

Über die Assimilation des freien Stickstoffs durch Azolla.

Von

Adolf Oes.

Mit 1 Textfigur.

LIBRARY
NEW YORK
BOTANIC
GARDEN

Einleitung. Im Oktober 1909 begann ich mehrere Wasser- und Landpflanzen unter verschiedenen Licht-, Wärme- und Ernährungsbedingungen zu kultivieren. Zweck der Versuche war ursprünglich das Studium der äußern Ursachen der vegetativen und sexuellen Fortpflanzung. Unter meinen vielen Kulturen fiel mir bald eine solche von *Azolla filiculoides* auf. Dieser Wasserfarn gedieh vorzüglich in einer Nährlösung, der ich keinen Salpeter zugesetzt hatte. Ich verfolgte diese Beobachtung weiter und kam schliesslich nach zahlreichen Kulturversuchen, die sich über drei Jahre erstreckten, zu der Überzeugung, daß *Azolla* den Stickstoff der Luft sich anzueignen vermöge. Meine Mitteilung macht nicht darauf Anspruch, das Thema allseitig erschöpft zu haben, und ich hätte meine Resultate vor ihrer Veröffentlichung gerne noch vervollständigt. Da kam mir die Arbeit zweier italienischer Forscher¹ in die Hände. Weil in dieser Publikation, auf welche weiter hinten noch eingetreten werden soll, die Assimilation des freien Stickstoffs durch zahlreiche Pflanzen, worunter auch *Azolla*, behauptet wird, entschloß ich mich zu sofortiger Mitteilung meiner Beobachtungen.

Die oben genannte, salpeterfreie Nährlösung enthielt auf 1 Liter destilliertes Wasser:

¹) Mameli e Pollacci: Su l'assimilazione diretta dell'azoto atmosferico libero nei vegetali. Atti ist. bot. univ. Pavia. 1911. Vorläufige Mitteilung in Bull. soc. bot. ital. 1911. Kurzes Referat in Bot. Zentralbl. 1911. S. 427.

0,25 g Mg SO₄
 1,00 g Ca₃ (PO₄)₂
 0,25 g KH₂ PO₄
 0,12 g KCl
 + Spur Fe₂ Cl₆.

Die Kulturflüssigkeit war also eine modifizierte Knopsche Lösung, in welcher das Calciumnitrat durch das tertiäre Calciumphosphat ersetzt war. Letzteres ist bekanntlich auch in den Nährlösungen von Sachs und Von der Crone enthalten. Es bildet einen in Wasser unlöslichen Bodensatz, ist aber nach Von der Crone leicht resorbierbar. Merkwürdigerweise zeigte obige N-freie¹ Kultur ein üppigeres Wachstum als eine daneben stehende Parallelkultur in voller Knopscher Lösung. Im Gegensatz zu Azolla verkümmerten in der N-freien Lösung gleichzeitige Kulturen von *Salvinia auriculata*, *Lemna trisulca*, *L. minor*, *L. gibba* und *L. polyrrhiza*.

Weitere Versuche: 1. Am 7. Mai 1910 füllte ich einen großen Erlenmeyerkolben zu ca. $\frac{1}{3}$ mit genannter N-freier Lösung und setzte darauf 3 Azolla-Stöcklein, welche der zuerst genannten N-freien Kultur entnommen waren. Der untere Teil des Gefäßes wurde wie in allen folgenden Versuchen bis zum Flüssigkeitsspiegel mit schwarzem Papier umwickelt. Die im Gewächshaus aufgestellte Kultur gedieh vorzüglich, so daß am 6. Juli die ganze Fläche bedeckt war. Am 13. August wurde die Ernte gewogen. Das Frischgewicht (nach dem Abtrocknen der Pflänzchen auf Fließpapier) betrug 1614 mg, d. h. das 36fache der Aussaat (45 mg).

Versuch 2. Am 26. Mai 1910 wurden aus Mercks garantiert reinen Reagentien 2 Nährlösungen hergestellt:

a) Knopsche Lösung:

Auf 1 l dest. Wasser:

0,25 g MgSO₄

1 „ Ca(NO₃)₂

0,25 „ KH₂PO₄

0,12 „ KCl

+ 2 Tropfen offic. Fe₂Cl₆-Lösung.

b) N-freie Lösung:

Auf 1 l dest. Wasser:

0,25 g MgSO₄

1 „ CaCO₃ (gepulvert)

0,5 „ KH₂PO₄

0,12 „ KCl

+ 2 Tropfen offic. Fe₂Cl₆-Lösung.

Mit diesen Nährlösungen wurden große Erlenmeyerkolben zu ca. $\frac{1}{3}$ beschickt und in jedem Kolben 3 gewogene Stöcklein Azolla angesetzt. Die Pflänzchen zeigten

¹) Ich werde diesen Ausdruck auch in Zukunft für solche Nährlösungen brauchen, welche ohne Zugabe von Salpeter hergestellt wurden. Ich bin mir dabei wohl bewußt, daß Spuren von N als Verunreinigung der Reagentien in die Lösungen gelangen oder als Ammoniak usw. allmählich von der Flüssigkeit absorbiert werden konnten.

bald ein lebhaftes Wachstum, besonders auf N-freier Lösung. Dagegen nahmen diese Stöcke bald eine blaßgrüne Farbe an, während in Knopscher Lösung das ursprüngliche tiefe Grün erhalten blieb. Mehrmals wurden die Lösungen erneuert, um neue Nährsalze zuzuführen und die Kulturen von Algen zu reinigen. Stets machte ich die Beobachtung, daß sich in »Knop« Algen aller Art, in N-freier Lösung jedoch hauptsächlich Cyanophyceen ansiedelten. Diese Beobachtung ist vielleicht nicht ohne Bedeutung für die Ernährung von Azolla, worauf wir später zurückkommen werden. Am 13. August wurde der Versuch abgebrochen und das Frischgewicht der Ernte festgestellt.

Die Wägungen ergaben:

1. Frischgewicht der Aussaat (je 3 Stöcklein Azolla):	43 mg
2. „ „ „ „ Ernte aus »Knop«:	320 „
3. „ „ „ „ „ N-freier Lösung:	1020 „

Das Frischgewicht der Azolla-Ernte aus »Knop« betrug also das 7,4 fache, aus N-freier Lösung das 23,7 fache der Aussaat.

Versuch 3. Vom 1. Dezember 1910 bis 4. März 1911 wuchsen zwei Parallelkulturen in Knopscher und N-freier Lösung etwa gleich gut, immerhin aber viel langsamer als im Sommer. Beide Kulturen hatten ihre Masse verzehnfacht.

Versuch 4. Vom 1. Februar bis 3. April 1911 konstatierte ich bei einer N-frei in offenem Gefäß angesetzten Kultur eine Vermehrung der Masse um das 17 fache der Aussaat.

Versuch 5. Dagegen zeigte eine am 4. April 1911 angesetzte Serie, die am 10. Mai abgebrochen wurde, ein besseres Wachstum der Azolla in voller Nährlösung als ohne Salpeter.

Eine gleichzeitige P-freie Kultur (auf 1 l dest. Wasser 0,25 g $MgSO_4$, 1 g $Ca(NO_3)_2$, 0,25 g KNO_3 , 0,12 g KCl + 2 Tropfen offic. Fe_2Cl_6 -Lösung), sowie eine solche in Leitungswasser, wiesen indessen ein geringeres Wachstum auf als die N-freie, zeigten jedoch ein frischeres Grün.

Versuch 6. Eine N-freie Kultur, die am 10. Mai 1911 angesetzt worden war, hatte am 23. Juni ihre Masse verzehnfacht, während gleichzeitig eine Kultur in voller Nährlösung nahezu doppelt so stark geworden war als die N-freie.

Versuch 7. Am 7. Juni 1911 wurde ein Erlenmeyer mit voller, ein anderer mit N-freier Nährlösung beschickt. Am 5. Juli hatte die N-freie Kultur diejenige in »Knop« überholt und ihre Masse ca. verzwölfacht. Diese Pflänzchen wurden nun auf 3 Gefäße verteilt. Am 12. August bedeckten sie wieder die ganze ihnen zur Verfügung stehende Oberfläche.

Wie schon früher bemerkt wurde, verliert Azolla in Nährlösungen, in welchen das Calciumnitrat durch Ca-Carbonat oder Ca-Phosphat ersetzt ist, allmählich die saftig grüne Farbe und bekommt ein gelblichgrünes Aussehen. Ist diese Erscheinung auf den Mangel an Stickstoff oder vielleicht auf die ungenügende Ca-Aufnahme zurück zu führen?

Folgende Versuche sollten diese Frage entscheiden:

Versuch 8. Am 16. September 1911 wurden drei Kulturen angesetzt:

- a) in voller (Knopscher) Nährlösung.
- b) „ N-freier Lösung (per Liter 1 g CaCO_3 anstatt 1 g $\text{Ca(NO}_3)_2$).
- c) „ N-freier Lösung (per Liter 1 g CaCl_2 anstatt 1 g $\text{Ca(NO}_3)_2$).

Am 17. Oktober notierte ich:

Kultur a) ca. 10-fache Volumenvermehrung.

„ b) „ 7- „ „

„ c) „ 5- „ „

a) und c) zeigen ein gesundes Grün,

b) zeigt gelbgrüne Färbung.

Die eigentümliche, einem Etiolement oder einer Chlorose vergleichbare Verfärbung des Sprosses macht sich demnach kaum bemerkbar, wenn das lösliche Ca-Nitrat durch ein anderes lösliches Ca-Salz, z. B. Chlorcalcium, ersetzt wird, wohl aber, wenn ein ungelöstes Ca-Salz, z. B. Ca-Phosphat, oder noch mehr wenn Ca-Carbonat als Kalkquelle gereicht wird. Die Ursache der Verfärbung scheint also nicht hauptsächlich der Mangel an Stickstoff zu sein, sondern vielmehr die ungenügende Aufnahme des Calciums aus unlöslichen Salzen.

Versuch 9. Da Azolla in der Lösung c am schwächsten gewachsen war, so lag der Gedanke nahe, daß CaCl_2 in der gereichten Konzentration das Wachstum schädige. Darum wurde am 17. Oktober eine neue Versuchsserie angesetzt, welche sich von der oben beschriebenen dadurch unterschied, daß in der Nährlösung c nur 0,62 g CaCl_2 per Liter enthalten waren. (0,62 g CaCl_2 entsprechen im Ca-Gehalt ungefähr einem Gramm $\text{Ca(NO}_3)_2$.) Alle 3 Kulturen gedeihen zunächst gut. In den Nährlösungen a und c, welche lösliches Ca-Salz enthielten, zeigte Azolla stets eine gesunde grüne Farbe; in der Lösung b jedoch ging diese bald wieder in das bleiche Gelbgrün über. Etwa von Mitte November an zeigten alle 3 Kulturen kein wesentliches Wachstum mehr. Am 6. Januar 1912 wurden die Pflänzchen gewogen.

Frischgewicht der Kultur a [mit $\text{Ca(NO}_3)_2$] = 535 mg

„ „ „ b [„ CaCO_3] = 370 „

„ „ „ c [„ CaCl_2] = 570 „

(„ „ „ Aussaat je 43 bis 45 mg).

Die stickstofffreie Kultur c war also mindestens so gut gewachsen wie die Knopkultur a und bedeutend besser als die ebenfalls N-freie Kultur b, die nur das ungelöste und schwer resorbierbare CaCO_3 als Calciumquelle enthielt. Das Chlorcalcium kann also bei nicht zu hoher Konzentration als Ca-Quelle Verwendung finden. Es wurde daher bei vielen späteren Versuchen benutzt; jedenfalls ist es dem schwer resorbierbaren CaCO_3 vorzuziehen.

Versuch 10. Da der oben beschriebene Versuch in die ungünstige Jahreszeit fiel, so wurden im Frühjahr 1912 nochmals Kulturen angesetzt. Die Nährlösung enthielt auf 1 l dest. Wasser:

- 0,25 g $MgSO_4$ (bezeichnet »N-frei«)
- 0,62 „ $CaCl_2$ (bezeichnet Calc. chlorat. pur. sicc. granul. pro analysi)
- 0,25 „ KH_2PO_4
- 0,12 „ KCl

+ 2 Tropfen offic. Fe_2Cl_6 -Lösung.

(Alles garantiert reine Reagentien von Merck. In der fertigen Lösung ließ sich mit Diphenylaminschwefelsäure keine Spur von Salpeter nachweisen. Eine im Laboratorium des Kantonschemikers von Basel-Stadt durch Herrn Substitut Wolf ausgeführte Analyse der Nährlösung ergab: »Die Nährlösung ist frei von Stickstoff.« Außer der Konzentration 0,62 g $CaCl_2$ im Liter wurden noch geprüft: 0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 g und 1 g $CaCl_2$ per Liter.

In 0,1—0,6 g $CaCl_2$ gedeiht *Azolla* gut, immerhin bei 0,5—0,6 g besser als bei ganz schwacher Konzentration. 1 g $CaCl_2$ ist zu viel (vgl. S. 148), ohne Ca wächst die Pflanze kümmerlich. Ersetzt man $CaCl_2$ durch 0,5 g $BaCl_2$ oder $SrCl_2$, so geht *Azolla* zugrunde.)

Am 27. Februar wurden 3 kleine Stöcke *Azolla* aus dem Viktoriahaus (Kalt-
haus) in das dem bot. Institut auf der Südseite angebaute, gut geheizte und belichtete Treibhaus gebracht und hier auf die oben angegebene Nährlösung gesetzt. Als bald erwachten die Pflänzchen aus der Winterruhe und wuchsen lebhaft. Am 23. März schätzte ich die Masse der Kultur auf das 10fache der Aussaat. Am 29. März mußten die *Azollastöcklein* auf 3 Kulturgefäße verteilt werden. Am 8. Mai standen alle 3 Tochterkulturen so üppig, daß sich die Pflänzchen aus dem Wasser herausdrückten. Das Frischgewicht betrug 6,06 g, d. h. das 135fache der Aussaat.

Versuch 11. Am 23. März 1912 wurden je 3 Stöcke *Azolla* angesetzt:

- a) auf Knopsche Lösung.
- b) „ N-freie Lösung (mit 0,62 g $CaCl_2$ im Liter).

Wägung am 8. Mai:

Frischgewicht der Kultur a (Knop): 950 mg
 „ „ „ b (N-frei): 1720 „

Die N-freie Nährlösung mit 0,62 g $CaCl_2$ per L. erwies sich demnach als vorzüglich geeignet zur Kultur von *Azolla*. Die Pflänzchen wuchsen auf ihr mindestens so gut, meist aber bedeutend besser als auf »Knop« und behielten dabei ein gesundes Aussehen. Bei Kulturen, die sich über lange Zeiträume erstreckten und welche eine mächtige Vermehrung der Masse zeigten, blaßte zwar das Grün doch wieder ein wenig ab, jedoch ohne sichtbaren Schaden für das Wohlbefinden der Pflanzen und weit weniger als mit unlöslichen Ca-Verbindungen.

Dagegen konnte *Salvinia auriculata* weder auf dieser Nährlösung noch auf den früher angegebenen N-freien Kultur-

flüssigkeiten gedeihen. Im Gegensatz zu *Azolla* verlangt diese Pflanze den Stickstoff als Nitrat.

Versuch 12. Am 10. April 1912 z. B. wurde *Salvinia* auf Knopscher und N-freier Nährlösung (Ca Cl₂ als Kalkquelle) angesetzt. Am 8. Mai bedeckte sie auf der salpeterhaltigen Nährlösung die ganze ihr zur Verfügung stehende Oberfläche, während sie ohne Nitrat nur einige kümmerliche Blättchen von gelblicher Farbe getrieben hatte.

Versuch 13. Hingegen gedeihen andere *Azolla*-Arten, welche im Mai 1912 aus Darmstadt bezogen worden waren, vorzüglich auf der S. 149 angegebenen N-freien Nährlösung. (*Azolla pinnata*, *Azolla filiculoides* und eine als *Azolla canadensis* bezeichnete Form, welche jedoch nach der Gestalt der Glochiden mit Strasburgers *Azolla filiculoides* var. *rubra* identisch zu sein schien.) Besonders die letztere zeichnete sich durch üppiges Wachstum auf der N-freien Nährlösung aus.

Wie erklären wir uns das oft geradezu verblüffende Wachstum der *Azolla* auf salpeterfreien Nährflüssigkeiten? Assimiliert sie freien Stickstoff? Begnügt sie sich mit dem Ammoniak, der ja stets in der Gewächshausluft enthalten ist und leicht vom Wasser absorbiert wird, als N-Quelle? Spielen bei der Assimilation des elementaren oder des Ammoniakstickstoffes die blaugrünen Algen (*Anabaena*) eine Rolle, die stets in *Azolla* endophytisch leben? Oder aber wächst *Azolla* auf Kosten des im Aussaatmaterial vorhandenen Stickstoffs, ohne solchen neu aufzunehmen, so daß vielleicht in der ganzen Ernte nicht mehr N vorhanden ist als in der Aussaat?

Lange weigerte ich mich, das auffallende Wachstum der *Azolla* auf N-freien Nährlösungen auf die Assimilation des freien Stickstoffs zurückzuführen; denn die bisher in der Literatur mitgeteilten diesbezüglichen Beobachtungen anderer Autoren waren meist mit mehr oder weniger guten Einwendungen abschätzend beurteilt worden. Immerhin scheint in unserer Zeit die ablehnende Haltung der Physiologen an Schroffheit zu verlieren, seitdem durch die Untersuchungen von Berthelot¹, Puriewitsch², Saida³, Ch. Ternetz⁴ u. ⁵, H. Fröhlich⁶, G. Stahel⁷ u. a. nachgewiesen ist, daß nicht nur gewisse Bak-

¹) Comptes rendus der Pariser Akademie. 1893. 106.

²) Ber. d. d. bot. Ges. 1895. 13.

³) Ebenda. 1901. 19.

⁴) Ebenda. 1904. 22.

⁵) Jahrb. f. wiss. Bot. 1907. 44.

⁶) Ebenda. 1908. 45.

⁷) Ebenda. 1911. 49.

terien, sondern auch manche Schimmelpilze aus dem gewaltigen Stickstoffreservoir der atmosphärischen Luft zu schöpfen vermögen.

Viel seltener ist jedenfalls diese Fähigkeit bei chlorophyllführenden Pflanzen anzutreffen. B. Frank¹ glaubte zwar allgemein den grünen Pflanzen die Befähigung zur Bindung des freien Stickstoffs der Luft zuschreiben zu dürfen. Da jedoch Franks Versuche der nötigen Vorsichtsmaßregeln entbehrten und dieser Autor zudem seine Resultate allzurasch verallgemeinerte, so wird die zitierte Arbeit heute von den meisten Forschern nicht mehr berücksichtigt. Doch liegen auch noch weitere positive Angaben aus den neunziger Jahren vor, so von Th. Schloesing und E. Laurent² u.³, ebenso von A. Koch und P. Kossowitsch⁴, welche über die Assimilation von freiem N durch Algen berichten.

Bouilhac⁵ zeigte, daß *Nostoc punctiforme* und *Anabaena* in Symbiose mit Bakterien auf Sand, der mit N-freier mineralischer Nährlösung getränkt und frei von organischer Substanz ist, so viel N zu fixieren vermögen, daß sich höhere Pflanzen, wie Mais, Senf etc. normal darauf entwickeln können. Ähnliche Beobachtungen wie Schloesing und Laurent, Koch und Kossowitsch u. a. machte Beijerinck⁶. Czapek⁷ (S. 128) schreibt darüber: »Vor kurzem hat aber hinsichtlich der Cyanophyceen Beijerinck die Beobachtungen von Schloesing und Laurent erneuert, und jedenfalls gezeigt, daß diese Organismen (welche er deshalb zu seiner Gruppe der »Oligonitrophilen« rechnet) die Gegenwart vieler organischer Stoffe im Gegensatze zu andern Algen vermeiden. Einen strengen Beweis für die Meinung Beijerincks, daß für die *Anabaenen*, *Nostocarten* und andere Blualgen Assimilation von Luftstickstoff anzunehmen sei, kann ich in der vorliegenden Mitteilung jedoch nicht finden«.

¹) Frank, B., Die Assimilation des freien Stickstoffs durch die Pflanzenwelt. Bot. Zeitg. 1893.

²) Schloesing et Laurent. Compt. rend. 1891. 113.

³) —, —. Ebenda. 1892. 115.

⁴) Koch und Kossowitsch. Bot. Zeitg. 1893. 2.

⁵) Bouilhac. Compt. rend. 1896. 123. 1903. 137. 1904. 138.

⁶) Centralbl. f. Bakt. II. 1901. 7, 562.

⁷) Czapek, Biochemie der Pflanzen. II. Teil. Jena. 1905.

Czapek erwähnt sodann die Knöllchen von *Elaeagnus*, *Hippophaë*, *Podocarpus*, welche wahrscheinlich wie die Bakterienknöllchen der Leguminosen den N der Luft assimilieren, und fährt dann fort: »Stickstoffassimilation durch nicht knöllchentragende Phanerogamen ist hingegen noch nicht nachgewiesen«. Die positiven Angaben von Frank und Otto, Petermann, Liebscher, Stoklasa u. a. werden von Czapek als Wirkung der N-fixierenden Bodenmikroben aufgefaßt.

Die zitierten Angaben aus der Literatur mögen genügend dartun, daß die Frage der N-Fixierung durch grüne Pflanzen heute noch sehr wenig abgeklärt und daß es jedenfalls geboten ist, neue diesbezügliche Mitteilungen mit Vorsicht zu beurteilen.

Mit dieser Vorsicht werden wir auch an die bereits erwähnte Arbeit von Mameli und Pollacci¹ heranzutreten genötigt sein. Nach den beiden italienischen Forschern ist die N-Assimilation allgemeiner, als bisher angenommen wurde, und zwar von den Algen bis zu den Phanerogamen. Die Pflanzen können unter bestimmten Bedingungen mehr oder weniger intensiv von der Fixierung des Luftstickstoffs Gebrauch machen, welche sich die beiden Verfasser so denken, daß die chlorophyllhaltigen Zellen die Fähigkeit besitzen sollen, aus N und nascierendem H einfache Stickstoffverbindungen (z. B. Ammoniak) als Vorstufe zum Aufbau der Eiweißkörper zu bilden. Mamelis und Pollaccis Versuchspflanzen wuchsen in Glaskugeln oder hermetisch abgeschlossenen Glocken, die vorher sterilisiert wurden und durch welche sie Luft leiteten, die frei war von N-Verbindungen und Mikroorganismen. *Ödogonium*, *Spirogyra*, *Zygnema* und *Protococcus* gaben reichliche Kulturen in sterilisierten, N-freien Lösungen. Aus *Protococcus*-Zellen und Pilzsporen entwickelten sich Flechten, deren Thallus nach einigen Monaten 10—15 mm betrug. Unter den Moosen gedieh nur *Amblystegium irriguum* ohne Zusatz von N-Verbindungen, Farren zeigten nur geringes Wachstum. *Azolla caroliniana* und *Salvinia natans* sind außerordentlich geeignet zur Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs. »Wenn für die erste Spezies die Sterilisation infolge ihrer Symbiose mit *Anabaena* nicht vollständig durchgeführt werden konnte, wurde hingegen die zweite Art

¹) a. a. O. 1911.

vollständig mit H_2O_2 sterilisiert, welches sich für diese Art der Versuche als vorzügliches Desinfektionsmittel eignete.« Die Analyse der umgebenden Luft, in welcher 2—3 Monate *Tradescantia*, *Anthurium*, *Canna* und *Elodea* gelebt hatten, ergab eine deutliche Abnahme des Stickstoffs (indirekte Analyse). *Lemna major* u. *minor* ergaben in 45 Tagen:

Zunahme der Blätter von 200 auf 454,

Zunahme des N von 3,8 mg auf 7,2 mg.

Raphanus sativus, *Acer negundo*, *Cucurbita Pepo*, *Polygonum fagopyrum* und *Solanum nigrum* assimilierten unter den angegebenen Vorsichtsmaßregeln ebenfalls freien N. Auf einem Substrat, welches N-Verbindungen enthält, fixieren die genannten Phanerogamen weniger freien N.

Die Resultate der beiden italienischen Forscher stimmen mit meinen Beobachtungen in Bezug auf *Azolla* überein; hingegen zeigten meine übrigen Versuchspflanzen, wie *Lemna* und *Salvinia*, auf N-freien Nährlösungen stets alle Anzeichen des Hungerns und der Verkümmernng.

Um über die Größe eines allfälligen N-Gewinns orientiert zu sein, ließ ich schon im Dezember 1910 und dann nochmals im Mai 1912 im Laboratorium des Kantonschemikers von Basel-Stadt einige Analysen machen. Dieselben wurden von Herrn Substitut Wolf nach Kjeldahl ausgeführt. Ich benütze gerne die Gelegenheit, um Herrn Wolf auch auf diesem Wege meinen besten Dank auszusprechen. Das Resultat der Analysen war folgendes:

1. Kontrollmaterial. *Azolla* aus dem Viktoriahaus, wo sie im Sommer in mehreren Bassins üppige Kolonien gebildet hatte, enthält auf die Trockensubstanz 4,6 % Stickstoff.

2. *Azolla*-Ernte aus mehreren N-freien Kulturen (1, 2, 14, 15) enthält auf die Trockensubstanz 3 % Stickstoff.

Darnach ergibt sich für Versuch 1 unter Berücksichtigung des N-Gehalts der Aussaat ein N-Gewinn von 4,2 mg. (Gewicht der Ernte-Trockensubstanz 145 mg). Für die N-freie Kultur des Versuchs 2 berechnet sich bei einem Trockengewicht der Ernte von 91,8 mg ein N-Gewinn von 2,57 mg. Da mehrere Kulturen wegen ihres geringen Trockengewichtes zusammen

analysiert wurden, so stellen obige N-Gewinne nur Mittelwerte dar.

Die Analyse der Azolla-Ernte von Versuch 10 ergab bei einem Trockengewicht von 317 mg einen N-Gehalt von 2,89 % = 9,16 mg, d. h. nach Abzug des N der Aussaat einen N-Gewinn von nahezu 9 mg. Auf 1 g geernteter Azolla-Trockensubstanz berechnet sich demnach ein N-Gewinn von 28,4 mg.

Hellriegel und Wilfarth¹ konstatierten bei Lupine, die in sterilisiertem Sande mit Lupinenboden-Aufguß und N-freier Nährlösung gewachsen war:

Geerntete Trockensubstanz	N-Gewinn	Berechneter N-Gewinn auf 1g Trockensubstanz
38,919 g	975 mg	25 mg
33,755 g	958 mg	28,4 mg
40,574 g	1049 mg	25,9 mg
42,681 g	1142 mg	27 mg
Azolla (zum Vergleich):		
317 mg	9 mg	28,4 mg

Der N-Gewinn steht demnach zur geernteten Trockensubstanz bei Lupine und Azolla ungefähr im gleichen Verhältnis.

Damit ist ein absoluter Stickstoffgewinn der auf salpeterfreien Nährlösungen gewachsenen Azollakulturen konstatiert, obwohl der verhältnismäßige, in Prozenten der Trockensubstanz ausgedrückte N-Gehalt nach längerer Kultur und sehr intensivem Wachstum auf N-freiem Substrat (vergl. Vers. 10) von 4,6 % auf ca. 3 % zurückging. Die abnormale Aneignung des Stickstoffs durch Azolla scheint demnach ihre biologische Erklärung in einem Notbehelf zu finden. Wenn kein Salpeterstickstoff zur Verfügung steht, so begnügt sich die Pflanze mit einer anderen N-Quelle. Dieser Mangel an Nitraten kann aber unter sonst günstigen Kulturbedingungen als Wachstumsreiz wirken, der hier nicht, wie bekanntermassen bei vielen andern Pflanzen, ausschließlich auf das Rhizoiden- bzw. Wurzelsystem, sondern vielmehr auf das Sproßsystem einwirkt. Wir werden auf diese Frage noch zurückkommen.

Zur Beantwortung der Frage, ob freier Luftstickstoff oder der Ammoniakgehalt der Luft als N-Quelle in Frage komme,

¹) Ber. d. d. bot. Ges. 1889.

sperre ich den NH_3 der Luft durch konzentrierte Schwefelsäure ab. Dies geschah auf zwei Arten:

Versuch 14. Azolla und Salvinia wurden auf N-freier Nährlösung (Ca CO_3 als Kalkquelle) in Erlenmeyerkolben angesetzt. Die Kolben kamen in einen mit senkrechter Glaswand versehenen Zinkkasten, in welchem flache Schalen mit H_2SO_4 standen. Der Kasten befand sich vom 15. Juni bis 6. Okt. 1910 im Gewächshaus. Die Belichtung war, weil nur von einer Seite ermöglicht, etwas geschwächt. Luftzutritt war ermöglicht durch die Fugen, namentlich diejenigen des Deckels und der Vorderwand. Salvinia zeigte kein Wachstum: sie hatte nur auf Kosten der alten, absterbenden Blätter einige gelbliche, zwerghafte junge Blättchen gebildet. Azolla war namentlich während der ersten Hälfte der Versuchsdauer ziemlich gut gewachsen. Sie vermehrte ihr Frischgewicht von 43 auf 285 mg.

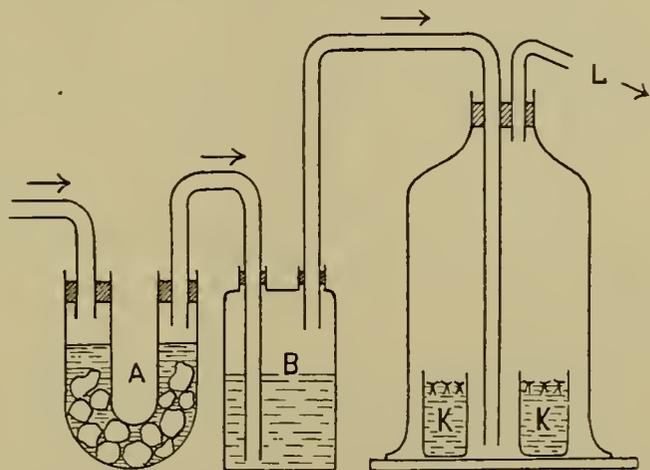
Versuch 15. Obiger Versuch wurde am 12. Okt. 1910 in der Weise wiederholt, daß

a) 3 Erlenmeyer mit Azolla im Zinkkasten,

β) 3 ebensolche Kulturen außerhalb des Kastens aufgestellt wurden. Nährlösung wie oben. In Betracht kommt noch die für das Wachstum der Azolla bereits ungünstige Jahreszeit. Am 21. Dezember war das Frischgewicht der Pflänzchen

a) von 135 auf 674 mg,

β) von 135 auf 977 mg gestiegen.



A: Bimsstein und Schwefelsäure. B: Dest. Wasser. K: Kulturgefäße mit Azolla. Bei L. wurde die Wasserluftpumpe angesetzt.

Wenn auch Azolla im Zink-

kasten weniger gut gewachsen war als außerhalb desselben, so konnte sie doch ihr Frischgewicht etwa auf das Fünffache bringen. Zudem läßt sich, namentlich in dieser lichtarmen Jahreszeit, die Differenz leicht durch die weniger intensive Beleuchtung im Zinkschrank und die dadurch herabgesetzte CO_2 -Assimilation erklären.

Versuch 16. Aus diesen Gründen und da überdies die oben geschilderte Versuchsanordnung den Zutritt von Ammoniak nicht unbedingt ausschließt, kultivierte ich Azolla unter einer großen Glasglocke, durch welche ein konstanter Strom gereinigter Luft gesogen wurde. (Siehe die Figur!)

Die Einschaltung einer Waschflasche mit destilliertem Wasser erwies sich als unerlässlich, da ohne diese Vorsichtsmaßregel die Luft ganz trocken im Kulturraum anlangt, was ein rasches Verdunsten der Nährlösung zur Folge hat. So jedoch blieb der Flüssigkeitsstand in den Kulturgläsern immer derselbe, und es war nie notwendig, die Glocke abzuheben. Vorsichtshalber wurde das Wasser vorher nochmals ausgekocht.

Das eine Kulturgefäß enthielt Knopsche Lösung, das andere N-freie Nährlösung mit Ca Cl_2 als Kalkquelle (wie bei Versuch 10). Zwei Vergleichskulturen mit denselben zwei Lösungen wurden neben der Glasglocke aufgestellt. In jedes

Gefäß kamen 3 Azolla-Stöcklein von möglichst gleicher Größe (Frischgewicht dreier Stöcklein 43—45 mg). Alle 4 Kulturen gediehen gut; namentlich die beiden N-freien wuchsen sehr lebhaft. Der Versuch dauerte vom 30. März bis 8. Mai 1912. Am 8. Mai wurde das Frischgewicht der Ernte festgestellt.

Unter der Glocke gewachsen. Außerhalb der Glocke gewachsen.

A. Knop-Kulturen:	750 mg	435 mg
B. N-freie Kulturen:	1125 mg	835 mg

Merkwürdigerweise wies also diejenige Kultur die größte Gewichtszunahme auf, welcher nur der atmosphärische Stickstoff zur Verfügung stand. Das Gewicht der Ernte betrug das 25fache des Gewichts der Aussaat.

Leider reichte das Material nicht zu einer Analyse, die auf Genauigkeit noch Anspruch erheben will. Trotzdem glaube ich in diesem Versuch einen Beweis für die Assimilation des freien Stickstoffs durch Azolla zu besitzen.

Kulturversuche mit Nährlösungen, in welchen der Salpeter durch ein Ammoniumsalz ersetzt war, ergaben keine guten Resultate.

Zunächst stellte ich folgende Kulturflüssigkeit zusammen:

Auf 1 l dest. Wasser:

- 0,25 g Mg SO₄
- 0,05 g Ca CO₃
- 0,05 g (NH₄)₂ SO₄
- 0,05 g KH₂ PO₄
- 0,12 g KCl

+ 2 Tropfen offiz. Fe₂ Cl₆-Lösung.

Versuch 17. Am 1. und am 7. Dezember 1910 wurden Azollastöcke auf dieser Nährlösung angesetzt. Die Pflänzchen gediehen nicht und verschimmelten bald.

Versuch 18. Weitere Versuche wurden im Frühjahr 1912 angestellt:

Gehalt der Stammlösung auf 1 l dest. Wasser:

- 0,25 g Mg SO₄
- 0,62 g Ca Cl₂
- 0,25 g KH₂ PO₄
- 0,12 g KCl

+ 2 Tropfen Fe₂ Cl₆-Lösung.

Dazu kam als Stickstoffquelle:

- a) 0,5 g (NH₄)₂ SO₄
- b) 0,5 g NH₄ Cl
- c) 0,5 g NH₄ NO₃
- d) 0,5 g (NH₄)₃ PO₄
- e) 1 Tropfen NH₃-Flüssigkeit (auf ca. 150 ccm Nährlösung).

Zur Kontrolle wurde Azolla gleichzeitig angesetzt auf:

f) obige N-freie Stammlösung

g) Knopsche Lösung.

Beginn des Versuchs am 1. April.

Am 9. April hatten alle 7 Kulturen ihre Masse schätzungsweise verdoppelt; die N-freie (f) hatte jedoch einen kleinen Vorsprung.

18. April: Die Kulturen a bis e sind nicht weiter gediehen; Kultur f hat ihre Masse ca. vervierfacht, Kultur g verdreifacht.

24. April: Die Kontrollkulturen f und g sind weiter gewachsen, a bis e jedoch nicht.

Ammoniumsalze und freies Ammoniak scheinen von Azolla nicht als geeignete N-Quellen ausgenutzt werden zu können und eher schädlich zu wirken. Dafür spricht auch

Versuch 19: Azolla wurde am 25. Mai 1912 auf N-freier Nährlösung unter die Glasglocke gestellt. Die U-Röhre mit der Schwefelsäure (siehe Fig. 1 S. 155) wurde ausgeschaltet und dem dest. Wasser in der Waschflasche $\frac{1}{2} \text{ }^0\text{/}_{00}$ NH_3 -Solution beigemischt. Aus dieser absichtlichen Verunreinigung des den Kulturraum passierenden Luftstroms mit Ammoniakdämpfen vermochte die Pflanze keinen Vorteil zu ziehen. Bald wurde diese Kultur von der außerhalb der Glocke aufgestellten Kontrolle überholt. Am 1. Juli war die letztere doppelt so stark wie die Kultur in der Glocke. Stärkere Verunreinigung durch NH_3 wurde nicht ertragen.

Für die Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs durch Azolla sprechen demnach folgende Beobachtungen:

1. Das üppige vegetative Wachstum der Pflänzchen auf N-freien Nährlösungen (z. B. Versuch 10). Zugegeben, daß trotz aller Vorsicht analytisch nicht nachweisbare Spuren von N-Verbindungen in die Kulturflüssigkeiten gelangen konnten, so könnten diese allfälligen Verunreinigungen doch nicht in Betracht kommen als ausreichende Quelle für den auch durch die Analyse nachgewiesenen N-Gewinn.

2. Daß Ammoniumsalze und freies Ammoniak das Wachstum von Azolla mindestens nicht begünstigen, spricht gegen die Vermutung, daß NH_3 die gesuchte N-Quelle sein könnte.

3. Das intensive Wachstum der Azolla auf N-freier Nährlösung in einem durch Schwefelsäure gereinigten Luftstrom nötigt zu der Annahme, daß der freie N der Luft durch diese Pflänzchen verwertet werden könne.

4. Die Vergleichen mit andern Pflanzen, die in N-freien und vollen Nährlösungen kultiviert wurden und ein total anderes

Verhalten zeigten, spricht ebenfalls für eine Ausnahmestellung der *Azolla* in bezug auf die N-Versorgung.

Leider muß ich die Frage offen lassen, ob die Versuchspflanze zur Aneignung des elementaren N der Mithilfe, bzw. der Vermittlung anderer Organismen bedürfe. In Betracht kämen Bakterien und die schon genannte, in den Blatthöhlen und am Vegetationskegel der *Azolla* vegetierende *Nostocaceae*¹. Meine Kulturen waren selbstverständlich nicht »bakterienfrei«. Dagegen deuten auch keinerlei positive Beobachtungen auf die Anwesenheit besonderer Mikroben hin. Was die nie fehlenden *Anabaena*-Kolonien in den Blatthöhlen, auf der Rückenfläche des Vegetationskegels und an anderen Stellen der *Azolla* anbetrifft, so habe ich versucht, Anhaltspunkte über ihr Verhältnis zu der sie beherbergenden Pflanze zu finden.

Schon Strasburger² vermutet ernährungsphysiologische Beziehungen zwischen den Kolbenhaaren, welche von den die »*Nostoc*-Höhlungen« auskleidenden Epidermiszellen aus zwischen die Fäden dieser endophytischen Alge hineinwachsen, und den Bewohnern dieser Gruben. Er schreibt S. 39/40:

»In diese Höhle ragen, der sie umgebenden Epidermis entspringend, einige Haare hinein von unbekannter Bedeutung: was aber das Fremdartige dieser Höhlung noch mehr erhöht, sind die *Nostoc*schnüre, die wir ausnahmslos in großer Anzahl

¹) In der Literatur herrscht über die Benennung dieses Endophyten große Unsicherheit. Strasburger (1873. Über *Azolla*) spricht stets von *Nostoc*-Schnüren. In Engler und Prantl, I. Teil, 4. Abteilung, S. 400, wird die Alge bei der Beschreibung der *Azolla* ebenfalls *Nostoc* genannt. Dagegen wird im I. Teil, 1. Abteilung, S. 74 bei der Beschreibung und Einteilung der *Nostocaceen* »*Anabaena Azollae* Strasburger« der Spezies *Anabaena variabilis* Kützing zugeteilt. »Hierher wohl auch *Anabaena Azollae* Strasburger«. In den Handbüchern der systematischen Botanik findet man neuerdings, und wie mir scheint mit Recht, stets die Benennung *Anabaena*, so in Wettstein 1901, Warming 1902, Bonner Lehrbuch 1910. Hier begeht zwar Schenk die Inkonsequenz, daß er S. 290 den Namen *Anabaena* und S. 385 die Bezeichnung *Nostoc* gebraucht. Bekanntlich ist das Hauptunterscheidungsmerkmal zwischen den Gattungen *Nostoc* und *Anabaena* die Bildung eines gallertartigen, lederigen oder schleimigen Lagers von bestimmter Form, durch die *Nostoc*-Arten. Dieses Merkmal trifft in unserem Falle nicht zu. Es wäre daher im Interesse der Einheitlichkeit zu wünschen, daß die Benennung *Anabaena Azollae* allgemein Anklang fände.

²) Strasburger, Über *Azolla*. Jena. 1873.

finden. Sie erfüllen die ganze Höhlung, sich in vielfachen Krümmungen der Gestalt derselben anpassend. Diese Nostocschnüre kommen nicht, wie es Mettenius vermutet, durch den Mund in die fertige Höhlung, sondern werden in dieselbe bereits zur Entstehungszeit aufgenommen, indem sie sich ja stets um den Vegetationskegel finden. Ich habe diese Nostocschnüre, und zwar wie es schien, immer derselben Art angehörend, in den Blättern sämtlicher Azollaarten vorgefunden, die ich untersuchte. Sie fehlen weder den amerikanischen, noch den neuholländischen, noch den asiatischen, noch endlich den afrikanischen Arten; sie waren in jedem Blatte zu finden, so daß ich fast vermuten möchte, daß sich die Pflanze ihnen gegenüber nicht mehr ganz passiv verhält. Ließe sich in dieser eigentümlichen Höhlung auf der Blattfläche nicht vielleicht eine besondere Anpassungseinrichtung erblicken, bestimmt das Nostoc aufzunehmen? Ich werde in dieser Annahme durch die Haare bestärkt, welche der Epidermis im Innern der Höhle entspringen und die Nostocschnüre durchsetzen; auch muß ja, um das Nostoc bergen zu können, diese Höhlung mit Wasser gefüllt sein, und kann so unmöglich (was sonst nahe liegen würde) der Luftatmung dienen. Man sollte fast glauben, daß die Nostocschnüre den Blättern der Azolla in ihrer Assimilationsarbeit behilflich sind, und somit in gewisser Weise eine ähnliche Rolle in denselben, wie im Innern des Flechtenthallus spielen«.

»Ja nicht nur in den Blättern von Azolla, auch in der Krümmung an der Rückenfläche des Vegetationskegels, also an den jüngsten und zartesten Teilen der Pflanze sind Nostocschnüre zu finden, ohne in irgendwelcher Weise denselben zu schaden.« Auch in diese »Nostoc«-Kolonien hinein sendet die Azolla Haare, entsprechend denjenigen in den Blatthöhlungen, und »es liegt nahe anzunehmen, daß auch an dieser Stelle ähnlich wie in den Blatthöhlen die Pflanze durch die Haare in nähere Beziehung zu dem Nostoc tritt«. (S. 52.)

In der Tat muß sich dem Betrachter sofort die Frage »wozu?« aufdrängen, wenn er diese Einrichtung der Wirtspflanze zur Beherbergung stets desselben Gastes sieht. Mir war während meiner auf drei Jahre sich erstreckenden Versuche stets aufgefallen, daß die N-frei gehaltenen Kulturen viel seltener als

die andern durch Algen verunreinigt wurden. Wenn aber dieser Fall doch eintrat, so waren die Eindringlinge vorwiegend Cyanophyceen. Besonders lehrreich ist es, wenn man im Gewächshaus zwei Töpfe reinen Quarzsandes aufstellt und den einen mit Knopscher, den andern mit N-freier Nährlösung von Zeit zu Zeit begießt. Während auf dem Knopsand bald alle möglichen Grünalgen sich ansiedeln, zwischen denen auch vereinzelt Cyanophyceen auftreten, behaupten diese letztern auf dem mit N-freier Nährlösung begossenen Sande fast allein den Kampfplatz.

Interessant ist ferner, daß die verzweigten Kolbenhaare, welche Azolla zwischen die Anabaenafäden hineinsendet, deutliche Eiweißreaktionen geben.

Ich habe geprüft:

1. Jod-Jodkaliumlösung.
2. Jodalkohol.

Beide Reagentien färben die Haare intensiv gelbbraun; die übrigen Azollazellen färben sich weniger intensiv.

3. Reine konzentrierte Salpetersäure färbt die Haare tief gelb (Hanthoproteinreaktion); die übrigen an Protoplasma reichen Zellen von Azolla (auch die Wurzelhaare) färben sich weniger stark.

4. Raspails Reagens (konzentrierte Rohrzuckerlösung und konzentrierte Schwefelsäure). Die Kolbenhaare färbten sich intensiv rot und hoben sich dadurch deutlich von der Umgebung ab.

5. Millons Reagens (Quecksilberoxyd- und Quecksilberoxydulnitrat plus salpetrige Säure). Die Höhlenhaare färbten sich nach kurzem Erwärmen deutlich rosenrot, und zwar sie allein; die übrigen Azollazellen röteten sich nicht.

Ein negatives Resultat ergaben meine Bemühungen, Reinkulturen von Anabaena Azollae zu erhalten. In den mit dem Inhalt der Blatthöhlungen geimpften N-freien Nährlösungen, die in Erlenmeyerkölbchen mit Wattepfropf aufgestellt wurden, siedelten sich wohl nach einiger Zeit Nostocaceen und andere Cyanophyceen an; oft traten Anabaenen auf, welche den endophytischen sehr ähnlich waren; aber ihre Abstammung von Anabaena Azollae war nicht sicher; denn es ließ sich nicht

vermeiden, daß mit dem gewünschten Endophyten auch andere Keime übertragen wurden. Brachte ich Rasiermesserquerschnitte durch Azollablätter in die Kölbchen und untersuchte sie nach zirka einer Woche, so waren die Anabaenafäden in den Blatthöhlen meist abgestorben. Ferner versuchte ich Anabaena Azollae in Extrakten aus Azolla, die mit N-freier Nährlösung aufgenommen wurden, zu kultivieren. Aber nur einmal konnte ich im hängenden Tropfen, den ich mehrere Wochen in der feuchten Kammer beobachtete, ein deutliches Wachstum des Endophyten feststellen. Kulturversuche auf Agarplatten hatten keinen Erfolg. Trotzdem halte ich es für wahrscheinlich, daß es einem Forscher, der seine ganze Zeit auf die Pflege der Kulturen verwenden kann, gelingen müßte, vielleicht bei Zugabe von Zucker usw. die Anabaena auch außerhalb ihres Wirtes zu kultivieren.

Fassen wir die Beobachtungen über das Verhältnis der Azolla zu Anabaena zusammen, so ergibt sich:

1. Die morphologischen Verhältnisse machen ernährungsphysiologische Beziehungen zwischen den beiden Pflanzen wahrscheinlich.

2. Das lebhafte Wachstum und der N-Gewinn der Azolla auf N-freien Nährlösungen,

3. Die Tatsache, daß gewisse Cyanophyceen, worunter Nostoc- und Anabaenaarten, sehr gut auf N-armen Nährböden gedeihen,

4. Die Eiweißreaktionen der Keulenhaare, welche die Azolla zwischen die endophytischen Anabaenen hineinsendet, berechtigen zu der Vermutung, daß Anabaena Azollae bei der Assimilation des freien Stickstoffs eine Rolle spiele¹. Es ließe sich, gestützt auf die mitgeteilten Beobachtungen und Versuche, ein Symbioseverhältnis denken, wobei die Anabaena der Azolla N-Verbindungen liefern und dafür andere Stoffe, z. B. Kohlehydrate, empfangen würde. Die Keulenhaare scheinen hierbei als Brücke zu dienen. Die starke Abhängigkeit der Anabaena von Azolla wäre dann leicht zu verstehen.

¹) Ob die Alge selbst den Luftstickstoff fixiere oder hierzu, wie Bouilliac berichtet, der Mitwirkung von Bakterien bedürfe, ist für Azolla ohne Bedeutung. Es wäre jedoch zu wünschen, daß diese Frage einmal Gegenstand besonderer Untersuchung würde.

Anhang. Das Verhalten des Wurzelsystems in vollen und N-freien Nährlösungen.

Zur Vergleichung mit *Azolla* wurden auch andere Pflanzen in Knopscher und N-freier Nährlösung kultiviert. Über das Verhalten der Lemnaceen und der *Salvinia auriculata* ist bereits berichtet worden. Andere Versuchspflanzen reagierten derart auf die Stickstoffarmut der Nährlösung, daß sich ihr Wurzelsystem übermäßig verlängerte. So verhielten sich: *Marsilia quadrifolia*, *Selaginella apus* und *denticulata*, *Helianthus annuus*, *Triticum vulgare*, *Nicotiana Tabacum*, *Hippuris vulgaris*, *Hydrocharis morsus ranae*, *Trianea bogotensis*. Besonders ausgeprägt war diese Erscheinung bei den zwei zuletzt genannten Pflanzen. Ich gebe zur Illustration einige Maße. Die Wurzeln wurden vor Beginn des Versuches abgeschnitten; nur die jüngsten von zirka 1–3 mm Länge blieben stehen.

I. *Trianea*, angesetzt am 11. März 1911:

	Länge der Wurzeln		Länge der Wurzelhaare	
	Knop	N-frei	Knop	N-frei
3. April	2,5 cm	18 cm	1 mm	10 mm

II. *Trianea*, angesetzt am 3. April 1911:

	Länge der Wurzeln	
	Knop	N-frei
26. April	2 cm	11 1/2—26 cm
10. Mai	2—3 cm	20—34 cm

III. *Hydrocharis*, angesetzt am 1. Juni 1911:

	Länge der Wurzeln		
	Knop	N-frei	Leitungswasser
12. Juni	1—2 cm	14—16 cm	4—6 cm
28. Juni	1—3 cm	20 cm	—
5. Juli	1—3 cm	20—30 cm	—

In der Literatur finden sich verschiedene Angaben über abnormale Verlängerung des Rhizoiden- bzw. Wurzelsystems

bei Nitratmangel. Vgl. z. B. W. Benecke¹, Dassonville², Probst³, Noll⁴, Kurt Schöne⁵ u. a.

Benecke und Noll gebrauchen für diese Erscheinung mit Recht den Ausdruck »Etiollement«. Wie sich bei ungenügendem Lichtzutritt der Sproß verlängert, um die Blätter an einen für die CO₂-Assimilation günstigeren Ort zu bringen, so gehen hier die Wurzeln und Rhizoiden auf die Suche nach Nitraten.

Wie verhalten sich die Wurzeln von Azolla in dieser Beziehung? Der Unterschied des Wurzelwachstums in nitratfreien und nitrathaltigen Lösungen ist im Vergleich zu anderen Pflanzen sehr gering. Wenn man den Pflänzchen die Wurzeln abschneidet, so werden sie in salpeterfreier Nährlösung etwas rascher regeneriert als in »Knop«- oder Leitungswasser. Schließlich aber erreichen sie in allen drei Gefäßen nahezu dieselbe Länge. Dieses Verhalten steht offenbar im Einklang mit der Fähigkeit der Azolla, ihr Stickstoffbedürfnis auch noch auf andere als die normale Art zu decken.

Zusammenfassung der Resultate:

1. Azolla gedeiht vorzüglich auf Nährlösungen, die keinen gebundenen Stickstoff enthalten.

2. Dabei geht der relative Stickstoffgehalt der Azolla-Trockensubstanz zurück, während gleichzeitig ein absoluter Stickstoffgewinn zu konstatieren ist.

3. Azolla ist befähigt, den freien Stickstoff der Luft sich anzueignen.

4. Verschiedene Beobachtungen sprechen dafür, daß die in Azolla endophytisch lebende Anabaena die Assimilation des elementaren Stickstoffs vermittelt.

Basel, Bot. Institut der Universität, den 16. Oktober 1912.

1) Bot. Zeitg. 1898 und 1903.

2) Revue de Botanique. 1898.

3) Dissertation Basel. 1901.

4) Sitzgsber. niederrhein. Gesellsch. Bonn. 1901.

5) Flora. 1906. 96.



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Botanik](#)

Jahr/Year: 1913

Band/Volume: [5](#)

Autor(en)/Author(s): Oes Adolf

Artikel/Article: [Über die Assimilation des freien Stickstoffs durch Azolla.
145-163](#)