!!	(0) +++ !!!	(0) +++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!
80 „ „ „ „ .	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	(0) +++ !!!	+++ !!!	(0) +++ !!!

Düngung	1	2	3	4	5	6
100 kg N pro ha	(0) +++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!!	++++ !!!!	+++ !!!!
120 „ „ „ „	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!	+++ !!!
140 „ „ „ „	++++ !!!!	++++ !!!!	+++ !!!	++++ !!!!	++++ !!!!	++++ !!!!
160 „ „ „ „	++++ !!!!	++++ !!!!	++++ !!!!	++++ !!!!	++++ !!!!	+++ !!!
180 „ „ „ „	++++ !!!!	+++ !!!	++++ !!!!	++++ !!!!	++++ !!!!	++++ !!!!
200 „ „ „ „	++++ !!!!	++++ !!!!	++++ !!!!	++++ !!!!	++++ !!!!	++++ !!!!

Erklärung: (0)–(000) = eingesponnene Gasblasen. ++++ = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut. !–!!!! = ansteigende Intensität der Pigmentierung.

Die mikroskopische Untersuchung ergab für alle Kolben ein gutes *Azotobacter*wachstum. Ein Unterschied war nur dadurch gegeben, daß die bei „ungedüngt“ vorhandenen fremden Bakterienarten mit zunehmender N-Gabe abnahmen, und das Auftreten von Blaualgen zunahm. Protozoen und Grünalgen waren in allen Präparaten in mäßiger Anzahl gleichmäßig verteilt, erstere nur in encystiertem Zustand. Die Häute von den hohen N-Düngungsstufen stellten fast Reinkulturen von dicht verklebten *Azotobacter*zellen dar. Auch hier wurde, wie schon früher, die Wahrnehmung gemacht, daß mit steigender N-Zufuhr die Einzelzellen sowohl nach Größe als auch nach Kräftigkeit der Wuchsform begünstigt wurden.

Auch bei diesem Versuch wurden Analysen zwecks Erfassung des Stickstoffgewinnes gemacht. Darnach betrug bei der Anreicherungskultur der Stickstoffgewinn in Prozenten:

Düngungsgruppe	Stickstoffgewinn	Größter Fehler	N-Gewinn gegenüber ON
1	0,3146	0,0063	—
2	0,4548	0,0076	0,1402
3	0,4672	0,0048	0,1526
4	0,5004	0,0028	0,1858
5	0,5176	0,0080	0,2030
6	0,5284	0,00	0,2138
7	0,5664	0,0064	0,2518
8	0,6276	0,0048	0,3130
9	0,7100	0,012	0,3954
10	0,7452	0,010	0,4306
11	0,7848	0,006	0,4702

Das Ergebnis lehrt, daß trotz der verschiedentlich makroskopisch gleich zu bewertenden Kahmhäute eine fortlaufende Vermehrung des Stickstoffgewinnes stattgefunden hat.

Auch dieser Versuch ergibt eine wesentliche Förderung des *Azotobacter*wachstums durch die Stickstoffdüngung.

b) Versuch in Sandtöpfen.

Für den zweiten Teil des Stickstoffdüngungsversuches zu Gerste war als Bodenmaterial reiner Sand von Etzenhausen gewählt worden. Die Düngung war hier im Prinzip die gleiche wie bei den Erdtöpfen, nur wurden die Nährstoffe, mit Rücksicht auf die völlige Nährstoffarmut des Sandes, in doppelter Höhe gegeben.

An Phosphorsäure erhielt jeder Topf 1,507 g P_2O_5 in Form von 3,70 g Dikaliumphosphat, an Kali 1,708 g K_2O , entsprechend etwa 420—450 kg P_2O_5 und 450—500 kg K_2O pro ha Stickstoff, in Form von Ammoniumnitrat wurde in folgenden Konzentrationen gegeben:

Nr.	g N pro Topf	kg N pro ha	Nr.	g N pro Topf	kg N pro ha
1	0	0	7	0,75	240
2	0,12	40	8	0,88	280
3	0,25	80	9	1,00	320
4	0,38	120	10	1,13	360
5	0,50	160	11	1,26	400
6	0,63	200			

Aus den 12 parallelen Reihen wurden nach der Ernte 4 zur Bodenuntersuchung auf *Azotobacter* herangezogen. Diese Reihen hatten folgende Erntezahlen gebracht (in Gramm):

Düngungs- gruppe	a	b	c	d
1	1,50	2,70	3,95	4,05
2	19,9	13,2	16,6	16,2
3	28,7	33,8	35,7	30,3
4	43,3	51,3	41,9	60,0
5	60,0	53,9	60,5	58,7
6	66,6	75,7	80,0	73,2
7	76,0	77,0	62,3	83,0
8	82,8	94,0	84,5	88,3
9	92,8	101,9	98,5	89,0
10	95,0	89,9	103,0	94,0
11	111,0	102,0	104,5	99,2

Auch über diesen Versuch sind alle näheren Einzelheiten in der demnächst zur Veröffentlichung kommenden Arbeit von *Seischab* zu finden.

Aus diesen Töpfen wurden Durchschnittsproben entnommen und auf *Azotobacter* geprüft. Die Bodenreaktion, gemessen am Tage der Versuchsaufstellung, ergab für alle Töpfe sehr gleichmäßige Werte zwischen p_H 7,30 und p_H 7,40. Als Pufferstoff war $CaCO_3$ verwendet worden, *Azotobacter* fand also seine günstigsten Lebensbedingungen vor.

Die Anreicherungskulturen zeigten schon von Anfang an gute Unterschiede bei bester Übereinstimmung unter den Kontrollen. Am dritten Versuchstage waren vereinzelt stecknadelkopfgroße Gasbläs-

chen zu entdecken und in den Kolben mit hoher N-Gabe zarte, netzartige Überzüge. Die Kolben mit niederer N-Düngung waren in keiner Weise verändert. Am *vierten* Tage waren die Unterschiede sehr deutlich, mit steigender N-Gabe zeigten sich verbesserte Hautbildungen.

Nr.	1	2	3	4	5	6
	—	—	—	(θ)	(θ)	(θ)
				±	±	±
Nr.	7	8	9	10	11	
	(0)	(θ)	(θ)	(0)	(0)	
	+	+	+ / + +	+ +	+ +	

Erklärung: (0)–(000) = eingesponnene Gasblasen. ± – + + + + = steigende Mächtigkeit der Kahlhaut.

Während also bei 1–3 noch die wasserklare Flüssigkeit ohne Gasblasen vorhanden war, hatten sich bei 9–11 bereits rechtskräftige Kahlhäute gebildet. Auffallend war die geringe Gasblasenproduktion, die während des ganzen Versuches auch stets nur in engen Grenzen blieb.

Am *sechsten* Tage des Versuches waren in allen Kolben deutliche Membranen ausgebildet, doch waren diese bei den niederen N-Düngungsstufen nur zart und dünn, dagegen bei den hohen dick, derb und runzelig. Am *zehnten* Versuchstage war in allen Kolben eine leichte Verfärbung zu gelbgrau zu beobachten, dann setzte allmählich stärkere Pigmentbildung ein. An dem ruhigen Gesamtbild änderte sich nichts mehr, nur die Böden mit hohen und höchsten N-Gaben bildeten die Kahlhäute noch weiter aus, so daß fast Stufe für Stufe mit der steigenden Stickstoffdüngung eine deutliche Verstärkung und Verbesserung der Membranen sich ergab. Der Schlußstand des Versuches war nach 20tägiger Beobachtung:

Nr.	1	2	3	4	5	6
	(0)	(0)	(θ)	(0)	—	—
	+	+	+ / + +	+ +	+ +	+ +
	!!	!!	!!	!!	!!	!!
Nr.	7	8	9	10	11	
	+ + / + + +	+ + / + + +	+ + +	+ + + +	+ + + +	
	!!	!!!	!!!	!!!	!!!	

Erklärung: (0)–(000) = eingesponnene Gasblasen. + – + + + + = steigende Mächtigkeit der Kahlhaut. ! – !!! = ansteigende Intensität der Pigmentierung.

Im Mikroskop zeigten sich bei den niederen N-Gaben neben kleinen *Azotobacter*zellen auch viele fremde Bakterien, Protozoen, auch Pilzfäden, während mit steigender N-Zufuhr diese fremden Mikroben immer mehr verschwanden, dafür jedoch in zunehmendem Maße Blau- und Grünalgen auftraten. Jedoch waren auch diese zurückgedrängt von großem, kräftigem *Azotobacter*, das in dichten Paketen verklebt, alles andere überwuchert zu haben schien. Schwärmende Protozoen waren hauptsächlich bei den Böden mit mittleren N-Gaben zu finden.

Zusammenfassung. Dieser Versuch ergab sowohl bei Acker- als auch bei Sandboden eine deutliche Förderung des Azotobacterwachstums durch Stickstoffdüngung. Besonders die Untersuchung mit Sandboden lieferte vor allen anderen das ausgeglichene Bild und zeigte fast modellartig eine schrittweise Verbesserung des Azotobacterwachstums mit zunehmender Stickstoffzufuhr. Es wurden die bisherigen Ergebnisse über die Stickstoffwirkung im allgemeinen auf Azotobacter so gut bestätigt, daß weitere Untersuchungen nach dieser Richtung sich erübrigten. Wichtiger erschien es, Versuche anzustellen, die die Frage berührten, welche Form von Stickstoff die günstigste sei und welche Form als Ursache der bisher teilweise beobachteten Schädigungen angesehen werden könnte.

Fünfte Versuchsreihe.

Azotobacternachweis in Böden eines Dauerdüngungsversuches mit verschiedenen Stickstoffformen.

Die Durchführung dieser Versuche wurde durch das freundliche Entgegenkommen der landwirtschaftlichen Abteilung der *I. G. Farbenindustrie A. G.*, Ludwigshafen a. Rh., die die Böden zur Verfügung stellte, ermöglicht. Die Bodenproben entstammten einem an der Versuchstation Limburgerhof bestehenden Dauerdüngungsversuch in Betonzylindern von 1 qm Oberfläche. Die Böden werden seit 1917 alljährlich in gleicher Weise gedüngt. Kali und Phosphorsäure werden in gleicher Höhe und in gleicher Form gegeben, jede Parzelle erhält auch gleichviel Stickstoff, diesen aber jeweils in anderer Gebrauchsform. Gegenübergestellt sind sich die N-Düngungsmittel Ammoniumnitrat, Ammoniumsulfat, Harnstoff und Natronsalpeter. Zum Vergleich dient eine Parzelle ohne Stickstoff-, jedoch mit Kalium-Phosphatdüngung.

Der Versuch war von 1917—1922 mit Getreide und Kartoffeln bestanden, die eine jährliche Stickstoffdüngung von 4,5—6,0 g N pro Parzelle erhielten. Seit 1923 sind Weinreben gepflanzt, zu denen jährlich 15 g N gegeben werden.

Die Bodenreaktion war durch die einseitige Dauerdüngung etwas beeinflußt. Die p_H -Werte waren:

Düngung	p_H
PK	6,81 \pm 0,02
PK + Ammoniumnitrat	6,77 \pm 0,01
PK + Ammoniumsulfat	6,65 \pm 0,03
PK + Harnstoff	6,85 \pm 0,08
PK + Natronsalpeter	7,03 \pm 0,03.

Wenn auch die Unterschiede zwischen den einzelnen p_H -Werten an sich gering sind, so war doch eine gewisse Beeinflussung in der Kahlhautbildung durch die verschiedenen Reaktionszustände zu erwarten. Denn die Erfahrung hatte gelehrt, daß Azotobacter auch auf kleine Unterschiede auf der sauren Seite seiner Vegetationsbreite reagiert und daß diese Ausschläge um so größer werden, je weiter sich die Unterschiede in der Reaktion vom Neutralpunkt nach der sauren Seite zu verschieben.

Es wurden daher in einem Vorversuch erst die natürlichen Wachstumsverhältnisse geprüft, dabei schienen sich diese Annahmen zu bestätigen. Es wurden nämlich nur bei den Böden mit Natronsalpeterdüngung deutliche Kahmhäute ausgebildet, die Böden mit KP + Harnstoff und KP + Ammoniumsulfat zeitigten nur ganz schwache Membranen, während in den übrigen Kolben lediglich schwache Gasblasenbildung zu verzeichnen war. Dabei ließ sich nicht entscheiden, ob die Bodenreaktion Schuld daran trug, oder ob der Boden von Natur aus ein schlechter *Azotobacter*träger war. Daß die Stickstoffdüngung nicht dafür verantwortlich gemacht werden konnte, bewies das total negative Ergebnis bei den Böden mit KP-Düngung.

Es mußte nun ein Weg gefunden werden, um die schädigenden Faktoren auszuschließen. Zu diesem Zweck wurden im Hauptversuch 4 Gruppen a, b, c, d gebildet. In jeder Gruppe bildeten die fünf verschieden gedüngten Böden in je 5facher Besetzung das Ausgangsmaterial-Gruppe a blieb unverändert, Gruppe b erhielt in sämtlichen Kolben einen Zusatz von 0,3 g chemisch reinen, kohlensauren Kalkes. Gruppe c wurde mit 2 ccm einer homogenen *Azotobacter*aufschwemmung geimpft, und Gruppe d wurde mit 0,3 g CaCO₃ und *Azotobacter*impfung versehen. Bei dieser Anordnung mußten sich in irgendeiner Weise vergleichbare Wachstumsbilder ergeben.

Die Kulturen nach *Beijerinck* ließen am zweiten Versuchstage noch keine Veränderungen erkennen. Am dritten Tage begann es sich zu regen. In Gruppe a zeigten lediglich die Kolben mit Natronsalpeterdüngung leichte, stecknadelkopfgroße Gasblasen. In Gruppe b hatten nur die Kolben ohne Stickstoff und mit Salpetergabe Gasblasen, sonst herrschte gleichfalls noch Ruhe. Dagegen hatte Gruppe c in allen Kolben zum Teil recht lebhaft Gasblasenbildung und Gruppe d bereits in allen Kolben eine dünne, netzartige Hautbildung zu verzeichnen.

Am vierten Tage begann auch die Gruppe c die Hautbildung, die alle Kolben erfaßte mit Ausnahme der mit Ammoniumsulfat gedüngten. Dagegen wies Gruppe d mächtige Hautbildungen mit guten Unterschieden auf. Folgende Übersicht gibt das Wachstumsbild für den fünften Tag wieder:

Düngung	a	b	c	d
PK	ø	0	0	(0)
		±	+	++
PK + NH ₄ NO ₃		0	(0)	(0)
		±	+	++/+++
PK + (NH ₄) ₂ SO ₄		0	0	(0)
		±	±	+/++
PK + CO (NH ₂) ₂	0	0ø	(0)	(0)
		±	+/++	+++
PK + NaNO ₃	00	(00)	(0ø)	(0)
		+	++	++++

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingespinnene Gasblasen. ++++ = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut.

In allen Gruppen zeigte demnach die Düngung mit Natronsalpeter die besten Ergebnisse, die mit Ammoniumsulfat die schlechtesten. Auch Harnstoff scheint eine gewisse Begünstigung des Azotobacterwachstums hervorgerufen zu haben. Dagegen war Ammoniumnitrat fast ohne Wirkung gegenüber PK.

Im weiteren Verlauf des Versuchs bekamen die Gruppen b und c erhöhte Bedeutung, da Gruppe a wegen seines schlechten Azotobacterwachstums fast keine Möglichkeit zu Vergleichen zuließ, andererseits in Gruppe d sich die Unterschiede so stark verwischten, dadurch, daß alle Kolben in ziemlich gleichem Maße optimale Kahmhäute ausbildeten. Auch war in dieser Gruppe die Beurteilung durch eine totale Schwarzfärbung sehr erschwert. Auch während der folgenden Tage erlitten die Kulturen keine wichtigen Veränderungen mehr. In allen Gruppen hatten nach wie vor die mit Salpeter gedüngten Böden die weitaus besten Kahmhäute, während die mit Ammonsulfat gedüngten in der Hautbildung sehr weit zurückgefallen waren. Harnstoff dagegen schien eine schwach fördernde Einwirkung auf Azotobacter zu haben, während die Kulturen von den Böden mit Ammoniumnitratdüngung denen der Böden mit PK ziemlich gleichwertig erschienen. Etwas aus dem Rahmen des Versuches fiel die Gruppe c. Hier waren die Hautgebilde gallertig-grießig, also atypisch gegenüber den anderen Gruppen mit trockenen lederartigen Membranen. Die Impfung mit bodenfremdem Azotobacter hatte wohl ein Massenwachstum veranlaßt, es schien aber doch, als ob dieses Mikrobium sich nur schwer dem Boden anpassen könnte. Auch die punktiertig verstreuten Pigmentierungen waren durchaus atypisch und besaßen einen feuchten Glanz.

Als sich weitere Veränderungen nicht mehr ergaben, wurde der Versuch am 15. Tage abgeschlossen.

Dabei wurden folgende Ergebnisse erzielt:

Düngung	a	b	c	d
PK	00 ±	(0) ++ !!!	(0) + / ++ !!	- ++++ !!!!
PK + NH ₄ NO ₃	00 ±	(0) ++ !!!	(0) + / ++ !!!	++++ !!!!
PK + (NH ₄) ₂ SO ₄	0	+ !!	+ !!	+++ !!!!
PK + CO (NH ₂) ₂	00 +	+++ !!!	(0) + / +++ !!	++++ !!!!
PK + NaNO ₃	(0) + / ++ !!	++++ !!!!	(0) + / +++ !!!	++++ !!!!

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingespinnene Gasblasen. +-++++ = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut. !-!!!! = ansteigende Intensität der Pigmentierung.

Bei Betrachtung des Schlußbildes der Gruppen a, b, c (Gruppe d kam wegen zu großer Ausgeglichenheit im Endzustand nur für die Entwicklungsperiode in Betracht) ergibt sich eindeutig das Ergebnis des Versuches. In diesen Böden war *Azotobacter* durch die langjährige Anwendung von Natronsalpeter stark gefördert, durch Ammoniumsulfat entschieden geschädigt worden. Bei der Ammoniumnitratdüngung hatten sich scheinbar die günstigen und die ungünstigen Wirkungen gegenseitig aufgehoben, während dem Harnstoff ein schwach fördernder Einfluß zuzuerkennen war.

Auf Grund dieser Ergebnisse schienen auch die Befunde von *Bihler*⁶ und *Butenschön*⁸ leichter verständlich. Diese hatten jeweils kurz nach der Ammoniumsulfatdüngung schlechtes *Azotobacter*wachstum erhalten, die Schädigung trat im Verlauf der Vegetationszeit schnell und stark zurück. Offenbar hing dies mit der Überführung des Ammonstickstoffs in Nitrit-Nitratstickstoff durch Bakterientätigkeit im Boden zusammen.

Zusammenfassung. Im vorstehenden Versuch wurde ein mit verschiedenen Stickstoffgebrauchsformen durchgeführter Dauerdüngungsversuch auf *Azotobacter* geprüft. Dabei ließ sich in jedem Fall eine deutliche Förderung des *Azotobacter*wachstums durch Dauerdüngung mit Natronsalpeter feststellen, während die Dauerdüngung mit Ammoniumsulfat eine Schädigung hervorgerufen zu haben schien. Dem Harnstoff war eine schwach begünstigende Wirkung zuzuerkennen, während Ammoniumnitrat weder Förderung noch Schädigung des *Azotobacter*wachstums erkennen ließ.

Zweite Versuchsgruppe.

Modellversuche zur Untersuchung der verschiedenen Wirkungen der einzelnen Stickstoffformen auf Azotobacter.

Im Anschluß an die vorbeschriebenen Untersuchungen, die mit Böden aus Freiland- bzw. Gefäßdüngungsversuchen angestellt wurden, sollten in einer weiteren Versuchsgruppe „*Modellversuche*“ über den Einfluß der Stickstoffdüngung auf das *Azotobacter*wachstum angestellt werden. Dabei sollten Ammoniumsulfat, Harnstoff und Natronsalpeter in ihrer Wirkung auf *Azotobacter* sich gegenübergestellt werden. Es blieb dabei aber die Frage zu überlegen, ob die Unterschiede des *Azotobacter*wachstums als Folgeerscheinung der Düngung mit diesen Salzen nicht auf die Bindung des Stickstoffs an H_2SO_4 bzw. NaOH zurückzuführen seien, also eine Wirkung der physiologischen Reaktion der Stickstoffsalze darstellten.

Diese Frage war aber bereits bei einem früheren Versuch geklärt worden, der zur genaueren Bestimmung der Reaktionsbreite für *Azotobacter* durchgeführt worden war, wegen seiner durchwegs negativen Ergebnisse aber wieder aufgegeben werden mußte. Hier waren die Ver-

suchsböden von *Landgraf*³⁴ auf *Azotobacter* geprüft worden. *Landgraf* hatte langjährigen Wiesenboden durch Zufuhr von Schwefelsäure und Natronlauge in bestimmte extreme und abgestufte Aciditätszustände gebracht, diese weiten Abstände zwischen den Reaktionsstufen durch Kalkgaben verringert, um so eine optimale, in p_H -Zahlen ausgedrückte Wachstumsbreite für *Festuca pratensis* zu erhalten.

Es zeigte sich jedoch, daß diese Versuchsböden für *Azotobacter*-untersuchungen nicht geeignet waren. *Landgraf* hatte bei dem frischen Wiesenboden noch gutes *Azotobacter*wachstum erreichen können, durch die Behandlung mit H_2SO_4 und NaOH war *Azotobacter* jedoch in gleicher Weise vernichtet worden. Es war ja zu erwarten, daß die Behandlung mit Schwefelsäure schon allein durch die starke Versäuerung des Bodens (p_H 3,25 — p_H 5,40) das Gedeihen des *Azotobacters* unmöglich machen würde, es ergab sich jedoch, daß auch Natronlauge, obwohl sie den Boden in einen für dieses Mikrobium sehr günstigen Reaktionszustand (p_H 6,51 — p_H 7,43) versetzte, jedes *Azotobacter*leben hatte ersterben lassen. Ob dabei rein toxische oder plasmolytische Erscheinungen zur Wirkung gekommen waren, oder ob nur eine starke Unterdrückung des *Azotobacters* zugunsten des Wachstums der vorgefundenen Pilzarten stattgefunden hatte, konnte nicht entschieden werden. Die Versuche bewiesen jedenfalls, daß die günstige Kalkwirkung eine spezifische Wirkung des Calciums ist, das durch Natrium in irgendwelcher Form nicht ersetzt werden kann (Versuche mit Magnesium in dieser Richtung wurden nicht angestellt). Diese Ansicht hat auch *Remy*⁴² schon zum Ausdruck gebracht.

Wenn also überhaupt eine Beeinflussung des *Azotobacter*wachstums durch die physiologisch sauren bzw. alkalischen Reaktionen der Stickstoffsalze zu erwarten war, so konnte diese in allen Fällen nur eine gleichmäßig schädigende sein. Die Unterschiede im *Azotobacter*wachstum konnten dagegen auf die verschiedene Wirkung des Ammoniumstickstoffs und des Nitratstickstoffs zurückgeführt werden. Diese verschiedene Wirkung sollte an Hand der Modellversuche studiert werden.

Allgemeines.

Für diese Versuche wurden möglichst verschiedene Bodenarten gewählt. Zur Verwendung gelangten 10 Böden, die von den Versuchsfeldern, aus der Garchinger Heide und aus den verschiedenen Bodenformationen von Lochhausen stammten. Voraussetzung war immer, daß die Böden in sich möglichst ausgeglichen waren, und von Natur lebenskräftiges *Azotobacter* beherbergten. Die Proben wurden unter gleichen Witterungsbedingungen im Zeitraum von 2 Tagen zur Zeit des Frühjahrsoptimums genommen. Nachdem sie lufttrocken geworden waren, wurden sie auf 2 mm gesiebt und dann jeweils 10 kg Boden mit 2 l einer homogenen *Azotobacter*aufschwemmung versetzt. Die Impfflüssigkeit wurde durch kräftiges Mischen und Kneten möglichst gleichmäßig verteilt, die Böden dann wieder getrocknet und gesiebt.

Für alle Böden galt folgender Düngungsplan: Kali und Phosphorsäure nach *Beijerinck*, also 0,02% Dikaliumphosphat. Als Variante Stickstoff in 3 Formen

- Reihe a = Ammoniumsulfat
 „ b = Harnstoff
 „ c = Natronsalpeter.

In jeder Reihe waren 14 Abstufungen in der Stickstoffkonzentration vorgesehen, zum Vergleich diente eine Gruppe ohne Stickstoff. Es wurden 3 Stickstoffsalzlösungen hergestellt:

Ammoniumsulfat	1,8886 g in 1000 ccm Aqua dest.
Harnstoff	0,8471 g „ 1000 „ „ „
Natriumnitrat	2,4314 g „ 1000 „ „ „

Zur Verwendung kamen nur chemisch reine Salze, in allen Lösungen entsprach 1 ccm einer Stickstoffmenge von 0,4 mg.

Es erhielten die Kolben:

Nr.	N/Kolben in mg	N/ha in kg	Lösung in ccm	Aqua dest. in ccm
1	0,1	20	0,25	49,75
2	0,2	40	0,50	49,50
3	0,31	60	0,78	49,22
4	0,52	100	1,30	48,70
5	0,73	140	1,83	48,17
6	0,95	180	2,38	47,62
7	1,30	250	3,25	46,75
8	2,00	400	5,00	45,00
9	3,10	600	7,80	42,20
10	4,20	800	10,50	39,50
11	5,25	1000	13,25	36,75
12	6,30	1200	15,75	34,25
13	8,40	1600	21,00	29,00
14	10,50	2000	26,25	23,75

Dazu wurde jeder Kolben mit 50 ccm einer Nährlösung von destilliertem Wasser mit 4% Mannit und 0,04% Dikaliumphosphat beschickt, so daß der Boden in jedem Kolben nach der Vorschrift *Beijerincks* mit

- 100 ccm Aqua dest.
 2,00% Mannit
 0,02% K_2HPO_4

versehen war. Außerdem war in jedem Kolben die gewünschte Stickstoffmenge enthalten. Der Arbeitsgang war so, daß zuerst Wasser, dann Stickstofflösung und zuletzt die Nährlösung gegeben wurden. Auf diese Weise wurden die 10 Böden untersucht.

Erste Versuchsreihe.

Zur Kennzeichnung des Bodens, der dem Versuchsfeld I entnommen wurde, ist zu sagen, daß er ein typischer Vertreter des Niederterrassenschotters der Umgebung von München ist. Seiner Zusammensetzung nach stellt er lehmigen Sand dar, ist durchaus humusarm, zumal da seit Bestehen des Versuchsfeldes, also seit etwa 25 Jahren, keinerlei organische Substanz mehr zugeführt worden ist. Er weist aber gutes

Azotobacterwachstum auf, ist nahezu neutral, seine Reaktion wurde mit $p_{\text{H}} = 7,01$ gemessen.

Der Versuch mit diesem Boden zeigte bereits am *zweiten* Tag der Kultur vereinzelt kleine Gasbläschen, besonders in der Reihe mit Ammoniumsulfat. Am *dritten* Tage waren in Reihe b und c, ausgehend von der jeweils höchsten Stickstoffgabe, bereits zarte Kahmhäute zu finden, Dieses Bild verstärkte sich schon am *vierten* Tage außerordentlich. Der Boden ohne Stickstoff hatte eine zusammenhängende Kahmhaut, die mit + bewertet werden konnte, gebildet. Dagegen wiesen die Kolben mit verschiedener N-Düngung große Unterschiede auf:

kg N pro ha	a	b	c
20	(00) + !	(0) + !	(00) +/+ + !
40	(00) + !	(0) + !	(00) ++ !
60	(00) + !	(0) + !	(00) ++ !
100	00 + !	(0) + !	(00) ++/+++ + !
140	00 ±	(00) + !	(00) ++/+++ + !
180	000 ±	(00) + !	(00) ++/+++ + !
250	00 ±	(00) + !	(00) ++/+++ + !
400	00 ±	(00) + !	(00) ++/+++ + !
600	00 ±	(00) +/+ + !	(00) ++/+++ + !
800	00 ±	(00) +/+ + !	(00) ++ !!
1000	00 ±	(00) +/+ + !	(00) ++ !!
1200	00 ±	(00) +/+ + !	(00) ++ !!
1600	00 ±	(00) +/+ + !	(00) ++ !!
2000	00 ±	(00) +/+ + !	(00) ++ !!

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. ±-++ + + = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut. !-!!!! = steigende Intensität der Pigmentierung.

Die Ammoniumsulfatdüngung hatte demnach in geringen Mengen das Wachstum gegenüber „ungedüngt“ nicht beeinträchtigt, dagegen bei höheren und hohen Konzentrationen eine gewisse Schädigung hervorgerufen. Die Harnstoffreihe war ziemlich ausgeglichen, entsprach im allgemeinen dem ungedüngten Boden, nur bei den höchsten N-Gaben war eine leichte Begünstigung des Azotobacterwachstums zu erkennen. Ganz anders war das Bild bei der Natronsalpeterdüngung. Hier war von Anfang an eine bedeutende Wachstumssteigerung zu verzeichnen, die sich mit erhöhten N-Gaben noch verstärkte und nur bei den höchsten Konzentrationen etwas nachließ. In der Folgezeit wurden die Unterschiede noch größer. In der Reihe mit Natronsalpeter wurden auch bei den höchsten Gaben die Kahmhäute stark verbessert, so daß die Hautstärke gleichsinnig mit der N-Zufuhr anstieg. Auch die Harnstoffreihe verstärkte noch ihre Hautgebilde, konnte jedoch in keiner Phase die Natronsalpeterreihe erreichen. In geringem Maße wie die Hautbildung zeigte auch die Pigmentierung Unterschiede zugunsten der Reihe c. Am *achten* Tage hatte die ungedüngte Gruppe eine nur mäßige Kahmhaut entwickelt, die Kolben mit Stickstoffdüngung zeigten folgendes Wachstumsbild:

kg N pro ha	a	b	c
20	(00) +/+ + !!!	(0) ++ !!!	(0) ++ !!!!
40	(00) ++ !!	(0) ++ !!!	(0) ++/+++ !!!!
60	(000) ++ !!	(0) ++ !!!	(0) ++/+++ !!!!
100	000 + !!	(0) ++ !!!	(0) +++ !!!!
140	000 + !!	(0) +++ !!!	(0) +++ !!!!
180	000 + !!	(0) +++ !!!	(0) +++ !!!!
250	000 + !!	(0) +++/+++ !!!	(0) +++ !!!!
400	000 + !!	(0) +++ !!!	(0) +++/++++ !!!
600	000 + !!	+++ !!	(0) +++/++++ !!!
800	000 + !!	(00) +++ !!	(00) +++ !!!
1000	00 + !!	(0) ++ !!	(00) +++ !!!
1200	000 ± !!	(0) ++ !!	(0) +++ !!!!
1600	000 ± !!!	(00) ++ !!	(0) +++ !!!
2000	00 ± !!	(00) ++ !!!	(00) +++ !!!

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. ±-+++ = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut. !-!!!! = steigende Intensität der Pigmentierung.

Wenn auch die Tabelle auf einige Unebenmäßigkeiten schließen läßt, so war der Unterschied zwischen den Reihen doch so riesig, daß kleine Störungen das Gesamtbild nicht beeinträchtigen konnten. Die Ammoniumsulfatreihe hatte bei den schwachen Gaben ein etwas verbessertes *Azotobacter*wachstum, das jedoch schon bei Beginn der mittleren Gaben stark nachließ und dann durch große Schauminseln (Geruch nach Buttersäure!) ersetzt wurde. Nur an den Kolbenrändern waren noch Kahmhautbildungen zu erkennen. Die Harnstoffreihe zeigte schon bei den niederen Gaben sehr gutes *Azotobacter*wachstum, das sich noch steigerte und nur bei den höchsten Gaben wieder etwas nachließ. Die Natronsalpeterreihe dagegen war den beiden anderen durch ihr besonders freudiges *Azotobacter*wachstum in allen Punkten überlegen und hatte außerdem noch lange nicht den Abschluß ihrer Entwicklungsmöglichkeiten erreicht. Sie verstärkte die Kahmhäute noch bei allen N-Stufen, zum Teil sehr erheblich.

Durch die guten Wachstumsverhältnisse waren die Kulturen bereits am vierzehnten Kulturtag vollständig ausgebildet, so daß der Versuch abgebrochen werden konnte. Die Kolben ohne N-Düngung zeigten nur mäßige Kahmhäute, die durch Gasblasen gestört waren, in den übrigen Kulturen, war folgender Schlußstand zu verzeichnen:

344 E. Schneider: Wie wirken Stickstoffkünstdünger auf Vorkommen

kg N pro ha	a	b	c
20	(oo) +/+ + !!!	(0) ++ !!!!	(0) ++ !!!!
40	(00) ++ !!!	(0) ++ !!!!	(0) + +/+ + + !!!!
60	(00) ++ !!!	(0) ++ !!!	(0) + +/+ + + !!!
100	000 + !!!	(0) ++ !!!	+++ !!!!
140	00 + !!!	(0) + + + !!!	(0) + + + !!!!
180	0 + !!!	(0) + + + !!!	+++ !!!!
250	00 + !!!	(0) + + + !!!	(0) + + + !!!!
400	00 + !!	+ + +/+ + + + !!!	+ + + + !!!
600	00 ± !!	+ + + !!!	+ + + + !!!
800	00 ± !!	+ + + !!!	+ + + + !!!!
1000	00 ± !!	(0) + +/+ + + !!!	+ + + + !!!!
1200	00 ± !!	(0) + + + !!!	+ + + + !!!!
1600	00 ± !!	(00) + +/+ + + !!!	+ + + + !!!!
2000	00	(0) + +/+ + + !!!	(00) + + + !!!

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingespannene Gasblasen. ± - + + + + = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut. !-!!!! = steigende Intensität der Pigmentierung.

Der Versuch ergab demnach ein sehr gutes Bild von der Wirkungsweise der 3 Stickstoffformen. Nach anfänglicher Förderung des Azotobacterwachstums durch Ammoniumsulfat trat bald eine wesentliche Verschlechterung ein, bei der höchsten Gabe war nur noch eine trübe Flüssigkeit zu sehen. Es hatte den Anschein als ob die anfänglich immerhin noch deutlichen, wenn auch ganz schwachen Hautgebilde bei den höheren und höchsten N-Gaben dieser Reihe mit der Dauer des Versuches sich wieder auflösten. In diesen Kolben war auch ein intensiver Geruch nach Buttersäure zu bemerken. Die Harnstoffreihe bildete mit erhöhten H-Gaben die Kahmhäute immer besser aus, nur bei den höchsten Gaben war ein leichtes Nachlassen zu bemerken. Die Natronsalpeterreihe zeigte schon bei niederen Gaben kräftige Häute, die sich mit den höheren N-Düngungsstufen bis zur optimalen Kahmhautbildung verbesserten. Hier waren derbe, runzelige, lederartige Azotobacterhäute zur Entwicklung gekommen, mit meist tiefschwarzer, lückenloser Pigmentierung. Nur bei der höchsten Natronsalpetergabe war eine geringe Wachstumsverminderung festzustellen. Es ist eben zu bedenken, daß bei dieser unmittelbaren Beigabe von Stickstoffsalzen die Nebenwirkungen erhöhten Wirkungsgrad besitzen, während diese im natürlichen Boden zweifellos eine Abschwächung erfahren

würden. Darum scheint sich Kalksalpeter für *Azotobacter* noch besser zu eignen, Nebenversuche bestätigten dies auch, doch konnte dieses Salz hier nicht Verwendung finden, weil sonst durch den einwandfrei festgestellten günstigen Kalkeinfluß die Salpeterwirkung nicht mehr hätte isoliert werden können.

Zweite Versuchsreihe.

Der Boden zu diesen Untersuchungen stammte aus dem Versuchsfeld II des Instituts. Es ist geologisch mit dem vorhergehenden Boden gleich zu bewerten, hat aber einen höheren Gehalt an Humus und kann als fruchtbarer, nährstoffreicher Ackerboden in gutem Kulturzustand bezeichnet werden. Auch dieser Boden hat von Natur aus eine gute *Azotobacter*flora. Seine Reaktion lag bei Beginn der Untersuchungen bei $p_H 7,07 \pm 0,08$.

Die Kulturen mit diesem Boden zeichneten sich von Anfang an durch rasches, kräftiges *Azotobacter*wachstum aus. Am *zweiten* Versuchstage waren in allen Kolben der Ammoniumsulfatreihe kleine, stecknadelkopfgroße Gasbläschen gebildet. Die übrigen Reihen hatten noch Ruhe. Am *dritten* Versuchstage waren aber in allen Kolben bereits deutliche Membranen sichtbar, wobei schon in der Stärke derselben ein Unterschied zugunsten der Natronsalpeterreihe zu verzeichnen war. Besonders bei den hohen Gaben hatte Reihe c einen glatten Vorsprung. Am *vierten* Tage war in der ungedüngten Gruppe eine mittelgute Kahnhaut entstanden, die Unterschiede in den stickstoffgedüngten Kolben waren stark ausgeprägt:

kg N pro ha	a	b	c
20	(00) ++	(00) ++	(0) ++
40	(00) ++	(00) ++	(0) ++/+++
60	(00) ++	(00) ++	(0) ++/+++
100	(000) ++	(00) ++	(0) +++
140	(00) ++/+++	(0) ++/+++	(00) +++
180	(00) +	(0) ++/+++	(00) +++
250	00 +	(0) ++/+++	(00) +++
400	00 +	(0) ++/+++	(00) +++
600	000 +	(0) ++/+++	(0) +++
800	00 +	(0) ++/+++	(0) +++
1000	00 +	(0) ++/+++	(0) +++
1200	00 ±	(0) ++	(0) +++
1600	00 ±	(0) ++	(00) ++/+++
2000	00 ±	(0) ++	(00) ++/+++

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. ±-++++ = steigende Mächtigkeit der Kahnhaut.

Die Tabelle zeigt neben dem Unterschied, den die verschiedene Stickstoffdüngung hervorrief, die Stärke des Wachstums, das für den vierten Tag schon außerordentlich kräftig war. Das Gesamtbild war das gleiche wie bei dem vorhergehenden Versuch. Die Kahnhäute bei den höheren und höchsten Stickstoffgaben der Reihen b und c waren in den Reihen ziemlich gleichwertig oder wiesen mit erhöhter Stickstoffzufuhr leichte Verbesserungen auf, nur bei den beiden höchsten

N-Gaben erschienen die Hautgebilde etwas gestört. Die Ammoniumsulfatreihe dagegen baute nach kurzem Wachstumsanstieg bei den niederen N-Zufuhren mit steigender Stickstoffkonzentration stark ab. Im weiteren Verlauf des Versuches wurden die Unterschiede im gleichen Sinne noch größer. Auffallend war die tiefschwarze Pigmentierung in fast allen Kolben mit Ausnahme denen der unbebauten Gruppe, deren Hautbildung ebenfalls zu wünschen übrigließ.

Am vierzehnten Tage der Kultur ergab sich folgendes abschließendes Bild:

kg N pro ha	a	b	c
20	(0) +/+ + !!!!	++ !!!!	(0) ++ !!!!
40	(0) ++ !!!!	++ !!!!	++/+++ !!!!
60	(0) ++ !!!!	++ !!!!	+++ !!!!
100	(0) + !!!!	+++ !!!!	+++ !!!!
140	(0) + !!!!	+++ !!!!	++++ !!!!
180	(0) + !!!!	+++ !!!!	+++ !!!!
250	± S	+++ !!!!	++++ !!!!
400	0 ± !!!	+++ !!!	++++ !!!!
600	0 ± !!!	(0) +++ !!!	++++ !!!!
800	± S	(0) +++ !!!	++++ !!!!
1000	0 ± !!	+++ !!!!	+++ !!!!
1200	± S	+++ !!!	+++ !!!!
1600	± S	+++ !!!	+++ !!!!
2000	S	(0) ++ !!!	(0) +++ !!!!

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingespinnene Gasblasen. ±-++++ = steigende Mächtigkeit der Kahnhaut. !-!!!! = steigende Intensität der Pigmentierung. S = Schimmelüberzug.

Auch dieser Versuch zeigte klare Unterschiede. Ammoniumsulfat hatte in geringen Konzentrationen eine fördernde Wirkung, um dann bei höheren Gaben das Azotobacterwachstum deutlich zu hemmen. In diesen Kolben waren gegen Ende des Versuches die Oberflächen der Kulturflüssigkeit von dichten, weißen Schimmelpolstern bedeckt, die sich in der Reinkultur als Wachstumsanhäufungen von Pilzarten, die *Oidium lactis* nahestehen, entpuppten. Die noch vorhandenen Membranen waren hauchdünn, glatt und netzartig, vollkommen atypisch, aber immerhin schwach pigmentiert. Dagegen lieferte Harnstoff von Anfang an ein verbessertes Wachstumsbild, die Kahnhäute verstärkten sich

langsam mit gesteigerter Gabe, nur die höchste Harnstoffzufuhr ließ einen kleinen Rückschlag eintreten. Das weitaus beste *Azotobacter*-wachstum war in der Natronsalpeterreihe festzustellen, schon bei mittleren Gaben wurden äußerst kräftige Membranen ausgebildet, die erkennen ließen, daß hier *Azotobacter* seine optimalen Lebensbedingungen gefunden hatte. Dieser Zustand hielt bis zur zweithöchsten Stickstoffkonzentration an, bei der höchsten war gleichfalls ein geringes Nachlassen des *Azotobacter*wachstums festzustellen.

Dritte Versuchsreihe.

Der Boden stammte aus einem humusreichen, sehr fruchtbaren Gartenland, dessen großer Nährstoffvorrat durch alljährliche Kompost- oder Stallmistzufuhr immer wieder ergänzt wurde. Auch Kalk fehlte nicht, die Wasserstoffionenkonzentration lag zu Beginn des Versuches bei p_H 7,14. Dieser Boden hatte ebenfalls von Natur aus kräftiges *Azotobacter*wachstum, der Versuch zeichnete sich durch besonders schnelle Hautbildung aus.

Die Anreicherungskulturen zeigten schon am *zweiten* Tage lebhaftige Neigung zur Kahmhautbildung und damit auch schon die ersten Unterschiede. Besonders die hohen Natronsalpetergaben hatten wieder vorzügliche Häute zur Folge. Am *dritten* Tag waren die Unterschiede, wie nachfolgende Tabelle zeigt, bereits sehr groß.

kg N pro ha	a	b	c
20	(00) ++	(00) ++	(00) ++/++++
40	(00) ++	(00) ++/++++	(00) ++/++++
60	(00) ++/++++	(00) ++/++++	(00) ++ +
100	(00) ++/++++	(00) ++/++++	(00) ++ +
140	(00) ++	(0) ++/++++	(0) ++ +
180	(00) ++	(0) ++/++++	(0) ++ +
250	(00) ++/++	(0) ++ +	(00) ++ +
400	(00) +	(0) ++ +	(00) ++ +
600	(00) +	(0) ++ +	(00) ++ +
800	(00) +	(0) ++ +	(00) ++ +
1000	(000) +	(0) ++ +	(00) ++ +
1200	000 +	(0) ++ +	(00) ++ +
1600	000 +	(0) ++ +	(00) ++ +
2000	000 +	(0) ++ +	(00) ++ +

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. +-++++ = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut.

An diesem Tage hatte die Harnstoffreihe ebenso gutes Wachstum wie die Salpeterreihe, während die Ammonsulfatdüngung wieder bei den höheren Gaben starke Verminderung des *Azotobacter*wachstums hervorrief. Bei den niederen N-Gaben der Gruppe a waren dagegen die Kahmhäute verhältnismäßig kräftig ausgebildet. Die folgenden Tage brachten in den Kolben der Reihe a sowie bei den niederen N-Gaben der Reihen b und c eine starke zweite Gasblasenproduktion, wodurch die Membranen beulenartig aufgetrieben und in ihrem Wachstum gehemmt wurden. Am wenigsten hatte darunter die Natronsalpeterreihe

zu leiden, die auch schon an den beiden folgenden Tagen Azotobacterhäute von optimaler Beschaffenheit ausbildete, die lederartig trocken und runzelig und gleichmäßig pigmentiert, gegenüber der Harnstoffreihe bedeutend im Vorteil waren. Nach zwei Tagen gingen auch in Reihe a und b die Gasblasen zurück, in der Harnstoffreihe wurden die Kahmhäute ebenfalls noch kräftiger und auch die Ammoniumsulfatreihe hatte verhältnismäßig gute Hautbilder aufzuweisen. Bei den höchsten N-Gaben dieser Reihe bildeten sich in den Kahmhäuten weite Risse und Sprünge, so daß die Membranen teilweise in Fetzen auf den Boden herabgingen, was den sonst nicht schlechten Gesamteindruck der Reihe a in diesem Versuch wesentlich störte. Der Versuch konnte am vierzehnten Tage seines Bestehens als abgeschlossen betrachtet werden. Die ungedüngte Gruppe hatte ziemlich gute Kahmhäute ausgebildet, die mit ++ zu bewerten waren. Das durch die verschiedene Stickstoffdüngung bewirkte Ergebnis ist in folgender Tabelle festgehalten:

kg N pro ha	a	b	c
20	(0) +/+ + !!!	++ !!!	(0) ++ !!!
40	(0) +/+ + !!!	++ !!!	++ !!!
60	S	++/+++ !!!	+++ !!!
100	(0) ++/+++ !!!!	++/+++ !!!!	+++ !!!!
140	(00) ++/+++ !!!	++/+++ !!!	+++ !!!!
180	(0) ++ !!!	++/+++ !!!	+++/ !!!!
250	++ !!!	+++ !!!	+++/ !!!!
400	++ !!!	+++ !!!	+++/ !!!!
600	++ !!!	+++ !!!	+++ !!!!
800	(00) + !!	+++ !!!	+++ !!!
1000	+ !!	+++/ !!!	+++ !!!!
1200	+ !!	+++/ !!!	+++ !!!!
1600	+ S !	+++ !!!	+++ !!!!
2000	+ !!	+++ !!!!	+++ !!!!

Erklärung: 0-000 klare, (0)-(000) = eingespinnene Gasblasen. + - + + + = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut. !-!!!! = steigende Intensität der Pigmentierung. S = Schimmelüberzug.

Im Gegensatz zu den beiden ersten Versuchen waren diesmal bei Harnstoff und Natronsalpeter die besten Kahmhäute bei den höchsten Stickstoffgaben zu finden, eine Optimumsgrenze wurde also noch nicht

angezeigt. Wenn auch die Kulturen mit den verschiedenen Bodenarten nicht in allen Dingen die gleichen Wirkungsgrade für die verschiedenen N-Formen und N-Mengen zeigten, so gliedert sich doch auch dieser Versuch gut an seine beiden Vorgänger an.

Vierte Versuchsreihe.

Als Bodenmaterial für diesen Versuch diente jungfräulicher Wiesenboden (Schafweide) von der Garchinger Heide, die ebenfalls geologisch dem Niederterrassenschotter angehört. Jedoch ist die Krume sehr flach, besteht aus lehmhaltigem Sand mit ziemlich groben Bestandteilen und ermöglicht nur dürrtige Pflanzenvegetation. Die Bodenreaktion lag am Tage der Versuchsaufstellung bei p_H 6,43, der Boden hatte von Natur aus nur sehr mäßiges *Azotobacter*wachstum, doch schien es sehr interessant, die Stickstoffwirkungen auch unter solchen Verhältnissen zu untersuchen.

Am zweiten Tage der Anreicherungskulturen waren in der Ammoniumsulfatreihe allein Anzeichen von mikrobieller Entwicklung zu sehen, in Form kleiner Gasblächen. Auch am folgenden Tage waren nur vereinzelt, aber typisch für die Stickstoffwirkung, schwache Hautgebilde zu bemerken und zwar bei den vier höchsten Harnstoffgaben und in allen Kolben der Salpeterreihe. Nach 4 Tagen waren in allen Kolben mehr oder minder starke Kahmhäute entstanden, die schöne Unterschiede aufwiesen. Die Kahmhäute der un bebauten Gruppe waren mit + zu bewerten, die Wirkung der Stickstoffdüngung in den Kulturen wird durch folgende Tabelle erläutert:

kg N pro ha	a	b	c
20	(00) +/+ +	(0) +/+ +	(0) +/+ +
40	(00) + +	(0) +/+ +	(0) +/+ +
60	(00) + +	(00) +/+ +	(00) + +
100	(00) +/+ +	(00) +/+ +	(00) + +
140	00 +	(00) +/+ +	(00) + +
180	00 +	00 +/+ +	(00) + +
250	000 ±	00 +/+ +	(00) + +/+ + +
400	000 ±	00 +/+ +	(00) + +/+ + +
600	000 ±	(00) + +	(00) + +/+ + +
800	000 ±	(00) + +	(00) + +/+ + +
1000	000 ±	(00) + +	(00) + +/+ + +
1200	000 ±	(00) + +	(00) + +/+ + +
1600	000 ±	(0) + +	(0) + +/+ + +
2000	000 ±	(00) + +	(0) + +/+ + +

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. ± - + + + + = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut.

Obleich in diesem Boden das *Azotobacter*wachstum sichtlich nur mit Schwierigkeiten vor sich ging, hatten auch hier die verschiedenen Stickstoffformen und -mengen im allgemeinen dieselbe Wirkung wie bei den früheren Versuchen. Auffallend war, daß bei den niedersten Stickstoffgaben Ammoniumsulfat die beste Hautbildung zur Folge hatte. Bei den mittleren Gaben kehrte sich das Verhältnis dann rasch um.

Im weiteren Verlaufe verstärkten sich die Membranen in der Harnstoff- und Salpeterreihe noch zum Teil, dagegen entwickelten sich in der Reihe a große Schaumgebilde, die eine Verschlechterung der Kahlhäute im Gefolge hatten. Bei den höchsten Gaben in dieser Reihe lösten sich die anfänglichen, schwachen Hautgebilde wieder auf und hinterließen nur eine trübe Flüssigkeit, die auch teilweise Ansätze von Pilzwachstum aufwies. Am vierzehnten Tage wurde der Versuch beendet mit nachfolgendem Ergebnis:

kg N pro ha	a	b	c
20	(000) + !!	(000) + !!	(000) + !!
40	(000) + !!	(000) + !!	(000) + !!
60	(000) + !!	(00) + !!	(00) ++ !!
100	(000) + !!	(00) ++ !!	(00) ++ !!
140	(000) + !!	(00) ++ !!	(00) ++ !!!
180	000 ± !	(00) ++ !!	(00) ++ !!!
250	000 ± !	(00) ++ !!	(00) ++ !!!
400	000 ± !	(00) ++ !!	(00) ++/+++ !!!
600	000	(00) ++ !!	(0) ++/+++ !!!
800	000	(00) ++ !!!	(0) +++ !!!
1000	000	(00) ++ !!!	(0) +++ !!!
1200	000	(00) ++ !!!	(0) +++ !!!
1600	000	(00) ++ !!!	(0) +++ !!!
2000	000	(00) ++/+++ !!!	(0) +++ !!!

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingespinnene Gasblasen. ±-++ ++ = steigende Mächtigkeit der Kahlhaut. !-!!! = steigende Intensität der Pigmentierung.

Die Tabelle zeigt, daß bei Abschluß des Versuches in manchen Kolben (auch der Reihe b und c) die Hautbildung schlechter war als am 4. Versuchstage. Es läßt sich auch sonst öfters, besonders bei Bodenimpfung, beobachten, daß Azotobacter bei wenig günstigen Böden im ersten Wachstum ziemlich gute Kahlhäute bildet, dann aber unter dem Einfluß der ungünstigen Bodenverhältnisse und der dadurch begünstigten fremden Mikrobenflora in seiner weiteren Entwicklung stark zurückgedrängt wird. Aber auch dieser Versuch ergab, wenn auch in engeren Grenzen, eine anfängliche Azotobacterförderung in der Ammoniumsulfatreihe, die dann aber bei steigender Konzentration stark abnahm. Harnstoff hatte auch hier mit steigenden Gaben eine leichte Wachs-

tumsverbesserung zur Folge, bei Natronsalpeter trat diese noch stärker in Erscheinung und erreichte ihren höchsten Punkt mit der höchsten Stickstoffgabe.

Fünfte Versuchsreihe.

Der Boden zu diesem Versuch stammte aus einem Ackerland in der Garchinger Heide. Er ist dem vorher beschriebenen Versuchsmaterial ziemlich ähnlich, hat jedoch einen größeren Prozentsatz an feinen Bestandteilen, was wohl auf die 20jährige Ackernutzung zurückzuführen ist. Man kann ihn als schwach humushaltigen, lehmigen Sand bezeichnen. Seine Wasserstoffionenkonzentration lag auch näher am Neutralpunkt, wie der p_H -Wert 6,70 anzeigt, ebenso hatte er von Natur aus ein bedeutend besseres *Azotobacter*wachstum zu verzeichnen.

Nach 3 Tagen begann in den Anreicherungskulturen in allen Kolben die Hautbildung, in der Ammoniumsulfat- und in der Harnstoffreihe netzartig durchsichtig, in der Reihe c dagegen von Anfang an derb und kräftig. Am vierten Tage waren deutliche Unterschiede festzustellen:

kg N pro ha	a	b	c
20	(000) +/+ +	(00) +	(0) + +
40	(00) + +	(00) +/+ +	(0) + +
60	(000) + +	(00) + +	(0) + +/+ + +
100	(000) +/+ +	(0) + +	(0) + + +
140	(000) +	(00) + +	(0) + + +
180	000 ±	(0) + +	(0) + + +
250	000 ±	(0) + +	(0) + + +
400	000 ±	(0) + +	(0) + + +
600	000 ±	(0) + +/+ + +	(0) + + +
800	000 ±	(0) + +/+ + +	(0) + + +
1000	000 ±	(0) + + +	(0) + + +
1200	000 ±	(00) + +/+ + +	(0) + + +
1600	000 ±	(00) + +	+ + +
2000	000 ±	(00) + +	(0) + + +

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. ± - + + + + = steigende Mächtigkeit der Kahlhaut.

Die Harnstoff- wie die Natronsalpeterreihe zeigten wieder einen schönen Anstieg in der Kahlhautbildung mit steigender Stickstoffkonzentration, besonders letztere. Während aber die Salpeterreihe bei den beiden höchsten N-Gaben die besten *Azotobacter*häute hatte, war in der Harnstoffreihe in diesen Punkten das Optimum bereits überschritten. Die Ammoniumsulfatdüngung hatte auch hier bei mäßigen Gaben eine schwach fördernde, mit stärkeren Konzentrationen aber eine stark schädigende Wirkung. Während der folgenden Tage prägten sich die Hautgebilde in den Reihen b und c noch stärker aus, während Reihe a sich in allen Kolben verschlechterte. Bei den niederen N-Gaben überdeckte weiße Schaumbildung (Geruch nach Buttersäure) jede andere Beobachtung, während in den übrigen Kolben die Kulturflüssigkeit von dichten Schimmelteppichen überzogen war. Die Kahlhäute der ungedüngten Gruppe waren mit + zu bewerten, die verschiedene Stickstoffzufuhr hatte folgende Ergebnisse:

352 E. Schneider: Wie wirken Stickstoffkünstdünger auf Vorkommen

kg N pro ha	a	b	c
20	(000) + !	(00) +/+ + !!!	(0) ++ !!!!
40	(000) + !	(00) ++ !!!	(0) ++/+++ !!!!
60	(000) +/+ + !!!	(0) ++ !!!	(0) ++/+++ !!!!
100	(000) + !!	(0) ++ !!!	+++ !!!!
140	(000) + !	(0) ++ !!!	+++ !!!
180	000 + !	(0) ++/+++ !!!	(0) +++ !!!
250	000 +	(0) +++ !!!	(0) +++/++++ !!!!
400	S	(0) +++ !!!	(0) +++/++++ !!!!
600	S	(0) +++ !!!	+++ !!!!
800	S	(0) +++ !!!	+++ !!!!
1000	S	(0) +++ !!!	+++ !!!
1200	S	+++ !!!	+++ !!!!
1600	S	(00) ++ !!!	+++ !!!!
2000	S	(00) ++ !!!	+++ !!!!

Erklärung: 0-0000 = klare, (0)-(000) = eingespinnene Gasblasen. ++++ = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut. !-!!!! = steigende Intensität der Pigmentierung. S = Schimmelbildung.

Auch dieser Versuch zeigte in sehr ausgeprägtem Maße die bereits früher beobachtete Wirkung der 3 Stickstoffformen. Ammoniumsulfat begünstigte eine ganz fremde Mikrobenflora, so daß Azotobacter nach anfänglichem Hervorkommen wieder vollständig zurückgedrängt wurde. Die Harnstoffdüngung begünstigte in leicht ansteigendem Maße mit steigender Konzentration die Azotobacterentwicklung, bei den drei höchsten Gaben war allerdings das Optimum bereits überschritten. Das Azotobacterwachstum der Natronsalpeterreihe übertraf jenes der Harnstoffreihe in jeder Phase und bildete bei den hohen N-Stufen die besten Membranen von typischer Eigenart mit den höchsten N-Konzentrationen zusammen. Der Versuch lieferte mit das beste Bild und charakterisierte die Wirkung der Stickstoffdüngung nach Form und Höhe der Azotobacter sehr gut.

Sechste Versuchsreihe.

Zu diesem Versuch wurde Almboden von Lochhausen verwendet. Mit diesem oberbayerischen Lokalnamen bezeichnet man einen zum Teil aus Calciumcarbonat bestehenden Wiesenkalk, der jedenfalls als Quellabsatz anzusehen ist. Auffallend ist dabei, daß sich unter dem

Alm (= Kalksand) des Sandberges von Lochhausen in ausgedehnten Flächen Torf befindet. Die Reaktion des Bodens, der sich aber als nur mäßiger natürlicher *Azotobacter*träger entpuppte, lag zwischen p_H 7,30 und p_H 7,50.

Die Gasblasenbildung gestaltete sich schon am *zweiten* Tage der Anreicherungskultur sehr lebhaft, am *dritten* Tage waren nur in den Kolben der Salpeterreihe dünne Kahmhäute zur Entwicklung gekommen. Bei den hohen Ammoniumsulfatgaben hatte sich bereits ein dichter Schaumbelag ausgebildet. Auch an den beiden nächsten Tagen wurde in der Reihe a nur Schaum produziert, dagegen waren bei anfangs langsamem Wachstum in den Reihen b und c Hautgebilde mit gut vergleichbaren Unterschieden zur Entwicklung gekommen. In der unbebauten Gruppe waren nur schwache Anzeichen einer *Azotobacter*-vegetation zu entdecken. Am *sechsten* Versuchstage trat auch in einzelnen mit Ammoniumsulfat gedüngten Kolben schwache Hautbildung auf. Nachfolgende Tabelle zeigt das Wachstumsbild:

kg N pro ha	a	b	c
20	000 ±	000 ±	000 ±
40	000 ±	(000) ±	(000) +
60	(000) +	(000) +	(000) +
100	000 +	(000) +	(00) +
140	000 ±	(000) +	(00) +/+ +
180	000 ±	(000) +	(00) +/+ +
250	000 ±	(000) +	(00) + +
400	000 ±	(00) +/+ +	(00) + +
600	000 ±	(00) +/+ +	(00) + +
800	000	(00) +/+ +	(00) + +
1000	000	(00) + +	(00) + +/+ + +
1200	000	(00) + +	(00) + +/+ + +
1600	000	(00) + +	(00) + +/+ + +
2000	000	(00) + +	(00) + +

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. ± - + + + + = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut. !-!!! = steigende Intensität der Pigmentierung.

In den nächsten Tagen wurden die *Azotobacter*häute bei den niederen Ammoniumsulfatgaben etwas besser, bei den höheren stellte sich wieder Pilzwachstum ein, das alles überdeckte. Auffallend war, daß bei diesem Boden die Harnstoffreihe über ein mäßiges, nur bei höheren Konzentrationen etwas besser werdendes *Azotobacter*wachstum nicht hinauskam. Dagegen wurden vom *achten* Tage ab die Kulturen in der Natronsalpeterreihe vorzüglich und bildeten äußerst kräftige und typische Kahmhäute. Am *vierzehnten* Tage wurde der Versuch mit folgendem Ergebnis beendet:

kg N pro ha	a	b	c
20	(000) + !!!	(000) + !!!	(0) + + !!!
40	(000) + !!!	(000) + !!!	(0) + + !!!
60	(000) +/+ + !!!	(000) + !!!	(0) + +/+ + + !!!
100	(00) +/+ + !!!	(000) +/+ + !!!	(0) + + + !!!

354 E. Schneider: Wie wirken Stickstoffkünstdünger auf Vorkommen

kg N pro ha		a	b	c
140	(00)	+ / + + !!!	(000) + / + + !!!	+ + + !!!!
180	(00)	+ !!!	(000) + / + + !!!	+ + + / + + + + !!!!
250	(0)	+ !!!	(000) + / + + !!!	+ + + / + + + + !!!
400	0	± !!	(000) + / + + !!!	+ + + + !!!!
600	S		(000) + / + + !!!	+ + + + !!!!
800	S		(00) + + !!!	+ + + + !!!!
1000	S		(00) + + !!!	+ + + + !!!!
1200	S		(00) + + !!!	+ + + + !!!!
1600	S		(00) + + !!!	+ + + + !!!!
2000	S		(00) + + !!!	+ + + + !!!!

Erklärung: (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. + - + + + + = steigende Mächtigkeit der Kahnhaut. !-!!!! = steigende Intensität der Pigmentierung. S = Schimmelbildung.

Der Versuch lieferte ein ausgezeichnetes Bild für die Wirkungsweise von Ammoniumsulfat, Harnstoff und Natronsalpeter in abgestuften Mengen auf Azotobacter. Die einzelnen Unterschiede waren kraß ausgeprägt, schon der erste Blick auf die Gesamtreihen zeigte, daß hier drei ganz verschiedene Einflüsse den Kulturen ihr bestimmtes Gepräge gegeben hatten. Ebenso waren die Unterschiede in der Ausbildung und Derbheit der Kahnhäute recht deutlich.

Siebente Versuchsreihe.

Der Boden stammte aus der obersten Abbauschicht eines Ziegeleiwertes in Lochhausen. Er ist als tiefgründiger, reiner Lehm zu bezeichnen, geologisch gehört er dem Gebiet der Hochterrasse an. Er ist von Natur aus reich an mineralischen Nährstoffen, sein natürliches Azotobacterwachstum ist nur mäßig. Die Reaktion des durch Wiesen genutzten Bodens ist schwach sauer, sie wurde am Tage der Versuchsaufstellung mit p_H 6,64 gemessen.

Die Anreicherungskulturen zeigten am zweiten Tage in allen Erlenmeyerkolben mehr oder minder schwache Gasblasenbildung, am stärksten bei den hohen Ammoniumsulfat- und Harnstoffgaben. Am dritten Versuchstage setzte die Hautbildung ein, sie war aber hinsichtlich ihrer Intensität in den einzelnen Kulturkolben verschieden. Während in Reihe a nur vereinzelt hauchdünne Überzüge zu sehen waren, wiesen die Reihen b und c zum Teil typische Hautbilder auf, besonders bei den höchsten Stickstoffgaben. Das schlechteste Azotobacterwachstum zeigte die ungedüngte Gruppe, in der nur vereinzelt Gasblasen zur Entwicklung gekommen waren. Nach vier Tagen waren die Unterschiede noch deutlicher, wie nachfolgende Tabelle zeigt:

kg N pro ha	a	b	c
20	(000) ±	(00) ±	(000) ±
40	(000) +	(000) +	(00) +
60	(000) +	(00) +	(00) +
100	000 ±	(000) +	(00) +
140	000 ±	(00) +/+ +	(00) +/+ +
180	000 ±	(00) +/+ +	(00) +/+ +
250	000 ±	(00) +/+ +	(0) + +
400	(00) + +	(00) +/+ +	(0) + +
600	(000) +	(00) + +	(0) + +
800	000 ±	(000) +/+ +	(0) + +/+ + +
1000	000 ±	(00) + +	(0) + +/+ + +
1200	000	(00) + +	(0) + +/+ + +
1600	000	(00) + +	(0) + +/+ + +
2000	000	(00) + +	(0) + +/+ + +

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen, ±-+ + + + = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut.

Die Ammoniumsulfatreihe unterschied sich von den anderen durch eine allgemein starke Gas- und Schaumproduktion. Jedoch wies sie immerhin schwache Membrangebilde auf, ausgenommen die drei höchsten N-Stufen, während der Boden ohne Stickstoffzufuhr noch gar kein *Azotobacter* Wachstum anzeigte. Dagegen hatten sich in den Kulturkolben der Harnstoff- und Natronsalpeterreihe mit steigenden Stickstoffgaben stärker werdende Kahmhäute von typischem Aussehen gebildet. Aber auch hier zeigte sich ein Unterschied im Wachstum zugunsten der Reihe c bei fast allen Düngungsstufen. Im allgemeinen war die *Azotobacter* Entwicklung aber schleppend, auch die Pigmentausscheidung setzte erst verhältnismäßig spät ein. Im weiteren Verlaufe konnte fast in allen Kulturen noch eine leichte Verbesserung der Kahmhäute festgestellt werden, doch erreichten diese nirgends die bei anderen Böden beobachtete optimale Ausbildung. Bei den stärkeren Ammonsulfatgaben trat auch hier wieder Schimmelbildung auf. Der Versuch wurde, als eine weitere Wachstumssteigerung von *Azotobacter* nicht mehr anzunehmen war, am 15. Tage aufgegeben. Das abschließende Bild war:

kg N pro ha	a	b	c
20	(000) + !	(000) + !	(000) + !
40	(000) + !	(000) + !	(00) +/+ + !!
60	(00) +/+ + !!	(000) + !	(00) +/+ + !!
100	(00) +/+ + !!	(000) + !	(00) +/+ + !!
140	(000) ± !	(00) +/+ + !	(00) + + !!
180	000 ± !	(00) +/+ + !!	(0) + + !!
250	S	(00) +/+ + !!	(0) + + !!
400	S	(00) +/+ + !!	(0) + + !!
600	S	(0) + + !!	(0) + +/+ + + !!!
800	S	(0) + + !!	(0) + +/+ + + !!!

356 E. Schneider: Wie wirken Stickstoffkünstdünger auf Vorkommen

kg N pro ha	a	b	c
1000	S	(0) ++ !!	(0) +++ !!!
1200	S	(00) + + / + + + !!	+ + + !!!
1600	S	(0) + + / + + + !!	+ + + !!!
2000	S	(00) + + !!	+ + + !!!

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. ±-+ + + + = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut. !-!!! = steigende Intensität der Pigmentierung. S = Schimmelbildung.

Auch bei diesem Versuch ergab sich die interessante Erscheinung, daß Ammoniumsulfat bis zur Gabe von 100 kg pro Hektar in gleicher Weise wie Harnstoff und Natronsalpeter das Azotobacterwachstum leicht begünstigte.

Doch scheint es sich bei Ammonsulfat um eine Wirkung stimulierender Art zu handeln, da bei weiterer Erhöhung der N-Konzentration das Azotobacterwachstum sich rasch verminderte und bei höchsten Gaben gänzlich aufhörte. Dagegen war bei Harnstoff mit steigender Stickstoffkonzentration eine langsam aber stetig sich verstärkende, bei Natronsalpeter eine sich bedeutend schneller auswirkende Förderung des Azotobacterwachstums festzustellen. Die besten Kahmhäute des Versuches waren in den Kulturkolben mit der höchsten Natronsalpetergabe festzustellen. Der Versuch bestätigte gleichfalls, trotzdem er in seiner Gesamtheit ein nur mäßiges Azotobacterwachstum verzeichnete, die bisherigen Beobachtungen hinsichtlich der verschiedenen Wirkungsweise der verschiedenen Stickstoffformen.

Achte Versuchsreihe.

Der bei diesem Versuch gebrauchte Boden ist von allen in dieser Versuchsgruppe verwendeten Bodenarten der schlechteste natürliche Azotobacterwirt. Er ist ein moornaher bis anmooriger Wiesenboden aus der Niederterrasse von Lochhausen, seiner Beschaffenheit nach stark humoser lehmiger Feinsand von sauerem Charakter (Orchiswachstum). Die Reaktion des behandelten Bodens lag bei p_H 6,34. Trotzdem lieferte der Boden noch ein gutes Bild von der Beeinflussung des Azotobacterlebens durch die verschiedenen Stickstoffdüngungen.

Bei den Anreicherungskulturen war anfangs starke Gasblasenbildung zu beobachten, die sich bei der Ammonsulfatreihe schon nach wenigen Tagen in reine Schaumproduktion umwandelte. Am *siebenten* Versuchstage waren in der Reihe a immer noch lediglich mehr oder minder hohe Schaumsäulen zu sehen, die keinen Schluß auf Vorhandensein von Azotobacter zuließen. Auch in der Gruppe ohne Stickstoff war keinerlei Hautbildung zu beobachten. Dagegen waren in den Reihen b und c verschieden starke Kahmhäute zur Entwicklung gekommen, wie folgende Wachstumstabelle angibt:

kg N pro ha	a	b	c
20	000	000 ±	(000) ±
40	000	(000) ±	(00) +
60	000	(000) +	(00) +
100	000	(00ø) +	(00) +
140	000	(00) +	(00) +/+ +
180	000	(00) +	(00) +/+ +
250	000	(00) +	(00) +/+ +
400	000	(00) +	(00) +/+ +
600	000	(00) +	(00) +/+ +
800	000	(00) +	(00) +/+ +
1000	000	(00) +/+ +	(00) + +
1200	000	(00) +/+ +	(00) + +
1600	000	(000) +	(00) + +
2000	000	(000) +	(00) + +

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. ±-+ + + + = steigende Mächtigkeit der Kahlhaut.

Im weiteren Verlaufe des Versuches verstärkten sich die *Azotobacter*häute der Reihen b und c noch etwas und erhielten eine verhältnismäßig gute Pigmentierung. Auch in Reihe a wurde in verschiedenen Kulturkolben die Schaumoberfläche von netzartigen Gebilden eingesponnen, die ebenfalls durch Pigmentabsonderungen eine Verfärbung erlitten. Aber die Pigmentierung war weit weniger intensiv als bei den Kahlhäuten der Reihen b und c. Der abschließende Befund vom fünfzehnten Kulturtag wird durch folgende Tabelle wiedergegeben:

kg N pro ha	a	b	c
20	(000) ± !!	(00) + !!!	(00) + !!!
40	(000) ± !!	(00) + !!!	(00) + !!!
60	(000) ± !!	(00) + !!!	(00) + !!!
100	(000) ± !!	(00) + !!!	(00) +/+ + !!!
140	(000) ± !!	(00) + !!!	(0) + + !!!
180	(000) ± !!	(00) +/+ + !!!	(0) + + !!!
250	(000) ± !!	(00) +/+ + !!!	(0) + + !!!
400	000	(00) + + !!!	(00) + + !!!
600	S	(00) + + !!!	(00) + +/+ + + !!!
800	S	(00) + + !!!	(0) + +/+ + + !!!
1000	S	(00) + + !!!	(0) + + + !!!
1200	00 ± !!	(00) + + !!!	(0) + + + !!!
1600	00 ± !	(00) + + !!!	(0) + + + !!!
2000	S	(0) +/+ + !!!	(00) + +/+ + + !!!

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. ±-+ + + + = steigende Mächtigkeit der Kahlhaut. !-!!! = steigende Intensität der Pigmentierung. S = Schimmelbildung.

Auch dieser Versuch mit von Natur aus wenig geeignetem Bodenmaterial ergab durch Düngung mit Natronsalpeter, besonders bei höheren Konzentrationen, ein ziemlich gutes Azotobacterwachstum. Auch hier verlief dessen Zunahme gleichsinnig mit der Höhe der Stickstoffzufuhr. Ebenso, wenn auch in geringeren Grenzen, spielte sich der Wachstumsverlauf für Azotobacter in der Harnstoffreihe ab. Dagegen war in der Ammonsulfatreihe überhaupt keine typische Hautbildung zustande gekommen, dagegen waren massenhaft fremde Mikroben, besonders Schimmelpilze zu sehen.

Neunte Versuchsreihe.

Das Bodenmaterial zu diesem Versuch stammte von einem in bester Kultur stehenden Ackerland vom Lehmhügel in Lochhausen. Seiner Beschaffenheit nach ist der Boden als schwach humushaltiger Lehm Boden zu bezeichnen, geologisch gehört er der Hochterrasse an. Durch die gute Bearbeitung hat der Boden ein gutes natürliches Azotobacterwachstum, auch seine Reaktion (p_H 6,95) ist für dieses Mikrobium sehr geeignet. Es konnte demnach ein gutes Gelingen des Versuches erwartet werden. In den Anreicherungskulturen waren am dritten Tage in den Kolben mit der höchsten Harnstoffgabe, sowie in der gesamten Natronsalpeterreihe zarte Hautgebilde entstanden, während in der Reihe a nur erhöhte Gasblasenbildung zu beobachten war. Am 6. Tage war die Beeinflussung des Azotobacterwachstums durch die verschiedene Düngung ganz deutlich zu sehen, wie nachstehende Tabelle zeigt.

kg N pro ha	a	b	c
20	000	00 ±	000 ±
40	000 ±	00θ ±	00 ±
60	000 ±	(00) +	(00) +
100	000	(00) +	(00) +
140	000	(00) +	(00) +/+ +
180	000	(00) +	(0θ) ++
250	000	(00) +/+ +	(0θ) ++
400	000	(00) +/+ +	(0) +/+ +/+ +
600	000	(00) +/+ +	(0) +++
800	000	(00) ++	(0) +++
1000	000	(00) ++	(0) +++
1200	000	(00) ++	(0) +++
1600	000	(00) ++	(0) +++
2000	000	(00) ++	(0) +++

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. ± - + + + + = steigende Mächtigkeit der Kahnhaut.

In der Reihe a waren nur in 2 Kolben ganz schwache Überzüge zur Entwicklung gekommen, im übrigen überzogen wasserklare Schaumgebilde die gesamten Oberflächen. In der Harnstoffreihe war die übliche langsam mit der Stickstoffhöhe ansteigende Förderung der Hautbildung zu sehen, während Natronsalpeter auch bei diesem Boden das Azotobacterwachstum weitaus am besten beeinflusste. Zwar waren auch in dieser Reihe an diesem Tage bei den geringen Stickstoffgaben die

Häute noch recht schwach, aber mit steigender N-Konzentration er-
fuhren sie eine rasche Verbesserung.

Während der nächsten Tage machte das *Azotobacter*wachstum in
allen Kolben noch gute Fortschritte. Auch bei den niederen Ammon-
sulfatgaben wurden ziemlich gute Kahmhäute von brauner Farbe aus-
gebildet, sie nahmen allerdings mit zunehmender N-Konzentration
wieder stark ab und machten bei den höchsten Gaben einer dichten
Schimmelbildung Platz. Sehr gute Hautbildungen, sowohl der Form
als auch der Schwarzfärbung nach kamen bei diesem Versuch in der
Harnstoffreihe zustande, die jenen der Natronsalpeterreihe nur wenig
nachstanden. Besonders bei den hohen Harnstoffgaben waren derbe,
tief gerunzelte, trockene Überzüge zu verzeichnen. Wie bei allen voran-
gegangenen Versuchen hatte auch hier die Natronsalpeterdüngung das
beste *Azotobacter*wachstum zur Folge, schon bei den mittleren Gaben
waren Kahmhäute von optimalem Ausmaß gebildet worden, bei den
höchsten Gaben schienen diese fast noch stärker. In allen Kolben dieser
Reihe war durch Pigmentierung eine gleichmäßige schwarzbraune Ver-
färbung aufgetreten. Auch die ungedüngte Gruppe hatte mittelmäßige
Hautbildung zu verzeichnen. Nachfolgende Tabelle gibt das Schluß-
bild des Versuches wieder:

kg N pro ha	a	b	c
20	(0) +/+ + !!!	(00) ++ !!!	(0) ++ !!!
40	(00) ++ !!!	(0) ++ !!!	++/+++ !!!!
60	(0) ++ !!!	++ !!!	+++ !!!!
100	++ !!!	++/+++ !!!	+++ !!!!
140	(00) +/+ + !!!	++/+++ !!!	+++ !!!!
180	000 ± !!	+++ !!!!	+++ / + + + + !!!!
250	000 ± !	+++ !!!!	+++ / + + + + !!!!
400	000 ± !!	+++ !!!!	+++ + !!!!
600	S	+++ !!!	+++ + !!!!
800	S	+++ / + + + + !!!!	+++ + !!!!
1000	S	+++ / + + + + !!!!	+++ + !!!!
1200	S	+++ + !!!!	+++ + !!!!
1600	S	+++ + !!!!	+++ + !!!!
2000	S	+++ + !!!!	+++ + !!!!

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingespinnene Gasblasen. ±-+ + + + = steigende
Mächtigkeit der Kahmhaut. !-!!!! = steigende Intensität der Pigmentierung. S = Schimmel-
bildung.

Dieser Versuch zeigte vor allem einen vollständigen Kontrast zwischen Reihe a einerseits und den Reihen b und c andererseits. Dagegen war der Unterschied zwischen der Harnstoff- und der Salpeterwirkung nicht so deutlich ausgeprägt wie bei anderen Versuchen dieser Art, weil die Harnstoffreihe gleichfalls äußerst gutes Azotobacterwachstum zur Entwicklung gebracht hatte.

Zehnte Versuchsreihe.

Der Boden zu diesem Versuch stammte von einem sehr gut bearbeiteten Ackerland in Lochhausen. Er besteht aus Schlammassen, die von den umliegenden Hügeln abgetragen wurden, ist seiner Zusammensetzung nach schwach feinsandiger Lehm und ist sehr reich an Nährstoffen. Von Natur aus ist er ein mittelguter Azotobacterträger. Seine Reaktion wurde am Tag der Versuchsaufstellung mit p_H 6,85 ermittelt, ermöglicht also ein einwandfreies Azotobacterwachstum. Die Kulturen nach *Beijerinck* ergaben während der ersten Tage ein etwas zögerndes Azotobacterwachstum. Am dritten Tage war in den Kolben der Reihe a eine Trübung der Kulturflüssigkeit festzustellen, bei den höheren Harnstoffgaben, sowie in allen Kolben der Natronsalpeterreihe waren zarte netzartige Hautgebilde entstanden. Im Verlaufe der nächsten Tage entstanden in allen Kolben mehr oder minder kräftige Kahmhäute, wobei wieder die Ammoniumsulfatreihe das weitaus schlechteste, die Natronsalpeterreihe das beste Azotobacterwachstum zeigten. Am sechsten Kulturtag war in der ungedüngten Gruppe nur schwache Hautbildung zu bemerken, bei den Kolben mit verschiedener Stickstoffdüngung hatten sich jedoch schöne Unterschiede herausgebildet, die die Tabelle zeigt:

kg N pro ha	a	b	c
20	(000) ±	(000) ±	(000) +
40	(000) +	(000) ±	(000) +
60	(000) +	(00) +	(000) +
100	(000) +	(00) +	(000) +
140	(000) +	(00) +	(00) +/+ +
180	(000) ±	(00) +	(00) +/+ +
250	(000) ±	(00) +/+ +	(00) + +
400	(000) ±	(00) +/+ +	(00) + +
600	(000) ±	(000) +/+ +	(00) + +
800	(000) ±	(00) +/+ +	(00) + +
1000	000 ±	(00) + +	(00) + +
1200	000 ±	(00) + +	(00) + +
1600	000 ±	(000) + +	(00) + +/+ + +
2000	000	(00) + +	(00) + +/+ + +

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. ± - + + + + = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut.

Die Farbe aller Hautgebilde war gleichmäßig grau. Im weiteren Verlaufe des Versuches hörte in der Natronsalpeterreihe und zum Teil auch in der Harnstoffreihe die Gasblasenbildung, die bis dahin sehr rege gewesen war, auf. Am siebenten Vegetationstage setzte in allen Kolben

die Pigmentbildung ein, die besonders in der Natronsalpeterreihe die Kahmhäute schwarzbraun verfärbte. Auch die Hautbildung machte noch große Fortschritte, besonders in Reihe c waren derbe, runzelige trockene Überzüge zu beobachten. Etwas weniger kräftige, aber dennoch gute Kahmhäute lieferten die Böden mit höheren und höchsten Harnstoffgaben, während Ammoniumsulfat in niederen Gaben wieder eine schwache Förderung, mit steigender Konzentration aber eine totale Schädigung zur Folge hatte. Die anfänglichen Azotobacterhäute lösten sich wieder auf und machten einem Schimmelpilzwachstum (*Oidium lactis*) Platz. Die Unterschiede waren sehr gleichmäßig ansteigend und gewährten, wie nachstehende Abschlußtablette angibt, ein sehr instruktives Bild über die verschiedene Wirkung der drei verwendeten Stickstoffsalze auf Azotobacter:

kg N pro ha	a	b	c
20	(000) + !!	(000) + !!	(00) + !!!
40	(000) + !!	(00) + !!	(0) ++ !!!
60	(000) + !!	(00) + !!!	++/++++ !!!
100	(000) + !!	(00) +/+++ !!!	++/++++ !!!!
140	00 ± !!	(00) +/+++ !!!	++/++++ !!!
180	000 ± !!	(00) +/+++ !!	+++ !!!!
250	000 ± !!	(00) +/+++ !!!	+++/++++ !!!!
400	000	(0) ++ !!!	+++/++++ !!!!
600	000	++/++++ !!!	+++/++++ !!!!
800	S	++/++++ !!!	+++ !!!!
1000	± S	+++ !!!!	+++ !!!!
1200	S	+++ !!!	+++ !!!!
1600	S	+++ !!!!	+++ !!!!
2000	S	+++ !!!!	+++ !!!!

Erklärung: 0-000 = klare, (0)-(000) = eingesponnene Gasblasen. ±-++++ = steigende Mächtigkeit der Kahmhaut. !-!!!! = steigende Intensität der Pigmentierung. S = Schimmelbildung.

Es wurde versucht, das Schlußergebnis durch Lichtbilder festzuhalten. Zu diesem Zweck wurden 5 Düngungsstufen herausgegriffen und darin jeweils die verschiedene Wirkung der 3 Stickstoffformen auf Azotobacter bildlich gegenübergestellt:



Abb. 3. 20 kg N/ha Ammoniumsulfat. Starke Gasblasen, von schwacher Haut eingesponnen.

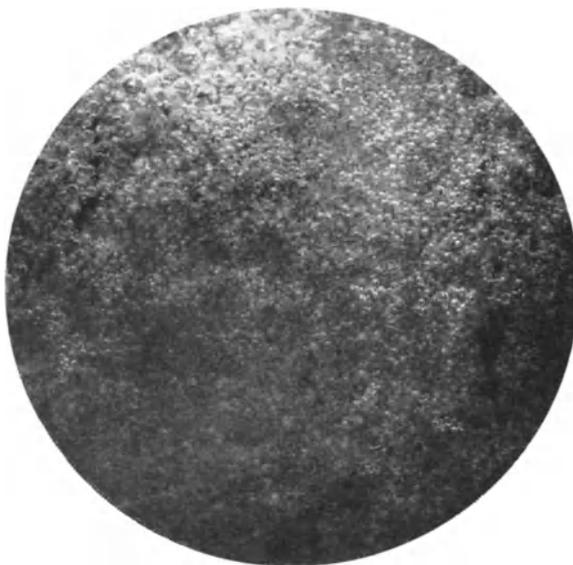


Abb. 4. 20 kg N/ha Harnstoff. Kleine, dichte Gasblasen, in Kahnhaut eingesponnen.

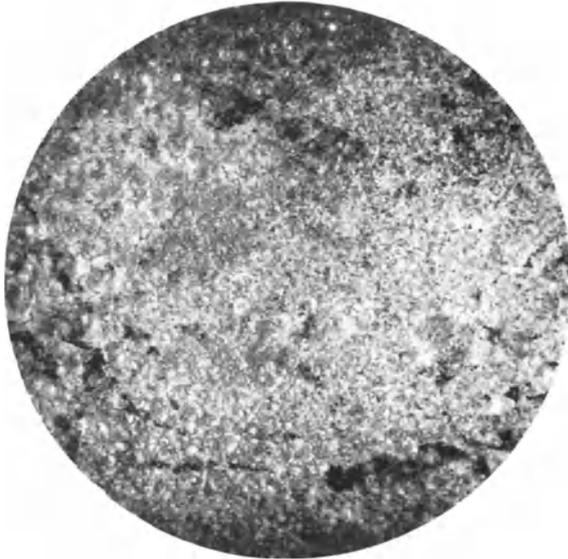


Abb. 5. 20 kg N/ha Natronsalpeter. Kleinste eingesponnene Gasblasen.



Abb. 6. 140 kg N/ha Ammoniumsulfat. Zurückgebildeter Schaum mit schwachem Hautüberzug.



Abb. 7. 140 kg N/ha Harnstoff. Dicht eingesponnene Gasblasen, in der Haut teilweise Sprünge.



Abb. 8. 140 kg N/ha Natronsalpeter. Mittelgute Azotobacterhaut

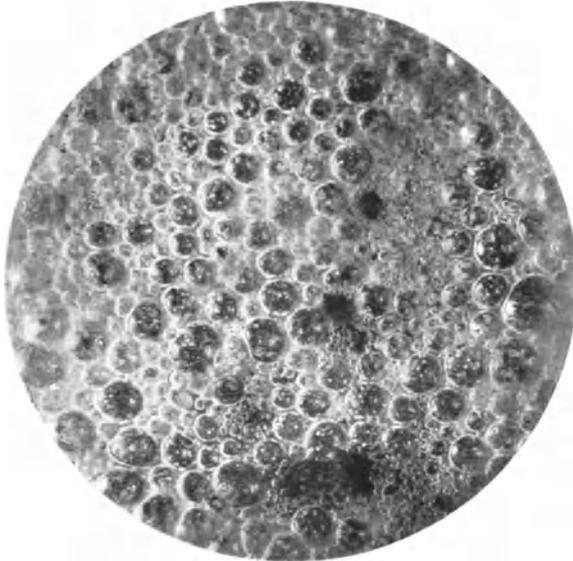


Abb. 9. 400 kg N/ha Ammoniumsulfat. Gasblasen, von keiner Haut überzogen.

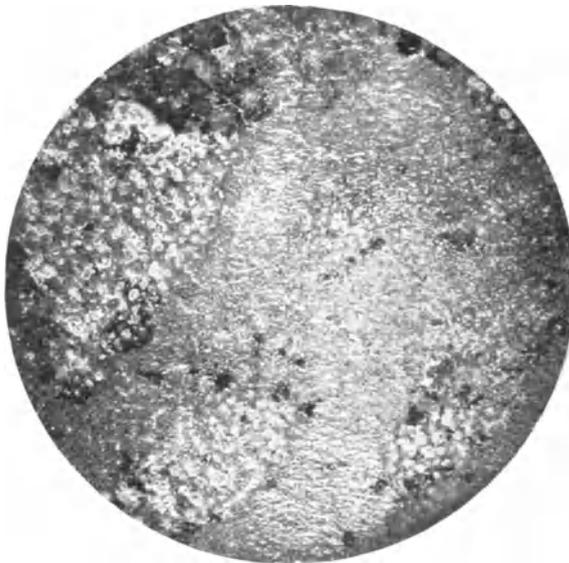


Abb. 10. 400 kg N/ha Harnstoff. Mittelmäßige *Azotobacter*haut mit vereinzelt Störungen.



Abb. 11. 400 kg N/ha Natronsalpeter. Sehr kräftige Azotobacterhaut.

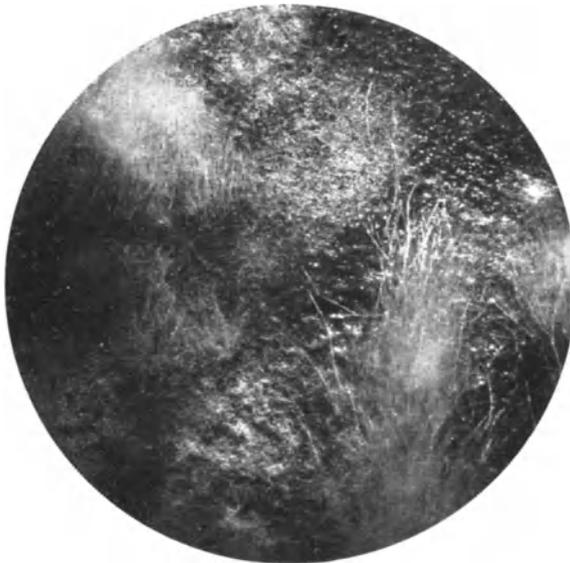


Abb. 12. 1000 kg N/ha Ammoniumsulfat. Schimmeliüberzug über schwacher Kalmhaut.

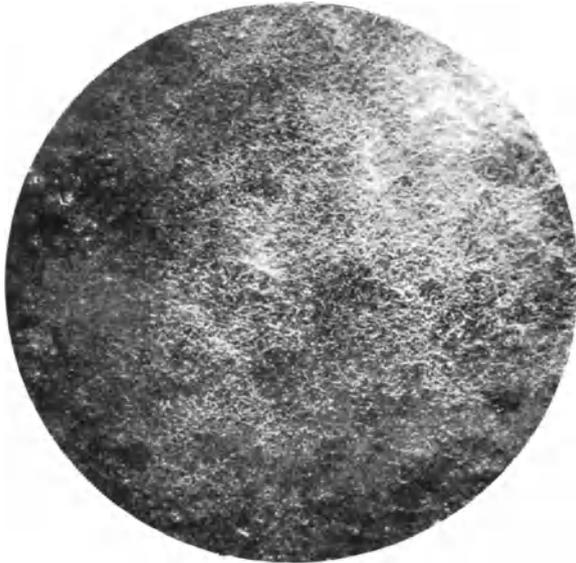


Abb. 13. 1000 kg Harnstoff. Kräftige, trockene Azotobacterhaut.



Abb. 14. 1000 kg N/ha Natronsalpeter. Typische, sehr kräftige Azotobacterhaut, mit tiefen Runzeln.

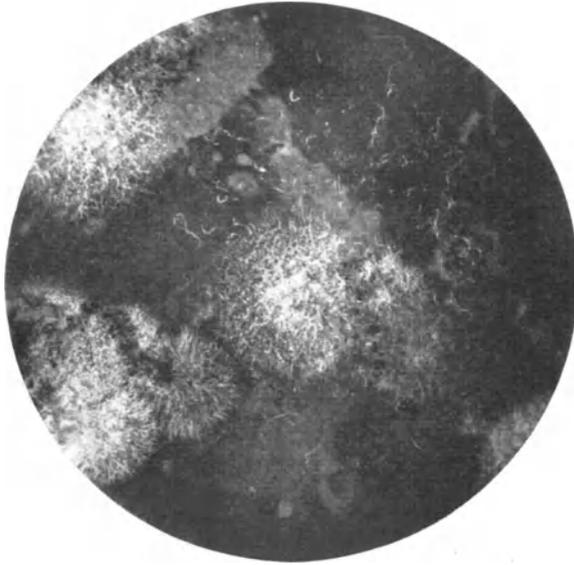


Abb. 15. 2000 kg N/ha Ammoniumsulfat. Isolierte Schimmelkolonien auf der Kulturflüssigkeit schwimmend.



Abb. 16. 2000 kg N/ha Harnstoff. Sehr starke, typische Azotobacterkalmhaut.



Abb. 17. 2000 kg N/ha Natronsalpeter. Äußerst kräftige, typische *Azotobacter*haut von optimaler Ausbildung.

Zusammenfassung.

Um den Beweis für die Richtigkeit der bei früheren Versuchen gemachten Beobachtungen, daß eine frische Ammoniumsulfatdüngung für das *Azotobacter*leben im Boden störend wirkt, während eine Harnstoffzufuhr eine schwache und eine Natronsalpeterdüngung eine starke Begünstigung für dieses Mikrobium bedeuten, zu führen, wurden 10 verschiedene Böden auf *Azotobacter* untersucht, wobei den Nährlösungen abgestufte Gaben von diesen 3 Stickstoffformen zugesetzt wurden. Die 10 dazu verwendeten Bodenarten waren, sowohl ihrer geologischen Herkunft nach als auch hinsichtlich ihrer Zusammensetzung, ihres Nährstoffvorrates, wie auch ihres Reaktionszustandes so verschieden, daß nicht bei allen Böden in allen Dingen gleiche Ergebnisse gezeitigt wurden. In jedem einzelnen Boden war jedoch die nämliche Wirkungsweise der 3 Stickstoffformen auf *Azotobacter* festzustellen.

Die Düngung mit Ammoniumsulfat rief bis zu den Konzentrationen von 100 kg N/ha eine leichte Verbesserung des *Azotobacter*wachstums hervor (wahrscheinlich ein stimulierender Einfluß), während mit höheren Ammonsulfatgaben die *Azotobacter*vegetation rasch abnahm, schließlich ganz aufhörte und einer fremden Mikrobenflora Platz machte. Dagegen zeigte Harnstoff mit ansteigender Konzentration eine gleichsinnige langsame, jedoch beständige Förderung des *Azotobacter*lebens, vor allem bei den höheren und teilweise auch bei den höchsten

Gaben. Die vorteilhafteste Wirkung auf das Azotobacterwachstum hatte jedoch Natronsalpeter zu verzeichnen. Mit steigender Konzentration dieses Stickstoffdüngemittels wurde die Wüchsigkeit des Azotobacters schnell und stark verbessert, was sowohl im Massenwachstum, ausgedrückt durch mächtige, typische Kahmhäute als auch in der Wachstumsintensität, angezeigt durch die äußerst rasche Hautbildung, zum Ausdruck kam. Bei einzelnen Bodenarten riefen die höchsten Gaben von Harnstoff und Natronsalpeter gewisse Rückschläge gegenüber dem jeweiligen Wachstumsoptimum auf, jedoch waren diese Bodenarten an sich für Azotobacter nicht besonders günstig und schließlich ist zu bedenken, daß bei der unmittelbaren Einwirkung der Stickstoffzusätze bei diesen Versuchen, die leichtesten Störungen sich viel durchschlagender auswirken mußten als dies im natürlichen Ackerboden jemals der Fall sein kann.

Jedenfalls bestätigten die Modellversuche auf überraschend eindeutige Weise die bei der Anstellung der Versuche gemachten Annahmen.

Schlußbetrachtungen.

In der vorliegenden Arbeit sollte in enger Angliederung an die Untersuchungen, die *Baumgärtel* und seine Mitarbeiter zwecks Charakterisierung von Azotobacter chroococcum als Kriterium für die Fruchtbarkeit des Ackerbodens anstellten, die Frage geklärt werden, in welcher Weise eine Beeinflussung des Azotobacterlebens durch die Düngung mit Stickstoffsalzen zu erwarten sei.

Zu diesem Zweck wurden Böden aus Freiland- und Gefäßdüngungsversuchen mit Stickstoff auf Azotobacter geprüft und in weiterer Verfolgung der Untersuchungen an Hand von Modellversuchen die unmittelbare Einwirkung der 3 Stickstoffsalze, Ammoniumsulfat, Harnstoff und Natronsalpeter, auf das Azotobacterleben studiert. Dabei wurden folgende Ergebnisse erzielt:

1. Bei einem Gefäßdüngungsversuch, in dem die 3 Nährstoffe, Stickstoff, Phosphorsäure und Kali, jeweils in 2 Abstufungen einzeln und in sämtlichen möglichen Kombinationen gegenübergestellt waren, ließ sich nicht feststellen, daß eine Phosphorsäuredüngung eine bessere Wachstumswirkung auf Azotobacter erzielt, als eine Stickstoffdüngung. Dagegen wurde die Anwesenheit von Kali als in gewissem Sinne störend empfunden.

2. Bei einem Gefäßdüngungsversuch mit steigenden Harnstoffgaben mit und ohne Pflanzenbestand war in beiden Fällen eine nachdrückliche Förderung des Azotobacterwachstums durch die steigende Stickstoffdüngung festzustellen. Dabei zeigte der brachgelegene Boden in seiner Gesamtheit ein bedeutend entwicklungsfähigeres Azotobacterleben als der bebaute Boden.

3. Bei einem Dauerdüngungsversuch in Freilandparzellen mit steigenden Ammoniumsulfatgaben wurde bei niederen und mittleren Stickstoffgaben eine Förderung des *Azotobacter*wachstums erzielt, während bei der höchsten Ammonsulfatzufuhr ein deutlicher Rückschlag zu verzeichnen war, obgleich diese Stickstoffkonzentration bei anderen Versuchen noch weit innerhalb der ansteigenden Linie des *Azotobacter*wachstums lag.

4. Bei einem Gefäßdüngungsversuch in Acker- und Sandboden mit steigenden Ammoniumnitratgaben ließ sich, besonders bei Sandboden, mit steigender Stickstoffzufuhr eine bedeutende Verbesserung des *Azotobacter*wachstums feststellen.

5. Bei einem Dauerdüngungsversuch in Freilandparzellen mit verschiedenen Stickstoffgebrauchsformen zeigten sich Unterschiede in deren Einfluß auf das *Azotobacter*leben. Darnach rief Ammoniumsulfat eine Schädigung, Harnstoff eine schwächere und Natronsalpeter eine starke Förderung des *Azotobacter*wachstums hervor, während Ammoniumnitrat nach keiner Richtung hin einen Einfluß auf *Azotobacter* ausübte.

6. Bei Modellversuchen, die mit 10 Böden, die nach ihrer geologischen Herkunft, sowie hinsichtlich ihrer Zusammensetzung, ihrer Reaktion und ihres Nährstoffvorrates untereinander sehr verschieden waren, angestellt wurden, ließen sich große Unterschiede in der Beeinflussung des *Azotobacter*wachstums durch die unmittelbare Zufuhr der 3 Stickstoffsalze: Ammoniumsulfat, Harnstoff und Natronsalpeter, feststellen. Der Wirkungsgrad der einzelnen Stickstoffkonzentrationen und -formen war bei den einzelnen Bodenarten verschieden, jedoch war die Wirkungsweise in allen Fällen die gleiche. *Ammonsulfat* rief in geringen Konzentrationen eine Förderung, in höheren Gaben eine Schädigung des *Azotobacter*wachstums hervor. *Harnstoff* ließ eine langsame, mit steigender Gabe zunehmende *Azotobacter*vegetation erkennen, während *Natronsalpeter*, besonders in höheren Konzentrationen, eine starke Begünstigung des *Azotobacter*wachstums erkennen ließ.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß *die Düngung mit Stickstoffsalzen in hohem Maße geeignet ist, das Azotobacterleben des Bodens zu fördern*. Dies gilt besonders für die Düngung mit Natronsalpeter (dementsprechend gewiß auch für Kalksalpeter). Harnstoff hat ebenfalls, wenn auch nicht in so ausgeprägtem Maße wie Natronsalpeter, im allgemeinen eine für *Azotobacter* günstige Wirkung. Dagegen muß der Ammoniumstickstoff, besonders bei hohen Gaben, im Boden erst in Nitratstickstoff umgewandelt werden, ehe eine günstige Wirkung auf *Azotobacter* bei dieser Art der Stickstoffdüngung zu erwarten ist. *Langjährige Ergänzung des Bodenstickstoffs mit Ammoniumsulfat scheint jedoch das Azotobacterleben dauernd zu schädigen*.

Nach allem dürfte es somit keinem Zweifel unterliegen, daß die Entwicklung, das heißt Auftreten und Verlauf einer Kahlhautbildung des Azotobacter chroococcum in der Beijerinckschen Elektivkultur einen Einblick in gewisse physikalisch-chemische Eigenschaften des Bodens gewährleisten!

Literaturverzeichnis.

- ¹ Baumgärtel, Wesen und Bedeutung der mikrobiologischen Bodenanalyse. Landw. Jb. **1926**. — ² Baumgärtel, Fortschritte der landwirtschaftlichen Mikrobiologie. Z. angew. Chem. **1927**, Nr 38. — ³ Baumgärtel u. Hartung, Kritische Experimentalstudien zur mikrobiologischen Bodenanalyse. Landw. Jb. **1927**, 675 bis 687. — ⁴ Beijerinck, Über oligonitrophile Mikroben. Zbl. Bakter. II, Ref. **7**, 561 (1901). — ⁵ Beijerinck u. van Delden, Über die Assimilation des freien Stickstoffes durch Bakterien. Zbl. Bakter. II, Ref. **9**, 3 (1902). — ⁶ Bihler, Über den Einfluß einseitiger Dauerdüngung auf Vorkommen und Entwicklung von Azotobacter chroococcum. Inaug.-Diss. Techn. Hochschule München 1927. — ⁷ Bucherer, Über den Einfluß einseitiger Dauerdüngung auf die Nitrifikation im Boden. (Erscheint demnächst.) — ⁸ Butenschön, Welchen Einfluß übt einseitige Dauerdüngung auf Vorkommen und Entwicklung von Azotobacter chroococcum aus? Inaug.-Diss. Techn. Hochschule München 1927. — ⁹ Christensen, Über das Vorkommen und die Verbreitung von Azotobacter chroococcum in verschiedenen Böden. Zbl. Bakter. II, Ref. **17**, 109 (1906/07). — ¹⁰ Christensen, Eine biologische Methode für die Bestimmung von Alkalicarbonaten im Boden. Zbl. Bakter. II, Ref. **19**, 735 (1907). — ¹¹ Christensen, Untersuchungen über Methoden zur Bestimmung des Kalkbedürfnisses im Boden. Zbl. Bakter. II, Ref. **29**, 347 (1911). — ¹² Christensen, Studien über den Einfluß der Bodenbeschaffenheit auf das Bakterienleben und den Stoffumsatz im Boden. Zbl. Bakter. II, Ref. **43**, 1 (1915). — ¹³ Christensen, Einfluß der Bodenbeschaffenheit auf das Bakterienleben und Veränderungen in der Bodensubstanz. Soil Science v. **15** (1923). — ¹⁴ Christensen u. Hudig, Kalkzustand und Bodenuntersuchung. Zwei Vorträge. Verlag d. Vereins deutscher Kalkwerke 1924. — ¹⁵ Christensen u. Jensen, Untersuchungen bezüglich der zur Bestimmung der Bodenreaktion benutzten elektrometrischen Methoden. Internat. Mitt. f. Bodenkd. **14**, H. 1/2, 1—26. — ¹⁶ Christensen u. Larsen, Untersuchungen über Methoden zur Bestimmung des Kalkbedürfnisses des Bodens. Zbl. Bakter. II, Ref. **29/34**. — ¹⁷ Davenport, Influence of reaction on nitrogen assimilating bacterie. J. Agric. Res. **14**, 317 (1918). — ¹⁸ Demeter, Über den Einfluß von Kalidüngemitteln auf die Mikrobenflora des Bodens. Fortschr. Landw. **2**, H. 3, 71 (1927). — ¹⁹ Fischer, Ein Beitrag zur Kenntnis der Lebensbedingungen von stickstoffsammelnden Bakterien. Zbl. Bakter. II, Ref. **14**, 33 (1905). — ²⁰ v. Freudenreich, Über stickstoffbindende Bakterien. Zbl. Bakter. II, Ref. **10**, 514 (1903). — ²¹ Gainey, Soil reaction and the growth of Azotobacter. J. Agric. Res. **14**, 365 (1918). — ²² Gerlach u. Vogel, Stickstoffsammelnde Bakterien. Zbl. Bakter. II, Ref. **8**, 669 (1902). — ²³ Gerlach u. Vogel, Weitere Versuche mit stickstoffbindenden Bakterien. Zbl. Bakter. II, Ref. **10**, 663 (1903). — ²⁴ Hartung, Kritische Untersuchungen über die Verwertbarkeit der „Azotobacterprobe“ zur Bestimmung der Phosphorsäure im Ackerboden. Inaug.-Diss. Techn. Hochschule München 1928. — ²⁵ Heinze, Über die Bildung und Wiederbearbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen. Zbl. Bakter. II, Ref. **12**, 43 (1904); **14**, 171 (1905). — ²⁶ Heinze, Einige Beiträge zur mikrobiologischen Bodenkunde. Zbl. Bakter. II, Ref. **16**, 640 (1906). — ²⁷ Heinze, Über die Stickstoffassimilation durch niedere Organismen. Landw. Jb. **35**, 889. — ²⁸ Hiltner, Probleme der Grün-

düngung und Brache. Zbl. Bakter. II, Ref. **14/16**. — ²⁹ *Jensen*, Über die Bestimmung der Pufferwirkung im Boden. Internat. Mitt. f. Bodenkde **14**, 112 (1924). — ³⁰ *Johnson and Lipmann*, The effect of reaction on the fixation of nitrogen by *Azotobacter*. Agr. Sciences **4**, 397 (1922). — ³¹ *Kappen*, Über Wesen und Bedeutung der Bodenacidität. Z. Pflanzenernährung u. Düng. **1924 A**, 209. — ³² *Koch*, Bodenbakteriologie und Stickstofffrage. Vortrag 1904. — ³³ *Krzmienniewska*, Der Einfluß der Mineralbestandteile der Nährlösungen auf die Entwicklung des *Azotobacters*. Bull. intern. de l'acad. des Sciences de Cracovie, Serie B, **1911**. — ³⁴ *Landgraf*, Bodenreaktion und Wachstum der Wiesenpflanzen. Inaug.-Diss. Techn. Hochschule München 1928. — ³⁵ *Lautenschläger*, Apparate zur p_H -Messung. Druckschrift 303 und 303 a. München SW 2. — ³⁶ *Löhnis* und *Pillai*, Über stickstofffixierende Bakterien. Zbl. Bakter. II, Ref. **20**, 781 (1908). — ³⁷ *Mitscherlich*, Die Bestimmung des Düngerbedürfnisses des Bodens. Berlin: Verlag Parey 1924. — ³⁸ *Niklas* u. *Hock*, Anwendung und Bedeutung der elektrometrischen Titration bei der Reaktionsbestimmung unserer Böden. Z. angew. Chem. **1925**, H. 10. — ³⁹ *Niklas* u. *Hock*, Die elektrometrische Titration unter Verwendung von Chinhydron. Z. angew. Chem. **1925**, H. 19. — ⁴⁰ *Niklas, Poschenrieder, Hock*, Über die Verbreitung des *Azotobacters* in den Böden Bayerns unter Berücksichtigung der Bodenreaktion, des Kalk- und Phosphorsäuregehaltes derselben. Zbl. Bakter. II, Ref. **66**, 16 (1925). — ⁴¹ *Remy*, Der gegenwärtige Stand und die zukünftigen Aufgaben der Bodenbakteriologie. — ⁴² *Remy*, Untersuchungen über die Stickstoffsammlungsvorgänge in ihrer Beziehung zum Bodenklima. Zbl. Bakter. II, Ref. **22**, 561 (1908/9). — ⁴³ *Sackett*, Bakteriologische Untersuchungen über die Stickstoffbindung in gewissen Bodenarten von Colorado. Zbl. Bakter. II, Ref. **34**, 81 (1912). — ⁴⁴ *Schneider*, Bodenchemische und bakteriologische Studien. Zbl. Bakter. II, Ref. **18**, 315 (1907). — ⁴⁵ *Simon*, Über die künstliche Kultur des *Azotobacter chroococcum* Beij. nach der Füllkörpermethode. Fortschr. Landw. **3**, H. 1 (1928). — ⁴⁶ *Stapp* u. *Ruschmann*, Zur Biologie von *Azotobacter*. Arb. a. d. Biol. Reichsanstalt f. Land- u. Forstwirtschaft. **13**, H. 3, 305 (1925). — ⁴⁷ *Stoklasa*, Beitrag zur Kenntnis der Stickstoffanreicherung des Bodens und ihre Bedeutung für die Pflanzenernährung. Dtsch. landw. Presse **1908**, Nr 25/27. — ⁴⁸ *Stoklasa*, Beitrag zur Kenntnis der chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffes durch *Azotobacter* und *Radiobacter*. Zbl. Bakter. II, Ref. **21** (1908). — ⁴⁹ *Stutzer*, Die Nutzbarmachung des Stickstoffes der Luft für die Pflanzen. Dtsch. landw. Presse **1904**, Nr 10—12, 17, 19. — ⁵⁰ *Vogel*, Untersuchungen über das Kalibedürfnis von *Azotobacter*. Zbl. Bakter. II, Ref. **32** (1912). — ⁵¹ *Wilfahrt* u. *Wimmer*, Über den Einfluß der Mineraldüngung auf die Stickstoffbindung durch niedere Organismen im Boden. Landw. Versuchsstat. **67**, 27 (1907). — ⁵² *Kießling-Sohn*, Untersuchungen über den Einfluß einseitiger Dauerdüngung auf Vorkommen und Entwicklung von *Azotobacter chroococcum* im Ackerboden unter besonderer Berücksichtigung der jahreszeitlichen Schwankungen. — ⁵³ *Seischab*, Untersuchungen über den Einfluß stetig zunehmender Stickstoffgaben auf Leistung und Pflanzenaufbau von Sommergerste.
