

Azotobacter-Studien.

Von LUDWIG NIEMEYER (Münster).

Die vorliegende Arbeit ist in zwei Abschnitte gegliedert. Der erste, ökologisch-pflanzengeographische Teil behandelt das Vorkommen des *Azotobacter* in verschiedenen Böden und die Bedingungen, die für sein Gedeihen ausschlaggebend sind. Im zweiten, morphologisch-entwicklungsgeschichtlichen Teil sollen ausser der Ergebnissen einiger älterer Arbeiten besonders die in den letzten Jahren von LÖHNIS veröffentlichten Befunde geprüft und diskutiert werden.

ERSTER TEIL.

Im Jahre 1901 veröffentlichte BEIJERINCK (3) eine Arbeit über "Oligonitrophile Organismen" und beschrieb darin einen neuen Schizomyceten, den er *Azotobacter chroococcum* nannte. Sehr selten war dieses Bakterium offenbar nicht, denn sein Entdecker fand es in allen fruchtbaren Böden, im Sande der Meeresdünen, im Wasser d. Kanals zu Delft, aber nicht im Heidesand. Die nächste Zeit hindurch wurde *Azotobacter* an den verschiedensten Orten der Erde gesucht, und auch gefunden. Es sei verwiesen auf die Arbeiten von KOCH (45), GERLACH und VOGEL (29), FREUDENREICH (26), BENECKE und KEUTNER (4), KEUTNER (44), REINKE (75), HUGO FISCHER (33, 34), THIELE (87), KOCH (47) und STOKLASA (83).

Gegenüber der sehr grossen Zahl der Böden, die *Azotobacter* enthielten, traten die Angaben über sein Fehlen zunächst sehr zurück (3, 24, 43).

CHRISTENSEN wandte sich 1907 gegen die Ansicht von der ganz allgemeinen Verbreitung des *Azotobacter*. Nach ihm ist für das Vorkommen des *Azotobacter* ein Gehalt des Bodens an CaCO_3 und Phosphorsäure Bedingung. Der günstige Einfluss des Kalkes war schon früher erkannt durch FISCHER (22), HEINZE (34), REMY (75), SCHNEIDER (80), aber doch nicht in der Weise ausgewertet. Wenn KOCH (47) und PILLAI (71) nach CaCO_3 -Gaben keine oder nur vereinzelt eine Förderung feststellen konnten, so ist in den Fällen wohl zu bedenken, dass beide mit Böden arbeiteten, die an sich nicht kalkbedürftig waren. In gleicher Weise wird es zu erklären sein, dass MOLL (66) im Gegensatz zu CHRISTENSEN keine fördernde Wirkung einer Kalk-Zufuhr feststellen konnte. DZIERZBICKI (17) vertrat wieder die Ansicht, dass *Azotobacter* in Böden ohne "assimilierbaren" Kalk nicht wüchse.

Die nächsten 10 Jahre brachten eine Reihe von Untersuchungen über das Vorkommen des *Azotobacter*, ohne dass dabei auf seine Lebensbedingungen näher eingegangen wurde. BOTTOMLEY (6) fand ihn in der Algenzone der Wurzelknöllchen von *Cycas*, LIPMAN (35) in Böden Californiens bis zu 4 Fuss Tiefe, nicht in Wüsten und humusarmen Weingarten-Böden, auch nicht in manchen fruchtbaren Böden. HUTCHINSON (37) lieferte den Nachweis von *Azotobacter* in tropischen Gegenden, PEKLO (69) an *Arabaena*, JONES (39) in verschiedenen Böden bis zu 30 Zoll Tiefe. Nach WALTON (89) kommt er praktisch in allen Böden Indiens vor. HERM. FISCHER (19) suchte ihn mit Erfolg an grünen Pflanzen in Fischteichen, BURGESS (8) konnte in 25 von 30 untersuchten havayischen Böden *Azotobacter* nachweisen. LIPMAN und BURGESS (56) schrieben 1916, *Azotobacter*-Organismen seien "far from being universally distributed". Hochmoor-Proben waren bei ARND (1) alle negativ. In Bezug auf eine Symbiose zwischen *Azotobacter* und grünen Wasserpflanzen kam HERM. FISCHER (20) 1916 zur verneinenden Ansicht und riet erneute Prüfung an.

Eine andere Reihe von Arbeiten berührt die von CHRISTENSEN 1907 angeschnittene Frage. CHRISTENSEN und LARSEN (11) benützten den *Azotobacter* als Indikator auf Kalk-Bedarf eines Bodens: in kalk-bedürftigen Böden war kein *Azotobacter*, in kalkreichen wuchs er gut. RITTER (77) untersuchte Hoch- und Niedermoor. Eine Relation zum Kalkgehalt konnte er nicht feststellen. Nach CHRISTENSEN (12) ist das Fehlen des *Azotobacter* in Hoch- und Niedermoor-Torf bedingt durch das Fehlen

basischer Stoffe. WEIS und BORNEBUSCH (90) führten das seltene Auftreten des Bacteriums in dänischen Waldböden auf Mangel an CaCO_3 zurück. LOEW (57) fand in sauren Tonböden wenig, in stark sauren keinen *Azotobacter*. In gekalkten Parzellen wuchs er besser. FRED und DAVENPORT (25) haben ihm grosse Empfindlichkeit gegenüber der Reaktion des Bodens zugeschrieben. CAINEY (27) kam zum gleichen Resultat: Reaktion und CaCO_3 sind für die Entwicklung massgebend. CHRISTENSEN (13) stellte für die Reaktion und das Auftreten des *Azotobacter* folgende Gesetzmässigkeit auf: sauer - sehr selten; neutral - selten; schwach alkalisch - häufig; alkalisch - fast immer; stark alkalisch - immer. JONES und MARDOCH (42) erklärten ihre negativen Befunde bei sandigen Böden durch die Armut an organischen Stoffen, bei "state soils" durch den sauren Charakter. PICHLER (70) führte das Fehlen des *Azotobacter* in verschiedenen Böden allgemein auf die gegebenen Bodenverhältnisse zurück und hielt deshalb eine Bakterien-Zufuhr für zwecklos.

Von älteren Arbeiten über Bodenimpfung sind folgende zu nennen: KOCH (45, 46), STUTZER (86), GERLACH (28), HEINZE (34), CHRISTENSEN (10), LIPMAN (54), STOKLASA (83). Nach ihnen verspricht eine *Azotobacter*-Zufuhr Erfolg, wenn gleichzeitig ein günstiges "Bodenklima" geschaffen wird. In den drei letzten Arbeiten ist dazu eine Kalk-Düngung gefordert. BOTTOMLEY (5) erreichte durch Zufuhr von *Azotobacter* und *Pseudomonas* bei *Avena* und *Galtonia* gute Resultate. STRANAK (85) hatte die besten Ergebnisse, wenn er *Azotobacter* aus Roh- und Reinkulturen in glukosehaltigen Boden und dann erst in den zu impfenden Boden brachte.

Um zu der Frage des Vorkommens von *Azotobacter* einen Beitrag zu liefern, habe ich verschiedenartige Böden untersucht. Es wurde festgestellt, ob die Böden *Azotobacter* enthielten, ihre Reaktion und ihr Kalk-Gehalt ermittelt, ferner die Wirkung einer Impfung mit *Azotobacter*-Rohkultur ohne und mit gleichzeitiger Zugabe von CaCO_3 an Kulturen in Glaskolben beobachtet.

Für die Entnahme der Bodenproben wurden Präparatengläser mit Watte verschlossen, die Öffnungsseite mit fest anliegender Papierhülse bedeckt und dann im Trockenschrank 30 Minuten auf 160° erhitzt. An Ort und Stelle wurden Papierhülse u. Wattebausch abgezogen und das Glas in der gewünschten Tiefe, gewöhnlich 5 cm (81) in den Erdboden gebohrt. Nach so erfolgtem Füllen war das Glas wieder mit Wattebausch und Papierhülse zu bedecken. Bei ausgehobenen Löchern wurde ein Stück der Wand mit sterilem Objektträger ausgebrochen und an der dadurch blossgelegten Stelle die Probe entnommen. Auf diese Weise glaube ich die Infektionsgefahr auf ein Minimum herabgesetzt zu haben.

Bis auf wenige Ausnahmen wurden die Untersuchungen in den Monaten März bis Mai ausgeführt, nach den Literatur-Angaben (43, 50, 60) in der günstigsten Zeit.

Für die Kulturen, die zum Nachweis von *Azotobacter* im Boden dienen sollten, später kurz Nachweis-Kulturen genannt, wurde zunächst die von BELJERINCK angegebene Nährlösung (2 g Mannit + 0,02 g K_2HPO_4 + 100 ccm Wasser) verwendet, 25 ccm in Erlenmeyer-Kolben bei 1,5 Atm. im Autoklaven sterilisiert und mit 2,5 g des zu untersuchenden Bodens geimpft. Dass auch dabei die Infektions-Gefahr möglichst eingeschränkt wurde, ist selbstverständlich. Alle Kulturen sind im Brutschrank bei $+30^\circ$ gezogen. Kontrolliert wurde täglich vom 2. bis 5. Tage makro- und mikroskopisch.

Bei der genaueren Untersuchung der Böden wurden mit jeder Probe zwei bzw. drei Kolben geimpft. Es enthielt der erste die oben angegebene Nährlösung + 0,5% CaCO_3 , der zweite die Nährlösung ohne, der dritte wieder mit CaCO_3 . Der zweite und dritte Kolben wurden mit einer Platin-Öse *Azotobacter*-Rohkultur geimpft. Kolben 1 musste Aufschluss geben über das Vorhandensein des *Azotobacter* in dem betreffenden Boden, Kolben 2, wenn 1 negativ gewesen war, ob der Boden selbst für *Azotobacter* mehr oder weniger schädlich sei, Kolben 3, ob die Wirkung in Kolben 2 durch die CaCO_3 -Gabe behoben werden könnte. Ausgedrückt wurden die Grade der *Azotobacter*-Entwicklung nach CHRISTENSENs Vorbild durch Zahlen 0 - 4. Dabei bedeutet 0 *Azotobact.* fehlt, die Kultur ist negativ, 1 *Azotobact.* ist nur mikroskopisch nachzuweisen, 2 Flockenbildung, 3 dünne Haut, 4 starke Haut.

Für die Bestimmung der Reaktion der Böden kamen die Methode CHRISTENSEN (14, 15) und WILERRY (91) zur Anwendung. Verglichen wurde das Verfahren nach COLBER (16).

Als Indikator ist im ersten Falle Lakmstinktur (MERCK) zur Anwendung gekommen. Reagenzgläser wurden beschickt mit 2,5 g Boden, 100 ccm aq. dest. und 0,5 ccm Lakmstinktur, mit Korkstopfen verschlossen, kräftig geschüttelt und zum Klären über Nacht an einem kühlen Ort aufgehoben. Am anderen Tage liess sich die Reaktion nach der Farbe der im oberen Teil meistens klaren Flüssigkeit unter Vergleich mit einer auf neutrale Reaktion eingestellten Vergleichs-Lösung beurteilen. Unbrauchbar wird die Methode, wenn es sich um reine Lehmböden handelt; Klärung tritt dann nicht ein, oder erst nach Tagen. Von einer richtigen Beurteilung kann dann natürlich keine Rede mehr sein. Ausserdem dürften die kolloidalen Stoffe des Lehmbodens auch auf den Lakmus-Farbstoff bindend wirken (82, 2). Etwas lässt sich dieser Mangel dadurch beseitigen, dass man den Boden mit aq. dest. ausschüttelt, stehen lässt, am andern Tag die oberste am stärksten geklärte Schicht abgiesst oder abpipettiert und dann erst die entsprechende Menge Lakmus zusetzt. In den meisten Fällen ergibt sich dann eine annehmbare Deutlichkeit der Reaktion. Zusätze v. $MgSO_4$ oder dialysierbarem Eisen (14, 32) sind wegen der Gefahr einer Reaktions-Beeinflussung mit Vorsicht anzuwenden. Sie hatten keine befriedigende Wirkung.

Durch die Methode von WHERRY wird die aktuelle Azidität eines Boden-Extrakts gemessen, ausgedrückt in pH. In kleinen Glaszylindern mit eingeschliffenem Stopfen wurden 2 g Boden und 20 ccm aq. dest. kräftig geschüttelt und bis zum nächsten Tage an einem kühlen Orte aufbewahrt. Die Indikatoren, ihre Bereiche und jeweiligen Farben sind aus der bei ARRHENIUS (2) gegebenen Tabelle zu ersehen. Bei der pH-Bestimmung wurden aus der obersten Schicht des Boden-Extraktes einige Tropfen auf eine Porzellan-Palette gebracht und ein Tropfen Indikator zugesetzt. Erleichtert wird die Bestimmung dadurch, dass die Bereiche der Indikatoren sich zum Teil überdecken. Bei Anwendung einer immer gleichen Tropfenzahl lässt sich mit Hilfe dieser Methode eine Genauigkeit erreichen, die, wenigstens bei alltäglichen Bestimmungen, bei denen die erste Dezimale nur angenähert angegeben wird, nichts zu wünschen übrig lässt. Zur Bestimmung der Azidität von Nährlösungen ist dieses schnell und einfach zu handhabende Verfahren auch sehr gut geeignet.

Nach COLBER (16) wurden 2 g Boden im Reagenzglas mit 5 ccm einer Lösung von 40% Rhodankalium in 96% Alkohol geschüttelt. Eine Rotfärbung bezeugt Kalkmangel und sauren Charakter. Das Verfahren ist zunächst nur für saure Böden geeignet, nach Zusatz von Eisenchlorid zum Indikator auch für alkalische (27 a). Eine Entfärbung deutet dann je nach der Stärke den Kalkgehalt an. Die Reaktionen nehmen bis zum vollständigen Ablauf einige Zeit in Anspruch. Die Arbeitsweise bietet keine Schwierigkeit. Handelt es sich jedoch um ausgesprochen eisenhaltige Böden, so weichen die Ergebnisse von denen nach WHERRY ziemlich erheblich ab.

Einen gewissen Aufschluss über den $CaCO_3$ -Gehalt eines Bodens gibt die Säureprobe (11), die darin besteht, dass eine kleine Menge Boden mit HCl übergossen wird. Aus dem mehr oder weniger heftigen Aufbrausen lässt sich ein Schluss auf d. $CaCO_3$ -Gehalt ziehen. Um dieser sehr rohen Methode wenigstens das rein subjektive Mass für den Grad des Aufbrauens zu nehmen, habe ich die Bodenprobe (5 g) in kleinen Gas-Entwicklungsflaschen mit HCl übergossen. Die Säure wurde in graduirten Büretten über CO_2 -gesättigtem Wasser aufgefangen.

Tabelle 1. - In der ersten Gruppe der Tabelle 1 sind 4 Untersuchungen von Proben aus dem botanischen Garten zu Münster aufgeführt. Diese, wie auch alle andern von Beeten des botan. Gartens angesetzten Kulturen, zeigten eine üppige Azotobacter-Vegetation. Auf die begleitenden Organismen will ich im andern Teil der Arbeit eingehen. Hervorgehoben sei nur das Auftreten sehr vieler Amöben in diesen Kulturen.

Die zweite Gruppe enthält Bodenproben aus dem Teutoburger Walde. Die Böden waren gut gepflegt und nach Aussagen des Besitzers sehr ertragreich. In allen Kulturen bildeten sich starke Azotobacter-Häute. Am üppigsten war die Entwicklung aus der Erde des Erdbeerbeetes, daran schlossen sich 6, 7, 5 nach der Stärke geordnet an. Die Unterschiede waren gering.

Ein ganz anderes Bild lieferte das nördlich von Münster gelegene Heidesandgebiet der Körheide. Positiv waren 1. ein in dieser Gegend angelegtes Rieselfeld, aber sehr schwach, nach Zusatz von $CaCO_3$ wurde die Entwicklung erst kräftiger; 2.

ein Ziegeleiteich, der in kalkhaltiger Bodenschicht liegt, die sich unter der Heide-Sandschicht hinzieht und durch die Ziegelei-Arbeiten blossgelegt ist.

Der lehmige Boden am Wege nach Tillbeck (westlich von Münster) weist in allen Fällen positive Ergebnisse auf. Der negative Nadelwald liegt 3 km südlich auf sandigem Boden.

Von der Insel Juist kamen 13 Proben zur Untersuchung, die ich gelegentlich einer botanischen Exkursion mitgebracht hatte. Alle stammen aus der Osthälfte d. Insel. Aus den positiven Befunden aller Kulturen dieses kleinen Gebietes und der Boden-Gleichförmigkeit der ganzen Insel glaube ich auf ein Vorkommen des *Azotobacter* auch in der Westhälfte schliessen zu können.

Drei Böden des Katzbachtales in Schlesien waren ebenfalls positiv. Es sind dies die einzigen Proben, die ich nicht selbst entnommen habe. Ich bin aber sicher, dass genau nach meinen Angaben verfahren ist.

Helgoland hat nur positive Kulturen geliefert. Bei der Kleinheit dieses Felsen-Eilandes kann man sich aus den 5 angeführten Fällen schon ein ausreichendes Bild machen. Helgoland steht in bezug auf *Azotobacter* Juist nicht nach.

Tabelle 2. - Aus dem Sand- und Heidegebiet nördlich Emsdetten liegen 11 Untersuchungen vor. Davon waren zwei Äcker (nr. 7 und 11) positiv, mit sehr schwacher Entwicklung, ausserdem ein Kiefernbestand 8 neben Feld 7 und aus einem gemischten Waldbestand 10 eine Probe aus 15 cm Tiefe, während eine Oberflächen-Probe 9 vom gleichen Ort und der Rest der Proben negativ waren. Gegen Lakmus war 7 neutral, 8, 10 und 11 neutral-sauer, 9 und alle andern sauer. In den geimpften Kulturen waren in der Mehrzahl der Fälle einige Zellteilungen eingetreten, eine Flocken- oder Hautbildung war aber nicht festzustellen. Es ist kein für *Azotobacter* günstiger Boden unter den geprüften gewesen.

Tabelle 3. - Anders verhielten sich die aus dem kalkhaltigen Hügelland bei Nienberge (nordwestl. von Münster) stammenden Böden: von 14 waren nur 5 negativ. 1 humusreiche Oberflächenschicht in einem Laubholzgebüsch, neutral-sauer, 9 Wiese, Grasnarbe, 10 Ort 9 in 10 - 15 cm Tiefe, steifer Lehm, beide alkalisch, 11 verrottetes Buchenlaub, alkalisch (?), 13 schwarze Holzerde eines alten Buchenstubben, neutral-sauer (?). Die besten Kulturen lieferten 8, 14 und 12; auf Säure-Zusatz schieden sie ab an CO_2 : 140, 14 und 75 ccm. Die geimpften Kulturen zeigten bis auf 11, in der Entwicklung bis zur Stärke 3 eintrat, keine wesentliche Förderung.

Tabelle 4. - Tecklenburg - Teutoburger Wald, Übergangsbereich vom Kalk zum Sand, hat unter ihren 17 Nummern nur 4 positive. 3 frisch bearbeiteter Acker auf dem Kamm des Berges, 4 Roggenfeld bei 3 (CO_2 8 ccm), 5 Wiese, Grenzgebiet Kalk-Sand (CO_2 91 ccm), 17 Bergabhang mit *Juniperus*-Bestand 7 - 10 cm tief (CO_2 118 ccm). Gegen Lakmus waren alle 4 stark alkalisch. Bei den geimpften Kulturen bestand ein scharfer Gegensatz zwischen 1 - 5 und 17 einerseits, 6 - 16 andererseits. In der ersten Gruppe hatte sich *Azotobacter* sehr üppig entwickelt, in der zweiten nicht in einem Fall. Die Böden der ersten Gruppe waren stark alkalisch, die der zweiten ± neutral. Gruppe 1 enthielt ausgesprochene Kalkböden, Gruppe 2 Sand (Standort von *Schistostegia*). Dass in diesen Böden eingeimpfter *Azotobacter* zugrunde gehen würde, wenn die Bodenverhältnisse die gleichen blieben, ist sicher. Worin die Änderung zu bestehen hätte, lässt sich nach diesen Versuchen noch nicht sagen. Zu beachten ist 1, 3 und 17. In der Nachweis-Kultur war 1 negativ; 3 und 17 positiv, Grad 1. Geimpft zeigten alle 3 Proben Grad 4.

Tabelle 5. - Hier sind zusammenzufassen 1 - 8, 9 - 11, 12 - 22. (Von Tab. 5, 19 ab wurde für Mannit Saccharose eingeführt. Parallelversuche zeigten keinen Unterschied.) Die erste Gruppe bilden Mergelproben vom Doberg bei Bünde i. Westf. Alle Kolben waren positiv bis auf 6 und 7. Der Boden für diese Kulturen wurde etwa 5 cm unter der Grasnarbe auf dem Gipfel des Hügels und auf einer Abbauschleife entnommen, auf der seit vielen Jahren nicht mehr gearbeitet wird. Der Grund war in beiden Fällen äusserst hart und fest. 6 hatte Wasserstoff-Exponenten pH 7,5 - 8, und 7 pH 7,5. Die geimpften Kulturen waren in beiden Fällen sehr gut. Als einziger Unterschied zwischen diesen beiden Böden und den übrigen der Gruppe ist anzuführen, dass die untersuchten Stellen durch ihre grosse Dichtigkeit und die

übergelagerte feste Grasnarbe von der Luft abgeschlossen waren, während die Stellen 1 - 5 und 8 entweder frei zutage lagen oder bearbeitet, durchlüftet waren.

Die 3 Proben der zweiten Gruppe sind aus einer alten Tongrube wenige 100 m südlich des Doberges geholt. Positiv war nur der Grund des durch die Grube fließenden Baches.

Die letzte Gruppe wird gebildet aus Garten- und Feldland-Proben, an die sich 3 Proben aus einer Sandgrube anschließen. Negativ waren 12, Gartenland, pH 6, wahrscheinlich durch starke Gärung unterdrückt; 18, Brachacker, pH 6; 5 - 7 und 21, 22 Sandgrube in 45 und 100 mm Tiefe. Geimpfte Kulturen konnten nur von 12 - 18 angesetzt werden. Der Erfolg war negativ. Die Nährlösung hatte nur pH 6,5. Die Pufferung der Böden war gegenüber einer starken Gärung in allen Kolben wahrscheinlich zu gering, um die pH auch nur für 2 oder 3 Tage auf der nötigen Höhe zu halten. Nähere Feststellungen dazu folgen später.

Tabelle 6. - Die ersten 8 Böden der Tabelle 6 sind aus einer kalkhaltigen Gegend (Bergkirchen, Wiehengebirge) und bis auf 4 und 6 positiv. Nr. 4 hat pH 8, ist aber wegen der unmittelbaren Nähe der Esse eines Kalkofens schwierig zu beurteilen. Eine geimpfte Kultur konnte nicht angesetzt werden. Nr. 6 stammte aus d. Sandschicht über einem Steinbruch, war gegen Lakmus neutral - sauer und lieferte in der Impfkultur eine Entwicklung zweiten Grades. Alle übrigen Böden waren ± alkalisch bis auf 6, der schwach sauer reagierte. Da es sich aber um einen schweren Lehm handelte, kann diese Reaktion nicht als zuverlässig gelten.

Probe 9 - 15 lieferte das Sandgebiet des Werre-Laufes. Positiv waren nur 2 Uferproben und ein Roggenfeld. Die negativen lieferten in Impfkulturen Entwicklungen vom Grade 1 - 2. Bis auf das positive Roggenfeld (alkalisch) waren alle Böden ± sauer.

Tabelle 7. - Die unter 5 - 9 in Tabelle 7 aufgeführten Proben sind an den gleichen Stellen entnommen wie 15 - 19 der Tabelle 1, auch etwa zur selben Jahreszeit. Die *Azotobacter*-Entwicklung war im Vorjahr etwas kräftiger. Die Wiese, 8 war bei der ersten Untersuchung positiv gewesen. Der Teich hatte sich auf gleicher Höhe gehalten.

Die zweite Abteilung stammte wieder aus dem Teutoburger Walde und dem (in diesem Falle südlich) vorgelagerten Sandgebiet; 10 - 20 pH 7 - 8, Kalk; 21 - 25 pH 7 - 7,5, Sand. Negativ sind 11, 12, 20 und 21, 25. In der geimpften Kultur zeigten 21 und 25 nur in der kalkhaltigen Lösung eine Entwicklung. Bei 11, 12 u. 20 finden wir die gleichen Verhältnisse wie bei Tabelle 4, nr. 1, 3, 17 und Tabelle 5 nr. 6 und 7; Nachweiskultur negativ, Impfkultur mit und ohne CaCO_3 stark positiv. Von den übrigen positiven Böden unterscheiden sich 11, 12 und 20 auch wieder durch den Mangel einer Bearbeitung, durch welche eine Auflockerung und Durchlüftung hätte erfolgen können. Darin allein liegt das Fehlen des *Azotobacter* in diesen Böden begründet, denn an oberflächlichen Infektionen kann es nicht fehlen in einem Gelände, das von *Azotobacter*-haltigen Wegen und Feldern durchsetzt ist. Betrug die Entfernung zwischen 6 und 8 der Tabelle 5 doch keine 5 km, und dabei war 8 positiv, dagegen 6 negativ. Weitere gleichartige Befunde werden zu derselben Auffassung führen.

Tabelle 8. - Durch das bisher angeführte Versuchsmaterial könnte man versucht sein, aus der geologischen Formation auf das Vorkommen des *Azotobacter* zu schließen. An Hand der vorliegenden Tabelle 8 werde ich zeigen, dass derartige Schlüsse nicht befriedigend sind. Südlich von Rheine i. Westf. erheben sich Kalkbänke, die im Norden von kalkfreien Formationen (diluvialen Sanden etc.) überlagert und abgelöst werden. Wäre *Azotobacter* an die Formation gebunden, so müssten die Proben aus dem Kalkgebiet in mehr Fällen positiv sein als die übrigen. Ausgesprochene Kalkböden waren 4, 5, 8, 9, 10, pH = 7 - 7,5. Davon waren 4, 8, 10 als Böden ohne Durchlüftung negativ (Tabelle 7!). Aus dem Sandboden, der den Kalkschichten aufgelagert ist, stammen 6, 7, 12 - 15; pH = 6,5 - 7,5. Davon waren negativ 6 u. 14, Äcker pH = 6,5 bzw. 7. Wenn diese Sande durch das Grundwasser Kalk zugeführt bekommen, so hat das mit ihrem Formationscharakter nichts zu tun. Es wird dadurch nur die Reaktion des Bodens bedingt, und da liegt der zweite Kernpunkt in der Frage des Vorkommens von *Azotobacter*; er ist an die Reaktion gebunden. Bei allen mei-

nen Untersuchungen habe ich keinen *Azotobacter*-haltigen Boden gefunden, dessen pH unter 5 lag.

Tabelle 9. - Ausgesprochen saure Böden entnahm ich dem Moorgebiet bei Velen (Kr. Borken). Von 13 Proben waren 6 positiv, allerdings kam keine Nachweis-Kultur über Stärke 1 hinaus. Von diesen Böden lag keiner unter pH 5, alle waren sie in irgend einer Weise bearbeitet. Die echten Moorproben, pH unter 5, waren durchaus negativ. Die geimpften Kolben ohne CaCO_3 zeigten nur in einem Fall Erfolg (Kartoffelfeld, pH 6). Die Reaktion fiel in dieser Versuchsreihe in den 5 Tagen der Beobachtung von pH 6,5 mehr oder weniger bis auf pH 3. Die geimpften Kolben mit CaCO_3 zeigten gute Entwicklung. In gleicher Weise eine Reihe, der statt CaCO_3 MgCO_3 zugesetzt war. Die Reaktion fiel in diesen Reihen von pH 8 bzw. 8,5 auf + 4,5 und ± 5.

Tabellen 10 - 12. - Das Versuchsmaterial zu Tab. 10 holte ich aus dem Massenkalk-Gebiet der Gegend von Attendorn, das zu Tab. 11 aus dem oberen Hönnetal (Balwe) und das zu Tab. 12 aus dem Gelände östlich von Menden. Die Befunde dieser Untersuchungen decken sich durchaus mit den früheren. *Azotobacter* verlangt danach einen durchlüfteten Boden, dessen pH nicht unter 5 liegt. Wenn er in einer Reihe von Äckern fehlt, obgleich diese Bedingungen erfüllt sind, so kann es dafür die verschiedensten Gründe geben. Der in Tabelle 12 unter 5 angeführte Acker z.B. hat pH 7,5, also alkalische Reaktion und Durchlüftung, und trotzdem ist er negativ. Dazu ist zu sagen, dass der Acker erst kurze Zeit vor der Entnahme der Probe mit Kalk behandelt war, also vorher eine andere Reaktion gehabt haben wird. In Tab. 10 lag unter 11 ein negativer Acker mit nicht alkalischer, aber doch ausreichender Reaktion vor. Er war am Bergeshang gelegen, auf allen Seiten von Hochwald umgeben und war als Acker höchstens 2 Jahre alt. Diese Verhältnisse dürften das Fehlen wohl zur Geringe erklären. Natürlich bestehen auch noch andere Bedingungen für die Verbreitung und Entwicklung des *Azotobacter*, es sei nur auf Phosphorsäure und Bodenfeuchtigkeit hingewiesen (53, 88).

Im Anschluss an die Versuche der Tabelle 12 habe ich von den negativen Proben noch 4 Parallelreihen geimpfter Kulturen angesetzt: 1. mit CaCO_3 pH 8, 2. ohne CaCO_3 pH 6,5; 3. mit MgCO_3 pH 8,5; 4. mit KOH pH 8. - CaCO_3 und MgCO_3 waren 0,5% zugesetzt, während 4 mit KOH auf pH 8 eingestellt war. CaCO_3 und MgCO_3 wirkten in gleicher Weise günstig. In den Kolben mit KOH hatte sich kein *Azotobacter* entwickelt. Das pH der Lösung war genau so gefallen wie in den Kolben ohne Zusatz (Reihe 2) zum Teil bis auf 3,5.

Tabelle 13. - In der letzten Zusammenstellung habe ich bei den einzelnen Böden die vorherrschenden höheren Pflanzen (auf Äckern die Unkräuter) angegeben. Dass bestimmte Beziehungen zwischen höheren Pflanzen und Bodenreaktion bestehen, ist bekannt (2). Für eutrophe, niedere Pflanzen sind derartige Gesetzmässigkeiten sehr wahrscheinlich. Eine orientierende Versuchsreihe in dieser Richtung zeigte, dass sich aus Teich-Plankton in einer Nährlösung von pH 5 nur grüne Organismen entwickelten, während bei pH 8 aus dem gleichen Plankton ausserdem Cyanophyceen und solche Mengen Diatomeen auftraten, dass der Farbton der Kulturen gelbgrün wurde. Aus Böden (pH 6 und 8) entwickelten sich bei pH 6 wiederum nur grüne Organismen, während bei pH 8 Cyanophyceen und Diatomeen in grösseren Mengen sich dazu gesellten.

Ob und wie weitgehende Gesetzmässigkeiten für die gesamte Pflanzengeographie bei der sehr grossen Anpassungsfähigkeit oder Unempfindlichkeit einiger Organismen (*Amylobacter* fand ich bei pH 3 und auch bei pH 8, *Juniperus* steht auf reinem Kalk und auf moorigen Heiden) sich werden aufstellen lassen, das müssen weitere Arbeiten zeigen. Anfänge in dieser Richtung sind gemacht.

Ein Vergleich der Werte der Lakmus-Probe mit den unter pH angeführten zeigt, dass Lakmus in etwa der Hälfte aller Fälle zu stark alkalische Werte angezeigt hat. Von den nach COMBER geprüften und als kalkbedürftig-sauer befundenen Böden will ich hier eine Aufstellung bringen mit den sauersten anfangend gegen den Neutralpunkt hin, dabei ist M = Menden (Tabelle 12); V = Velen (Tabelle 9); L = Lengrich-Leeden (Tabelle 13).

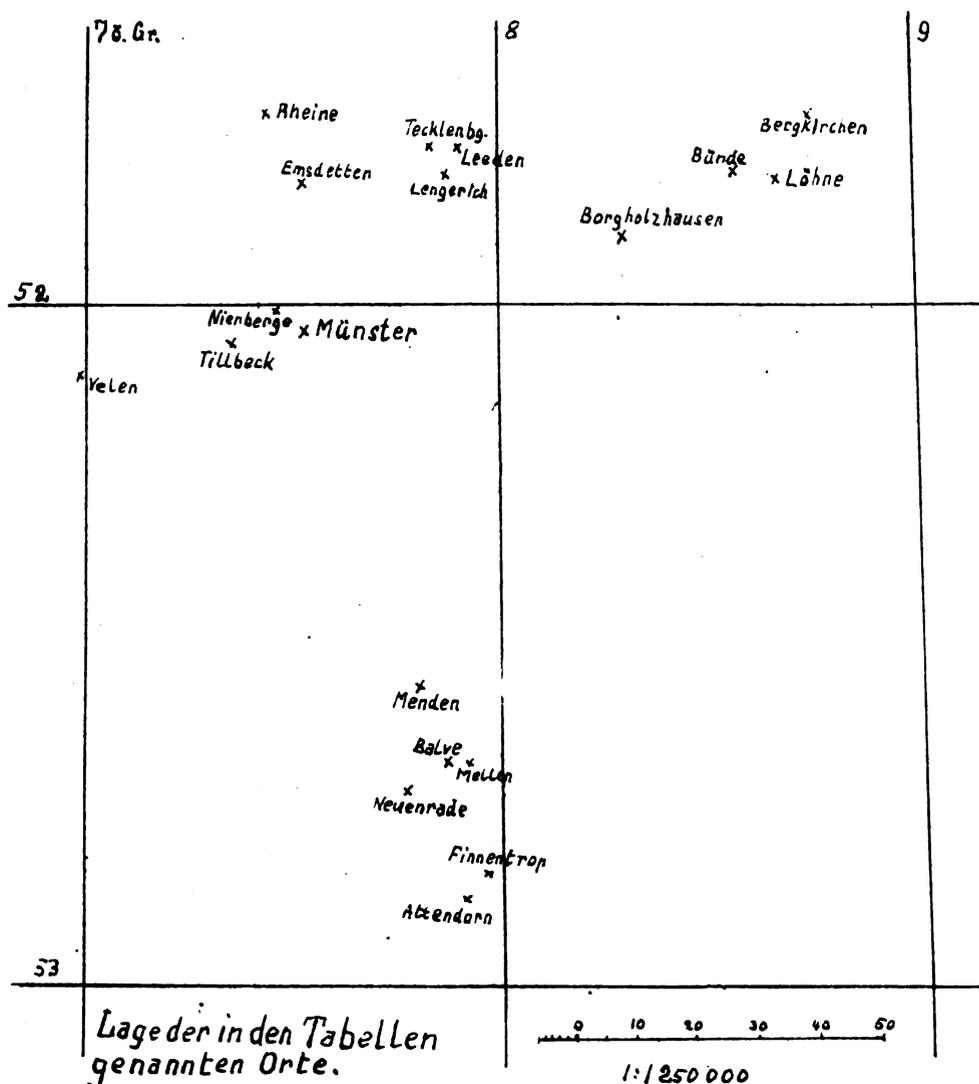


Fig. 3.

Tabelle 1.

Nr.	Herkunft der Probe.	Azotobacter	
		vorhand.	+ fehlt -
A	Botanischer Garten, Münster, 11. I. 1922.		
1	Beet, frisch gegraben	+	
2	Beet, nicht gegraben	+	
3	Komposterde, alt	+	
4	Beet, gegraben, entnommen 6.II.22. bei -4° C. Temp. vorher bis -18° C.	+	
B	Winkelshütte-Borgholzhausen (Teutob. Wald) 25.IV.22.		
5	Acker, vor einigen Stunden gepflügt	+	
6	Roggenfeld	+	
7	Gärtnereigraben, gegraben im Herbst, vor einigen Tagen gegggt	+	
8	Gärtnerei, Erdbeerbeet, bearbeitet im Herbst	+	

Tabelle 2 cont.

Nr.	Herkunft der Probe	Nachweis- kultur				Geimpfte Kultur				Reaktion des Bodens
		am Tage				am Tage				
		2.	3.	4.	5.	2.	3.	4.	5.	
3	Sand, Ort 1, 25-30 cm tief	0	0	0	0	0	0	0	1	neutr.-sauer
4	Kiefern, lichter Besatand, 5 cm tief	0	0	0	0	0	0	0	1	st. sauer
5	Ort 4, 15 - 20 cm tief	0	0	0	0	0	0	0	1	neutr.-sauer
6	Wiesengraben, 10 cm unter Wasserpiegel (schmale Wiese zw. Äckern u. Kiefernwald).	0	0	0	0	0	0	0	0	sauer
7	Acker, guter Sandboden, frisch gepflügt, Furchen tief	1	1	1	1	0	0	1	1	neutral
8	Kiefernwald, neben 7, Tiefe 5 - 10 cm, nadelfreier Sand	0	1	1	1	0	0	1	1	neutr.-sauer
9	Gemischter Waldbestand, Oberfl.	0	0	0	0	0	0	0	0	sauer
10	Ort 9, Sand, 15 cm tief	0	1	1	1	0	0	0	1	neutr.-sauer
11	Roggenfeld, guter Sandboden	0	0	1	1	0	0	0	1	neutr.-sauer

Tabelle 3. Nienberge, 12. 3. 23.

Nr.	Herkunft der Probe	Nachweis- Kultur				Geimpfte Kultur				CO ₂ -Abgabe auf HCl	Reaktion des Bo- dens
		am Tage				am Tage					
		2.	3.	4.	5.	2.	3.	4.	5.		
1	Laubholzgebüsch (Casselstiege), humusreiche Oberflächenschicht	0	0	0	0	0	0	0	1	0	n. - s.
2	Ort 1, 15 cm tief, grobkörniger, sandiger Lehm	0	0	1	1	0	1	1	1	0	n. - s.
3	Wiese, Lehm, 2 - 3 cm unter Grasnarbe	0	0	1	1	1	1	1	2	0	alk.
4	Ort 3, 10-15 cm tief, stark lehmiger Sand	1	1	1	1	1	1	1	1	0	alk.
5	Ziegeleistich (nr.5-8) Mutterboden, 10 cm tief, sandiger Lehm	1	1	1	2	0	0	1	1	0	alk.
6	Übergang vom Mutterboden zum reinen Lehm, 20 cm tief	1	1	1	2	2	2	3	3	0	alk.
7	Reiner Lehm, 35-40 cm tief	1	2	2	2	2	3	3	4	0	alk.
8	75 cm tief, Lehm, kleine Kalkstücke enthaltend	1	2	3	4	2	3	4	4	140	st. alk.
9	Wiese, Grasnarbe	0	0	0	0	1	1	1	1	0	alk.
10	Ort 9, 10-15 cm tief, reiner Lehm	0	0	0	0	1	1	2	3	0	alk.
11	Laubwald, fast reiner Buchenbestand, verrottetes Laub	0	0	0	0	1	1	2	3	0	alk.?
12	Ort 11, 10 cm tief, körn. L.	0	0	2	3	2	2	3	3	75	alk.
13	Zerfallender Buchenstubben, schwarze Holzerde	0	0	0	0	0	0	1	1	0	n.-s.?
14	Lärchenwald, 10 cm tief, körniger Lehm	2	3	3	4	2	2	3	4	14	st. alk.

Tabelle 4. Tecklenburg, 20. 3. 23.

Nr.	Herkunft der Probe	Nachweis- Kultur am Tage				Geimpfte Kultur am Tage				CO ₂ -Abga- be auf HCl	Reaktion des Bodens
		2.	3.	4.	5.	2.	3.	4.	5.		
1	Bergrücken, Grasfläche, Oberfl., unbearbeitet	0	0	0	0	2	3	3	4	0	st. a.
2	Ort 1, 15 cm tief	0	0	0	0	2	3	3	4	0	st. a.
3	Acker, frisch angelegt	0	1	1	1	2	3	3	4	-	st. a.
4	Roggenfeld, frisch angel.	1	2	3	3	2	3	3	4	8	st. a.
5	Wiese, Übergangsgebiet v. Kalk zum Sand	1	2	2	3	1	2	3	4	91	st. a.
6	Wallhecke, Sand, 15 cm tief	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n. - a.
7	Wallhecke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n. - a.
8	Wegekreuzung, Rasen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	schw. a.
9	Sumpf (trocken gelégt) Oberfläche	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.
10	Sumpf, 7-10 cm tief	0	0	0	0	0	0	0	0	1	n.
11	Hecke	0	0	0	0	0	0	-	0	4	n.
12	Sand, Fuss eines Sand- steinfelsens	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n. - a.
13	Roggenfeld auf d. zweiten Rücken; einziges Feld i. weitem Umkreis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n. - a.
14	Sandsteinbruch, 10 cm t.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n. - s.
15	Sandsteinbruch, 30 cm t.	0	0	0	0	0	0	0	0	1	n. - s.
16	Sand, Standort von Schistostéga	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.
17	Bergabhäng a.d. Strasse Tecklenburg-Lengerich, Kalk mit Juniperus-Be- stand, 7-10 cm tief	0	1	1	1	2	3	3	4	118	st. a.

Tabelle 5. Doberg in Westf. 3. - 5. 4. 23.

Nr.	Herkunft der Probe	Nachweis- Kultur am Tage				Geimpfte Kultur am Tage				CO ₂ -Ab- gabe a. HCl	Des Bodens Reakt.	pH
		2.	3.	4.	5.	2.	3.	4.	5.			
1	Sumpf im Mergelgruben- grund	1	3	4	4	3	4	4	4	251	st. a.	-
2	Alte Wand ohne Vegetat. Aussenschicht	0	1	2	3	3	4	4	4	558	st. a.	-
3	Wand, 10 m über Gruben- grund; keine Vegetat., 10 cm tief	0	0	0	1	0	1	2	4	191	st. a.	-
4	Grund d. Grube, von oben eingespülter Mer- gelschlamm	0	1	1	2	3	4	4	4	303	st. a.	
5	Feld mit Luzerne, 10 cm tief	2	2	2	3	2	2	2	3	353	st. a.	7,5

Tabelle 6 cont.

Nr.	Herkunft der Probe.	Nachweis- Kulturen				Impf- Kult	CO ₂	Des Bodens	
		am Tage						Reakt.	pH
		2	3	4	5				
9	Uferböschung, 50 cm über Wasser	1	3	3	3	-	0	schw. s.	-
10	Roggenfeld, Schwemmsand	0	1	1	1	-	0	a.	-
11	Weidenpflanzung, Grasnarbe	0	0	0	0	1	0	schw. s.	5
12	Weidenpflanzung, Grasnarbe, 10 cm tief, Sand	0	0	0	0	2	0	s.	-
13	Lärchenbestand, 10 cm tief, Sand	0	0	0	0	2	0	s.	6,5
14	Wiesengrabenufer, Höhe des Wasserspiegels	0	0	2	2	-	0	s.	-
15	Roggenfeld neben der Wiese 14, Sand, 10 cm tief	0	0	0	0	1	0	schw. s.	-

Tabelle 7. Tillbeck, 2. 5. 23 (Nr. 1 - 9); Langerich, 3. 5. (Nr. 10 - 25).

Nr.	Herkunft der Proben	Nachw.- Kultur		Geimpft. Kultur		CO ₂	Des Bodens	
		am Tage		mit	ohne		Reakt.	pH
		3.	5.	CaCO ₃	CaCO ₃			
1	Wiesengraben, Umgebung Sand	3	4	-	-	1	n.	6
2	Wiese (Ranunculus acer)	3	4	-	-	0	a.	7
3	Wiesengrabenschlamm	2	4	-	-	0	n.	7
4	Kleiner Wald (Alliaria officin.)	2	4	-	-	43	a.	7-7,5
5	Landzunge im Sumpf	0	1	-	-	0	s.	6-6,5
6	Humusreicher Lehm	0	1	-	-	0	s.	5
7	Teichrand unter Wasser	4	4	-	-	1	schw. a.	7
8	Wiese	0	0	1	2	0	n.	5,5-6
9	Getreidefeld, sandiger Lehm	0	1	-	-	0	a.	5,5-6
10	Acker	1	3	-	-	80	st. a.	7,5
11	Schicht über Steinbruch	0	0	2	3	2	st. a.	7,5
12	Schicht unter erdiger Waldbodenschicht; verwitterter Kalk	0	0	2	3	470	st. a.	8
13	Acker über Tunnel	3	4	-	-	130	st. a.	7,5-8
14	Grasfläche über Tunnel	1	4	-	-	440	st. a.	7,5
15	Grasfläche mit Juniperus	0	4	-	-	100	st. a.	7,5
16	Acker	1	4	-	-	320	st. a.	7,5
17	Gras-Klee-Fläche	1	4	-	-	215	st. a.	7-7,5
18	Strasse, Rand des Fahrdammes	2	4	-	-	344	st. a.	8
19	Waldweg-Grund	1	4	-	-	-	-	-
20	Waldweg-Böschung unter Moospolster	0	0	2	3	460	st. a.	7,5-8
21	Wallhecke	0	0	0	1	0	st. a.	7
22	Getreidefeld, Sand	0	1	-	-	0	s.	5,5
23	Wiese, sumpfig	0	2	-	-	0	s.	6,5
24	Wiesengraben	0	4	-	-	0	s.	6,5
25	Laubwald, Landzunge zwischen Tümpeln	0	0	0	2	0	s.	4,5-5

Tabelle 8. Rheine, 6. 5. 23.

Nr.	Herkunft der Probe.	Nachw. Kultur 5. Tag	Geimpfte Kultur		CO ₂	Des Bodens	
			mit CaCO ₃	ohne CaCO ₃		Reakt.	pH
1	Acker, Sand, Grenzland gegen das Kalkgebiet	4	-	-	14	st.a.	7,5
2	Acker, ebenso	4	-	-	75	st.a.	7,5
3	Acker, ebenso	4	-	-	0	n.-s.	6-6,5
4	Gebüsch neben Kalkbruch	0	4	4	112	n.	7
5	Graben zwischen Wiesen	2	-	-	116	st.a.	7,5
6	Getreidefeld	0	1	4	0	n.-s.	6,5
7	Wiese	2	-	-	26	st.a.	7,5
8	Grasfläche (alte Schanze)	0	3	4	206	st.a.	7-7,5
9	Grasfläche neben 8	1	-	-	293	st.a.	7-7,5
10	Trift, unter Grasnarbe	0	3	4	73	n.	7,5
11	Weide	4	-	-	95	a.	7,5
12	Acker mit Leguminosen	4	-	-	109	a.	7,5
13	Wiese	4	-	-	3	a.	7
14	Acker	0	2	4	87	a.	7
15	Acker	4	-	-	0	a.	6,5-7
16	Gebüsch am Salinenkanal (Pumphaus)	0	0	4	0	a.?	7
17	Salinenkanal unter Wasser	4	-	-	3	a.	7
18	Hügel am Salinenkanal	0	0	4	0	n.-a.	5
19	Acker am Salinenkanal	4	-	-	0	n.-a.	6,5-7
20	Buchenwald	0	0	4	0	s.	5
21	Emsufer (Equisetum hiemale)	3	-	-	0	n.-s.	6-6,5
22	Ems, unter Wasser	3	-	-	3	n.-a.	7
23	Ems, Ufer, 20 cm über Wasserspiegel	4	-	-	0	n.-a.	6,5
24	Emsufer (Equisetum arvense)	3	-	-	0	n.-a.	7

Tabelle 9. Velen, 10. 5. 23.

Nr.	Herkunft der Probe	Nachweis Kult	Geimpfte Kulturen						CO ₂	Des Bodens	
			pH	Lösung am 5. Tag				Reakt.		pH	
				pH	Ca	pH	Mg				pH
1	Niederungsmoor, unbearb.	0	-	-	-	-	-	0	st.s.	4,5	
2	Roggenfeld, Nied.-Moor	0	0	6,5	3	5	3	5	0	s.	5
3	Alter Bestand von Kiefern und Eichen	0	0	3	4	5	4	5	0	st.s.	3
4	Mooriger Graben zwischen Birken u. Eichen	0	0	3,5	3	6	3	7	0	s.	4,5-5
5	Abgebautes Niederungsm.	0	0	3	3	4,5	4	4	0	st.s.	3
6	Böschung Weg-Graben, Niederungsmoor	1	-	-	-	-	-	-	0	s.	5
7	Damm d. Feldbahn im Hochmoor	1	-	-	-	-	-	-	0	s.	5
8	Kartoffelfeld	0	3	4,5	4	5	4	5	0	s.	6
9	Strassengrund	1	-	-	-	-	-	-	0	n.-a.	6
10	Roggenfeld	1	-	-	-	-	-	-	0	n.	6
11	Wiese (ca. 8-11 Gegend d. Torfstreifefabrik).	0	0	4	4	5	4	5	0	st.s.	5-5,5

Tabelle 9 cont.

Nr.	Herkunft der Probe	Nachw. Geimpfte Kulturen						CO ₂	Des Bodens	
		Kult.	pH	Ca	pH	Mg	pH		Reakt.	pH
12	Kleefeld, Nähe des Dorfes Velen	1	-	-	-	-	-	0	a.	6
13	Acker, im Frühjahr bestellt	1	-	-	-	-	-	0	a.	5,5

Tabelle 10. Finnentrop - Attendorn, 20. 5. 23.

Nr	Herkunft der Probe	Nachw. Kult. 5. Tag	Geimpfte Kulturen				CO ₂	Des Bodens	
			pH der Lös. 5. Tag	pH	Ca	pH		Reakt.	pH
1	Acker	3	-	-	-	-	16	a.?	6,5
2	Böschung Berg-Weg	1	-	-	-	-	0	a.?	6,5
3	Bergabhang, Grasnarbe	0	2	5	3	5,5	101	st.a.	7
4	Roggenfeld	3	-	-	-	-	0	st.a.	6,5
5	Gartenhecke, Manerende	1	-	-	-	-	26	st.a.	7,5
6	Acker, im Frühjahr best.	1	-	-	-	-	0	n.	6
7	Kleefeld	2	-	-	-	-	6	st.a.	6,5
8	Gebüsch	0	0	3,5	4	5,5	0	n.	5-5,5
9	Sumpfiger Grund eines Steinbruches	0	2	4,5	3	5	0	st.a.	7
10	Abhang	0	-	-	-	-	0	n.-a.	5,5
11	Acker im Walde	0	1	4	2	6	0	a.	6,5
12	Acker, soll mit Kalk gedüngt werden	0	0	3,5	4	5	0	a.	6-6,5
13	Höhle Attendorn, Grund über überh. Felsen	0	4	5,5	4	6	30	st.a.	7,5-8
14	Höhle Attendorn, Felsenvorsprung, mit Algen bewachsen	0	4	5,5	4	5,5	242	st.a.	7,5-8
15	Grund des Mühlenkanals (Arm der Bigge)	4	-	-	-	-	2	a.	7-7,5

Tabelle 11. Neuenrade - Balve - Mellen, 21. 5. 23.

1	Geschlagener Eichenwald	0	0	3,5	4	5	0	a.	5
2	Acker, Sommergetreide, 100 m vom Walde	0	0	3,5	3	5	0	n.	5,5-6
3	Kleefeld	0	0	3,5	4	5	1	a.	5,5-6
4	Acker, Sommerfrucht	4	-	-	-	-	1	a.	7
5	Nadelwald	0	0	3	3	4,5	0	st.s.	4
6	Höhle Balve, trockenes Geröll vom Felsenvorsprung	0	4	7,5	4	7,5	133	st.a.	7-7,5
7	Acker	1	-	-	-	-	89	a.	7,5
8	Wiese	0	1	4	4	5,5	0	st.a.	6,5
9	Laubwald	0	0	3,5	3	5,5	1	n.-a.	5
10	Acker	3	-	-	-	-	0	n.?	6
11	Leguminosenfeld	3	-	-	-	-	0	a.	6-6,5

Tabelle 11 cont.

Nr.	Herkunft der Probe	Nachw. Kult. 5. Tag	Geimpfte Kulturen				CO ₂	Des Bodens	
			pH der Lös. 5. Tag					Reakt.	pH
			-	pH	Ca	pH			
12	Laubwald, unter umgebrochener Buche	0	0	3,5	4	5,5	1	s.?	4,5
13	Laubwald, Oberschicht	0	0	3,5	3	5	0	s.	5
14	Laubwald, unter Grasbüschel	0	0	3,5	3	5	1	st.s.	4,5
15	Laubwald, Untergrund	0	0	4	3	5,5	0	s.	4,5
16	Grasfläche vor d. Walde	0	0	3	4	5,5	1	st.a.	5,5
17	Roggenfeld	0	-	-	-	-	1	a.	5,5-6
18	Acker	0	0	4	1	5,5	1	n.	6
19	Gartenhecke	0	0	4	1	5,5	0	n.-s.	5,5
20	Kleefeld	3	-	-	-	-	0	a.?	7
21	Böschung Berg-Weg	0	1	3	4	5	0	n.	5,5
22	Geschlagener Laubwald	0	0	3,5	4	5,5	0	-	4

Tabelle 12, Menden, 21. 5. 23.

1	Garten	4	-	-	-	-	42	a.	
2	Garten	4	-	-	-	-	6	a.	7-7,5
3	Kleiner Bachlauf, Grund	4	-	-	-	-	12	a.	7,5
4	Geschlagener Wald	0	0	3,5	3	5,5	0	s.	7,5
5	Feld, frisch mit Kalk gedüngt	0	2	5,5	3	6	0	a.	4,5-5
6	Wall zwischen Feld und Wiese, Grasnarbe	3	-	-	-	-	0	a.	7,5
7	Wiese	0	1	4	1	5,5	0	a.	6,5
8	Bergabhang, Gebüsch	0	0	3,5	4	5,5	0	s.	5
9	Böschung, Berg-Weg	0	1	3,5	4	5,5	0	s.	5
10	Acker	3	-	-	-	-	1	s.	6,5

Tabelle 12 a.

Nr. von Tab. 12	Herkunft d. Probe	Nachw. Kult. an 5. Tage	Geimpfte Kulturen nach 5 Tagen							CO ₂	Des Bodens		
			-	pH	Ca	pH	Mg	pH	KOH		pH	Reakt.	pH
4	Geschlagener Wald	0	0	3,5	3	5,5	1	4,5	0	3,5	0	s.	4,5-5
5	Feld, frisch gekalkt	0	2	5	3	6	4	7,5	0	5	0	a.	7,5
7	Wiese	0	1	4	1	5,5	3	7,5	0	4	0	a.	6,5
8	Bergabhang	0	0	3,5	4	5,5	1	5	0	3,5	0	s.	5
9	Böschung	0	1	3,5	4	5,5	3	5,5	0	3,5	0	s.	5

Tabelle 13. Lengerich - Leeden, 23. 6. 23.

Nr	Herkunft der Probe	Nachweis- Kultur a. 5. Tage		CO ₂	Farber	Des Bodens	
		Entw.	pH			Reaktion	pH
1	Kamm des Berges, reiner Bestand v. <i>Onobrychis</i>	0	5	183	farblos	st. a.	7,5
2	Kamm des Berges, reiner Bestand v. <i>Glechoma heder.</i>	0	5	15	farblos	st.a.	7,5-8
3	Kamm des Berges, reiner Bestand v. <i>Lotus cornic.</i>	0	5	4	farblos	st.a.	7,5-8
4	Roggenfeld, Unkräuter: <i>Scandix p. Ven.</i> , <i>Arenaria</i> , <i>Stellaria</i>	4	6	235	farblos	st.a.	8
5	Rapsfeld, Unkr.: <i>Scandix</i> , <i>Arenaria</i> , <i>Stellaria</i>	3	6	192	farblos	st.a.	8
6	Feld mit <i>Trifolium</i>	4	5,5	114	farblos	st.a.	7,5
7	Roggenfeld, Unkr.: <i>Alchemilla</i> , <i>Scleranthus</i> , <i>Equisetum</i> , <i>Euphorbia</i> , <i>Matricaria</i> , <i>Veronica arvensis</i>	2	5,5	0	rot	schw.s.	6
8	Sommergetreide, Unkr.: <i>Thlaspi</i> , <i>Capsella</i> , <i>Fumaria</i> , <i>Matricaria</i>	0	5	0	st. rosa	s.	6
9	Wiese: <i>Holcus</i> , <i>Bromus</i> , <i>Cynosurus crist.</i> , <i>Ranunculus</i> , <i>Caltha</i>	0	5	0	st. rosa	schw. s.	6
10	Wegböschung: <i>Erica</i> , <i>Calluna</i> , <i>Genista</i>	0	5	0	farblos	schw.s.	6

ZWEITER TEIL.

Trotz der sehr vielen über *Azotobacter* geschriebenen Arbeiten sind Angaben, die seine Morphologie und Entwicklungsgeschichte betreffen, dürftig und wenig geklärt. Überall treten sie der Physiologie, speziell der Stickstoff-Bindung gegenüber stark in den Hintergrund. In den Arbeiten, welche die Stickstoff-Bindung behandeln, werden gewöhnlich einige Bemerkungen über Grösse, Inhaltkörper oder Pigmentbildung gemacht, aber eine umfassende Darstellung wird nicht gegeben. Was von dem Entdecker BELJERINCK und andern Autoren älterer Arbeiten über *Azotobacter*-Morphologie und -Entwicklungsgeschichte geschrieben ist, setze ich als bekannt voraus und verweise auf die Zusammenstellung bei PRAZMOWSKI (72).

Ich beginne meine Literatur-Besprechung mit einer Arbeit von KRZEMIENIEWSKI (51) aus dem Jahre 1908, weil zwischen ihr und der von PRAZMOWSKI (72) ein gewisser Widerspruch besteht: Nach KRZEMIENIEWSKI haben die jungen *Azotobacter*-Zellen die Gestalt dicker Stäbchen mit abgerundeten Ecken (3 - 4 - 5 - 6 μ , nach BELJERINCK 4,5 - 7 μ). Ihr Inhalt ist nicht deutlich differenziert. Gelegentlich kommen längere Ketten vor, die sich in Einzelzellen auflösen können. Ausserdem enthalten die *Azotobacter*-Kolonien charakteristische Doppelformen, "Diplokokken". Alle Formen sind äusserst variabel. Die die Zellen einschliessenden Gallerthüllen sind auf verschiedenen Nährböden nicht gleichmässig stark ausgebildet. Mehrere Zellen können von einer gemeinsamen Hülle umgeben sein, die sich später durch Zerfliessen auflöst, wodurch die einzelnen Zellen, die ausserdem noch eine eigene Hülle tragen, in Freiheit gesetzt werden. In älteren sich bräunenden Kolonien verdichten sich die Gallerthüllen der Einzelzellen, dadurch werden sie zu Dauerfor-

men. In diesem Zustand bilden sich oft durch Zusammenlagerung die schon von BEIJERINCK beschriebenen *Sarcina*-Formen. Bei einer Weiterentwicklung wird die Hülle von einer stäbchenförmigen Zelle verlassen.

Dieser Vorgang wird von PRAZMOWSKI (72) in einer Arbeit, in der ausser rein morphologischen Fragen auch speziell cytologische behandelt werden, etwas anders dargestellt. Danach tritt die junge Zelle in Kugelgestalt aus der Dauerform aus. In der ausschlüpfenden Zelle liegen peripher angeordnet vier lichtbrechende Körper, die sich schon innerhalb der Gallerthülle in dieser Weise geteilt und angeordnet haben. Während die Zelle in die Länge wächst, teilen sich die 4 Körnchen in 8. Dann wird eine Querwand angelegt in der Weise, dass in jede neue Zelle 4 Körnchen zu liegen kommen, die allmählig zu einem Korn zusammenfliessen. Jetzt beginnt das vegetative Lebensstadium, in dem das stark lichtbrechende Korn vollständig verschwinden kann, sodass die Zellen dann in ihrem Innern keinerlei Differenzierung aufweisen. Bei späteren Teilungen und beim Übergang in die Kokkenform treten die 4 lichtbrechenden Körnchen wieder auf. Diese in gewissen Stadien auch in 1, 2 und 8-Zahl erscheinenden Körnchen fasst PRAZMOWSKI als Kerne oder Kernäquivalente auf. Sie dürften identisch sein mit den von MENCL (64) ein Jahr früher beobachteten und in gleicher Weise gedeuteten Körpern. Ausserdem hatte MENCL an der Aussenseite mancher *Azotobacter*-Zellen Körnchen gefunden, die sich genau verhielten wie die im Innern der Zellen. Eine Erklärung hierfür fand er nicht. PRAZMOWSKI bestätigte diesen Befund MENCLs und versucht gleichzeitig eine Erklärung der immerhin merkwürdigen Erscheinung. Danach bestehen die Körnchen an der Aussenseite aus "Kernsubstanz". Sie sind entwicklungs- und teilungsfähig. PRAZMOWSKI nannte sie Regenerationskörper. Zu den als Kerne aufzufassenden Zellbestandteilen sind m.E. auch die von JONES mit "nuclei of gonidia" bezeichneten Einschlüsse zu rechnen, aber nicht die von ihm "glycogen granules" genannten Einschlüsse und nicht die metachromatischen Körperchen, die FISCHER beschrieben hat. BONAZZI (5) hat nur die letzteren untersucht.

Diese metachromatischen Körper sind identisch mit den von ARTHUR MEYER beschriebenen Volutin (63). PRAZMOWSKI lehnt das Volutin für *Azotobacter* ab. Nach ISSATSCHENKO (38) ist aber zu etwa der gleichen Zeit durch GILGAROWSKI (31) durch eine ganze Reihe von Reaktionen Volutin in *Azotobacter*-Zellen nachgewiesen und dadurch der Befund FISCHERS bestätigt. 1920 hat SCHMIDT (79) nochmals in *Azotobacter*-Zellen nach Volutin gesucht und es gefunden.

Eine Eigenschaft des *Azotobacter*, über die sich in der Literatur die verschiedensten Angaben vorfinden, ist die Pigmentbildung. In einer Reihe von Fällen wurden braune und gelbe Farbtöne beobachtet (3, 67). Kalk und Gips sollen eine ausgesprochene Schwarzfärbung begünstigen (33). Nach KRZEMIENIEWSKI (51) können Reinkulturen weiss bleiben. Eingehend ist die Pigmentbildung von ORELIANSKI und SCWEROWA (68) behandelt. Nach ihnen ist der Grad der Verfärbung eine Eigentümlichkeit der Rasse.

Die Befunde über die Schwärmzustände des *Azotobacter* weichen ebenfalls stark voneinander ab. BEIJERINCK (3) hätte bekanntlich bei der Geisselfärbung grosse Schwierigkeiten gehabt. Er gab eine Geissel als sicher vorhanden an, setzte aber hinzu, dass wahrscheinlich noch andere seitlich angesetzt wären. Die Zahl der sich bewegenden Zellen war immer nur gering. Eine lebhafte Bewegung konnte KRZEMIENIEWSKI (51) beobachten, wenn er junge *Azotobacter*-Zellen in "Kondensationswasser" brachte. Immer wurde darauf hingewiesen, dass nur die jungen *Azotobacter*-Zellen eine Schwärmtätigkeit zeigten. PRAZMOWSKI (72) behauptete, dass der *Azotobacter* sich in allen Entwicklungsstadien bewegen könne, besonders bei Gegenwart natürlicher Humate im Nährsubstrat. Die Zahl der Geisseln wechselt nach ihm von 1 bis 12.

Eingehender als die bisher genannten Arbeiten muss die von LÖHNIS und SMITH "Life history of *Azotobacter*" besprochen werden (62). (Einige Ausdrücke werde ich in der Sprache des Originals gebrauchen, weil durch eine Übersetzung leicht eine Änderung des ursprünglichen Sinnes eintritt.) In dieser Arbeit sind 1. für *Azotobacter* sieben verschiedene Wuchsformen angegeben, dazu kommen 2, als "reproductive organs" sechs weitere Formen und als Übergangs- bzw. Ausgangs- und Kreuzungs-

punkt für verschiedene Zustände 3. das "sympiasm" oder "symplastic stage". Neben dem "Symplasm" sind in physiologischer Hinsicht wichtig 4. die Zell-Verbindungen ("conjunctions").

1. Die Wuchsformen lassen sich in folgender Weise definieren:

a. "Large non sporulating cells": grosse, runde bis stäbchenförmige Zellen, die sich durch polare bzw. peritriche Geisseln bewegen können, die typischen *Azotobacter*-Zellen.

b. "Coccoid forms": runde bis stäbchenförmige Gebilde, die bedeutend kleiner sind als die unter a. und von den normalen Zellen gebildet werden (the typical large cells are inclined to change to — coccoids by budding out of the large cells). Sie vermehren sich durch Sprossung und Teilung und sind immer unbeweglich. Früher oder später wachsen sie zu normalen Stäbchen aus.

c. "Dwarfed cell type": "smallest specks of mostly nuclear material". Sie werden gebildet von den grossen Zellen durch Sprossung oder körnigen Zerfall (so-called granular decomposition). Die Weiter-Entwicklung geschieht durch Vereinigung "in slimy threads", oder die Zellen strecken sich zu feinen Stäbchen.

d. "Fungoid cell type": stäbchenförmige, oft verzweigte Zellen, die aus einer nicht färbbaren, schleimigen Masse bestehen, in die stark färbbare Körner aus Kernsubstanz eingelagert sind. Sie gehen in die unter 2 und 3 beschriebenen Formen über oder entwickeln sich zu Zellen, die ganz den Mycobakterien gleichen. Es können aber auch Stäbchen von verschiedener Grösse von ihnen gebildet werden und ebenso die normalen, grossen, runden bis stäbchenförmigen Zellen.

e. "Small non sporulating rods": GRAM-negative, unbewegliche Stäbchen (Ausnahme *A. agile* und *A. vitreum* mit meist 3 polaren Geisseln), gewöhnlich aus dem "fungoid type" gebildet. Den "fungoid cells" gegenüber treten sie an Zahl zurück. In diese und in grosse runde Zellen können sie übergehen.

f. "Small sporulating rods": schlanke, GRAM-negative Stäbchen mit grossen polständigen Sporen, die in den "fungoid type" übergehen können.

g. "Large sporulating cells": peritrich begeisselte, GRAM-positive, sporogene Zellen, die oft Fäden bilden. Diese Fäden zerfallen in kurze, ovale, GRAM-negative Zellen.

2. Ausser diesen Wuchsformen hat LÖHNIS folgende Arten von Regenerationszellen beschrieben:

a. "Gonidia": "Kernsubstanz" mit sehr wenig andern Zellelementen.

b. "Regenerative bodies": "Kernsubstanz" mit mehr Reservestoffen.

c. "Arthrospores": "regenerative bodies" mit ± dauerhafter Membran.

d. "Microcysts": die ganze *Azotobacter*-Zelle hat kugelige oder ovale Gestalt angenommen und ihre Membran verdickt.

e. "Endospores": der grösste Teil des Zell-Inhaltes hat sich zusammengesogen und mit einer festen Membran umgeben.

f. "Exospores": die wachsende Spore "buds out of the mother cell".

"Gonidia" und "regenerative bodies" teilen sich und bilden "dwarfed" und "coccoid forms", zum Teil unempfindlich gegen Hitze bis zu 95° C. Sie können ihrerseits aber noch Gonidien und "regenerative bodies" erzeugen, sonst wachsen die Sporen zu Stäbchen oder langrunden Zellen aus. Gonidien werden von allen Wuchsformen gebildet. Sie können zu "regenerative bodies" und Arthrosporen auswachsen, also sind diese für alle Wuchsformen erreichbar, wenigstens auf dem Umwege über die Gonidien, wenn nicht direkt. Die Keimzellen der Mikrozysten sind rund oder stäbchenförmig (vergl. KRZEMIENIEWSKI, 51, und PRAZMOWSKI, 72).

3. Ein Stadium, durch das alle Formen (Wuchs- und Regenerationsformen) ineinander übergehen können, ist das "syplasm". Es wird gebildet von verschiedenen Zellen, die ihre Zellhaut auflösen oder abwerfen und dann zu einer Plasma-Masse verschmelzen. Aus dem Symplasma heraus können alle Formen (einige auf Umwegen) sich wieder entwickeln. Diese Weiter-Entwicklung braucht aber nicht sogleich einzusetzen, sondern es kann erst eine Ruhepause eintreten.

4. Wenn im Symplasma ein Mischen vieler Protoplasten eintrat, so können durch die "conjunctions" einzelne Zellen miteinander in Verbindung treten. Das geschieht in der Weise, dass zwischen 2 oder mehr Zellen an beliebiger Stelle ein Plasma-

Strang als Verbindungsbrücke gebildet wird. Die "conjunctions" sind regelmässig zu finden in 2 bis 4 Tage alten Kulturen, in älteren wenn Zellen aus dem Symplasma neu hervorgegangen sind. Sie haben grosse Bedeutung für die Bildung der Gonidien, "regenerative bodies" und Endosporen, die nach den Verbindungen in erhöhter Masse einsetzt.

Die von PRAZMOWSKI beschriebenen Regenerationsformen zählt LÖHNIS zu den "regenerative bodies", zum Teil müssen sie aber sicher zu den Gonidien und Arthrosporen gestellt werden. Die von MENCL (64) und PRAZMOWSKI (72) in den *Azotobacter*-Zellen gefundenen Sporen sind nach der oben gegebenen Definition Endosporen gewesen. MULVANIA (67) gab an, dass die *Azotobacter*-Sporen eine Hitze von 95° C 4 bis 5 Minuten ertragen können. Das stimmt mit den Befunden von LÖHNIS überein.

JONES (41) konnte dagegen niemals hitzebeständige Formen von *Azotobacter* nachweisen. Wenn sich aus den auf 65° erhitzten Kulturen etwas entwickelte, so erwies es sich später als Verunreinigung. "Regenerative bodies" von verschiedener Grösse wurden von JONES beobachtet, ebenso dickwandige Dauerformen, "arthrospores" aus denen dicke Stäbchen ausschlüpfen. Die von LÖHNIS 1916 gegebene Definition der "arthrospores" gilt später (1923) für die "microcysts". JONES bezieht sich auf die Arbeit von 1916. Daraus erklärt es sich, dass seine Arthrosporen Mikrocyten sind. Weiterhin beschrieb JONES Involutionsformen von wechselnder Grösse u. Gestalt, die sich in geringerem Masse durch Sprossung vermehrten. Vielleicht handelt es sich hierbei um die Arthrosporen und "large sporulating cells" von LÖHNIS. Das Symplasma wurde von JONES bestätigt, die "conjunctions" dagegen nicht. Er hielt sie für unvollständige Teilungen.

Ein Teil der von LÖHNIS und SMITH beschriebenen Befunde deckt sich also mit den von MENCL, PRAZMOWSKI und JONES gemachten Angaben. Ob für den *Azotobacter* wirklich ein derartiger Formenreichtum besteht, dürfte zum mindesten fraglich erscheinen. Man kann auch geteilter Meinung darüber sein, ob die verschiedenen Gruppen zu Recht bestehen. Scharfe Grenzen lassen sich in den meisten Fällen nicht ziehen. Einzelne Formen gleichen einander derartig, dass eine Unterscheidung schlechterdings unmöglich ist. (Gonidia = nuclear material accompanied by very little other cell elements. Dwarfed cells = smallest specks of mostly nuclear material.) Eine wie grosse Bedeutung aber eine etwaige Bestätigung der Entdeckungen von LÖHNIS und SMITH haben könnte, ist daraus ersichtlich, dass ein bedeutender Bakteriologe (LIESKE, Handbuch der Pflanzenanatomie VI, p. 60) darüber sagt: "Es besteht kaum ein Zweifel, dass diese Untersuchungen die gesamte Bakteriologie auf eine neue Grundlage stellen können". Einer Nachprüfung der Befunde steht LIESKE sehr zuversichtlich gegenüber. Weitere eingehende Untersuchungen müssen zeigen, ob diese Zuversicht gerechtfertigt ist.

In allen Arbeiten sind als kleinste Wuchsformen die Gonidien oder gleichwertige Gebilde angegeben, aber ohne irgend welche Grenzwerte. Nach JONES (41) gehen die Gonidien nicht durch BERKEFELD-Filter. LÖHNIS (61) hat 24 Tage alte *Azotobacter*-Kulturen (Mannit-Nitrat-Lösung) durch CHAMBERLAND-Kerzen filtriert. Unter dem Mikroskop waren keine Formen zu sehen; das Dunkelfeld zeigte Gonidien. MIEHE (65 a) beschrieb 1923 folgende Versuche: *Azotobacter* - *Amylobacter*-Rohkulturen trieb er durch Membranfilter, die keine sichtbaren Zellen durchliessen. Von dem Filtrat wurden 18 Röhren und 10 Gärkolben angesetzt. Es blieben klar 4 Röhren und 2 Kolben. In den übrigen Fällen entwickelten sich allmählig normale *Azotobacter*- und *Amylobacter*-Zellen. MIEHE schliesst daraus, dass beide ultramikroskopische Entwicklungsformen haben müssen. Ein bestimmtes Urteil lässt sich darüber natürlich noch nicht abgeben.

Bei meinen Untersuchungen über Morphologie und Entwicklungsgeschichte bin ich von Rohkulturen ausgegangen (2% Mannit, 0,02% K₂HPO₄, 10% Boden), die mit Erde aus dem bot. Garten zu Münster angesetzt waren. Bei 30 Grad aufgehoben, zeigten diese Kolben nach 24 Stunden eine Trübung, aus der heraus sich im weiteren 24 St. eine dünne Oberflächen-Haut bildete. Trat keine Gärung ein, so wurde diese Haut dick, derb und runzelig. Ihre Farbe war grauweiss, später gelb, braun bis in einzelnen Fällen schwarz. Durch frühzeitige Gasbildung wurde das Entstehen einer ge-

schlossenen Decke mehr oder weniger unterbunden. Es zeigten sich dann auf den Gasblasen Fetzen, die sich wie eine Decke verhielten. Durch eine spätere Gasbildung hob sich die Haut zum Teil oder ganz von der Flüssigkeit ab.

Die Trübung der Kulturflüssigkeit war grösstenteils bedingt durch langrunde Zellen, die im Gegensatz zu den Angaben in der Literatur keine oder in Einzelfällen eine schwache Eigenbewegung zeigten. Die Haut enthielt mehr kugelige Zellen und Doppelformen.

Als regelmässigen Begleiter habe ich in allen Rohkulturen den *Bacillus Amylobacter* gefunden. Von seinem Auftreten hängt der Grad der Gärung zum grossen Teil ab. Des öfteren zeigte sich *Bact. radiobacter*. Die übrigen Begleiter waren stark wechselnd und wenig zahlreich bis auf Amöben, die bei der *Azotobacter*-Kost ausgezeichnet gediehen. Häufig war ein kleines Stäbchen, das dem in der Literatur oft erwähnten, aber nie genau untersuchten (*Bac. molestus* 87, 22, 51) gleich, und das in einzelnen Fällen ausserordentlich schwer zu beseitigen war.

Das Isolieren des *Azotobacter* geschah durch Abstrich auf Mannit-Agarplatten oder durch Plattengliessen. Die letztere Methode führte gewöhnlich etwas schneller zum Ziel. Das Abimpfen von einzelliegenden Kolonien wurde nach 48 Stunden, wenn möglich schon früher, unter dem Binokular vorgenommen. Platinnadeln waren für die noch sehr kleinen Kolonien zu dick. Frisch ausgezogene Glaskapillaren von etwa 1 cm Länge unter einem spitzen Winkel an die Platinnadel angeschmolzen erwiesen sich als brauchbar.

Die so gewonnenen Reinkulturen wuchsen gut auf Mannit-Agar (Aq. dest. 100, Agar 2, Mannit 2, K_2HPO_4 0,02), ebenso auf Mannit-Agar + 0,5 $CaCO_3$ und auf Agar nach ASHBY (Aq. dest. 100, Mannit 1,2, KH_2PO_4 0,02, $MgSO_4$ 0,02, NaCl 0,02, $CaSO_4$ 0,01, $CaCO_3$ 0,51). Die Kolonien hatten das in der Literatur vielfach beschriebene Aussehen. Eine Verfärbung trat nur bis zu einem hellbraunen Ton ein.

Die einzelnen Zellen waren im Anfang stäbchenförmig und gingen später in die Kokkenform über. Die Beschreibung des *Azotobacter chroococcum* Beij. passte am besten auf sie. Ihr Verhalten Farbstoffen und Reagentien gegenüber deckte sich mit den Literatur-Angaben. Volutin liess sich regelmässig nach ARTHUR MEYER nachweisen, nur nicht in jungen vegetativen Stäbchen, die nicht differenzierten Inhalt zeigten.

Um zum Vergleich einen Stamm aus andern Boden zu haben, stellte ich aus der Rohkultur Juist 3 (oben, Tabelle 1) nach dem gleichen Verfahren wie beim Stamm Münster Reinkulturen her - Stamm Juist. Morphologisch waren beide Stämme gleich, ebenfalls in ihrer geringen Schwärmtätigkeit. Ein Unterschied zeigte sich in der Pigmentbildung. Während Münster nur hellbraun wurde, zeigte Juist allgemein einen dunkleren Ton, der in einem Teil der Kulturen fast schwarz wurde.

Ein Einfluss von Kalk auf die Pigmentbildung hat sich in meinen Kulturen nicht gezeigt. Die dunkleren Kolonien von dem Stamme Juist bildeten ihr Pigment in gleicher Stärke, ob sie auf $CaCO_3$ -haltigem oder -freiem Ager oder Fliesspapierstreifen in Lösungen wuchsen. Das gilt auch für die später gezogenen Einzellkulturen.

In einer 6 Tage alten Reinkultur fand ich in Jodpräparaten kugelige Zellen, die typische Glycogen-Reaktion gaben, und andere kugelige bis lang-runde Zellen, die sich nur hell gelb färbten. Einzelne dieser hellgelben Zellen trugen stäbchenförmige Ansätze, deren Länge etwa dem Zell-Durchmesser gleichkam. Die Breite war so, dass der ganze Ansatz die Gestalt eines schlanken Bakterien-Stäbchens hatte. Dass es sich nicht um Kunstprodukte durch Einfluss des Jod-Jodkaliums handelte, bewiesen gefärbte und Wasserpräparate, die die gleichen Bilder zeigten. Um Plasmolyse kann es sich nicht handeln. Ausgetretenes Plasma würde nie diese regelmässig stäbchenförmige Gestalt angenommen haben. Beschädigt waren die Zellen nicht. Der Druck des Deckglases wurde durch untergelegte Glas-Kapillaren ausgeschaltet. Woher kamen diese Ansätze und was hatten sie für eine Bedeutung?

Die Kulturen könnten verunreinigt sein durch Stäbchen, die etwa als Parasiten an den *Azotobacter*-Zellen sassen. Bei einem lockeren Parasitismus wären wahrscheinlich auch freie Stäbchen aufgetreten, bei sehr engem hätten sich immerhin 2 Protoplasten nachweisen lassen müssen. Es konnte sich aber auch um pleomorphistische Erscheinungen handeln, wie sie LÖHNIS beschrieben hat. Dann wären freie Stäb-

chen eine andere Wuchsform des *Azotobacter* gewesen und Stäbchen in der Gallert-hülle solche, die sich noch nicht von der Mutterzelle gelöst oder entfernt hatten. Wohl zeigten Tusche-Präparate, dass die Zellen und die Stäbchen gleichmässig von der Gallert-hülle umgeben waren, aber eine Erklärung ergab sich daraus nicht. Auffällig war es auch, dass nur der Stamm Münster diese Gebilde zeigte.

Um etwaige Verunreinigungen auszuschliessen, ging ich bei beiden Stämmen zu Ein-Zellkulturen über. Das Tuscheverfahren von BURRI (9) erwies sich als nicht sehr günstig. Die Kultur gelang, als ich mit den erwähnten Kapillaren Abstriche auf Agarplatten machte und auf diese fein eingeritzten Striche Tuschetropfen (1:10) setzte. In diesen Tropfen, die nicht grösser als das Gesichtsfeld im Mikroskop sein sollen, wurden einzelne Zellen an den Rand getrieben, wo sie und ihre hier glatte Umgebung mikroskopisch geprüft werden konnten. Verschiedenen Tropfen wurden mit den in ihnen als kugelige Gebilde liegenden Zellen gezeichnet und markiert. Am nächsten Tage konnte ich die kleinen Kolonien, die aus den einzelnen Zellen entstanden waren, wieder aufsuchen und davon unter dem Mikroskop mit Kapillaren abimpfen. Auf diese Weise wurden zunächst je 3 Stämme gezogen. Die drei isolierten Zellen des Stammes Münster hatten keine Ansätze getragen. Für die späteren Untersuchungen kam von den Stämmen, die sich zunächst in keiner Weise unterschieden, nur je einer in Frage.

Am 10. Tage fand ich in einer Ein-Zellkultur des Stammes Münster die ersten stabchenförmigen Ansätze, nach und nach in allen vorhandenen Kulturen. Bei der sehr grossen Sorgfalt, mit der ich diese Kulturen behandelt habe, ist das ein vollkommener Beweis für ihre Reinheit. Selbständige Stäbchen enthielt nach einigen Wochen eine Kultur. Im Hinblick auf die grosse Zahl der im Verlauf der Arbeit untersuchten Kulturen ohne freie Stäbchen ist mit Sicherheit anzunehmen, dass in diesem Fall doch eine Verunreinigung eingetreten war.

Die Ansätze waren von den *Azotobacter*-Zellen gebildet. Farbstoffen gegenüber verhielten sie sich genau wie die Zellen selbst. Ihr Inhalt war homogen, zeigte aber auch manchmal im vorderen Stück eine oder zwei stärker lichtbrechende Stellen. Eine aktive Bewegung der Zellen war in keinem Falle zu beobachten. Immer trugen die einzelnen Zellen nur einen Fortsatz. Eine Doppelform jedoch, deren eine Seite eingeschnürt war, trug in der Mitte der andern, geraden Seite 2 Stäbchen mit je zwei lichtbrechenden Einschlüssen. Die Spitzen der Ansätze waren etwas auseinander gebogen. In der Regel waren die Ansätze gerade.

Um über das Schicksal dieser Gebilde Aufschluss zu bekommen, stellte ich Dauer-Beobachtungen an. Tropfenkulturen waren nicht zu verwenden, weil darin die einzelnen Zellen ihre Lage durch Erschütterung etc. änderten. Agar-Tropfen wurden durch das Beimpfen leicht beschädigt, ausserdem störte ihre ungleichmässige Dicke sehr. Gute Erfolge zeigten sich, als auf mit wenig Bakterien-Masse bestrichene Deckgläser ein dünnes, gleichmässig dickes Stück Agar-Platte gelegt war, und die so vorbereiteten Deckgläser auf Gaskammern gekittet wurden, die auf Objektträgern befestigt waren. Die seitlichen Röhren der Gaskammern konnten durch Wassertropfen verschlossen werden. Auf den Boden der Kammer kam auch ein Tropfen Wasser. Ein Austrocknen des Agars trat dann nicht ein. In diesen Kulturen wuchsen die normalen Zellen sehr gut. Die Zellen mit Ansätzen änderten sich aber auch nicht in einem Fall. Es war bei Beobachtungen bis zu 4 Tagen (die Kulturen standen bei 30 Grad) weder eine Grössen- noch eine Gestaltsänderung noch ein Ablösen zu beobachten. Nach diesen Feststellungen mussten die Untersuchungen der Ansätze aufgegeben werden. Über die Natur der Stäbchen lässt sich demnach nichts aussagen.

Vielleicht jedoch besteht eine Beziehung zwischen den stabchentragenden Zellen und den bei LÖWENIS und SMITH angegebenen Verbindungs-Stadien (51, 61, 62). Mit absoluter Sicherheit konnte ich Verbindungen nur einigemal in älteren Kulturen beobachten. Es waren in diesen Fällen je 2 Zellen seitlich durch eine schmale Plasma-Brücke verbunden (keine Schleimfäden!). Die Brücken waren in Wasserpräparaten vollkommen homogen. Bei Lebendfärbung zeigten sich keine Einschlüsse. Wenn zwei oder mehr Zellen an den Polen durch Fortsätze verbunden sind, so können das Verbindungen, aber auch unvollständige Teilungen sein (72). Es lässt

sich da nur eine bestimmte Entscheidung aussprechen, wenn die Entstehung des Zustandes beobachtet ist, es sei denn, dass etwa durch Färbung besondere Einschlüsse oder Veränderungen festgestellt würden. Aus diesem Grunde habe ich in erster Linie nach seitlichen Verbindungen gesucht. Besteht die Verbindung zwischen Pol der einen und Breitseite der andern Zelle, so kann es sich nie um Teilung, sondern nur um später hergestellte Verbindung der Zellen handeln (61, P.A.). Auch derartige Fälle habe ich gefunden, aber selten. Damit ist der Befund von LÖHNIS und SMITH über "conjunctions" bestätigt. Ich habe aber keine Anhaltspunkte gefunden, die für einen Sexualakt sprächen.

Vielleicht finden sich Brückenstadien häufiger, wenn die Zellen sich lebhaft bewegen oder bewegt haben. Gewöhnlich waren die Zellen beider Stämme unbeweglich. Hin und wieder fanden sich in einzelnen Kulturen Zellen, die eine schwache Eigenbewegung zeigten, aber zu einer befriedigenden Geisselfärbung war das Material nie ausreichend, auch nicht aus Flüssigkeits-Kulturen, Kolben- oder Reagenzgläsern mit Fliesspapierstreifen. Um die Zellen auf ihre Bewegungsfähigkeit zu prüfen, stellte ich in Kolben mit Nährlösung Glasröhren, die einen beimpften Fliesspapierstreifen enthielten. War auf dem Streifen eine hinreichende Bakterienmasse gewachsen, so wurde in die Glasröhre ein mit Pyrogallol getränkter Wattebausch eingeführt, einige Tropfen KOH zugegeben und darauf luftdicht verschlossen. Wegen des jetzt eintretenden Sauerstoff-Mangels wurden die Lebensbedingungen für den *Azotobacter* in der Röhre ungünstig, während sie aussen in der Nährlösung nicht geändert waren. In der Flüssigkeit musste von aussen nach dem Innern der Röhre ein Sauerstoff-Abfall bestehen. Ausen wirkte der Sauerstoff der Luft, während innen der Partialdruck nahezu 0 war. Sich diesen Verhältnissen fügend, wanderten nach einiger Zeit die *Azotobacter*-Zellen, wie zu erwarten war, aus dem Rohr in die äussere Nährlösung. Aber auch bei dieser Gelegenheit war es unmöglich, aus den Kolben lebhafte Schwärmer zu gewinnen.

Nach diesen Befunden war es um so überraschender, dass in einer nach oben angegebener Weise für Dauer-Beobachtungen an Involutionsformen vorbereiteten Gaskammer nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 30 Grad eine äusserst rege Schwärmtätigkeit eingesetzt hatte. Sämtliche Involutionsformen, die aus einer verhältnismässig jungen Kultur stammten, waren verschwunden. Aus ihnen mussten die Schwärmer hervorgegangen sein, denn die normalen, kugeligen Zellen lagen noch im Präparat. Durch diesen Fall war auch die Weiterentwicklung (wenigstens die Möglichkeit) nicht zu alter Involutionsformen erwiesen. Ob es sich dabei um Arthrosporen oder ähnliche Dinge gehandelt hat, kann ich nicht entscheiden, weil der Versuch nicht wieder gelang. In feuchten Kammern liessen sich die normalen Zellen auch nicht dadurch zum Schwärmen bringen, dass auf den Boden und in die Seitenröhren der Gaskammern statt des Wassers Phydrol in verschiedenen Konzentrationen gebracht wurde.

In den Kammern mit Agarplatten bildeten beide Stämme gelegentlich Zellen aus, deren Durchmesser 2,5 mal so gross war wie der normale. Diese Riesenzellen hatten fast immer eine derbe Membran, der das Plasma anlag, während das Zell-Innere von einer oder mehreren grossen Vakuolen eingenommen wurde. Weiterhin hatten beide Stämme die Eigenschaft gemeinsam, Regenerationsformen zu bilden (72, 52), in der Weise, dass stark lichtbrechende, meistens winzig kleine Körperchen aus dem Innern der Zellen nach aussen wanderten. Sie wurden nicht an der Aussenseite gebildet. Der Durchtritt durch die Zellwand konnte bei Dauer-Beobachtung verfolgt werden. Die Mutterzelle blieb dabei durchaus erhalten und lebensfähig. Die aus absterbenden Zellen austretenden Körper waren gewöhnlich grösser. Oft, besonders beim Stamm Juist, löste sich die Wand der Mutterzelle auf, und es lag dann in mehr oder weniger regelmässiger Anordnung ein ganzer Komplex von diesen Körpern im Präparat (62, Pl. 2). Beobachtet habe ich die Weiter-Entwicklung dieser Regenerationskörper nicht, aber die verschiedenen Präparate waren ausreichend für eine Bestätigung der hierüber von PRAZMOWSKI (72) und LÖHNIS (62) gemachten Angaben. Ausser diesen Gonidien bzw. "regenerative bodies" habe ich von den "reproductive organs" nur "microcysts" gefunden. Die aus diesen auskeimenden Zellen waren kugelig, nicht stäbchenförmig.

Um die von LÖHNIS beschriebenen Wuchsformen zu ziehen, wurden Kulturen von beiden Stämmen angesetzt, ERLÉNMEYER-Kolben mit den oben angegebenen Nährlösungen, in die ein Fließpapier-Streifen tauchte, der über einen Glasbügel gehängt war, oder Reagenzgläser mit Lösungen und eingelegten Fließpapier-Streifen. Endlich kamen noch (nach 62, p. 403) Extrakte von Böden zur Anwendung, in denen in wenigen Wochen alle Entwicklungs-Stadien mit grosser Regelmässigkeit zu beobachten sein sollen. (Ob LÖHNIS und SMITH die Böden mit oder ohne Mannit-Lösung erhitzt haben, ist aus den Angaben nicht ersichtlich.)

Boden 1: Botan. Garten, pH 7; 5 g eine Stunde bei 110 Grad getrocknet hatten einen Gewichtsverlust von 0,680 g.

Boden 2: Kalkhaltiger Lehm, pH 8; 5 g getrocknet wie bei 1 hatten einen Gewichtsverlust von 1,100g.

Von diesen Böden wurden Portionen zu 5 g in natürlich feuchtem Zustand in Reagenzgläser gefüllt und bei 1,8 Atm. 45 Minuten im Autoklaven erhitzt. Am nächsten Tage wurden 5 ccm einer 0,5% Mannitlösung zugegeben und die Gläser wieder auf 1,8 Atm. gebracht. Am dritten Tage wurde nochmal 20 Minuten im strömenden Dampf sterilisiert. Boden 1 füllte den unteren Teil der Gläser gleichmässig aus, darüber stand eine 1 - 1,5 cm hohe Flüssigkeitsschicht. Boden 2 war grobkörnig, füllte die Gläser daher nicht gleichmässig und ragte mit den obersten Stücken aus der Flüssigkeit heraus. Geimpft wurden von beiden Serien je 4 Röhren mit dem Stamm Münster und je 4 mit dem Stamm Juist. Der Rest (je 4 Röhren) blieb zur Kontrolle steril. Fünf Tage wurden die Kulturen im Brutschrank bei 30 Grad gehalten, dann bei Zimmertemperatur. Nach 14 Tagen kam die Hälfte jedoch wieder in den Brutschrank zurück.

Vier Wochen hindurch habe ich die Kulturen untersucht. Der *Azotobacter* wuchs gut in ihnen. Über Boden 1 bildete sich ein weisser Schleier, der ziemlich schnell an Stärke zunahm. Die Flüssigkeit trug ein feines Oberflächen-Häutchen. Um die oberen Brocken des Bodens 2 legte sich etwas später als bei 1 ein Schleier. Ein Oberflächen-Häutchen kam kaum zur Ausbildung. Morphologisch waren alle Kulturen gleich.

Von den 7 Wuchsformen waren in den Kulturen nachzuweisen: 1. "large non-sporulating cells"; 2. "coccoid forms"; 3. "dwarfed cells". - In der Literatur-Besprechung habe ich schon darauf hingewiesen, dass "dwarfed cells" und "gonidia" nicht zu unterscheiden sind, wenigstens nicht, wenn es sich um einzelne Zellen handelt. Den "fungoid cell type", die "small non sporulating rods" und die "large sporulating cells" (nicht zu verwechseln mit den "microcysts") habe ich in keinem Fall, weder in Bodenextrakt-Kulturen noch in Nährlösungen oder auf Agar nachweisen können.

Ebenso wenig ist es mir gelungen, das "sympiasm" zu finden. Wohl kommen in den Kulturen und Präparaten (Dauer-Beobachtung) Zellkomplexe vor, die zerfielen und den Eindruck einer verschmolzenen Masse machten, in der Gonidien lagen oder sich entwickelten. Diese Zellen waren aber tot, und die Gonidien waren schon vor der Auflösung der Zellen gebildet. Von einem Mischen der Protoplasten und darauf neu einsetzender Zellbildung konnte unter keinen Umständen die Rede sein.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Vorkommen und Verbreitung des *Azotobacter*.

Das Vorkommen des *Azotobacter* ist im wesentlichen abhängig von der Durchlüftung und Reaktion des Bodens,

Eine Zusammenstellung aller Böden, deren pH nach WHERRY bestimmt wurde, ergibt, dass 54% *Azotobacter* enthielten. Der Grenzwert für sein Vorkommen lag auf der sauren Seite bei pH 5, auf der alkalischen hin ich zu keinem Grenzwert gekommen, weil mir Böden mit einer Reaktion über pH 8 nicht zugänglich waren.

Die Äcker allein zusammengefasst, enthielten zu 74% *Azotobacter*. Diejenigen ohne *Azotobacter* lagen alle unter pH 5,5. Der Unterschied im *Azotobacter*-Gehalt zwischen den Böden überhaupt (54%) und den Ackerböden (74%) liegt darin begrün-

det, dass bei den Böden einerseits solche untersucht sind, die ausgesprochen saure Reaktion hatten (Moorböden), andererseits unbearbeitete Böden, deren Reaktion für das Gedeihen des *Azotobacter* ausgereicht hätte, denen aber die Durchlüftung fehlte. Bei den Ackerböden findet eine Durchlüftung durch die Bearbeitung statt, und eine saure Reaktion kommt nur in Ausnahme-Fällen vor.

In allen Proben von Wegen war *Azotobacter* zu finden (im Gegensatz zu KEDING). Es ist unter diesen Umständen eine Infektion neu angelegter Äcker leicht möglich. Alle Gewässer enthielten ebenfalls *Azotobacter*. Eine Ausnahme bildete ein Moorgraben, dessen pH 4,5 betrug.

Sämtliche Bodenproben der Inseln Juist und Helgoland enthielten *Azotobacter*. Das Wasser der Nordsee, an der Nordküste von Juist bei kommender Flut einige Meter vom Strande entnommen, ebenfalls.

2. Morphologie und Entwicklungsgeschichte.

Das Versuchsmaterial lieferten zwei Stämme Münster und Juist, die als Zellkulturen gezogen waren. Morphologisch unterschieden sich die Stämme nicht.

Die Pigmentbildung war beim Stamm Juist stärker als bei Münster. Eine Beziehung zwischen Kalkgehalt des Nährbodens und Pigmentbildung bestand in beiden Fällen nicht.

Volutin war regelmässig in nicht zu jungen Zellen nachzuweisen (Gegensatz zu BRAZMOWSKI).

In den Kulturen des Stammes Münster fanden sich glycogen-freie Zellen, die stäbchenförmige Ansätze trugen. Farbstoffen und Reagentien gegenüber verhielten sich Ansätze und Zellen gleich. Eine Weiterentwicklung der Gebilde war nicht zu beobachten. Ihre Bedeutung ist daher noch unbestimmt.

In der Arbeit von LÖHNIS und SMITH sind für *Azotobacter* folgende Formen angegeben:

A. Wuchsformen.

1. Large non sporulating cells: typische *Azotobacter*-Zellen.
2. Coccoid forms: rundliche Zellen, bedeutend kleiner als die unter 1.
3. Dwarfed cell type: Zwergformen, zum grössten Teil aus Kernsubstanz besteh.
4. Fungoid cell type: stäbchenförmige, oft verzweigte Zellen.
5. Small non sporulating rods: GRAM-negative, unbewegliche Stäbchen.
6. Small sporulating rods: GRAM-negative Stäbchen mit polständigen Sporen.
7. Large sporulating cells: GRAM-positive Stäbchen mit Sporen.

B. Regenerationsformen.

1. Conidia: Kernsubstanz mit wenig Zell-Elementen.
2. Regenerative bodies: Kernsubstanz mit mehr Reservestoffen.
3. Arthrospores: regenerative bodies mit 1 dauerhafter Membran.
4. Microcysts: normale Zellen mit verdickter Membran.
5. Endospores: Sporen innerhalb der Mutterzelle gewachsen.
6. Exospores: Sporen ausserhalb der Mutterzelle gewachsen.

C. Symplasma und conjunction.

Das Symplasma wird gebildet durch ein Verschmelzen verschiedener Protoplasten. Aus ihnen können alle Formen (einige auf indirektem Wege) hervorgehen. Die conjunctions stellen eine Verbindung von 2 (oder mehr) Zellen durch eine Plasma-Brücke dar. Nach dem Auftreten der Verbindungen werden Regenerationsformen gebildet.

Bestätigen kann ich von den Wuchsformen: 1. large non sporulating cells; 2. coccoid forms; 3. dwarfed cell type. - Von den Regenerationsformen: 1. gonidia; 2. regenerative bodies; 3. microcysts. - Die aus den Mikrozysten auskeimenden Zellen hatten Kugelgestalt.

Verbindungsstadien waren vorhanden. Über ihre Bedeutung liess sich jedoch nichts feststellen.

Nicht bestätigen konnte ich den fungoid cell type, die small non sporulating rods, die large sporulating rods und die arthrospores, endospores und exospores.

Das Symplasma war ebenfalls nicht nachzuweisen.

Es ergibt sich demnach aus meinen Befunden, dass der *Azotobacter* in bezug auf Zellgrösse und Gestalt ziemlich stark wechseln kann. Ein derartiges Formveränderungs-Vermögen, wie es von LÖNNIS und SMITH angegeben wird, kann ich aber dem *Azotobacter* nicht zuschreiben.

Die Arbeit wurde im Botanischen Institut der Universität Münster unter Leitung von Herrn Prof. Dr. BENECKE ausgeführt. Zu wie grossem Danke ich meinem hochverehrten Lehrer verpflichtet bin, dessen werde ich mir immer bewusst bleiben.

LITERATUR.

- (1) ARND, Beiträge zur Kenntnis der Mikrobiologie der Hochmoore, in Centralbl. Bakt. 2. XXXV (1916) p. 554. - (2) ARRHENIUS, Bodenreaktion und Pflanzenleben. Leipzig 1922. - (3) BELJERINCK, Über oligonitrophile Organismen, Centralbl. Bakt. 2. VII (1901) p. 561. - (4) BENECKE und KEUTZNER, Über stickstoffbindende Bakterien aus der Ostsee, in Ber. D. bot. Ges. XXI (1903) p. 346. - (5) BONAZZI, Cytological Studies of *Azotobacter chroococcus*, in Journ. Agric. Res. V (1915) p. 225. - (6) BOTTOMLEY, The association of certain endophytic Cyanophyceae and nitrogen fix. Bact. in Rep. Brit. Assoc. Adv. Sc. Sheffield 1911, p. 786. - (7) BOTTOMLEY, Über den Einfluss stickstoffbindender Bakterien auf das Wachstum von Pflanzen, welche nicht zu den Leguminosen gehören, in Centralbl. Bakt. XXV (1910) p. 271. - (8) BURGESS, *Azotobacter* in Hawaiian Soils, in Science V.2. (1916). - (9) BURRI, Eine einfache Methode zur Reinzucht von Bakterien unter mikrosk. Kontrolle des Ausgangs v. d. einzeln. Zelle, in Centralbl. Bakt. 2, XX (1907) p. 95. - (10) CHRISTENSEN, Über das Vorkommen u. d. Verbr. d. *Azotobacter chroococcum* in verschiedenen Böden, in Centralbl. Bakt. 2. XVII (1907) p. 109, 161, 378. - (11) CHRISTENSEN und LARSEN, Untersuchungen über Meth, zur Bestimmung des Kalkbedürfnisses, in Centralbl. Bakt. 2, XXIX (1911) p. 355. - (12) CHRISTENSEN, Mikrobiol. Unters. v. Hoch- und Niedermoorortorf, in Centralbl. Bakt. 2. XXXVII (1913) p. 414. - (13) CHRISTENSEN, Studien über d. Einfluss d. Bodenbeschaffenheit a. d. Bakterienleben u. d. Stoffumsetzung im Erdboden, in Centralbl. Bakt. 2. XXXXIII (1915) p. 1. - (14) CHRISTENSEN, Experiments in Methods for Determining the Reaction of Soils, in Soil Science V (1917) p. 4. - (15) CHRISTENSEN, Untersuchungen über d. Kalkbedürfnis des Bodens, in Zeitschr. Pflanzenern. u. Düng. I (1922) p. 5. - (16) COMBER, A qualitative Test for sour Soils, in Journ. Agric. Sc. 1920. - (17) DZIERZBICKI, Beiträge zur Bodenbakteriologie, in Anz. Akad. Wiss. Krakau 1910, p. 21. - (18) v. FEILITZEN, Unters. über d. Vorkommen v. *Azotobacter* in Moorböden, in Frühl. Landw. Ztg. LIX (1910) p. 489. - (19) FISCHER, Herm., Beiträge zur Ernährungphysiol. d. Wasserpflanzen, in Arch. Hydrobiolog. X (1915) p. 417. - (20) FISCHER, Hugo, Über d. Symbiose v. *Azotobacter* mit Oscillarien, in Centralbl. Bakt. 2. XII (1904) p. 267. - (22) FISCHER, Hugo, Ein Beitrag zur Kenntnis d. Lebensbed. von stickstoffsammelnden Bakt., in Journ. Landwirtschaft. LIII (1905) p. 61 (Centralbl. Bakt. 2. XIV, p. 33). - (23) FISCHER, Hugo, Zweiter Beitrag z. Kennt. d. Lebensbed. v. stickstoffsamm. Bakt. in Journ. f. Landw. LIII (1905) p. 289 (Centralbl. Bakt. 2. XV (1906) p. 235). - (24) FISCHER, Hugo, Über Stickstoffbakt. in Verh. Naturhist. Ver. Rheinl., Osnabrück, LXII (1905) p. 135. - (25) FRED und DAVENPORT, Influence of Reaktion on Nitrogen-assimilating Bact., in Journ. Agr. Res. 1914. - (26) v. FREUDENREICH, Über stickstoffbindende Bakt., in Centralbl. Bakt. 2, X (1903) p. 514. - (27) GAINES, Soil Reaktion and the growth of *Azotobacter*, in Journ. Agr. Res. V (1918) 14, p. 265. - (27 a) GEHRING und SANDER, Über die Verbreitung u. Bedeutung der Boden-Azidität, in Zeitschr. f. Pflanzenern. u. Düng. II (1923) p. 299. - (28) GERLACH, Die Nutzbarmachung des atmosph. Stickstoffs, in Illust. Land. Ztg. 1904, nr. 5, 7. - Ref. in Ctbl. Bakt. 2. XII (1904) p. 495. - (29) GERLACH und VOGEL, Weitere Unters. mit stickstoffsammelnden Bakt. in Centralbl. Bakt. 2, IX, (1902) p. 817 und X (1903) p. 636. - (30) GERLACH und VOGEL, Stickstoffsammelnde Bakterien, in Centralbl. Bakt. 2, VIII (1902) p. 669. - (31) GILGAROWSKI, Script. bot. Hort. Univers. Petrop. Fasc. XXIX, 1911-13 (nicht zugänglich, Ref. Centralbl. Bakt. 2. LVII (1922) p. 271. - (32) GILLESPIE, Colo-

- rimetric Determination of Hydrogen-ion Concentration without Buffer Mixtures, w. especial Reference to Soil, in Soil Sci. V (1920) 9. - (33) HEINZE, Über die Bildung u. Wiederverarbeitung v. Glycogen durch pflanzliche Organismen, in Centralbl. Bakt. 2, XII (1904) p. 43. - (34) HEINZE, Über d. Stickstoff-Assimilation durch niedere Organismen, in Landw. Jahrb. XXXV (1906) p. 889. - (35) HEINZE, Sind Pilze imstande, den element. Stickst. der Luft zu verarbeiten etc., in Annal. mycol. IV (1906) nr. 1. - (36) HEINZE, Bodenbakt. Unters. in Landw. Jahrb. XXXIX, Ergbd. (1910) p. 106. - (37) HUTCHINSON, Studies in bact. anal. of Indian soil, in Mem. Dept. Agr. India Bact. 5. ser. I (1912) p. 1 (Ref. Zeitschr. Gärungsphysiol. IV (1914) p. 178). - (38) ISSATSCHENKO, Zur Frage ü. d. Vorkommen v. Volutin bei Azotobacter, in Centralbl. Bakt. 2, LVII (1922) p. 271. - (39) JONES, A cultural a. morpholog. Study of some Azotobacter, in Science XXVIII (1912) p. 413 (Ref. Ctbl. Bakt. 2. XXXVIII (1913) p. 413). - (40) JONES, Further Studies with some Azotobacter, in Centralbl. Bakt. 2, XLII (1915) p. 68. - (41) JONES, Further Studies on the growth cycle of Azotobacter, in Journ. Bact. V (1920) p. 5. - (42) JONES und MURDOCH, Quantitative a. qualitat. bact. analys. of soil etc. in Soil Sci. V. 8. 1919. - (43) KEDING, Weitere Untersuchungen über stickstoffbindende Bakt., in Wissensch. Meeresunters. N.F. Abt. Kiel IX (1906) p. 275. - (44) KEUTNER, Über das Vorkommen u. die Verbreitung stickstoffbindender Bakt. im Meer, Diss. Kiel 1904. - (45) KOCH, Bodenbakterien und Stickstofffrage, in Verh. Ges. D. Naturf. u. Ärzte Karlsruhe 1902, 1. Teil (1903) p. 182. - (46) KOCH, Bodenbakt. Unters. u. ihre Bedeutung, in Centralbl. Bakt. 2, XIII (1904) p. 556. - (47) KOCH, Die Stickstoff-Anreicherung des Bodens d. freilebende Bakt. u. ihre Bedeutung f. d. Pfl.-Ernähr. in Journ. Landw. LV (1907) p. 355. - (48) KOCH, Weitere Untersuchungen ü. d. Stickstoffanreicherung d. Bodens d. freileb. Bakt. in Journ. Landw. LVII (1909) p. 269. - (49) de KRUYFF, Quelques remarques sur les bactéries aérobies, fix. l'azote libre de l'atmosph. d. l. Trop. in Centralbl. Bakt. 2, XXVI (1910) p. 55. - (50) KRZEMIENIEWSKI, S. u. H., Zur Biologie d. stickstoffbindenden Mikroorganismen, in Centralbl. Bakt. 2, XVIII (1907) p. 521. - (51) KRZEMIENIEWSKI, Untersuchungen üb. Azotobacter, in Anz. Akad. Wiss. Krakau 1908, p. 929. - (52) LIESKE, Bakterien u. Strahlenpilze, in Handb. d. Pflanzenanat. VI (1922). - (53) LIPMAN, Annual Rep. of the New Jersey Agr. Exp. Stat. 1906 (nicht zugänglich). - (54) LIPMAN, Soil inoculation with Azotobacter, in Centralbl. Bakt. 2. XXVII (1910) p. 257. - (55) LIPMAN, The distribution and activity of bacteria in soils of the arid region, in Univ. Calif. Publ. Agric. Sc. I (1912) p. 1. (Ref. Ztschr. Gärungsphysiol. IV (1914) p. 175). - (56) LIPMAN und BURGESS, Studies on Nitrogen Fixation and Azotobacter Forms in Soils of foreign Countries, in Centralbl. Bakt. 2, XLIV (1916) p. 481. - (57) LOEW, Über mineralisaure Böden, in Landw. Jahrb. 1914, p. 161. - (58) LÖHNIS, Studies upon the Life Cycles of the Bacteria Part 1, in Mem. of the National Acad. of Sc. XVI (1921). - LÖHNIS und WESTERMANN, Über Stickstoff-fixierende Bakterien, 4. in Centralbl. Bakt. 2, XXII (1908/09) 234. - (60) LÖHNIS und PILLAI, Über Stickstoff-bindende Bakt., in Centralbl. Bakt. 2, XX (1908) p. 781. - (61) LÖHNIS und SMITH, Life Cycle of the Bacteria, in Journ. Agr. Res. VI (1916) 6. - (62) LÖHNIS und SMITH, Studies upon the Life Cycle of the Bacteria 2, Life of Azotobacter, in Journ. Agr. Res. XXIII & 1923). - (63) MEYER, A., Orientierende Untersuchungen über Verbreitung, Morph. u. Chemie des Volutins, in Bot. Ztg. LXII (1904) p. 113. - (64) MENCL, Die Kernäquivalente und Kerne bei Azotobacter u. seine Sporen, in Arch. Protistenk. XXII (1911) p. 1. - (65) MICHAELIS, Prakt. d. physik. Chemie, 2. ed. Berlin 1922. - (65 a) NIEHE, Sind ultramikroskop. Organism. i. d. Natur verbr.? in Biol. Centralbl. XXXIII (1923) p. 1. - (66) MOLL, Beiträge zur Biochemie des Bodens, Diss. Leipzig 1909. - (67) MULVANIA, Observations on Azotobacter, in Sciences, N.S. XXXII (1915) p. 463 (Ref. Centralbl. Bakt. XXXVII (1917) p. 656). - (68) OMELIANSKY und SSEWEROWA, d. Pigmentbildung i. Kulturen d. Azotobacter chr., in Centralbl. Bact. 2 XXIX (1911) p. 643. - (69) PENLC, Über symbiontische Bakt. d. Aphiden, in Ber. D. bot. Ges. XX (1912) p. 419. - (70) PICHLER, Zur Frage der Bodenimpfung mit Bakt. in Wien. Landw. Ztg. 1920, nr. 78, 79. - (71) PILLAI, Untersuchungen über den Einfluss d. Düngung u. anderer Faktoren a. d. Tätigkeit d. Mikroorganismen d. Bod.

Diss. Leipzig 1908. - (72) PRAZMOWSKI, Azotobacter-Studien, in Anz. Akad. Wissen. Krakau 1912, p. 833. - (73) REINKE, Symbiose v. Volvox u. Azotobacter, in Ber. D. bot. Ges. XXI (1903) p. 481. - (74) REINKE, Zur Kenntnis d. Lebensbed. v. Azotobacter, in Ber. D. bot. Ges. XXII (1904) p. 95. - (75) REMY, Bodenchemische und bakt. Studien, in Landw. Jahrb. XXXV, Ergbd. (1906) p. 1, 114. - (76) REMY, Arb. a. d. Inst. f. Bodenlehre u. Pflanzenbau in Poppelsdorf, in Centralbl. Bakt. 2. XVIII (1907) p. 315. - (77) RITTER, Beiträge zur Kenntnis d. nied. pflanzl. Org., bes. d. Bakt. v. Hoch- u. Niedermoor, in Centralbl. Bakt. 2, XXXIV (1912) p. 577. - (78) SACKEFF, Bacteriol. studies of the fixation of nitrogen in certain Colorado Soils, Col. Agr. Exp. Sta. Bul. 179, 1911 (Ref. Centralbl. Bakt. 2, XXXIV (1912) p. 64). - (79) SCHMIDT, Notiz üb. d. Vorkommen v. Volutin bei Azotobacter, in Centralbl. Bakt. L (1920) p. 44. - (80) SCHNEIDER, Studien über die Stickstoffsammlung im Ackerboden, in Landw. Jahrb. XXXV, Ergbd. 4 (1906) p. 63. - (81) SELMAN u. WAKSMAN, Bact. Numbers in Soils at different Depth a. i. diff. Seasons of the Year, in Soil. Sci. I (1916) p. 363. - (82) SJOLLAMA, Anwendung v. Farbstoffen bei Bodenuntersuchungen, in Journ. Landw. LIII (1905) p. 67. - (83) STOKLASA, Über d. chem. Vorgänge b. d. Assimilation d. element. Stickstoffs d. Azotobacter u. Radiobacter, in Ber. D. bot. Ges. XXIV (1906) p. 22. - (84) STOKLASA, Beitr. z. Kenntn. d. Stickstoff-Anreicherung d. Bodens d. Bakterien und ihre Bedeutung für die Pflanzenernährung, in Centralbl. Bakt. 2, XXII (1908/09) p. 447. - (85) SRANAK, Z. Assimilation d. Luftstickstoffs d. i. Boden frei leb. Mikroorganismen, in Zeitschr. Zuckerind. Böhmen XXXIII (1919) p. 599. - (86) STUTZER, D. Nutzbarmachung d. Stickstoffs d. Luft für die Pflanzen, in Centralbl. Bakt. 2, XIII (1904) p. 435. - (87) THIELE, Die Verarbeitung des atmosphärisch. Stickstoffs d. Mikroorganismen, in Land. Versuchsstat. LXIII (1906) p. 161. - (88) TRAAEN, Über den Einfluss der Feuchtigkeit auf die Stickstoff-Umsetzungen im Erdboden, in Centralbl. Bakt. 2, XXXV (1916) p. 119. - (89) WALTON, Azotobacter and nitrogenfixation in Indian Soils, in Mem. Dept. Agric. Ind. Bact. S. I (1915) p. 98 (nicht zugänglich). - (90) WEIS und BORNEBUSCH, Über das Vorkommen d. Azotobacter in dänischen Waldböden sowie über die Bedeutung der Azotobacter-Probe f. d. Bestimmung des Kalkbedürfnisses, in Det forstl. Försökrvaesen i. Danmark. IV (1914) p. 319 (nicht zugänglich). - (91) WHEERRY, Soil acidity and a field method for its measurement, Ecology 1922 (nach 2).

In der Arbeit konnten nicht berücksichtigt werden:

(92) JONES und LIPMAN, Die Wirkungen der Reaktion auf die Bindung des Stickstoffs durch Azotobacter. Univ. of California Publ. in Agric. Science IV (1922) p. 397 (Ref. Zeitschr. Pflanzenern. u. Düng. III (1924) p. 55. - Für die Stickstoffbindung am günstigsten ist der Reaktionsbereich zwischen pH 7,0 und 8,0). - (93) UNOKICHI YAMAGATA und ARAO ITANO, Physiological Study of Azotobacter chroococcum, Beijerinckii and Vinelandii Typen, in Journ. of Bact. VIII (1923) p. 512. (Azotobacter entwickelt sich am besten bei pH 7,45 - 7,60).

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Botanisches Archiv. Zeitschrift für die gesamte Botanik](#)

Jahr/Year: 1924

Band/Volume: [7](#)

Autor(en)/Author(s): Niemeyer Ludwig

Artikel/Article: [Azotobacter - Studien 347-374](#)