

P 192
N° 1 B.

JANVIER

1910.

BULLETIN INTERNATIONAL
DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES
DE CRACOVIE

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES

SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES

ANZEIGER
DER
AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN
IN KRAKAU

MATHEMATISCH-NATURWISSENSCHAFTLICHE KLASSE

REIHE B: BIOLOGISCHE WISSENSCHAFTEN



CRACOVIE
IMPRIMERIE DE L'UNIVERSITÉ
1910



L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE CRACOVIE A ÉTÉ FONDÉE EN 1873 PAR
S. M. L'EMPEREUR FRANÇOIS JOSEPH I.

PROTECTEUR DE L'ACADÉMIE:

S. A. I. L'ARCHIDUC FRANÇOIS FERDINAND D'AUTRICHE-ESTE,

VICE-PROTECTEUR: *Vacat.*

PRÉSIDENT: S. E. M. LE COMTE STANISLAS TARNOWSKI.

SECRÉTAIRE GÉNÉRAL: M. BOLESŁAS ULANOWSKI.

EXTRAIT DES STATUTS DE L'ACADÉMIE:

(§ 2). L'Académie est placée sous l'auguste patronage de Sa Majesté Impériale Royale Apostolique. Le Protecteur et le Vice-Protecteur sont nommés par S. M. l'Empereur.

(§ 4). L'Académie est divisée en trois classes:

a) Classe de Philologie,

b) Classe d'Histoire et de Philosophie,

c) Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles.

(§ 12). La langue officielle de l'Académie est la langue polonaise.

Depuis 1885, l'Académie publie le «Bulletin International» qui paraît tous les mois, sauf en août et septembre. Le Bulletin publié par les Classes de Philologie, d'Histoire et de Philosophie réunies, est consacré aux travaux de ces Classes. Le Bulletin publié par la Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles paraît en deux séries. La première est consacrée aux travaux sur les Mathématiques, l'Astronomie, la Physique, la Chimie, la Minéralogie, la Géologie etc. La seconde série contient les travaux se rapportant aux Sciences Biologiques.

Publié par l'Académie

sous la direction de M. **Ladislav Kulczyński**,

Membre-délégué de la Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles.

7 Lutego 1910.

Nakładem Akademii Umiejętności.

Kraków, 1910. — Drukarnia Uniwersytetu Jagiellońskiego pod zarządem Józefa Filipowskiego.

BULLETIN INTERNATIONAL
DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE CRACOVIE

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES

SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES

Przyczynki do poznania regeneracyi u wstężnic (Nemertini). — Beiträge zur Kenntnis der Regenerationserscheinungen bei den Nemertinen.

Mémoire

de MM. **JÓZEF NUSBAUM** et **MIECZYŚLAW OXNER**,

présenté par M. J. Nusbaum m. c. dans la séance du 3 Janvier 1910.

(Planche I).

Die Regenerationsprozesse bei den Nemertinen wurden bis jetzt sehr wenig untersucht. Außer den sehr spärlichen älteren Untersuchungen von Dalyell, Mc. Intosh und Bürger ¹⁾ gibt es nur noch neuere Beobachtungen von C. Dawydoff ²⁾ und O. Calgren ³⁾, und auch diese lassen noch sehr viele Fragen unberührt. Wir haben ein größeres Studium über diesen Gegenstand in Angriff genommen und befassen uns damit schon seit längerer Zeit; hier stellen wir nur einen kleinen Teil unserer diesbezüglichen Resultate dar und werden hoffentlich in nächster Zukunft an anderer Stelle eine größere Arbeit mit vielen Abbildungen zum Abdruck bringen. Die hier darzustellenden Resultate scheinen uns in mancher Hinsicht von nicht geringem, allgemein-biologischem Interesse zu sein.

Wir untersuchten *Lineus ruber* Müll., eine Art, die sich zu solchen Beobachtungen sehr eignet.

¹⁾ O. Bürger. Nemertinen, 1895 (Fauna u. Flora des Golfes v. Neapel).

²⁾ C. Dawydoff. Sur la régénération de l'extrémité postér. chez les Némerthes. Bull. de l'Acad. Impér. des Sciences de St. Pétersbourg, 1909.

³⁾ O. Calgren. Zur Regeneration von Prostoma (Tetrastema). Zoolog. Studien, Prof. T. Tullberg gewidmet, 1907.

Nach den Untersuchungen Eines ¹⁾ von uns kann man zwei Formen von *Lineus ruber* unterscheiden: eine schmalere, die wir mit *B* bezeichnen, und eine breitere, die wir *A* nennen werden. Das Verhalten dieser beiden Formen bei Regenerationserscheinungen ist außerordentlich verschieden, was Einer von uns schon an lebenden Exemplaren konstatieren konnte. Eine nähere Untersuchung an Quer- und Längsschnitten von mit verschiedenartigsten Methoden konservierten und gefärbten Präparaten überzeugte uns wirklich von höchst eigentümlichen und recht großen Differenzen in dieser Hinsicht.

Beide Formen unterscheiden sich in dem Entwicklungsgrade ihrer Muskulatur, obwohl die Verteilung und die gegenseitige Lage der verschiedenen Muskelschichten bei beiden Formen eine ganz gleiche ist. Besonders ist die tiefe Ringmuskelschicht der Körperwand bei der Form *A* viel stärker als bei *B* entwickelt; sie besteht nämlich bei der ersteren aus 6—7, dagegen bei der Form *B* nur aus 2—3 Lagen von Muskelfasern im Querschnitte. Auch die Längsfasermuskulatur ist bei *A* viel stärker entwickelt. Die Form *A* zeichnet sich durch eine stärkere und anders verlaufende ²⁾ Kontraktilität des Körpers aus als die Form *B*, und es scheint, daß dieser Umstand mit sehr starker Verwachsung der Wunde bei der Form *A* verbunden ist, und zwar besonders in den Hinterabschnitten des Körpers. Eine zu starke und vorzeitige Schließung und Verwachsung der Wundränder erschwert aber in hohem Grade die Regenerationsprozesse, was auch z. B. Stevens und Boring bei einigen Planarien nachgewiesen haben (1905) ³⁾.

Wenn wir nun bei beiden Formen einen Querschnitt zwischen den Cerebralorganen und der Mundöffnung führen (Textfigur 1), so daß in dem Vorderabschnitte des Körpers keine Spur des Darmkanals übrig bleibt, das Gehirn aber samt den Cerebralorganen intakt gelassen wird, in dem Hinterabschnitte des Körpers dagegen keine Gehirnganglien und Cerebralorgane vorhanden sind, der ganze Darm aber unbeschädigt bleibt, so finden wir folgende Verhältnisse:

¹⁾ M. Oxner. Comptes Rendus de l'Acad. d. Sc. Paris, 24. Mai 1909.

²⁾ Bei der breiten Form zieht sich der Körper (nach mechanischen Reizen) in der Längsachse sehr stark zusammen, bei der schmalen dagegen kontrahiert er sich viel schwächer und in spiraligen Windungen.

³⁾ Vergl. Przi Bram. Experimentalzoologie. II. T. Regeneration, 1909, S. 58.

1) Alle vorderen Körperabschnitte, d. h. die Kopfabschnitte regenerieren die hinteren Abschnitte des Körpers samt allen Organen, und zwar sowohl bei der Form *B* wie auch bei *A* im Laufe von 1—2 Monaten.

2) Die hinteren Körperabschnitte (ohne Gehirnganglien und Cerebralorgane) zeigen bei der Form *A* zum größten Teil sogar nach

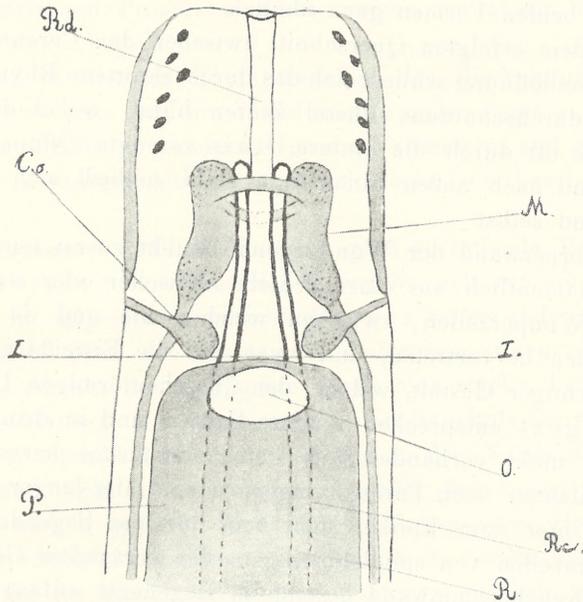


Fig. 1.

Schema zur Erläuterung, wie der Querschnitt I—I geführt worden ist (M Gehirnganglien, Co Cerebralorgane, O Mund, P Vorderdarm, Re Rhynchocölom, R Rüssel).

4—5 Monaten keine eigentliche Regeneration, sondern nur gewisse regulatorische Prozesse (Verschluß der Körperwand, des Darmes, des Rhynchocöloms). Bei der Form *B* dagegen kommt es zur vollständigen Regeneration des Kopfes schon nach 10—20 Tagen. Nur in sehr seltenen Fällen beobachteten wir bei der Form *A* eine teilweise Regeneration des Gehirnes und der Cerebralorgane.

Da wir in unserem nächsten Beitrage die Regeneration der hinteren Körperabschnitte und die seitliche Regeneration zu behandeln beabsichtigen, werden wir hier nur die Resultate unserer Beobachtungen über die Regeneration des Kopfabschnittes darstellen,

welcher die Cerebralganglien, die beiderseitigen Cerebralorgane, das Rhynchodäum mit einem Teile des Rüssels und den vordersten Teil des Rhynchocöloms enthält, jedoch keine Spur des Darmkanals und der Mundöffnung besitzt, da der Querschnitt vor der Mundöffnung geführt worden ist. Dieser Kopfabschnitt regeneriert sehr gut bei beiden Formen, und die inneren Prozesse verlaufen gleicherweise bei beiden Formen ganz ähnlich.

Nach dem erfolgten Querschnitt zwischen den Cerebralorganen und der Mundöffnung schließt sich das durchschnittene Rhynchocölom und der durchschnittene Rüssel hinten blind, wobei das blinde Rüsselende oft durch die hintere, etwas verengte Öffnung in der Körperwand nach außen hinausragt. Bald schließt sich auch die Körperwand selbst.

Die Körperwand der Wundgegend besteht zuerst nur aus dem Epithel, namentlich aus einer Schicht kubischer oder etwas abgeplatteter Wimperzellen, zwischen welchen hie und da spärliche Drüsenzellen hervortreten, und zwar nur die Eiweißdrüsen¹⁾ von flaschenförmiger Gestalt, welche den „flaschenförmigen Drüsenzellen“ Bürgers entsprechen. Andere Drüsen sind in dem Hautepithel noch nicht vorhanden und treten erst später hervor. Weder Muskelschichten noch Parenchymgewebe sind hier längere Zeit vorhanden. Unter dem Epithel sieht man nur lose liegende einzelne Mesenchymzellen von spindelförmiger oder verästelter Gestalt.

Die Rhynchocölomwand besteht im Regenerat anfangs aus einer Schicht von abgeplatteten oder kubischen Epithelzellen; an der Außenseite derselben treten etwas später gewöhnlich zwei Zellschichten hervor mit nur schwach angedeuteter, stellenweise sogar überhaupt nicht sichtbarer Grenze zwischen den einzelnen Zellen und mit stark verlängerten, oval oder oval-stäbchenförmigen Kernen. Diese beiden Schichten sind Anlagen der künftigen Muskula-

¹⁾ Wir finden bei unserer Art im Hautepithel drei Arten von Drüsenzellen; zwei Arten sind von seröser Natur (ihr Sekret färbt sich intensiv z. B. mit Eosin, Orange) und unterscheiden sich voneinander dadurch, daß die einen auf der Höhe des Epithels, die anderen aber unter der Epithelschicht liegen und mit langen Ausführungsgängen versehen sind; die dritte Art von Drüsen sind die Schleimdrüsen, welche in Packeten tief unter dem Epithel gelagert und gleichfalls mit langen Ausführungsgängen versehen sind; ihr Sekret färbt sich intensiv blau mit Hämatein I A, sehr stark mit Mucikarmin, mit Toluidinblau, Thionin, was auf seine schleimige Natur hinweist.

tur des Rhynchocölooms und stammen direkt aus der Muskulatur des alten Abschnittes des Rhynchocölooms. Am Hinterpole des jungen Regenerates grenzt das Epithel der Körperwand an diese muskelbildende Zellschicht der Rhynchocöloomwand, und es sind zwischen beiden Schichten hier nur enge Spalten vorhanden.

In der Epithelwand des Rhynchocölooms finden wir bald sehr charakteristische Veränderungen, die im engen Zusammenhange mit einigen wichtigen Prozessen stehen, welche wir zuerst beschreiben werden.

Nennen wir das im Kopfe zwischen der Muskulatur der Körperwand einerseits und der Wand des Rhynchocölooms und dem Gehirne andererseits vorhandene Gewebe Parenchym und analysieren näher die histologischen Bestandteile dieses Gewebes bei unserer Spezies.

Wir müssen vor allem die nicht ganz zutreffende Verallgemeinerung Bürger's vervollständigen, welche sich auf die Heteronemertinen im allgemeinen bezieht. Bürger äußert sich nämlich folgendermaßen: „Bei den Meso- und Heteronemertinen ist das Leibesparenchym aus der Kopfspitze durch eine starke, hauptsächlich aus Längsfibrillen zusammengesetzte Kopfmuskulatur verdrängt“. Bei unserer Spezies finden wir dagegen in dem Kopfabschnitte des Körpers und sogar in der Kopfspitze außer den Longitudinalmuskelfasern und in radiärer Richtung sich kreuzenden Muskelfasern ein üppig entwickeltes Parenchymgewebe, in dessen Interzellularsubstanz die für die Nemertinen so charakteristischen, zahlreichen, kleinen blasigen Zellen mit kleinen, rundlichen oder ovalen Kernen liegen. Aber außer diesen Zellen finden wir auch zwischen den oben erwähnten Elementen, wie auch direkt unter dem Hautepithel und zwischen den Muskelfasern manche andere, lose liegende Zellenarten von mesenchymatischer Natur, welche den Montgomery'schen „Bindegewebszellen“ zugerechnet werden müssen. Wir können folgende Typen dieser Zellen unterscheiden, welche bei einigen Exemplaren in größerer, bei anderen in geringerer Anzahl hervortreten: 1) Zellen mit großem Kerne und spärlichem Plasma, in denen der Kern gewöhnlich eine exzentrische Lage zeigt; 2) typische spindelförmige oder verästelte Mesenchymzellen, mit 2, 3, 4 plasmatischen Fortsätzen und mit rundlich ovalen Kernen; 3) verhältnismäßig große Zellen mit einem Durchmesser, der manchmal denjenigen der blasigen Parenchymzellen doppelt oder

dreifach übertrifft, mit kurzen stumpfen plasmatischen Fortsätzen und blassem, rundlichem, gewöhnlich exzentrisch liegendem Kerne; im Plasma dieser Zellen liegen zahlreiche, stark lichtbrechende Körnchen von grüner, gelblich-grünlicher oder bräunlicher Farbe. Die Zellen dieses letzten Typus besitzen oft Kerne von länglicher, biskuitförmiger Gestalt, manchmal auch zwei Kerne, was für die amitotische Teilung derselben spricht. Sie stellen sehr wahrscheinlich Wanderzellen dar, und wir werden sie so bezeichnen. Die in ihrem Plasma vorhandenen Körnchen sind teilweise Produkte der darin stattfindenden chemischen Umsetzungen, teilweise aber sind es Produkte, welche die Zellen im Wege der intrazellularen Ernährung aufgenommen haben, und zwar sind es vor allem aufgenommene Pigmentkörnchen, welche in großer Anzahl im Parenchym, besonders in der Nähe des Körperepithels frei zerstreut liegen.

Eine Anzahl dieser Wanderzellen befindet sich ziemlich tief im Parenchym in nächster Nachbarschaft der Gehirnganglien, des Rhynchodäums und der Cerebralorgane, andere sind mehr oberflächlich gelagert, knapp unter dem Körperepithel. Wir haben mehrere Gründe zur Annahme, daß auch die gewöhnlichen „blasigen“ Parenchymzellen bei dem verwundeten Tiere wenigstens zum Teil in Wanderzellen übergehen können.

Von dem Momente an, wo sich die durchschnittene Rhynchocöломwand hinten blind geschlossen hat, beginnen sich die Wanderzellen in der Nachbarschaft der Wunde zu sammeln, und in dem Maße, wie sich die Körperwand schließt und das Rhynchocöлом zu wachsen beginnt, steigt beträchtlich die Anzahl der erwähnten, mit vielen Körnchen beladenen Zellen in der Umgebung der betreffenden Organe. Es ist außerordentlich interessant, daß die Wanderzellen nicht bloß die im Parenchym zerstreuten Pigmentkörnchen, sondern auch das Pigment der Augen auf phagozytösem Wege in sich aufnehmen. Man kann beobachten, daß mit dem Beginn der Regeneration die Augen ganz unmerkbar werden, da sie ihr Pigment verlieren und erst viel später, sekundär wieder zum Vorschein kommen; auf Schnitten sieht man auch, daß die Pigmentkörnchen der Augen in dem umgebenden Parenchym frei zu liegen kommen und dort bald von den Wanderzellen aufgenommen werden. Auch ist es sehr interessant, daß manche der tief in der Kopfpartie des Körpers in das Parenchym eindringenden, serösen Drüsenzellen der Haut sich von ihren Ausführungskanälen abtrennen und gleichfalls

von den Wanderzellen aufgenommen werden. Wir finden oft große Wanderzellen mit ganz peripherisch liegenden Kernen; das Plasma enthält zahlreiche Pigmentkörnchen und große Klumpen seröser Substanz, die sich ganz ähnlich wie die serösen Drüsenzellen der Haut (z. B. sehr intensiv mit Eosin oder mit Orange) färbt.

Die Wanderzellen bewegen sich teils passiv infolge der Kontraktion der Muskulatur, was in vivo sehr gut zu sehen ist, teils aber sehr wahrscheinlich auch aktiv, wofür die pseudopodienartigen Fortsätze bei vielen Zellen zu sprechen scheinen.

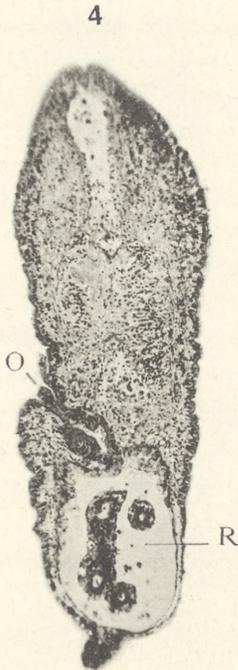
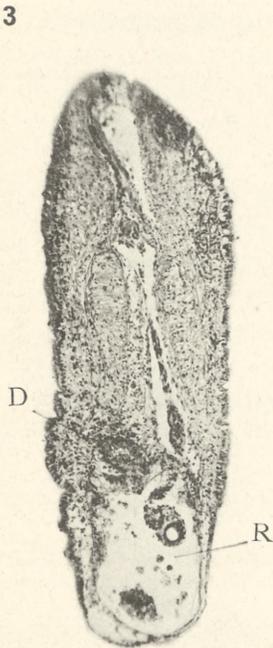
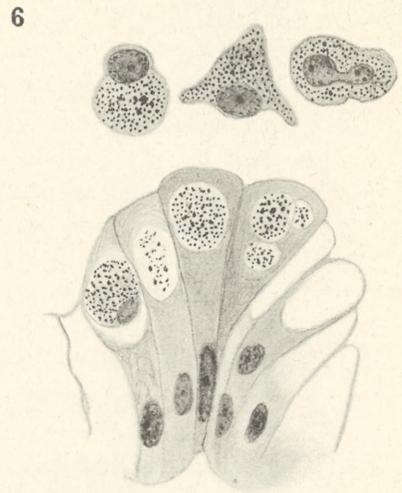
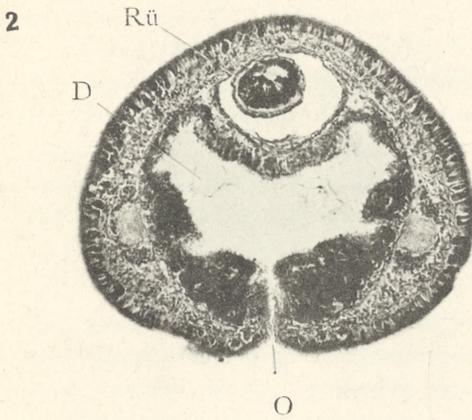
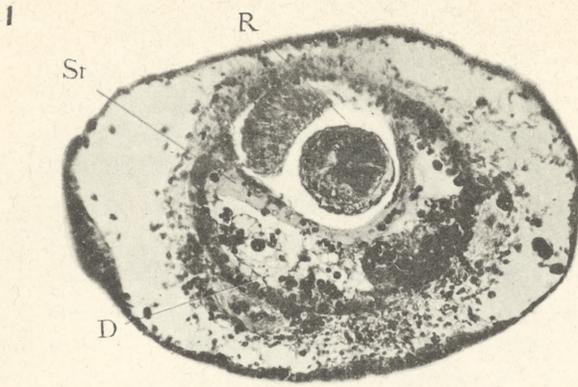
Zum größten Teil häufen sich die Wanderzellen näher an der Bauchseite des Körpers an, zwischen der Rhynchocöломwand und der Körperwand. Über die weiteren Schicksale dieser mit Körnchen beladenen Zellen wird etwas weiter unten die Rede sein, und wir wollen uns vorderhand mit dem Verhalten des Rhynchocöлом im Regenerate näher befassen. Die epitheliale Wand des neugebildeten Rhynchocöлом besteht, wie wir wissen, aus einer Schicht abgeplatteter oder kubisch abgeplatteter Zellen. Nun bemerkt man, daß an manchen Stellen, und zwar entweder nur in dem mehr vorderen Teile der neuregenerierten Rhynchocöломwand oder im ganzen Verlaufe derselben auf der Bauchseite das Epithel höher wird, namentlich kubisch oder kubisch-zylindrisch und vakuolenreich erscheint, daß an eben diesen Stellen viele Wanderzellen zwischen die benachbarten Epithelzellen und in dieselben eindringen. An diesen Stellen bemerkt man eine rege Proliferation der Epithelzellen, so daß hie und da mehrere Schichten Epithelzellen, die unregelmäßig angehäuft sind, erscheinen. Gleichzeitig wächst auch energisch der Rüssel, der hinten ebenfalls blind geschlossen ist und einige Windungen in dem Rhynchocöлом macht, so daß er auf Schnitten zwei-, drei- oder mehrmals durchgeschnitten erscheint.

Jetzt folgt ein höchst interessanter Prozeß im Verhalten des neugebildeten Teiles des Rhynchocöлом, der nach zwei etwas differenten Typen verläuft, die jedoch sowohl bei der schmalen, wie auch bei der breiten Form ohne Unterschied hervortreten können: 1) Bei manchen Individuen tritt namentlich eine knospenartige Ausstülpung des Epithels der Rhynchocöломwand auf der Bauchseite des mehr vorderen breiteren Abschnittes des neugebildeten Rhynchocöлом auf. Die Ausstülpung wächst gegen die Bauchseite und nach vorne, kommt mit dem Epithel der Körperwand in Berührung, verwächst hier mit demselben und an dieser Stelle kommt

es zum Durchbruche der Mundöffnung, wobei das Epithel gleichzeitig eine sehr seichte trichterförmige Vertiefung bildet, eine Art Mundbucht. Erst nach der Bildung der Mundöffnung trennt sich die Darmanlage von der Wand des Rhynchocölooms ab, wobei noch zu bemerken ist, daß gewöhnlich, bevor es noch zur vollständigen Abtrennung kommt, die Darmanlage sich in zwei Abschnitte zu differenzieren beginnt, einen vorderen — den künftigen Vorderdarm, und einen hinteren — den künftigen Mitteldarm, wobei das Epithel dieses letzteren viel höher und viel blasser wird als dasjenige des Vorderdarmes. In Fig. 3 sehen wir, wie die Darmanlage noch im Zusammenhange mit der Rhynchocöломwand steht, in Fig. 4 sieht man die neugebildete Mundöffnung (O). In Fig. 5 u. 7 ist schon eine Differenzierung in Vorderdarm und Mitteldarm zu sehen. Der After (A) entsteht infolge des Durchbruches der zusammengewachsenen Wände: des Darmes und des Hautepithels.

2) In dem anderen Typus der Darmbildung (ebenfalls aus der Wand des Rhynchocölooms) erscheinen seitlich zwei Längsfalten in der epithelialen Wand des Rhynchocölooms, welche gewöhnlich zuerst in dem mehr vorderen Abschnitte des neugebildeten Rhynchocölooms hervortreten und sich erst etwas später auch gegen das Hinterende desselben erstrecken. Sie wachsen gegeneinander, treffen sich und bilden eine Scheidewand aus zwei Schichten Epithelzellen bestehend, welche zwei geräumige Höhlen voneinander trennt: eine dorsal liegende, d. h. das eigentliche Rhynchocöлом, und das ventral liegende, d. h. die Darmhöhle. Allmählich kommt es zur vollständigen Differenzierung und Abtrennung beider Organe. In Fig. 1 sehen wir im Querschnitte eine Scheidewand (St) in dem primitiven, neugebildeten Rhynchocöлом: die dorsale (R) Höhle (eigentliches Rhynchocöлом) enthält den Rüssel (zweimal im Durchschnitte gesehen), die ventrale (D) stellt den Darm dar. Der sich vom Rhynchocöлом abtrennende Darm wächst mit dem vorderen, blinden Ende nach vorne und ventral, wo es, wie im vorigen Typus, zur Bildung der Mundöffnung kommt. In Fig. 2 sieht man im Querschnitte die neugebildete Mundöffnung.

Die oben beschriebene Darmentwicklung ist höchst interessant vom allgemein biologischen Standpunkte; ein ganzes neues Organ entsteht während der Regeneration aus einem anderen Organe, von welchem es genetisch und anatomisch vollkommen



unabhängig ist. In allen ¹⁾ anderen Fällen regeneriert bekanntlich bei den Würmern der neue Darm vom alten her, und es kommt nur höchstens zur Beteiligung des Körperepithels (Ektoderms) an der Bildung des Stomo- und des Proktodäums, hier ist aber irgendwelche Beteiligung des alten Darmes ausgeschlossen, da durch die Operation keine Spur desselben im vorderen Körperabschnitte zurückgeblieben ist. Und dennoch kommt eine höchst merkwürdige Reparation zustande, indem der ganze neue Darmkanal sich aus einem benachbarten Organe durch Umdifferenzierung seiner Elemente entwickelt.

Jetzt können wir zu der Rolle unserer Wanderzellen zurückkehren.

Wie schon oben gesagt, dringen sie massenhaft in das Epithel des neugebildeten Teiles des Rhynchocöloms, und zwar besonders in die ventrale Wand desselben, aus welcher der Darm den Anfang nimmt. In die Epithelzelle gelangt, unterliegt die Wanderzelle einer ganzen Reihe von wichtigen, retrogressiven Veränderungen: ihr Kern wird immer chromatinärmer, blasser und verschwindet endlich spurlos, um das körnchenreiche und pigmentreiche Plasma der Wanderzelle herum bildet sich im Plasma der Epithelzelle eine ansehnliche Vakuole, das Plasma der Wanderzelle unterliegt endlich einer vollständigen Degeneration, es zerfällt gänzlich in Körnchen, welche in den Vakuolen der Epithelzellen liegen und allmählich vollständig verdaut und absorbiert werden und ganz verschwinden. Wenn sich der Darm von der Rhynchocölomwand abgetrennt hat, liegen die Wanderzellen und ihre Produkte fast ausschließlich schon in den Epithelzellen des Darmes, und wenn der Darm sich in Vorderdarm und Mitteldarm differenziert hat, sehen wir noch sehr viele, wahrscheinlich etwas später eingedrungene Wanderzellen in den hohen, vakuolenreichen Epithelzellen des Mitteldarmes, wo sie ebenfalls verdaut werden. (Vergl. Fig. 6). Die Wanderzellen dringen nicht nur in die Wände des Rhynchocöloms und des sich bildenden Darmes, sondern auch teilweise in das Gewebe des sich regenerierenden Rüssels und sogar in das Gewebe der sich regenerierenden Nervenstämme, obwohl sie hier nur in sehr spärlicher Anzahl zu finden sind. Außerdem dringen

¹⁾ Vergl. J. N u s b a u m. Vergleichende Regenerationsstudien. Polnisches Archiv für med. u. biol. Wiss. 1901, und Zeitschrift f. wiss. Zoologie. Bd. LXXIX (1905) und LXXXIX (1908).

sie zwischen Epithelzellen hindurch in das Lumen des Darmes, wo sie manchmal massenhafte Anhäufungen bilden, sich zu großen Massen, Schollen zusammenballen, einem Zerfalle in Körnchen und einer vollständigen Degeneration unterliegen und endlich ebenfalls verdaut werden. Zu diesen im Darmlumen liegenden Wanderzellen gesellen sich auch die vom alten Teile des Rhynchocöloms stammenden und noch übriggebliebenen „Rhynchocölomkörperchen“, welche übrigens ganz demselben weiteren Schicksal anheimfallen. Die Rhynchocölomkörperchen gelangen in das Darmlumen während der Zeit, in welcher der sich bildende Darm noch in offener Verbindung mit dem Rhynchocölom steht, und unterliegen hier einer Degeneration und Resorption. Auf diese Weise wird eine große Masse von Zellen in dem Regenerate zum Zwecke der Ernährung und des Wachstums der neuen Gewebe verbraucht. Neue Organe entwickeln sich und wachsen im Regenerate auf Kosten einer großen Anzahl zugrundegehender Zellen aus den alten Partien des Körpers. Es ist dies eine Art von komplizierter Morphallaxis, verbunden mit der Phagocytose und mit der eigentlichen Regeneration.

In dem Maße, wie das zugrundegehende Zellenmaterial der alten Körperpartien im Regenerate verbraucht wird, verschmälert sich der anfangs verhältnismäßig breite Kopfabschnitt immer mehr, bis endlich das Regenerat ebenso breit wird wie der alte Körperabschnitt. Wir können also sagen, daß anfangs nur die eigentliche Regeneration hervortritt, und erst etwas später die morphallaktischen Prozesse sich dazu gesellen und Oberhand gewinnen.

Der After entsteht durch das Zusammenwachsen des hinteren blinden Endes des Darmes mit dem Hautepithel, wo ein Durchbruch der Öffnung zustande kommt; das Hautepithel bildet keine proktodäale Einstülpung.

Am Hinterende des Regenerates sehen wir eine Zeitlang eine kleine epitheliale Knospe (Vergl. Fig. 4); diese besteht aus einer Schicht Epithelzellen und enthält ein wenig mesenchymatisches Gewebe, welches eine provisorische endothelartige Auskleidung des Lumens bildet. Die Bildung erinnert etwas an das „Schwänzchen“, welches Dawydoff bei der Regeneration des *Cerebratulus* beschrieben hat. Diese provisorische Epithelknospe verschwindet aber ziemlich zeitig.

Der Rüssel regeneriert aus dem noch übrig gebliebenen alten Teile; wenn er aber ausgestoßen worden ist, bildet sich der neue Rüssel aus der Wand des Rhynchodäums, und zwar an der Stelle, wo das Rhynchodäum in das Rhynchölom übergeht.

Die beiden Nervenstämme regenerieren einfach durch Wachstum der alten Abschnitte derselben. Ob sich aber auch das Ektoderm am Hinterende des Regenerates an der Bildung der Nervenstämme beteiligt, wie es Dawydoff für *Cerebratulus* angenommen hat, können wir vorläufig nicht mit voller Bestimmtheit sagen.

Erklärung der Tafel I.

Fig. 1—5 und 7 stellen mikrophotographische Aufnahmen dar; Fig 6 ist mit einer Zeichnungskammer abgebildet.

Bedeutung der Buchstaben.

- D — Darm
- R — Rhynchocölom
- Rü — Rüssel
- O — Mundöffnung
- A — After
- St — Scheidewand.

Fig. 1. Querschnitt durch den regenerierten hinteren Körperschnitt eines *Lineus ruber*, 28 Tage nach der Operation. Breite Form. Eine Scheidewand (St) grenzt das definitive Rhynchocölom von der Darmhöhle ab; in der Wand und in der Höhle des Darmes liegen sehr zahlreiche, tief gefärbte Wanderzellen; im Rhynchocölom liegt der Rüssel (R) zweimal durchgeschnitten (186-fache Vergr.).

Fig. 2. Querschnitt durch den regenerierten hinteren Körperabschnitt des *Lineus ruber*, im Niveau der neugebildeten Mundöffnung, 35 Tage nach der Operation, Schmale Form (186-fache Vergr.).

Fig. 3 u. 4. Sagittalschnitte (von derselben Schnittserie) durch den *Lineus ruber*, 21 Tage nach der Operation. Schmale Form. (116-fache Vergr.). In Fig. 3 erscheint der Darm als eine Ausstülpung der Rhynchocölomwand; in Fig. 4 sieht man auch die neugebildete Mundöffnung (O).

Fig. 5 u. 7. Sagittalschnitte durch den *Lineus ruber* (schmale Form), 30 Tage nach der Operation, Fig. 5 schwache Vergrößerung, Fig. 7 etwas stärkere (zirka 185-fache) Vergrößerung.

Fig. 6. Oben einige Wanderzellen, mit Körnchen gefüllt, unten einige Epithelzellen des regenerierenden Darmes mit Vakuolen, in welchen Reste der Wanderzellen liegen (Ok. Komp. 4. S. Apochr. hom. Imm. 4 mm. Zeiss).

Przyczynek do embryologii chrząszcza Agelastica alni L.
— *Ein Beitrag zur Embryonalentwicklung der Agelastica alni L.*

Mémoire

de M. **BENEDYKT FULIŃSKI,**

présenté par M. J. Nusbaum m. c. dans la séance du 3 Janvier 1910.

In seiner Monographie über die Entwicklungsgeschichte der Chrysomeliden gelangte Lécaillon (3) in betreff der Mitteldarmanlage zu einer der Heymons'schen (1) vollkommen ähnlichen Auffassung. Als Studiumsobjekt diente ihm unter anderen auch *Agelastica alni L.* Der französische Forscher behandelte aber diese Form nur als gelegentliches Vergleichsobjekt, so daß eine genauere diesbezügliche Untersuchung gewiß von großem Interesse wäre.

In den jüngsten Stadien, die ich untersuchte, tritt an der Oberfläche des Eies eine dotterlose, dünne Plasmaschicht, Weismanns „Keimhautblastem“ hervor, die in das Innere des Dotters zahlreiche Plasmafortsätze entsendet und an manchen Stellen größere, periphere Plasmanhäufungen aufweist. Die Furchungskerne wandern gegen die Eiperipherie und lagern sich bald im Keimhautblastem ab. Die Wanderung der Zellen an die Eioberfläche erstreckt sich über die ganze Eiperipherie, die Zellenanhäufung erscheint jedoch auf der Ventralseite und am hinteren Pol viel größer als an der Dorsalseite und am vorderen Pol des Eies.

Nachdem die Blastodermbildung abgeschlossen ist, werden im Bereiche des Blastoderms zwei Zonen angedeutet: eine ventrale — das Keimektoderm, — die der sog. Mittelplatte und den Seitenplatten entspricht, und eine dorsale, die als Hüllenanlage zu betrachten ist. Die letztere ist aus weit voneinander entfernten Zellen aufgebaut, die erstere weist eine epithelartige Zellenanordnung auf. Bald kommen einige Veränderungen im Blastodermepithel zum Vorschein. An dem hinteren Pole der Keimanlage entwickelt sich

eine ziemlich tiefe Einstülpung; auf diese Weise werden die hintere und die seitlichen Amnionfalten von der übrigen Keimzone abgegrenzt. Durch die weitere Entwicklung und durch Zusammenwachsen der Amnionfalten kommt die Amnionhöhle zustande, deren Wände, wie ich mich auf Grund meiner Beobachtungen überzeugen konnte, aus Zellen des Keimektoderms zusammengesetzt sind. Sobald das ganze Amnionepithel entwickelt ist, kann man in der medianen Region des Keimstreifs näher dem hinteren Eipol, eine Einstülpung — die Gastralrinne — bemerken, die allmählich gegen beide Eipole vorrückt. Infolge dieses Einstülpungsprozesses kommt die Mittelplatte ins Innere des Dotters zu liegen; an zwei Stellen jedoch weist die ventrale Wand der Gastralrinne eine bedeutende Dicke auf, und hier wird die epithelartige Zellenanordnung etwas verwischt. Bei genauer Untersuchung der Querschnittserien bemerkt man, daß solche Stellen am vorderen und am hinteren Pole des Keimstreifs hervortreten. Allmählich gelangt die Entwicklung der Gastralrinne zum Abschluß, und es kommt dadurch eine Abschnürung des unteren Blattes (des primären Entoderms) vom Ektoderm zustande. Das untere Blatt bildet einen breiten Zellenstrang und zieht sich durch die ganze Länge des Keimstreifs, zeigt aber an zwei Stellen, nämlich in der hinteren Partie der Kopfregion und vor dem hinteren Ende des Keimstreifs Zellenanhäufungen, in welchen die Elemente ziemlich unregelmäßig gelagert sind. An diesen Stellen des Keimstreifs hängt das untere Blatt mit dem oberen median zusammen und proliferiert immer neue Zellen gegen den Dotter. Während aus den Produkten des unteren Blattes seitlich das Mesoderm entsteht, bildet sich aus den medianen, längere Zeit mit dem oberen Blatte zusammenhängenden, oben erwähnten Proliferationsfeldern das sekundäre Entoderm oder die Mitteldarmanlage. Während des Gastrulationsprozesses erstrecken sich die Proliferationsfelder über einen großen Teil des Bodens der eingestülpten Mittelplatte, in den späteren Stadien aber erfährt ihr Bereich eine Reduktion. An etwas älteren Keimstreifen kommt vor dem vorderen Proliferationsfelde eine Zellenplatte zum Vorschein, die aus höheren Zellen, als die der benachbarten Ektodermteile, zusammengesetzt ist. Diese Platte stellt die Stomodäalanlage dar. Die vordere Entodermanhäufung, d. h. die vordere Mitteldarmanlage hebt sich ziemlich deutlich von dem nach hinten gelegenen medianen Entodermstreifen

ab und liegt dem Stomodäum von unten an. Während der weiteren Entwicklung wird das Stomodäalende von Entodermzellen bedeckt. Alle Entodermelemente differenzieren sich histologisch sehr deutlich von den mesodermalen Zellen und unterscheiden sich durch Größe ihrer Kerne und durch eine dunklere Tinktion von denselben. An Querschnittserien erkennt man leicht, daß die dem Stomodäum anliegende Mitteldarmanlage eine unpaarige Platte darstellt, nach hinten aber in zwei Streifen übergeht und sich dem Dotter von der Ventralseite anschmiegt. Die vordere Mitteldarmanlage liegt — wie schon gesagt — in ihren jungen Stadien dem Stomodäum von unten an und weist einen unpaarigen Bau auf. Nachdem aber das Stomodäum an Länge zugenommen hat, verläßt es sowie auch die Mitteldarmanlage die frühere Lage, und die letztere wächst nach hinten gegen das Stomodäalende. Inzwischen lösen sich von ihr einige Zellen ab, wandern nach dem Epineuralsinus, wo sie zu Blutzellen werden. Während der weiteren Entwicklung nimmt die vordere Mitteldarmplatte einen paarigen Bau an und besteht aus zwei seitlichen verdickten Teilen, die durch eine enge Brücke verbunden sind. In diesem Stadium erkennt man bei anderen Insekten den sog. Subösophagealkörper, der nach einigen neueren Untersuchungen von entodermaler Herkunft ist. Bei *Agelastica alni* konnte ich ihn nicht finden.

Die Entwicklung der Mitteldarmanlage am Proktodäalende vollzieht sich ganz ähnlich wie am Stomodäum. Die proktodäale Einstülpung ist anfangs seicht und grenzt nach hinten an die Amnionlamelle. Vor dem angelegten Proktodäum erstreckt sich die hintere Entodermhäufung, die viel größer ist als die vordere. Die Entodermzellen dringen ziemlich weit unter den Dotter nach vorne und zeigen eine unregelmäßige Anordnung. Während der weiteren Entwicklung gehen sie oralwärts in zwei Streifen über. Durch eine vollkommene Verwachsung dieser Entodermstreifen mit den entodermalen Elementen in der medianen Region des Keimstreifens kommt es zur Entwicklung einer unpaarigen Zellenplatte, die zuerst den Dotter auf seiner Ventralseite umgibt, später aber auf beiden Seiten dorsalwärts emporwächst, bis sich ihre Ränder auf der Dorsalseite des Eies zu einem Rohr zusammenschließen. Die Entwicklung des Mitteldarmes ist damit vollendet. Der Abschluß des Mitteldarmrohres vollzieht sich zuerst in der Umgebung des

Stomo- und Proktodäums, etwas später in den in der Mitte des Keimstreifens gelegenen Parteen.

In der Entwicklung des Mitteldarms spielen die oben erwähnte vordere und die hintere Entodermanhäufung eine sehr wichtige Rolle. Sie sind schon im Gastrulastadium sehr scharf angedeutet. Während der weiteren Entwicklung verwachsen sie mit der Wand des Stomo- und Proktodäums, welche immer neue Elemente zur Bildung des Darmepithels liefert. Ihren embryonalen Charakter behält diese Wand sehr lange bei und zeichnet sich noch in den späteren Stadien durch eine sehr rasche Zellenproliferation aus.

Aus dieser kurzen Darstellung der Entwicklungsgeschichte der *Agelastica* ergibt sich folgendes:

1) Die Entwicklung des sog. Blastoderms vollzieht sich ganz ähnlich, wie bei anderen Chrysomeliden, die morphologischen Zonen aber werden bei *Agelastica* nicht so scharf angedeutet, wie es bei anderen Hexapoden der Fall ist, indem die ventrale Partie des Blastodermepithels — das Keimektoderm — zwei Seitenplatten und eine Mittelplatte bildet, die ineinander übergehen.

2) Die Amnionfalten entwickeln sich aus dem Keimektoderm. Die Amnionhöhle tritt vor dem Gastrulationsprozesse hervor.¹

3) Im Gastrulationsvorgange haben wir es mit einer echten Einstülpung zu tun, wodurch die Mittelplatte ins Innere des Dotters gelangt und als primäres Entoderm gedeutet werden muß. Der Abschluß der Gastralrinne vollzieht sich auf der ganzen Länge des Keimstreifs; nur an zwei Stellen, im vorderen und im hinteren Teil des Embryos, kommt es noch längere Zeit hindurch zu keinem Verschuß. Die diesbezüglichen Verhältnisse, die bei *Agelastica* festgestellt wurden, erinnern sehr an die bei anderen von Hirschler beschriebenen Chrysomeliden, wie z. B. *Donacia* und *Gastroidea*. Die kritischen Stellen werden Proliferationsfelder genannt und sind als Blastoporusreste zu betrachten.

4) Die Proliferationsherde werden während der weiteren Entwicklung dem Stomo- und Proktodäumepithel angelegt, welches an der definitiven Entwicklung des Darmtractus teilnimmt, indem es immer neue Zellen bildet, die sich den entodermalen Anlagen anschmiegen.

5) In der theoretischen Deutung des Gastrulationsprozesses können wir aus oben erwähnten Gründen der Lécaillon'schen Auffassung nicht beistimmen. Das untere Blatt müssen wir, wie es

schon in manchen neueren Arbeiten (Nusbaum, Hirschler, Fuliński) nachgewiesen wurde, als primäres Entoderm betrachten, welches sich in ein sekundäres Entoderm und in das Mesoderm differenziert.

Zoologisches Institut der Universität Lemberg.

Literaturverzeichnis.

- 1) R. Heymons: Über die Bildung der Keimblätter bei den Insekten. Sitzungsberichte d. k. preuß. Akad. d. Wiss. Berlin 1894.
 - Die Embryonalentwicklung von Dermapteren u. Orthopteren. Jena 1895.
 - Drei neue Arbeiten über Insektenkeimblätter. Zool. Zentralbl. Bd. XII, 1905.
- 2) J. Hirschler: {Embryologische Untersuchungen an *Catocala nupta* L. Bull. de l'Acad. d. Sc. Cracovie, 1906.
 - Spostrzeżenia nad rozwojem zarodkowym motyli. (Entwicklungsgeschichtliche Studien an Lepidopteren). Arch. naukowe (Wiss. Arch.) Bd. I. 1907.
 - Beiträge zur embryonalen Entwicklung der Coleopteren. Bull. de l'Acad. d. Sc. Cracovie, 1908.
 - Über die Entwicklung der Keimblätter und des Darmes bei *Gastroidea viridula* Deg. (Coleoptera). Bull. de l'Acad. d. Sc. Cracovie, 1909.
 - Die Embryonalentwicklung von *Donacia crassipes* L. Zeit. f. wiss. Zool. Bd. XCII. 1909.
- 3) A. Lécaillon: Contribution a l'étude des premiers phénomènes du développement chez les Coléoptères. Arch. d' anat. microsc. T. I. 1897.
 - Recherches sur l'oeuf et sur le développement embryonnaire de quelques Chrysomélides. Paris 1898.
- 4) J. Nusbaum: Przyczynek do embryologii maika (*Meloë proscarabaeus* Marsh.) Kosmos 1891.
- 5) J. Nusbaum u. B. Fuliński: Über die Bildung der Mitteldarmanlage bei *Phyllodromia (Blatta) germanica* L. Zool. Anzeiger. Bd. XXX, 1906.
 - Zur Entwicklungsgeschichte des Darmdrüsenblattes bei *Gryllotalpa vulgaris* Latr. Zeit. für wiss. Zool. Bd. XCIII, 1909.

O niektórych anomaliach w budowie przewodów płciowych u ślimaka winniczka. — Über einige Abnormitäten im Baue der Geschlechtsausführungsgänge bei Helix pomatia L.

Mémoire

de M. **GUSTAW POLUSZYŃSKI**,

présenté par M. J. Nusbaum m. c. dans la séance du 3 Janvier 1910.

Der Genitalapparat von *Helix pomatia* ist, wie bekannt, nach dem „pseudo-diaulen“ Typus gebaut. Dieser entsteht aus dem „triauxen“ Typus auf diese Weise, daß die Verbindung des Receptaculumganges mit dem Ovidukt während der Keimentwicklung aufgehoben wird und daß als Spur dieser früheren Verbindung auf dem Receptaculumgange oft ein kurzes Divertikel übrigbleibt. Die bisherigen Beobachtungen über das quantitative und qualitative Auftreten dieses Divertikels sind recht spärlich.

Auf 125 untersuchte Weinbergschnecken fand ich das oben erwähnte Divertikel bei 40 Individuen, also bei 32% entwickelt. Bei Exemplaren, welche aus verschiedenen, obgleich nicht weit entfernten Gegenden stammten, war aber dieses Verhältnis außerordentlich verschieden, es betrug nämlich 4·5, 12·5, 18·5 und endlich 76·31%. Wie schon J. Meisenheimer¹⁾ bemerkt hat, ist dieses Divertikel bei *Helix pomatia* zu einem mehr sporadisch, aber in bestimmten Gegenden durchaus nicht selten auftretenden Anhängsel geworden. Dazu kann ich noch bemerken, daß das quantitative Auftreten dieses Divertikels sehr verschieden ist, daß in manchen Gegenden Individuen ohne dieses Divertikel in größerer Anzahl vorkommen, in anderen dagegen die mit einem Divertikel versehenen Formen überwiegen. Da das Di-

¹⁾ J. Meisenheimer: Biologie, Morphologie und Physiologie des Begattungsvorganges und der Eiablage von *Helix pomatia*. Zool. Jahrb. System. Bd. XXV. 1907

vertikel ein Hemmungsprodukt der embryonalen Entwicklungsprozesse ist, wird man die Ursache dieses Schwankens in den äußeren, auf diese Prozesse einwirkenden Umständen suchen müssen, wobei gewiß auch die Vererbung mit in Betracht kommt.

Es kommt zuweilen vor, wie das Semper¹⁾ beschrieben hat, daß die embryonale Verbindung des Receptaculumganges mit dem Spermovidukt nicht aufgehoben wird, sondern sich infolge einer Hemmung der Entwicklungsprozesse erhält. Es gelang mir, eine solche Verbindung bei einer Weinbergschnecke zu finden, bei welcher noch außerdem kein Receptaculum seminis vorhanden war. Der Receptaculumgang mündete aber in diesem Falle weder in den Samen- noch in den Eiergang, sondern war mit der Prostata zusammengewachsen und öffnete sich einfach am oberen Ende in das die Prostata umgebende lockere Bindegewebe. Diese embryonale Eigenschaft des Receptaculumganges, wie auch die andere phylogenetisch noch ältere, nämlich das Fehlen des Receptaculum seminis, sind als Hemmungsprodukte der embryonalen Entwicklungsprozesse zu deuten.

Eine sehr interessante Abnormität im Bau des Genitalapparates von *Helix pomatia* bildet die bisher nirgends beschriebene und von mir bei 5 Individuen gefundene lokale Verdoppelung des Receptaculumganges. Diese Verdoppelung besteht darin, daß der Receptaculumgang auf einer kleinen Strecke sich in 2 Äste teilt, die sich dann wieder verbinden. Der histologische Bau dieser beiden Äste des Receptaculumganges war ganz gleich, interessant aber ist die Tatsache, daß in allen Fällen die Epithelzellen sich in jedem dieser Äste in einem anderen sekretorischen Zustande befanden, in dem inneren Aste waren sie nämlich ganz mit Sekret gefüllt und in dem äußeren war das Sekret aus den Zellen meist schon entleert worden. Es ist höchst wahrscheinlich, daß diese Entleerung durch das Vorrücken der Spermatophore veranlaßt worden war. Diese Funktion des äußeren Astes scheint dafür zu sprechen, daß dieser Ast dem eigentlichen Receptaculumgange äquivalent ist, während der innere Ast dem oben beschriebenen Divertikel homolog ist. In der Tat kann man die Entstehung dieser Verdoppelungen nur als ein sekundäres Zusammenwachsen des Divertikels mit

¹⁾ C. Semper: Über Brock's Ansichten über Entwicklung des Mollusken-Genitalsystems. Arb. des Zool. Inst. Würzburg. Bd. VIII, 1888.

dem Receptaculumgange deuten. Als Beweise für diese Meinung können folgende Tatsachen dienen: 1) Die Verdoppelungen befanden sich immer ungefähr in gleicher Höhe, wie das Divertikel aufzutreten pflegt. 2) In einem Falle, in welchem sich oberhalb der Verdoppelung ein Divertikel befand, ging das Epithel des äußeren Ganges in unverändertem Zustande in das Epithel des Divertikels über. 3) In einem anderen Falle befand sich in dem inneren Gange eine deutliche Einschnürung. Diese Einschnürung liefert uns einen greifbaren Beweis dafür, daß in diesem Falle wirklich ein Zusammenwachsen stattgefunden hat, daß aber die Bedingungen für diesen Prozeß hier nicht so günstig lagen, wie in den übrigen Fällen, wo sich eine vollständige Verbindung entwickelt hat. Man wäre vielleicht versucht anzunehmen, daß diese Verdoppelungen durch eine Spaltung des Receptaculumganges in zwei Teile zustande gekommen sind, aber diese Annahme besitzt eine geringere Wahrscheinlichkeit als die erste, da man hier eine hypothetische Fähigkeit des Receptaculumganges voraussetzen muß, während die erste Annahme sich nur auf das Divertikel bezieht, welches, wie wir oben gesehen haben, überhaupt verschiedenen Modifikationen unterliegen kann.

Es gelang mir noch, eine bisher unbekannte Abnormität im Bau des Genitalapparates der Weinbergschnecke zu entdecken. Es war nämlich ein akzessorisches Gebilde, welches sich an dem Receptaculumgange befand und durch seine Gestalt und rötlich-weißliche Farbe dem Receptaculum seminis en miniature sehr ähnlich sah. Sein histologischer Bau entsprach vollständig demjenigen des Receptaculumganges und besonders des Receptaculum seminis selbst. Die Epithelzellen waren stark abgeplattet und die Wände ausge dehnt, weil sich im Innern eine gallertartige, aus den Spermato phoren stammende Masse befand, die verhältnismäßig nur wenige Spermatozoen enthielt. Es ist anzunehmen, daß dieses akzessorische Gebilde durch eine abnorme Ausstülpung der Wand des Receptaculumganges entstanden war.

Am Receptaculumgange vorgenommene Messungen haben erwiesen, daß dessen Länge zwischen den Grenzen von 31·5 mm bis 90 mm schwankte; die Differenz zwischen dem Maximum und dem Minimum der Länge betrug hier also 59 mm, für den Spermovidukt dagegen nur 33 mm. Diese Tatsache liefert uns einen Beweis dafür, daß der Receptaculumgang mehr variabel als der

Spermovidukt ist. Es ist mir nicht gelungen, ein festes Verhältnis zwischen der Länge des Receptaculumganges und des Spermoviduktes zu finden, und deshalb kann ich die Ansicht Scrofani's¹⁾, daß der Receptaculumgang immer länger ist als der Spermovidukt, nicht bestätigen.

Auf Grund der hier angeführten Tatsachen kann ich ganz sicher behaupten, daß der Receptaculumgang, als der phylogenetisch jüngste Teil des Genitalapparates der Weinbergschnecke, ziemlich variabel ist und eine ausgeprägte Fähigkeit besitzt Rückschläge zu bilden. Über diesen Gegenstand werde ich übrigens noch an einem anderen Orte ausführlicher berichten und ihn durch entsprechende Abbildungen illustrieren.

¹⁾ P. Scrofani: L'apparato genitale nei Gasteropodi. Parte 1. I Polmonati. Modica 1900.

(Zoologisches Institut der Universität in Lemberg).

Przyczynek do bakterjologii gleby. — Beiträge zur Bodenbakteriologie.

Mémoire

de M. **ADAM DZIERZBICKI**,

présenté par M. E. Godlewski m. t. dans la séance du 13 Décembre 1909.

Einleitung und Fragestellung.

Die Fruchtbarkeit des Bodens wird nicht nur durch dessen chemische Zusammensetzung und physikalische Eigenschaften bedingt, sondern hängt auch von denjenigen Prozessen ab, durch welche die den Wurzeln schwer zugänglichen Pflanzennährstoffe in leicht assimilierbare übergeführt werden. Diese Umwandlungen der Form der Nährstoffelemente im Boden werden teils durch Verwitterungsprozeß der Mineralbestandteile des Bodens, zum großen Teile aber durch die Lebenstätigkeit verschiedener den Boden bewohnender Mikroorganismen und besonders der Bakterien hervorgerufen. Diese Mikroorganismen ernähren sich von den im Boden enthaltenen pflanzlichen und tierischen Überresten und bewirken dadurch deren Zersetzung. Dieser Prozeß erhöht aber die Menge der assimilierbaren Nährstoffelemente in mehrfacher Weise, und zwar:

1° er wird zur ständigen Quelle der Kohlensäure, welche die Verwitterungsprozesse der mineralischen Bodenbestandteile erleichtert;

2° er bewirkt eine Abspaltung des Ammoniaks von den stickstoffhaltigen organischen Stoffen, wodurch der Stickstoff derselben den Pflanzen unmittelbar zugänglich gemacht und auch zur Nitrifikation fähig wird;

3° er befreit die in den organischen Überresten enthaltenen Mineralsubstanzen aus ihrem Verbande mit organischer Substanz und macht sie dadurch der Pflanzenwurzel zugänglich.

Alle diese Vorgänge werden demnach durch die Lebenstätigkeit der den Boden bewohnenden Mikroorganismen bewirkt. Die Rolle

derselben für die Bodenfruchtbarkeit wird aber damit noch nicht erschöpft. Manchen Bakterien kommt ja die Eigenschaft zu, Ammoniak zu nitrifizieren und den Stickstoff dadurch in eine für die Ernährung höherer Pflanzen besonders geeignete Form überzuführen. Andere Bakterien sind sogar befähigt, den Luftstickstoff zu binden und dadurch den absoluten Stickstoffvorrat des Bodens zu vergrößern. Andererseits gibt es wieder Bakterien, welche Nitratstickstoff in Ammoniak oder in organische Verbindungen zurückverwandeln und dadurch dessen Assimilierbarkeit erschweren, und sogar solche (die s. g. Denitrifikation bewirkende) Bakterien, welche aus den Nitraten freien Stickstoff abspalten und dadurch im Gegensatze zu den stickstoffbindenden Bakterien den Stickstoffvorrat des Bodens vermindern.

Alle diese durch Mikroorganismen im Boden bewirkten Prozesse sind nichts weniger als für die Fruchtbarkeit des Bodens gleichgültig. Aus diesem Grunde ist die Erforschung der Bakterientätigkeit im Boden zu einer der wichtigsten Aufgaben der modernen Agrikulturchemie geworden, welche anderen Forschungsrichtungen dieser Disziplin an Wichtigkeit kaum nachsteht.

Bei der bakteriologischen Bodenuntersuchung begann man mit der Bestimmung der in je 1 g Erde enthaltenen Bakterien mittels Plattenkulturen. Dieses Zählen der auf den Gelatine- oder Agarplatten erwachsenen Kolonien gibt uns recht wenig Aufschluß über die Tätigkeit der Bakterien im Boden, und zwar lernen wir daraus auch dann wenig, wenn wir nicht nur die Gesamtanzahl der Kolonien, sondern auch die Art derselben berücksichtigen, denn einerseits sind wir noch sehr wenig über die Bedeutung einzelner Bakterienspezies, welche man durch Plattenkultur isoliert, unterrichtet, andererseits aber wachsen manche für die sich im Boden abspielenden Prozesse allerwichtigste Bakterien auf den üblichen Kulturplatten überhaupt nicht. Bei dem üblichen Bakterienzählen zieht man auch nicht in Betracht die Virulenz der Bakterien, welche von großer Bedeutung für die Tätigkeit derselben im Boden zu sein scheint.

Etwas bessere Einsicht in den Bakteriengehalt des Bodens gibt uns die von Hiltner und Strömer eingeführte, auf Verwendung entsprechender Verdünnungsverfahren beruhende Methode zur Bestimmung der Anzahl der einen gewissen Prozeß bewirkenden Bakterien durch Ermittlung derjenigen Bodenmenge, welche imstande ist, in geeigneter sterilisierter Nährlösung den betreffenden Prozeß

noch hervorzurufen. Bei dieser Methode nimmt man an, daß die so ermittelte minimale, für das Zustandekommen des betreffenden Prozesses noch ausreichende Bodenmenge nur ein entwicklungs-fähiges Exemplar der diesen Prozeß bedingenden Bakterienspezies enthält. Aber auch bei diesem Verfahren sind wir nicht imstande, der Virulenz der betreffenden Bakterien Rechnung zu tragen.

In Berücksichtigung dieser Schwierigkeiten schlug Remy ¹⁾ eine neue, rein empirische Methode vor, welche ihm in höherem Grade als die oben erwähnten geeignet erschien, mehr Licht auf die Tätigkeit der Bakterien eines gewissen Bodens zu werfen. Die Methode beruht darauf, daß er für den betreffenden Prozeß geeignete, sterilisierte Nährlösung mit einer bestimmten größeren Menge der untersuchten Ackererde impft und die Intensität des Verlaufes des durch diese Impfung hervorgerufenen Prozesses bestimmt. Die Nährlösung variiert je nach dem untersuchten Prozesse. Remy und die späteren Forscher, welche sich seiner Methode bedienten, benutzten nämlich die Beijerincksche Mannitlösung zur Bestimmung der stickstoffbindenden Tätigkeit, die Omelianskische Nährlösung zur Bestimmung der Nitrifikationstätigkeit, die Giltaysche Nährlösung zur Bestimmung der Denitrifikationstätigkeit und eine Peptonlösung zur Bestimmung der Fäulnistätigkeit der in dem untersuchten Boden lebenden Bakterien.

Diese Methode Remy's, welche ziemlich große Verbreitung und Anerkennung unter den Bodenbakteriologen gefunden hat, könnte uns selbstverständlich nur dann eine genaue Einsicht in die unter dem Einflusse der Bakterien im Boden stattfindenden Prozesse gewähren, wenn es als bewiesen gelten könnte, daß ihr Verlauf unter natürlichen Verhältnissen im Boden wenigstens annähernd demjenigen proportional ist, dessen Intensität wir in betreffenden, mit diesem Boden geimpften Nährlösungen bestimmen. Beweise für eine solche Proportionalität sind bis jetzt nicht erbracht worden; nur in bezug auf den Fäulnisprozeß hat es Remy versucht, eine solche Proportionalität durch speziell darauf berechnete Versuche wahrscheinlich zu machen. Dagegen haben aber neulichst Stevens und Withers ²⁾ gezeigt, daß eben in bezug auf Fäulnis

¹⁾ Remy, Zentralblatt für Bakteriologie. Abt. II, B. VIII.

²⁾ Stevens und Withers „Studies in soil bacteriology“ Zentrbl. für Bakteriologie. B. XXIII 1909 S. 355 u. 776.

und auch in bezug auf Nitrifikation eine solche Proportionalität oft gänzlich fehlt. Mag aber dieselbe auch nicht bestehen, so ist doch nicht zu leugnen, daß die Methode Remy's, wenigstens ihrem Prinzip nach, doch imstande ist, uns über den bakteriologischen Zustand des Bodens bessere Aufschlüsse zu geben, als das bloße Zählen der Bakterien an Plattenkulturen, ja in gewisser Hinsicht sogar bessere als das Zählen derselben durch das Verdünnungsverfahren von Hiltner und Strömer. Der Vorzug der Remy'schen Methode vor derjenigen von Hiltner und Strömer besteht darin, daß in den Resultaten derselben nicht nur die Anzahl der den betreffenden Prozeß bedingenden Bakterien, sondern der gesamte bakteriologische Zustand des Bodens seinen Ausdruck findet.

Der bakteriologische Zustand des Bodens kann auf den Verlauf eines gewissen Prozesses in der mit einer bestimmten Menge dieses Bodens geimpften Nährlösung einwirken:

1) durch die Zahl der den betreffenden Prozeß hervorrufenden Bakterien, welche mit der als Impfmateriale benutzten Bodenmenge in die Nährlösung eingeführt werden;

2) durch die Virulenz dieser Bakterien, d. h. durch die Intensität, mit welcher einzelne Individuen dieser Bakterien imstande sind, den betreffenden Prozeß hervorzurufen;

3) durch allgemeine Zusammensetzung der Bakterienflora der Impferde und insbesondere auch durch die Anzahl und die Eigenschaften der in dieser Impferde enthaltenen Bakterien, welche an dem untersuchten Prozesse keinen Anteil nehmen, sich aber in der betreffenden Nährlösung entwickeln können.

Daß die absolute Anzahl der bei dem betreffenden Prozesse wirksamen Bakterien, welche in der zur Impfung benutzten Erdmenge enthalten sind, für sich allein nicht nur für die Intensität des Prozesses nicht entscheidend, sondern sogar von keiner sehr großen Bedeutung ist, folgt schon daraus, daß die Intensität des Prozesses verhältnismäßig wenig von der Menge der zur Impfung genommenen Erde abhängig ist. Von viel größerer Wichtigkeit ist unzweifelhaft das Verhältnis, in welchem die Zahl dieser Bakterien zu der Zahl verschiedener anderer, an dem untersuchten Prozesse nicht beteiligter Bakterien steht, da dieses Verhältnis darüber entscheidet, inwieweit es die fraglichen Bakterien vermögen, in der betreffenden Nährlösung über die anderen, mit ihnen um die Nahrung konkurrierenden Oberhand zu gewinnen.

Daß auch die Virulenz der Bakterien von nicht untergeordneter Bedeutung sein kann, beweist z. B. die Tatsache, daß Reinkulturen von Azotobakter von verschiedener Herkunft ganz verschiedene Befähigung zur Stickstoffbindung haben können (Krzemieniewski).

Alle oben genannten drei Momente des bakteriologischen Zustandes können nicht nur bei verschiedenen Böden verschieden sein, sie können auch in einem und demselben Boden, je nach der Jahreszeit, Witterung, Düngung, mechanischer Bearbeitung, Bepflanzung u. s. w. sehr stark variieren. Die Remy'sche Methode kann uns für die Beurteilung der Gesamtwirkung dieses bakteriologischen Zustandes des Bodens und dessen Abhängigkeit von verschiedenen obenerwähnten Bedingungen sehr behilflich sein und wurde bereits von verschiedenen Forschern dazu mit Erfolg angewendet. Nun ist es aber klar, daß man nur dann berechtigt ist, aus den mit der Remy'schen Methode erhaltenen Resultaten Schlüsse über den bakteriologischen Zustand des untersuchten Bodens zu ziehen, wenn man voraussetzen darf, daß die der Nährlösung als Impfmateriale zugesetzte Erde auf keine andere Weise, als durch Einimpfung der in ihr enthaltenen Bakterien auf den Verlauf des betreffenden Prozesses einwirkt. Trifft diese Voraussetzung nicht zu, so können wir leicht durch die Remy'sche Methode irregeführt werden. Nun ist es aber leicht einzusehen, daß die Einführung einer ziemlich großen Erdemenge zur Nährlösung die Zusammensetzung derselben verändern und sie dadurch für die Entwicklung der eingeführten Bakterien mehr oder weniger geeignet machen kann. In diesem Falle wird die Intensität des untersuchten Prozesses nicht allein durch den bakteriologischen Zustand der Impferde, sondern auch durch deren Zusammensetzung beeinflußt werden.

Falls die zu impfende Nährlösung nicht schon für sich selbst die optimale Zusammensetzung für die Entwicklung der betreffenden Bakterien besitzt, so kann die als Impfmateriale zugesetzte Bodenmenge diese Entwicklung und damit auch den untersuchten Prozeß beschleunigen, und zwar kann dies geschehen:

- 1) durch ihren Gehalt an assimilierbaren Mineralbestandteilen,
- 2) durch ihren Gehalt an Stickstoffverbindungen,
- 3) durch ihren Gehalt an Humusstoffen und durch deren Eigenschaften.

Auch ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß in einigen, wenn auch vielleicht nur seltenen Fällen, die Impferde

irgend welche Bestandteile enthält, welche unmittelbar oder mittelbar hemmend auf die Entwicklung der den fraglichen Prozeß bedingenden Bakterien wirken könnten.

Dieser Möglichkeit der Beeinflussung der Resultate der Remy'schen Methode durch die Zusammensetzung der Impferden haben sowohl Remy selbst wie auch die meisten späteren Forscher, welche sich seiner Methode bedienten, nicht genug Beachtung geschenkt.

Bei meinen hier angeführten, in dem agrikulturchemischen Laboratorium der Jagellonischen Universität, unter Leitung des Prof. Godlewski ausgeführten Untersuchungen unter Zugrundelegung der Remy'schen Methode beschäftigten mich folgende Fragen:

1) Inwieweit beeinflußt die chemische Zusammensetzung des Bodens und ganz besonders dessen Gehalt an assimilierbaren Nährstoffelementen den bakteriologischen Zustand dieses Bodens in bezug auf gewisse Prozesse?

2) Inwieweit ist dieser bakteriologische Zustand von der Jahreszeit abhängig?

3) Inwieweit beeinflußt die chemische Zusammensetzung des Impfbodens, unabhängig von seinem bakteriologischen Zustande, die betreffenden Prozesse?

4) Wäre es nicht möglich, die Intensität der durch gewisse Bakterien in entsprechender Nährlösung hervorgerufenen Prozesse als diagnostisches Mittel für die Beurteilung des Gehaltes des Impfbodens an gewissen assimilierbaren Nährstoffelementen zu benutzen?

Meine Untersuchungen beziehen sich nur auf zwei durch Bodenbakterien verursachte Prozesse, d. h. auf Stickstoffbindung und Fäulnis.

I. Teil.

Untersuchungen, welche sich auf die Stickstoffbindung beziehen.

I.

Die Abhängigkeit des bakteriologischen Zustandes des Bodens von seinem Gehalte an assimilierbaren Nährstoffelementen und von der Jahreszeit.

Zu diesen Untersuchungen eignete sich sehr gut der Boden gewisser Parzellen des Versuchsfeldes der Jagellonischen Universität, welche seit 14 Jahren gleichmäßig, aber auf verschiedenen Par-

zellen verschieden gedüngt werden. Von den 24 Parzellen des ganzen Areals, welches in 4 Abteilungen geteilt ist, bleiben 4 ungedüngt, 4 erhalten vollständige Düngung, 4 erhalten Düngung ohne Kali, 4 keine Phosphorsäure, 4 keinen Stickstoff und 4 keinen Kalk. Kali, Stickstoff und Phosphorsäure erhalten die betreffenden Parzellen alljährlich, Kalk haben sie nur einmal im Jahre 1895. in einer Menge von 50 Kg CaO pro Ar¹⁾ erhalten. Es leuchtet ohne weiteres ein, daß diese Parzellen infolge der reichlichen, langjährigen, aber auf verschiedenen Parzellen verschiedenen Düngung sehr ungleiche Mengen an assimilierbaren Nährstoffelementen erhalten.

Der Boden des ganzen Areals ist ein alluvialer, sandig-lehmiger, gibt mit 25% HCl kalt digeriert 0.05% P₂O₅, 0.05% K₂O und 0.5% CaO, 0.2% MgO, 1.16 Fe₂O₃ und 0.5% Al₂O₃ ab und weist, nach Kjeldahl verbrannt, 0.1% N auf.

Die 14-jährigen Düngungsversuche auf diesen Parzellen haben gelehrt, daß der Boden des Areals ganz außerordentlich auf Kalidüngung, viel schwächer auf Stickstoffdüngung und sehr schwach oder bei manchen Pflanzen überhaupt nicht auf Phosphordüngung reagiert.

Um für chemisch-bakteriologische Untersuchungen gute Durchschnittsproben zu erhalten, wurden an mehreren Stellen der betreffenden Parzellen mit einem jedesmal gereinigten Spaten nach Entfernung der obersten Schicht Proben bis zur Tiefe von 15—20 cm genommen, auf Papier gut durchgemischt und in Pulvergläsern aufbewahrt. Die entsprechenden Nährlösungen wurden in der Regel noch an demselben Tage geimpft.

Um ganz sicher zu gehen, zog ich nie Schlüsse aus einem einzigen Experimente über die Differenzen zwischen dem bakteriologischen Zustande einzelner Parzellen, sondern wiederholte vorerst mehrmals die Entnahme der Proben und die betreffenden Versuche mit denselben in gewissen Zeitabständen; erst auf Grund der Gesamtergebnisse dieser Versuche wurden bestimmte Schlüsse gezogen.

¹⁾ Näheres über die Lage und Behandlungsweise dieser Parzellen siehe bei Krzemieniewski: „Zur Biologie der stickstoffbindenden Mikroorganismen“. Bulletin de l'Acad. des Sciences de Cracovie, 1906, S. 563.

1. Versuchsreihe.

Von Zeit zu Zeit wurde eine Anzahl Erlenmeyerscher Kolben von 750 ccm Inhalt mit je 100 ccm Beijrinck'scher Nährlösung (20 g Mannit und 0·5 g K_2HPO_4 pro 1 Liter Leitungswasser) beschickt, sterilisiert und mit je 10 g aus einzelnen Parzellen stammenden Bodens geimpft. Mit dem Boden einer jeden Parzelle wurden in der Regel zwei parallele Kolben geimpft. Alle Kolben ließ man nach der Impfung 5 Tage lang im Thermostaten bei 28° C. stehen, wonach zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl geschritten wurde. Um die Lebensprozesse der Bakterien in allen Kolben gleichzeitig zu unterbrechen, setzte man am Schlusse des Versuches zum Inhalte eines jeden Kolbens 2 ccm konzentrierte Schwefelsäure hinzu.

Die gefundenen Stickstoffzunahmen¹⁾ in einzelnen Versuchen sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

I. TABELLE.

Stickstoffzunahme binnen 5 Tagen in mg.

Impferde aus der Parzelle	Anfang des Versuches am					Mittel- zahlen
	2/XII 1907	28/III 1908	4/V 1908	5/VII 1908	5/X 1908	
mit Volldüngung	15·44 } 15·44 } 15·44	15·39	13·78 } 14·62 } 14·2	15·88 } 16·58 } 16·23	15·28 } 14·16 } 14·72	15·14
ungedüngt	13·21 } 14·05 } 13·63	7·37	7·62 } 7·76 } 7·69	12·38 } 12·38 } 12·38	8·56 } 7·30 } 7·93	9·80
ohne Kalk	8·15 } 8·57 } 8·36	5·25	7·07 } 6·93 } 7·0	6·93 } 6·09 } 6·51	8·00 } 7·44 } 7·72	6·97
ohne Stickstoff	17·53 } 14·17 } 15·85	15·95	14·26 } 13·00 } 13·63	18·32 } 16·36 } 17·34	17·52 } 15·70 } 16·61	15·88
ohne Phos- phorsäure	14·65 } 14·93 } 14·79	11·74	11·08 } 9·82 } 10·45	15·70 } 16·36 } 16·03	17·54 } 15·70 } 16·62	13·93
ohne Kali	12·45 } 10·96 } 11·69	12·85	10·68 } 10·68 } 10·68	11·24 } 11·94 } 11·59	13·34 } 11·78 } 12·56	11·87

Aus den Zahlen dieser Tabelle ist zu ersehen, daß die größte Stickstoffbindung dann erreicht wurde, wenn zur Impfung der

¹⁾ Die am Schlusse des Versuches gefundenen Stickstoffmengen nach Abzug des ursprünglich in der Lösung und in der zugesetzten Erde enthaltenen Stickstoffs.

Nährlösung Erde aus den Parzellen mit Volldüngung oder mit Düngung ohne Stickstoff benutzt worden war. Der Gehalt des Bodens an assimilierbarem Stickstoff ist demnach für den bakteriologischen Zustand desselben in bezug auf Stickstoffbindung belanglos. Ja man könnte sogar meinen, daß die Stickstoffdüngung die Entwicklung der stickstoffbindenden Bakterien ein wenig, wenn auch nur sehr wenig hemmt, da mit Ausnahme des Maiversuches die Stickstoffbindung in den mit der Erde aus den Parzellen ohne Stickstoff geimpften Nährlösungen um eine Kleinigkeit höher ausgefallen ist als in den mit der Erde der vollgedüngten Parzelle geimpften Lösungen.

In Übereinstimmung mit den Resultaten der von Krzemiewski im Jahre 1906 gemachten Versuche habe ich in den Lösungen, welche mit der Erde aus den ungedüngten und ohne Kalk gedüngten Parzellen geimpft wurden, überall die geringste Stickstoffbindung gefunden. In dieser Hinsicht sind aber diese Versuche für sich allein für die Beurteilung des bakteriologischen Zustandes des Bodens nicht entscheidend, da der Lösung kein Kalk zugesetzt wurde; es war demnach nicht ausgeschlossen, daß die Impferde nicht nur durch ihren bakteriologischen Zustand, sondern auch durch ihren Kalkgehalt auf die Resultate des Versuches gewirkt hat.

Die Stickstoffbindung in den Lösungen, welche mit dem Boden aus den ohne Phosphorsäure und ohne Kali gedüngten Parzellen geimpft wurden, war zwar bedeutend größer als in den mit dem Boden aus den Parzellen „ohne Kalk“ geimpften, aber doch ganz deutlich geringer als in denjenigen Lösungen, welche Erde aus den vollgedüngten Parzellen enthielten. Ganz besonders ist das bei sämtlichen Versuchen für die mit dem Boden aus den Parzellen „ohne Kali“ geimpften Lösungen deutlich. Da nun der Mannitlösung phosphorsaures Kali zugesetzt wurde, so ist es ausgeschlossen, daß die Impferde durch ihren Kali-, respektive Phosphorsäuregehalt die Resultate beeinflussen konnte, und es ist daher mit Sicherheit anzunehmen, daß die beobachteten Unterschiede der Resultate hier durch den bakteriologischen Zustand der Impferde bedingt wurden. Es ist demnach daraus zu schließen, daß der Mangel an assimilierbarem Kali in den Parzellen „ohne Kali“ und zum Teil auch der Mangel an assimilierbarer Phosphorsäure in den Parzellen „ohne Phosphorsäure“ ungünstig die Gestaltung des bakteriologi-

schen Zustandes des Bodens dieser Parzellen in bezug auf Stickstoffbindung beeinflusst haben.

2. Versuchsreihe.

Da es aus der vorigen Versuchsreihe nicht zu ersehen war, inwieweit bei der Impfung, besonders mit der Erde aus den Parzellen ohne Kalkdüngung, der bakteriologische Zustand des Bodens und inwieweit der mit der Impferde in die Lösung eingeführte Kalk auf die Versuchsergebnisse einwirkte, so habe ich noch folgenden Versuch mit 36 Versuchskolben ausgeführt.

18 Kolben wurden wie in der vorigen Versuchsreihe mit gewöhnlicher Beijrinkscher Lösung (100 ccm 2% Mannitlösung + 0.05% K_2HPO_4), 18 andere mit gleicher Lösung + 0.75 g $CaCO_3$ beschickt. Alle Kolben wurden in den Thermostaten gestellt und dort bei 28° C. während der Versuchszeit gehalten. Diese Versuchsdauer betrug für 12 Kolben ohne $CaCO_3$ und 12 mit $CaCO_3$ 4 Tage, für 6 Kolben ohne $CaCO_3$ und für 6 mit $CaCO_3$ 5 Tage. Die Stickstoffzunahmen während dieser Zeiten sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

II. TABELLE.

Stickstoffzunahme während der Versuchszeit in mg.

Impferde aus der Parzelle	Versuchsdauer 4 Tage		Versuchsdauer 5 Tage	
	Nährlösung ohne $CaCO_3$	Nährlösung mit $CaCO_3$	Nährlösung ohne $CaCO_3$	Nährlösung mit $CaCO_3$
mit Volldüngung	9.86 } 18.61 }	10.73 } 13.24 } 13.85 }	13.57 } 15.39 }	15.39 }
ungedüngt	6.81 }	7.51 } 8.35 }	7.93 }	8.35 }
ohne Kalk	1.19 } 1.75 }	1.47 } 2.87 } 2.31 }	2.59 }	3.71 }
ohne Stickstoff	11.40 } 11.40 }	11.40 } 13.07 } 13.29 }	13.18 }	15.49 }
ohne Phosphorsäure	8.52 } 9.22 }	8.87 } 10.48 } 11.04 }	10.76 }	11.74 }
ohne Kali	8.09 } 8.65 }	8.37 } 11.59 } 12.71 }	12.15 }	12.85 }

Die in dieser Tabelle zusammengestellten Zahlen sind in mancher Hinsicht lehrreich.

Was zunächst den Einfluß der Kalkdüngung auf die Eigenschaften der Impferde anbetrifft, so ist aus den Zahlen dieser Tabelle zu ersehen, daß der Zusatz von CaCO_3 zu den Nährlösungen, welche mit der Erde aus den ungekalkten Parzellen geimpft wurden, fast ohne jede Wirkung auf die Versuchsergebnisse blieb. Die Stickstoffbindung in den mit dem Boden aus ungekalkten Parzellen geimpften Lösungen blieb auch hier weit hinter derjenigen zurück, welche in den mit der Erde anderer Parzellen geimpften Lösungen beobachtet werden konnte. Aus diesem mit den Resultaten von Krzemieniewski ganz übereinstimmenden Ergebnisse ist der sichere Schluß zu ziehen, daß man die Ursache nicht in dem geringeren Kalkgehalt des Bodens der ungekalkten Parzelle suchen darf, sondern nur, daß der in bezug auf Stickstoffbindung weniger günstige bakteriologische Zustand des Bodens dieser Parzelle die geringere Stickstoffbindung in den mit dieser Erde geimpften Lösungen verursacht. Offensichtlich ist in dem Boden der ungekalkten Parzellen sowohl der Gehalt an Azotobakter, welcher bekanntlich unter den Bakterien die größte stickstoffbindende Kraft besitzt, als auch die Virulenz dieses Azotobakters, wie es Krzemieniewski nachgewiesen hat, weit geringer als im Boden der gekalkten Parzellen. An der Stickstoffbindung in der mit dem Boden dieser Parzellen geimpften Mannitlösung sind wahrscheinlich mehr die Clostridien als der Azotobakter beteiligt. Zu Gunsten dieser Annahme spricht auch die folgende Erscheinung: während in den Lösungen, welche mit der Erde aus gekalkten Parzellen geimpft wurden, sich auf der Oberfläche recht bald eine starke Azotobakterdecke regelmäßig entwickelte, konnte man in denjenigen, welche die Impferde aus ungekalkten Parzellen erhalten hatten, in den ersten Tagen nur Schaumbildung beobachten, und erst viel später entstand eine spärliche Azotobakterdecke auf ihrer Oberfläche.

Aus allem dem gelangen wir zu dem Schluß, daß die vor 14 Jahren an den meisten Parzellen des Versuchsareals vorgenommene Kalkdüngung sehr bedeutend den bakteriologischen Zustand des Bodens dieser Parzelle in bezug auf stickstoffbindende Bakterien beeinflußt hat, indem sie die Entwicklung des Azotobakters begünstigte und dessen Virulenz hob.

In den Lösungen, welche mit der Erde der Parzellen mit Volldüngung und derjenigen ohne Stickstoff geimpft wurden, finden wir

nach fünftägiger Versuchsdauer keinen Unterschied in der Stickstoffbindung zwischen den Lösungen mit oder ohne CaCO_3 -Zusatz; dagegen sehen wir ein deutliches Übergewicht der Stickstoffbindung in der Lösung mit Kalkzusatz bei den Versuchen, welche nur 4 Tage gedauert haben. Diese Erscheinung erklärt sich folgendermaßen. Wie schon aus dem ersten Versuche zu ersehen war, gestaltet sich der bakteriologische Zustand des Bodens der vollgedüngten und der Parzellen ohne Stickstoff am günstigsten; es ist demnach anzunehmen, daß der Azotobakter im Boden dieser Parzellen am reichlichsten entwickelt ist und vielleicht auch die stärkste Virulenz besitzt, so daß er über andere Bakterien, welche sich in der Lösung entwickeln können (vor allem Clostridien), leicht Oberhand gewinnt. Da nach fünftägiger Versuchsdauer die Menge des gebundenen Stickstoffs in der Lösung mit und ohne Kalkzusatz die gleiche ist und zwar dieselbe wie nach einer noch längeren, z. B. 8-tägigen Versuchsdauer, so ist anzunehmen, daß die in der Impferde und die in 100 ccm Leitungswasser enthaltene Kalkmenge zur optimalen Ausnützung der im Mannit gegebenen Energiequelle vollständig ausreicht. Wenn wir nun nach viertägiger Dauer des Versuches in der Lösung mit Kalkzusatz eine größere Stickstoffzunahme finden als in den Lösungen ohne Kalkzusatz, so ist der Grund dafür darin zu suchen, daß in der Impferde eine zwar für die optimale Endentwicklung des Azotobakters ausreichende, aber doch schwerer als im kohlen-sauren Kalk assimilierbare Kalkmenge enthalten ist. Demnach beschleunigt der Zusatz von CaCO_3 zu der Nährlösung die Entwicklung des Azotobakters und damit auch die Stickstoffbindung, ohne aber die Größe dieser Bindung, falls der Versuch bis zur Erschöpfung der Energiequelle fortgesetzt wird, zu beeinflussen.

Anders verhält sich wieder die Sache bei den Nährlösungen, welche mit der Erde der Parzellen „ohne Phosphorsäure“ und „ohne Kali“ geimpft wurden. Hier sehen wir, daß sowohl bei vier- wie auch bei fünftägiger Versuchsdauer in den Lösungen mit Kalkzusatz größere Mengen Stickstoff gebunden wurden, als in den Lösungen ohne Kalkzusatz. Nehmen wir an, daß auch hier nach fünftägiger Versuchsdauer die Energiequelle in beiden Lösungen vollständig erschöpft wurde, so ist das erhaltene Resultat dahin zu deuten, daß bei einem in bezug auf Azotobakter weniger günstigen bakteriologischen Zustande der betreffenden Parzellen, welcher schon in der vorhergehenden Versuchsreihe konstatiert wurde, die Kon-

kurrenz anderer Bakterien (z. B. Clostridien) in bezug auf die Energiequelle auch bei der Dauer des Versuches bis zur Erschöpfung dieser Energiequelle die optimale Ausnutzung derselben durch Azotobakter nicht gestattete. Beschleunigte man nun durch Kalkzusatz die Entwicklung des Azotobakters, welcher sehr kalkbedürftig ist, so wurde derselbe hiedurch in dem Kampfe um die Energiequelle gegen die übrigen Bakterien begünstigt, was ihm eine bessere, ja sogar eine optimale Ausnützung dieser Energiequelle zur Stickstoffbindung ermöglichte.

Wir sehen demnach, daß bei Verlängerung der Versuchsdauer bis zur völligen Erschöpfung der Energiequelle der Kalkzusatz zu der Nährlösung je nach dem bakteriologischen Zustande des Impfbodens von verschiedener Wirkung sein kann. Ist dieser bakteriologische Zustand in bezug auf Azotobakter sehr günstig oder sehr ungünstig, so kann dieser Kalkzusatz (einen gewissen Kalkgehalt des Impfbodens vorausgesetzt) ohne jeden Einfluß bleiben, ist er aber von mittlerer Günstigkeit, so bewirkt der Kalkzusatz zu der Nährlösung eine Bevorzugung des Azotobakters im Kampfe um die Energiequelle, begünstigt dadurch die Verwendung derselben zur Stickstoffbindung und hat eine größere Stickstoffzunahme in der Lösung zur Folge. Solche Verschiedenheiten in der Wirkung des Kalkzusatzes zu den Nährlösungen, welche mit verschiedenartig gedüngtem Boden geimpft wurden, hat schon Pillay¹⁾ in Leipzig beobachtet; er gibt nämlich an, daß der Kalkzusatz zur Lösung ohne Wirkung bleibt, falls die Azotobakterentwicklung sehr stark oder sehr schwach vor sich geht, daß er aber bei mäßiger Azotobakterentwicklung deutlich die Stickstoffbindung vergrößert. Pillay hat aber nicht versucht, diese seine Beobachtung zu erklären. Da Pillay seine Versuche 10 oder 15 Tage dauern ließ, so ist nicht zu bezweifeln, daß dieselben bis zur Erschöpfung der Energiequelle fortgeführt wurden und also unserem fünftägigen Versuche zur Seite gestellt und ähnlich wie dieser gedeutet werden können.

In bezug auf die Methode der Untersuchung des bakteriologischen Zustandes des Bodens ist aus dem oben Dargestellten der Schluß zu ziehen, daß man, um einen klaren Ausdruck des bakteriologischen Zustandes des untersuchten Bodens mittels der Remy'schen Methode zu bekommen, den Versuch nicht bis zur völligen

¹⁾ Pillay, Inauguraldissertation, Leipzig 1908.

Erschöpfung der Energiequellen fortführen darf, sondern denselben früher, wenn den Bakterien noch eine reichliche Energiequelle zu Gebote steht, unterbrechen soll. Falls man den Versuch bis zur völligen Erschöpfung der Energiequelle fortführt, kann man aus den Resultaten sich nur eine gewisse Vorstellung über das Verhältnis zwischen dem Azotobakter und anderen mit ihm konkurrierenden Bakterien bilden, man darf aber in bezug auf die Reichlichkeit des Azotobakters im Boden und auf dessen Virulenz kaum einen Schluß ziehen.

Die Hauptresultate beider in diesem Kapitel besprochenen Versuchsserien können wir kurz dahin zusammenfassen, daß der bakteriologische Zustand des Bodens in bezug auf Stickstoffbindung in hohem Grade von der Menge der assimilierbaren mineralischen Nährstoffelemente beeinflusst wird und daß er sich bei einem reichen Gehalt des Bodens an Kalk, Phosphorsäure und Kali günstiger gestaltet als beim Mangel an einem von diesen drei Nährstoffelementen im assimilierbaren Zustande. Dagegen ist die Erhöhung des Gehaltes des Bodens an assimilierbarem Stickstoff für das Auftreten der stickstoffbindenden Bakterien in demselben belanglos, wenn nicht hemmend. In bezug auf die Abhängigkeit des bakteriologischen Zustandes des Bodens von der Jahreszeit läßt sich aus unseren Versuchen nichts Sicheres entnehmen. Die meist sehr unbedeutenden Schwankungen der gefundenen Stickstoffbindung in den verschiedenen Monaten ausgeführten Versuchen zeigen keine Regelmäßigkeit und sind außerdem für die Impferde aus verschiedenen Parzellen verschieden. Die höchsten Zahlen für Stickstoffbindung wurden meistens in Juliversuchen, die niedrigsten in Maiversuchen erhalten. Dieses Resultat bezieht sich aber keineswegs auf alle Versuchspartellen, ist also von sehr geringer Bedeutung.

II.

Die Abhängigkeit der Stickstoffbindung in Mannitlösung von der Zusammensetzung der Impferde.

In der Einleitung haben wir darauf hingewiesen, daß bei der Remy'schen Methode die Impferde nicht nur durch ihren bakteriologischen Zustand, sondern auch durch Einführung gewisser chemischer Verbindungen in die Nährlösung auf das Resultat des

Versuches von Einfluß sein kann. Wir wollen jetzt diesen Satz experimentell begründen.

In bezug auf die Entwicklung des Azotobaktters in der mit Erde geimpften Mannitlösung hat schon Christensen¹⁾ darauf hingewiesen, daß diese Entwicklung nicht nur durch die größere oder geringere Menge des Azotobaktters in der Impferde, sondern auch durch die chemische Beschaffenheit derselben bedingt wird. Er zeigte nämlich, daß bei der Impfung einer keinen Zusatz von Mineralien enthaltenden Mannitlösung mit Impferde verschiedenen Ursprungs und außerdem noch mit Rohkulturen von Azotobakter die Entwicklung desselben trotz dieser Impfung je nach der Natur der Impferde eine sehr verschiedene ist. Vor allem hängt diese Entwicklung nach Christensen von dem Kalk- und Phosphorsäuregehalte der Impferde ab. Sind diese Substanzen reichlich in der Impferde vorhanden, so entwickelt sich auf der Oberfläche der Lösung bald eine starke Azotobakterdecke; ist aber die Impferde an einer von diesen Substanzen sehr arm, so bildet sich auf der Lösung keine oder nur eine sehr spärliche Azotobakterdecke. Christensen weist schon darauf hin, daß die Entwicklung des Azotobaktters in einer reinen, mit ihm und mit der betreffenden Erde geimpften Mannitlösung als ein diagnostisches Mittel zur Beurteilung des Gehaltes des Bodens an assimilierbarem Kalk und an assimilierbarer Phosphorsäure benutzt werden könnte.

Gewisse Mängel des Christensen'schen Verfahrens bestehen aber darin, daß er die Entwicklung des Azotobaktters nur qualitativ nach der Stärke der gebildeten Decke schätzte, was natürlich einer gewissen Subjektivität zu großen Spielraum läßt, und auch darin, daß er zur Impfung mit Azotobakter Roh- und nicht Reinkulturen desselben benutzte, so daß die in verschiedenen Fällen verschiedene bakteriologische Zusammensetzung dieser Rohkulturen von gewissem Einfluß auf die beobachteten Resultate sein konnte.

Ich habe vor allem den Einfluß des Gehaltes an assimilierbarer Phosphorsäure der Impferde auf die Entwicklung des Azotobaktters und auf Stickstoffbindung in einer phosphorsäurefreien Mannitlösung untersucht. Im Gegensatz zu Christensen habe ich zur Impfung der Lösung nicht Roh-, sondern Reinkulturen von Azotobakter benutzt und begnügte mich nicht mit der qualitativen Beobachtung

¹⁾ Christensen, Zentralblatt für Bakteriologie, Abt. II, B. XVII, 1907.

der Azotobakterdecke, sondern bestimmte in jedem einzelnen Falle die Menge des assimilierten Stickstoffs.

Zur Vergleichung wurde immer neben dem Versuche mit phosphorsäurefreier Mannitlösung auch ein paralleler Versuch mit phosphorhaltiger angestellt. Die beiden Lösungen hatten folgende Zusammensetzung:

I. Phosphorhaltige Lösung	II. Phosphorfreie Lösung
1 Liter Leitungswasser	1 Liter Leitungswasser
20 g Mannit	20 g Mannit
2 g CaCO_3	2 g CaCO_3
1 g CaHPO_4	—
0.3 g KCl	0.3 g KCl

Diese Lösungen wurden wie gewöhnlich in Erlenmeyerschen Kolben sterilisiert und denselben je 10 g der betreffenden frischen Erde und etwas Impfmateriale aus reinen Azotobakterkulturen zugesetzt. Es ist klar, daß den bei der Impfung eingeführten Bakterien in der Lösung I sämtliche mineralische Nährstoffe reichlich zu Gebote standen, während sie in der Lösung II in bezug auf Phosphorsäure nur auf die assimilierbare Menge derselben in der Impferde angewiesen waren. Nun ist es aber bei diesem Verfahren nicht ausgeschlossen, daß trotz der Impfung mit reinem Azotobakter die Entwicklung desselben, also auch die Menge des während des Versuches gebundenen Stickstoffs nicht nur durch die chemische Beschaffenheit der Lösungen, also hier durch die Menge der assimilierbaren Phosphorsäure, sondern auch durch den bakteriologischen Zustand der Impferde beeinflusst wurde; denn einerseits könnten die fremden Bakterien dem Azotobakter bei Nährstoffaufnahme Konkurrenz machen, andererseits könnten sie wieder durch die Produkte ihres Stoffwechsels die Löslichkeit der Bodenphosphorsäure beeinflussen. Daraus folgt, daß man, um ein ganz klares Bild des Einflusses der Bodenphosphorsäure auf die Entwicklung des Azotobakters zu erhalten, nicht nur die Lösung, sondern auch die hinzugesetzte Erde sterilisieren sollte. Aus diesem Grunde wurden neben den Versuchen unter Zugabe von frischer Erde auch parallele Versuche, in welchen man die Lösung samt der zugesetzten Erde sterilisierte, angestellt.

I. Versuch.

Dieser Versuch wurde mit vier verschiedenen Bodenarten gemacht. Es wurde verwendet:

1. Erde aus der vollständig gedüngten Parzelle des Versuchsfeldes, welche also ziemlich reichlich assimilierbare Phosphorsäure enthielt.

2. Erde aus Siersza, welche mäßig auf Phosphorsäuredüngung reagiert.

3. Erde aus Zakopane (Tatra) bei der Ziegelei, die auf Phosphorsäuredüngung sehr stark reagiert.

4. Erde aus dem Untergrund des Bodens der Wiese „Mała Łąka“ bei Zakopane, welche ebenfalls sehr stark auf Phosphorsäuredüngung reagiert.

Der Stickstoffgehalt dieser Böden ist folgender:

Boden des Versuchsfeldes	0·098%
„ aus Siersza	0·152%
„ „ Zakopane, Ziegelei	0·291%
„ „ Zakopane, Mała Łąka	0·313%
Untergrund von Mała Łąka	0·126%

16 Erlenmeyersche Kolben wurden mit je 100 ccm der Lösung I (mit Phosphorsäure) und 16 mit gleicher Menge der Lösung II (ohne Phosphorsäure) beschickt. 8 Kolben mit der Lösung I und 8 mit der Lösung II wurden zunächst sterilisiert und dann mit je 10 g frischer Erde und reinem Azotobakter geimpft. Da vier Bodenarten zur Untersuchung vorlagen, so wurden mit jeder Lösung und jedem Boden zwei Parallelversuche vorgenommen. Die übrigen 8 Kolben mit der Lösung I und 8 mit der Lösung II wurden samt der zugesetzten Erde sterilisiert und erst dann mit reinem Azotobakter geimpft. Auch hier wurden mit jeder Bodenart zwei Parallelversuche durchgeführt. Sämtliche Kolben wurden nun am 10. Juni 1907 in den Thermostaten gestellt und dort bei 28° C bis zum 17. Juni stehen gelassen. Am Schlusse des Versuches wurde der Stickstoffgehalt der Lösungen samt der zugesetzten Erde nach Kjeldahl bestimmt und durch Abziehen des in Erde und Lösung am Beginn des Versuches enthaltenen Stickstoffs die Stickstoffbindung während des Versuches in den einzelnen Kolben ermittelt. Diese Stickstoffzunahmen in mg sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

III. TABELLE.

Stickstoffzunahmen während der 7-tägigen Versuchsdauer in mg.

Herkunft der der Lösung zugesetzten Erde	100 cem Lösung sterilisiert und mit 10 g Erde und Reinkultur von Azoto- bakter geimpft		100 cem Lösung samt 10 g Erde sterilisiert und mit Reinkultur von Azoto- bakter geimpft	
	Lösung I mit P ₂ O ₅	Lösung II ohne P ₂ O ₅	Lösung I mit P ₂ O ₅	Lösung II ohne P ₂ O ₅
Versuchsfeld-Parzelle mit Volldüngung	8 85 } 7 59 } 8·22	5 81 } 4 89 } 5·35	— —	2 85 2 85
Siersza	5 97 } 4 99 } 5·48	4 29 } 3 87 } 4·08	12 69 } 16 33 } 14·51	2 70 } 1 21 } 1·95
Zakopane, Mała Łąka Untergrund	5 01 } miss- lungen } 5·01	1 23 } 3 75 } 2·49	5 85 } 4 59 } 5·22	0 00 } 1 09 } 0·54
Zakopane bei der Ziegelei	4 76 } 2 80 } 3·78	1 82 } 1 52 } 1·67	15 68 } 14 42 } 15·05	-0 42 } 1 12 } 0·35

Aus den Zahlen dieser Tabelle ist zu entnehmen, daß die Stickstoffbindung in den Nährlösungen ohne Phosphorsäure je nach der Herkunft der der Lösung zugesetzten Erde, eine recht verschiedene war, und zwar sowohl bei den Lösungen, welche frische, also bakterienhaltige Erde enthielten, wie in denjenigen, welche samt der zugesetzten Erde sterilisiert und dann mit reinem Azotobakter geimpft wurden. In den Lösungen mit stark auf Phosphorsäuredüngung reagierendem Boden aus Zakopane war die Stickstoffbindung sehr schwach und, wenn sie samt der Erde sterilisiert und mit Azotobakter geimpft wurden, sogar fast null. Bedeutend stärker war die Stickstoffbindung in den Lösungen mit dem schon schwächer auf Phosphorsäuredüngung reagierenden Boden aus Siersza und am stärksten in denjenigen Lösungen, welchen der fast auf Phosphorsäure nicht reagierende Boden des Versuchsfeldes zugesetzt worden war.

In den Lösungen mit frischer bakterienhaltiger Erde sehen wir durchwegs höhere Zahlen, als in denjenigen, welche samt der Erde sterilisiert und dann mit Azotobakter geimpft wurden. Das erklärt sich wahrscheinlich dadurch, daß die schwerlösliche Phosphorsäure des Bodens durch Mitwirkung sonstiger, mit der frischen Erde in die Lösung eingeführter Bakterien, z. B. Clostridien, infolge der

Säurebildung durch dieselben den stickstoffbindenden Bakterien zugänglicher gemacht wurde, was in den Lösungen mit reinem Azotobakter, welcher keine organische Säure bildet¹⁾, nicht der Fall war.

Demnach sind die Unterschiede in der Stickstoffbindung in den phosphorsäurefreien Mannitlösungen, denen man je 10 g Erde verschiedener Herkunft hinzufügte, durch den verschiedenen Gehalt dieser Böden an assimilierbarer Phosphorsäure zu erklären. Gegen diese Erklärung könnte man aber einwenden, daß sich auch in den mit verschiedenen Bodenarten versehenen Lösungen I, welche Phosphorsäure reichlich als CaHPO_4 enthielten, nicht unbedeutende Unterschiede in der Stickstoffbindung ergaben. In den Lösungen mit frischer Erde könnte man diese Unterschiede auf Rechnung des verschiedenen bakteriologischen Zustandes des Impfbodens setzen; nun finden wir aber recht bedeutende Unterschiede auch in den Lösungen I, welche samt der zugesetzten Erde sterilisiert und mit Azotobakter geimpft wurden. So sehen wir in der mit Erde aus dem Untergrunde der Wiese Mała Łąka in Zakopane versetzten Lösung eine Stickstoffbindung von nur 5.22 mg, dagegen in den Lösungen, welche die Böden aus Siersza und aus Zakopane bei der Ziegelei erhalten haben, eine Stickstoffbindung von 14.51, bezw. 15.05 mg. Da hier sowohl der Einfluß der assimilierbaren Phosphorsäure, wie auch der des bakteriologischen Zustandes der zugesetzten Erde ausgeschlossen war, so muß die Ursache der so starken Unterschiede anderswo gesucht werden. Auf Grund der Krzemieniowski'schen Versuche werden wir nicht fehlgreifen, wenn wir die beobachteten Differenzen in Stickstoffbindung auf den verschiedenen Gehalt, bezw. auf die verschiedenen Eigenschaften der Humusstoffe, welche in den den Lösungen zugesetzten Böden enthalten waren, zurückführen. Diese Annahme wird auch dadurch gerechtfertigt, daß die geringste Stickstoffbindung unter den samt der Erde sterilisierten Nährlösungen I diejenige aufweist, welche Erde aus dem Untergrund des Bodens von Mała Łąka erhalten hat. Der Untergrund enthält ja nicht nur viel weniger Humusstoffe als der eigentliche Boden, sondern es stehen auch die Humusstoffe des Untergrundes, da sie doch bei erschwer-

¹⁾ Krzemieniowski, Studien über Azotobakter. Bulletin de l'Académie des Sciences de Cracovie, 1908.

tem Luftzutritt entstanden sind, bezüglich ihrer Eigenschaften dem Torf näher als dem milden Humus. Nun ist aus den Untersuchungen Krzemieniewski's bekannt, daß die Humussäure des Torfes bei weitem nicht so günstig auf die Entwicklung des Azotobaktens wirkt, wie die Humussäure aus gutem Ackerboden.

Der Vergleich zwischen den Resultaten, welche in der Lösung I unter Zusatz von frischen oder sterilisierten Böden erhalten wurden, läßt noch einen außerordentlich günstigen Einfluß des Sterilisierens bei den Böden aus Siersza und aus Zakopane (Ziegelei) erkennen. Es ist kaum anzunehmen, daß dieser Einfluß allein durch die Beseitigung der mit dem geimpften Azotobakter konkurrierenden Bakterien zu erklären sei; höchst wahrscheinlich haben dabei noch die Veränderungen mitgewirkt, welche die Humusstoffe dieser Böden beim Sterilisieren erlitten haben. Daß die Sterilisierung der Lösung I mit der Erde aus dem Untergrunde die Resultate nicht beeinflußt hat, konnte eben auch in der Natur der Humusstoffe im Untergrunde seinen Grund haben.

Die Möglichkeit der Mitwirkung der Menge und der Eigenschaften der Humusstoffe des Bodens, welche man der Mannitlösung hinzufügt und samt derselben sterilisiert, auf die Entwicklung des Azotobaktens in dieser Lösung, machte es notwendig, der Sache experimentell näher zu treten. Zu diesem Zwecke wurden zwei Versuche angestellt, deren Resultate in Tabelle IV zusammengestellt sind.

Die beiden Versuche wurden auch im Thermostaten bei einer Temperatur von 28° C. ausgeführt und unterscheiden sich von dem vorhergehenden nur dadurch, daß außer den Lösungen I und II, d. h. mit und ohne Phosphorsäure, noch Lösungen Ia und IIa von gleicher Zusammensetzung wie I und II, jedoch mit Zusatz von 1 g humussaurem Natron zu 1 Liter Lösung verwendet wurden. Zu diesen Versuchen wurden Böden aus dem Versuchsfelde (vollgedüngte Parzelle) und 4 andere Böden, deren Herkunft und Verhalten gegen Phosphorsäuredüngung in der Tabelle selbst angegeben sind, verwendet.

(Sieh Tab. IV, Seite 41).

Die Resultate dieser Versuchsreihe bestätigen diejenigen der vorhergehenden. Sie zeigen auch, daß man sich nach der Stickstoffbindung in phosphorsäurefreier Mannitlösung, der man eine ge-

IV. TABELLE.

Herkunft des Bodens	Stickstoffgehalt des Bodens in %	Reagierung des Bodens auf Phosphorsäuredüngung	Stickstoffgewinne während des Versuches in mg.							
			Lösung sterilisiert und dann mit 10 g frischer Erde und mit Reinkultur von Azotobakter geimpft				Lösung samt 10 g Erde sterilisiert und mit Reinkultur von Azotobakter geimpft			
			Lösung ohne humussaures Natron		Lösung mit humussaurem Natron		Lösung ohne humussaures Natron		Lösung mit humussaurem Natron	
			Lösung I mit P ₂ O ₅	Lösung II ohne P ₂ O ₅	Lösung Ia mit P ₂ O ₅	Lösung IIa ohne P ₂ O ₅	Lösung I mit P ₂ O ₅	Lösung II ohne P ₂ O ₅	Lösung Ia mit P ₂ O ₅	Lösung IIa ohne P ₂ O ₅
Versuchsfeld- Parzelle mit Voll- düngung	0 098%	äußerst gering	4·54 } 3·91 3·28 }	2·44 } 2·80 3·15 }	16·72 } 16·93 17·14 }	3 70 } 3·70 — }	—	—	—	—
Włosienica	0·146%	äußerst gering	5·32 } 5·32 5·32 }	2 52 } 2·52 2·52 }	—	—	11·06 } 12·74 14·42 }	1 54 } 2·24 2 94 }	14·80 } 15·98 15 36 }	2·06 } 1·29 0·52 }
Więckowice	0·114%	unbekannt	7·96 } 8·10 8·24 }	2·36 } 2·57 2·78 }	—	—	12·72 } 12·72 12·72 }	0·40 } 2·43 4·46 }	15 55 } 15·55 15·55 }	1·34 } 1·34 1 34 }
Zakopane Mała Łąka	0 313%	sehr stark	13·16 } 10·73 8·35 }	— } 0·57 — }	13·81 } 13·18 12·55 }	0·51 } 0·51 0·51 }	—	—	—	—
Nowy Targ	0 088%	sehr stark	8·43 } 6·19 7·59 } 4·15 } 4·57 }	0·17 } 0·17 0 17 }	13·21 } 12·73 12·23 }	— } 0·02 0·05 }	7·79 } 6·88 5·97 }	— } 0·16 0·44 }	15·03 } 14·61 14·19 }	0 33 } 0·02 — } 0·37 }

wisse Menge des fraglichen Bodens hinzufügt, ein gewisses Urteil über die Menge der assimilierbaren Phosphorsäure in diesem Boden bilden kann, zeigen aber zugleich, daß die Sache nicht so einfach ist, als man vielleicht nach den Resultaten der Christensen'schen Versuche zu glauben geneigt wäre. Es zeigt sich nämlich, daß nicht nur der Gehalt des betreffenden Bodens an assimilierbarer Phosphorsäure und dessen bakteriologischer Zustand, sondern auch dessen Gehalt an Humusstoffen und die Eigenschaften der letzteren die Entwicklung der stickstoffbindenden Bakterien in hohem Grade beeinflussen. Will man diesen Einfluß so wie den Einfluß des bakteriologischen Zustandes des Bodens ausschließen, so muß man den Nährlösungen humussaure Salze hinzufügen und diese samt den betreffenden Bodenproben sterilisieren. Impft man dann so bereitete Nährlösungen mit reinem Azotobakter, so erhält man, wie aus den Zahlen der letztgenannten Tabelle zu ersehen ist, bei phosphorsäurehaltigen Lösungen nahezu gleiche Stickstoffzunahmen ohne Rücksicht darauf, mit welcher Bodenart sie beschickt wurden; in den phosphorsäurefreien Lösungen dagegen erhält man nur dann eine gewisse Stickstoffbindung, wenn der Lösung eine auf Phosphorsäuredüngung wenig reagierende Erde zugesetzt wurde, d. h. wenn sie nicht allzuarm an assimilierbarer Phosphorsäure ist. Reagiert der Boden, dessen Probe man der phosphorsäurefreien Lösung hinzufügt, auf Phosphorsäuredüngung sehr stark, so erhält man entweder gar keine oder eine innerhalb der Grenze analytischer Fehler liegende Stickstoffbindung, und zwar ohne Rücksicht darauf, ob man dieser Lösung humussaure Salze zugesetzt hat oder nicht.

Will man nun mittels der Remy'schen Methode den bakteriologischen Zustand des Bodens in bezug auf Stickstoffbindung untersuchen, so ist es unbedingt notwendig, der Mannitlösung nicht nur sämtliche zur Entwicklung der stickstoffbindenden Bakterien nötige Mineralsalze, sondern auch eine gewisse Menge humussaurer Salze hinzufügen, da sonst die Verschiedenheiten in der Menge und den Eigenschaften der Humusstoffe in dem Impfboden die erhaltenen Resultate in hohem Grade beeinflussen können. Die Beweise für diese Beeinflussung sind in den Zahlen der Tabellen III und IV reichlich gegeben.

Als eine für die Untersuchung des bakteriologischen Zustandes des Bodens in bezug auf Stickstoffbindung vollkommen entsprechende Lösung möchten wir die folgende vorschlagen:

Leitungswasser	1000	ccm
Mannit	20	g
CaCO ₃	2	g
K ₂ HPO ₄	0·5	g
MgSO ₄ + 7HO	0·05	g
Humussaures Natron	10	g

Der Zusatz von MgSO₄ ist vielleicht überflüssig, da jedes Leitungswasser etwas SO₃ und etwas Mg enthält und der Azotobakter sich mit sehr geringen Mengen dieser Nährstoffe zu begnügen scheint. Auch wir haben bei unseren Versuchen kein schwefelsaures Magnesium den Lösungen hinzugefügt. Der Sicherheit halber wäre es aber vielleicht besser gewesen, dasselbe zuzusetzen.

III.

Einfluß der Form der Nährstoffelemente in der Nährlösung auf Stickstoffbindung.

Der Vergleich der oben angeführten Versuche untereinander läßt erkennen, daß wir in der ersten Versuchsreihe, wo wir Phosphorsäure als K₂HPO₄ angewendet haben, höhere Zahlen für Stickstoffbindung erhielten, als später, wo wir Phosphorsäure als CaHPO₄ und Kalium als KCl in die Lösung brachten. Diese Unterschiede veranlaßten uns, einen Versuch anzustellen, welcher speziell darauf gerichtet war, den Einfluß der Form der zur Herstellung unserer Nährlösungen benutzten Phosphorsäure und Kaliverbindungen zu ermitteln. Es wurden 6 verschiedene Lösungen vorbereitet und mit denselben ein Versuch mit zwei verschiedenen Bodenarten ausgeführt. Die Zusammensetzung der Lösungen war:

	I	II	III	Ia	IIa	IIIa
Leitungswasser	1000 g	1000 g	1000 g	1000 g	1000 g	1000 g
Mannit	20 g	20 g	20 g	20 g	20 g	20 g
CaCO ₃	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g	2 g
K ₂ HPO ₄	0·5 g	—	—	0·5 g	—	—
CaHPO ₄	—	1 g	1 g	—	1 g	1 g
KCl	—	0·428 g	—	—	0·428 g	—
K ₂ SiO ₃	—	—	0·444 g	—	—	0·444 g
Humussaures Natron	—	—	—	1 g	1 g	1 g

Mit je 100 ccm einer jeden dieser Lösungen wurden 4 Erlenmeyersche Kolben beschickt, von denen zwei je 10 g Boden des Versuchsfeldes (Parzelle mit Volldüngung) und zwei je 10 g Boden aus Nowy Targ erhielten. Sämtliche 24 Kolben wurden samt der ihnen zugesetzten Erde sterilisiert, mit reinem Azotobakter geimpft und 8 Tage lang (vom 5/X bis 13/X 1907) im Thermostaten bei 28° C. stehen gelassen. Die nach Kjeldahl ermittelten Stickstoffzunahmen des Inhaltes dieser Kolben sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

(Sich Tab. V, Seite 45).

Die Zahlen dieser Tabelle zeigen, daß in der Tat in den Lösungen, welche K_2HPO_4 enthielten, die Stickstoffbindung ausgiebiger war als in den Lösungen mit $CaHPO_4$ und KCl. Bemerkenswert ist die Tatsache, daß in der humussaures Natron enthaltenden Lösung Kalisilikat nebst phosphorsaurem Kalk ebenso günstig wie K_2HPO_4 auf Stickstoffbindung wirkte, nicht aber in der Lösung ohne humussaures Natron.

Auch in diesem Versuche bestätigte sich wieder unsere frühere Beobachtung, daß in den vollständigen, samt der Erde sterilisierten Nährlösungen der Einfluß der Herkunft und der Eigenschaften der zugesetzten Erde in einer humussaures Natron enthaltenden Lösung ein nur sehr geringer war, während er in humusfreier Lösung ganz deutlich hervortrat.

IV.

Über das Verhältnis der verbrauchten Energiequelle zur Stickstoffbindung je nach dem Gehalte der Lösung an assimilierbarer Phosphorsäure.

In dem II. Kapitel haben wir eine ganz außerordentlich prägnante Abhängigkeit der Stickstoffbindung von dem Gehalte der Nährlösung an assimilierbarer Phosphorsäure festgestellt. Nun wollten wir noch entscheiden, inwieweit von diesem Gehalte auch das Verhältnis der verbrauchten Energiequelle zum gebundenen Stickstoff abhängig ist. Als Energiequelle wurde wegen der leichteren Bestimmbarkeit nicht Mannit, sondern Glukose benutzt. Die zwei Lösungen, mit welchen experimentiert wurde, hatten folgende Zusammensetzung:

V. TABELLE.
Stickstoffzunahme in mg.

Herkunft des Bodens	Lösungen ohne humussaures Natron			Lösungen mit humussaurem Natron		
	I mit K_2HPO_4	II mit $CaHPO_4$ und KCl	III mit $CaHPO_4$ und K_2SiO_3	Ia mit K_2HPO_4	IIa mit $CaHPO_4$ und KCl	IIIa mit $CaHPO_4$ und K_2SiO_3
Versuchsfeld-Parzelle mit Volldüngung	17.08 } 15.12 }	8.82 } 10.90 }	5.60 } 6.44 }	23.80 } 22.54 }	15.96 } 19.88 }	21.70 } 25.34 }
Nowy Targ	11.39 } 10.69 }	9.29 } 7.05 }	3.83 } 5.93 }	17.27 } 20.77 }	14.19 } 14.33 }	20.49 } — }

	Lösung I	Lösung II
Leitungswasser	1000 g	1000 g
Glukose	20 g ¹⁾	20 g ¹⁾
$CaCO_3$	2 g	2 g

¹⁾ Handelsprodukt von Merk, 15.800 g Reinglukose in 20 g enthaltend.

	Lösung I	Lösung II
CaHPO ₄	1 g	—
KCl	0.3 g	0.3 g
Humussaures Natron	1 g	1 g

4 Erlenmeyersche Kolben à 750 ccm wurden mit je 100 ccm der Lösung I und 4 andere mit je 100 ccm der Lösung II beschickt.

Zwei Kolben mit Lösung I und 2 mit Lösung II erhielten je 10 g Erde aus der vollgedüngten Parzelle des Versuchsfeldes.

2 Kolben mit Lösung I und 2 mit Lösung II erhielten je 10 g Boden aus Nowy Targ.

Alle 8 Kolben wurden samt dem Boden sterilisiert, mit reiner Azotobakterkultur geimpft und 8 Tage im Thermostaten bei einer Temperatur von ungefähr 28° C. stehen gelassen. Am Schlusse des Versuches wurde der Inhalt eines jeden Kolbens in einen Meßkolben von 200 ccm gebracht, mit Schwefelsäure angesäuert, bis zur Marke aufgefüllt, gut durchgemischt und bis zum Klarwerden der Flüssigkeit stehen gelassen. Dann entnahm man mit einer Pipette 50 ccm klare Flüssigkeit, goß sie in einen Meßkolben von 100 ccm, füllte bis zur Marke auf und entnahm nach Durchmischung 25 ccm zur Zuckerbestimmung und 75 ccm zur Stickstoffbestimmung. In dem übrig bleibenden Rest der Flüssigkeit samt dem Boden bestimmte man natürlich auch den Stickstoff nach Kjeldahl und aus allen diesen Bestimmungen berechnete man den Gesamtstickstoffgehalt und den Zuckergehalt des ganzen Kolbeninhaltes. Nach Abzug der ursprünglichen Stickstoff- und Zuckermenge des Inhaltes erhielt man die Zahlen für die Stickstoffzunahme und den Zuckerverbrauch während des Versuches. Diese Zahlen, in mg ausgedrückt, sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

(Sieh Tab. VI, Seite 47).

Aus diesen Zahlen ist zu entnehmen, daß das Verhältnis zwischen dem gebundenen Stickstoff und der veratmeten Glukose um so weiter ist, je weniger assimilierbare Phosphorsäure dem Azotobakter zu Gebote steht, mit anderen Worten, daß die Energiequelle um so weniger ökonomisch für Stickstoffbindung durch Azotobakter verwendet wird, je mehr diese Stickstoffbindung durch Phosphorsäuremangel herabgesetzt wird.

VI. TABELLE.

Stickstoffzunahmen und Zuckerverbrauch während des Versuches
vom 16/XI — 24/XI 1908 in mg.

Herkunft des Bodens	Lösung I mit P ₂ O ₅			Lösung II ohne P ₂ O ₅		
	Stickstoff- zunahme in mg	Glukosever- brauch in mg	Veratmete Glu- kose pro 1 mg des gebunde- nen N	Stickstoff- zunahme in mg	Glukosever- brauch in mg	Veratmete Glu- kose pro 1 mg des gebunde- nen N
Versuchsfeld- Parzelle mit Volldüngung	8·12 } 12·60 } 10·36	1580	152	3·99 } 3·99 } 3·99	1326 } 1326 } 1326	357
Nowy Targ	11·53 } 11·25 } 11·39	1580	139	0·40 } 0·96 } 0·68	0·669 } 0·905 } 0·787	1151

V.

Vorkommen des Azotobaktters in einigen Bodenarten Galiziens.

Es wurden einige Versuche nach der Remy'schen Methode über die stickstoffbindende Kraft einiger Bodenarten Galiziens ausgeführt. Leider waren dieselben nach der ursprünglichen Methode Remy's, d. h. mit der gewöhnlichen Beijrinck'schen Lösung (20 g Mannit und 0·5 K₂HPO₄ pro 1 Liter Leitungswasser) ange stellt, weil ich zur Zeit der Ausführung dieser Versuche noch keine Erfahrung bezüglich der im II. Kapitel beschriebenen Mängel dieses Verfahrens hatte. Aus diesem Grunde sind die Zahlen, welche bei diesen Versuchen erhalten wurden, für den bakteriologischen Zustand dieser Böden nicht maßgebend, da sie auch von den mit der Impferde in die Lösungen eingeführten Humusstoffen, bezw. auch von Kalk beeinflußt werden konnten. In bezug auf das Auftreten des Azotobaktters in diesen Böden sind aber diese Versuche insofern zuverlässig, als die in den Lösungen sich entwickelnde Bakterienflora auf die Anwesenheit des Azotobaktters hin mikroskopisch geprüft wurde. Die Bodenarten, welche in dieser Versuchsreihe auf ihre stickstoffbindende Kraft hin untersucht wurden, waren die schon im II. Kapitel erwähnten Böden aus Włosienica, Więckowice, Nowy Targ und Zakopane (Mała Łąka), außerdem aber noch 5 verschiedene Bodenarten von dem Versuchsgute des landwirtschaftlichen Studiums Mydlniki.

Die Resultate dieser Versuche, welche in üblicher Weise im Thermostaten bei 28° C. ausgeführt wurden, sind in folgender Tabelle zusammengestellt. In dieser Tabelle ist auch der Gehalt der Böden aus Mydlniki an in 25% HCl kaltlöslichen, mineralischen Nährstoffelementen nach den von dem Personal des Institutes für Pflanzenbau ausgeführten Analysen, so wie der Stickstoffgehalt nach meinen Analysen angegeben.

VII. TABELLE.
 Auftreten des Azotobaktors und Stickstoffbindung in Beijerinckscher Mannitlösung durch Impfung mit 10 g Boden verursacht.

Bodenart und dessen Herkunft	Gehalt des Bodens an Humus und Nährstoffbestandteilen					Dauer des Versuches in Tagen	Auftreten des Azotobaktors mit Hilfe des Mikroskops kontrolliert	Zunahme des Kohleninhaltes an Stickstoff in mg
	Organische Substanz %	N %	P ₂ O ₅ %	K ₂ O %	CaO %			
Mydlniki. Lehmgiger Sandboden	0.8	0.08	0.05	0.04	0.12	5	Azotobakter vorhanden	9.0 } 10.0 11.0 }
Mydlniki. Tertiärer Lettenboden	1.8	0.16	0.07	0.07	0.05	5	"	20.5 } 19.25 18.0 }
Mydlniki. Lössboden	1.1	0.12	0.09	0.05	0.19	5	"	10.5 } 10.75 11.0 }
Mydlniki. Alluvialer Boden	2.0	0.20	0.07	0.04	0.47	5	"	11.0 } 11.0 — }
Mydlniki. Mergelboden	2.0	0.22	0.09	0.10	4.2	5	"	14.5 } 14.75 15.0 }
Boden aus Włosienica	—	0.146	—	—	—	8	kein Azotobakter	2.20 } 3.53 4.86 }
Boden aus Więkowice	—	0.114	—	—	—	8	Azotobakter vorhanden	14.92 } 15.55 16.18 }
Boden aus Nowy Targ	—	0.088	—	—	—	14	kein Azotobakter	—
Boden aus Zakopane Mała Łąka	—	0.313	—	—	—	14	"	—

Aus dieser Tabelle ist zu entnehmen, daß in allen fünf Bodenarten aus Mydlniki so wie auch im Boden aus Więckowice Azotobakter vorhanden war, daß er dagegen in den Böden aus Włosienica aus Nowy Targ und aus Zakopane fehlte. In den beiden letztgenannten hängt diese Abwesenheit des Azotobakters höchst wahrscheinlich mit der Armut dieser Böden an assimilierbarer Phosphorsäure zusammen, dagegen muß das Fehlen des Azotobakters im Boden von Włosienica einen anderen Grund (vielleicht Kalkmangel) haben, da dieser Boden, wie wir schon gesehen haben, wenig auf Phosphorsäuredüngung reagiert. Die äußerst geringe Stickstoffbindung in der mit diesem Boden geimpften Lösung muß wahrscheinlich auf dieses Fehlen des Azotobakters in demselben zurückgeführt werden. Aus den Differenzen in Stickstoffbindung in den mit verschiedenen Bodenarten aus Mydlniki geimpften Lösungen dürfen wir nicht, wie schon oben angedeutet wurde, auf reichliches oder weniger reiches Auftreten des Azotobakters oder auf andere Unterschiede in dem bakteriologischen Zustande dieser Böden schließen, da sie ebensogut wenigstens teilweise auch durch Verschiedenheiten in der Menge und in den Eigenschaften der mit der Impferde in die Lösung eingeführten Humusstoffe verursacht werden konnten.

II. Teil.

Fäulnisprozeß.

Wie in der Einleitung angedeutet wurde, glaubte Remy auf Grund seiner Versuche annehmen zu dürfen, daß die eiweißzersetzende Kraft der einen gewissen Boden bewohnenden Bakterien mit der Menge des Ammoniaks gemessen werden kann, welches sich in einer bestimmten Zeit abspaltet. Schon Rahn¹⁾ erhob Zweifel gegen die Richtigkeit dieser Annahme und nahm auf Grund seiner Versuche an, daß die Menge des sich in der Peptonlösung abspaltenden Ammoniaks mehr von der chemischen Zusammensetzung als von dem bakteriologischen Zustande des Impfbodens abhängig ist.

Bei meinen Untersuchungen habe ich in ganz analoger Weise wie bei den Versuchen über Stickstoffbindung verfahren. Zunächst experimentierte ich auch hier mit dem Boden der verschiedenartig

¹⁾ Rahn, Zentralblatt für Bakteriologie, B. XX.

gedüngten Parzellen unseres Versuchsfeldes. Auch hier wurden die Versuche mehrmals in verschiedenen Jahreszeiten wiederholt, um einerseits zuverlässigere Durchschnittszahlen zu erhalten, andererseits um sich über den Einfluß der Jahreszeit auf die Versuchsergebnisse zu orientieren.

I. Versuchreihe.

Als Nährlösung wurden 10 g Pepton Witte pro 1 Liter Leitungswasser verwendet. Erlenmayersche Kölbchen von 250 ccm wurden mit je 100 ccm dieser Lösung sterilisiert, mit je 10 g Erde geimpft und 4 Tage lang im Thermostaten bei 19·5 bis 20·5° C. gehalten. Am Schluß des Versuches brachte man den ganzen Inhalt eines jeden Kölbchens in einen größeren Erlenmayerschen Destillationskolben und destillierte mit frisch gebranntem MgO das Ammoniak ab. Die bei den einzelnen Versuchen erhaltenen Ammoniakmengen in mg sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

(Sieh Tab. VIII, Seite 51).

Überblicken wir zunächst die Durchschnittszahlen dieser Tabelle, so sehen wir, daß die Ammoniakabspaltung in den Peptonlösungen, welche mit den Böden aus vollständig gedüngter Parzelle, aus der Parzelle ohne Stickstoff und ohne Kali geimpft wurden, nahezu gleich war. Dagegen war die Ammoniakabspaltung in den Lösungen, welche mit dem Boden aus der ganz ungedüngten und aus der Parzelle ohne Phosphorsäuredüngung geimpft wurden, bedeutend geringer und wieder einander gleich. Eine Mittelstellung zwischen diesen beiden Extremen nimmt die Ammoniakabspaltung in der mit dem Boden aus der Parzelle „ohne Kalk“ geimpften Lösung ein.

Auch je nach der Jahreszeit des Versuches ließen sich Schwankungen in der Ammoniakabspaltung wahrnehmen; so haben wir bei den im Herbst ausgeführten Versuchen kleinere Zahlen als in anderen Jahreszeiten erhalten. Nun sollte entschieden werden, ob alle diese Unterschiede wirklich auf Verschiedenheiten in dem bakteriologischen Zustande oder in der chemischen Zusammensetzung der Impfböden zurückzuführen sind. Da die geringere Ammoniakabspaltung bei jenen Lösungen wahrgenommen wurde, welche mit den Böden der Parzellen ohne Phosphorsäure- und ohne jede Düngung geimpft wurden, so erschien es angezeigt zu untersuchen, ob nicht der verschiedene Gehalt der Impferde an assimilierbarer

VIII. TABELLE.

Parzelle	B e g i n n d e s V e r s u c h e s									
	1. Novem. 1907	2. Dezem. 1907	29. Dezem. 1907	13. Febr. 1908	28. März 1908	4. Mai 1908	10. Juni 1908	5. Juli 1908	15. Sept. 1908	Durch- schnitts- zahlen
mit voller Düngung	59·9 } 59·9 —	68·4 } 68·5 68·6	77·7 } 79·0 80·3	72·6 } 70·6 68·6	71·4 } 74·7 78·1	75·6 } 75·7 75·8	84·7 } 80·8 76·8	80·5 } 78·4 76·3	66·2 } 69·0 71·8	73·0
ungedüngt	47·5 } 47·5 —	60·5 } 61·7 63·0	57·0 } 57·2 57·5	59·8 } 60·1 60·5	62·6 } 66·0 69·4	55·2 } 55·2 —	—	—	—	57·9
ohne Kalk	52·9 } 52·9 —	59·2 } 60·4 61·6	69·1 } 69·8 70·6	64·5 } 63·4 62·3	60·3 } 65·7 71·0	73·1 } 75·2 77·4	—	—	—	64·6
ohne Stickstoff	69·1 } 69·1 —	73·6 } 75·0 76·3	75·7 } 77·3 78·9	70·1 } 70·2 70·4	83·7 } 85·1 86·5	72·6 } 75·5 78·4	—	—	—	75·4
ohne Phos- phorsäure	52·9 } 52·9 —	57·2 } 57·2 —	64·4 } 61·8 59·2	50·7 } 55·6 60·5	57·0 } 61·2 65·4	63·8 } 62·6 61·3	55·1 } 57·4 60·7	60·2 } 61·5 62·8	—	58·8
ohne Kali	62·6 } 62·6 —	87·6 } 84·7 81·7	66·5 } 63·1 59·8	73·8 } 74·3 74·7	70·7 } 74·1 77·5	70·7 } 74·7 78·8	—	—	—	72·3

*7

Phosphorsäure die Ursache der beobachteten Unterschiede bildete. Das sollte nun folgender Versuch entscheiden.

II. Versuch.

12 Erlenmeyersche Kölbchen à 250 ccm wurden mit je 100 ccm 1%-ige reine Peptonlösung und 12 andere mit je 100 ccm derselben Lösung + 0.1% K_2HPO_4 beschickt. Sämtliche Kölbchen wurden sterilisiert und dann je 6 der beiden Serien mit je 10 g Erde von der Parzelle ohne Phosphorsäure und die übrigen sechs der beiden Serien mit Erde der vollständig gedüngten Parzelle geimpft. Alle 24 Kölbchen wurden im Thermostaten bei 19.5° bis 20.5° C. stehen gelassen. Von jeder Lösung und Impfung wurden dann je zwei Kölbchen nach 2, nach 4 und nach 6 Tagen auf ihren Ammoniakgehalt hin untersucht. In folgender Tabelle sind die gefundenen Stickstoffmengen in mg zusammengestellt und auch die Farbe der entsprechenden Lösungen angegeben.

IX. TABELLE.

Düngung der Parzelle, aus welcher die Impferde genommen wurde	Versuchsdauer	Peptonlösung mit K_2HPO_5		Reine Peptonlösung			
		Abgespaltenes Ammoniak in mg	Färbung	Abgespaltenes Ammoniak in mg	Färbung		
vollständig	2 Tage	22.8	} 21.2	gelblich	18.3	} 19.2	gelblich
		19.6			20.0		
ohne P_2O_5	2 Tage	21.1	} 20.7	"	15.4	} 15.5	"
		20.3			15.6		
vollständig	4 Tage	82.0	} 82.8	rot	80.5	} 78.4	schwarz
		83.6			76.3		
ohne P_2O_5	4 Tage	83.6	} 83.0	rot	60.2	} 61.5	grau
		82.6			62.8		
vollständig	6 Tage	88.2	} 88.7		104.7	} 103.2	
		89.3			101.7		
ohne P_2O_5	6 Tage	87.9	} 92.1		84.7	} 90.6	
		96.3			96.6		

Aus dieser Tabelle ist zu entnehmen, daß nach Zusatz von K_2HPO_4 zur Peptonlösung die Mengen des abgespaltenen Ammoniaks unverändert blieben ohne Rücksicht darauf, ob wir zur Impfung dieser Lösung die Erde aus der vollständig gedüngten

oder aus der Parzelle ohne P_2O_5 verwendet haben. Dagegen wiederholten sich die in der I. Versuchsserie beobachteten Differenzen, bei den Versuchen mit reiner Peptonlösung. Daraus ergibt sich der Schluß, daß nicht der bakteriologische Zustand des Bodens verschiedener Parzellen, sondern deren Gehalt an assimilierbarer Phosphorsäure die Ursache dieser Differenzen bildete.

Offensichtlich enthält reine Peptonlösung keine ausreichende Phosphorsäuremenge, welche für rasche optimale Entwicklung der mit der Impferde eingeführten Fäulnisbakterien genügen würde, somit entwickeln sich diese um so schneller und spalten bei kurzer Versuchsdauer um so mehr Ammoniak ab, je mehr assimilierbare Phosphorsäure mit der Impferde in die Lösung eingeführt wird. Dem entsprechend steigerte der Zusatz von K_2HPO_4 zur Peptonlösung die Abspaltung des Ammoniaks, falls man zur Impfung derselben einen an assimilierbarer Phosphorsäure armen Boden verwendet hat, blieb aber ohne Wirkung, wenn der Impfboden an assimilierbarer Phosphorsäure reich war. Alle diese Differenzen konnten nur bei 2- bis 4-tägiger Dauer des Versuches wahrgenommen werden; bei längerer Versuchsdauer glichen sie sich aus.

Bemerkenswert ist, daß ohne Rücksicht auf die Herkunft des Impfbodens der Zusatz von K_2HPO_4 die durch Fäulnisbakterien verursachte Färbung der Lösung beeinflußt hat. Die Lösung ohne K_2HPO_4 färbte sich nämlich grau bis schwarz, die Lösung mit K_2HPO_4 rot. Daraus darf man schließen, daß der Zusatz von K_2HPO_4 gewisse Fäulnisbakterien, welche die rötliche Färbung der Lösung erzeugen, vor anderen, welche sie schwärzlich färben, in ihrer Entwicklung bevorzugt.

Nachdem es sich bei den Fäulnisversuchen mit dem Boden verschiedenartig gedüngter Parzellen herausgestellt hatte, daß die beobachteten Unterschiede in Ammoniakabspaltung nicht im bakteriologischen Zustande des Bodens, sondern in dessen Gehalt an assimilierbarer Phosphorsäure ihren Grund hatten, so lag es nahe zu versuchen, ob die Abspaltung des Ammoniaks in mit verschiedenen Böden geimpfter Peptonlösung nicht mit ihrer Reaktion auf Phosphorsäuredüngung parallel geht, mit anderen Worten, ob es nicht möglich wäre, auch durch Fäulnisversuche einige Anhaltspunkte für die Beurteilung des betreffenden Bodens in bezug auf dessen Gehalt an assimilierbarer Phosphorsäure zu erhalten. Um sich darin zu orientieren, führten wir Versuche mit verschiedenen

Bodenarten aus, welche auch bei den Versuchen über Stickstoffbindung verwendet wurden. Es wurden immer gleichzeitig parallele Versuche in einer Peptonlösung mit und ohne Zugabe von K_2HPO_4 angestellt. Die Differenz, welche sich zwischen der Abspaltung des Ammoniaks in beiden Lösungen herausstellte, konnte in gewissem Sinne als Maßstab für den Mangel an assimilierbarer Phosphorsäure des Impfbodens, also auch für das Bedürfnis der Phosphorsäuredüngung dieses Bodens dienen. Für die Herstellung der Peptonlösungen wurde auch hier Leitungswasser verwendet. Wie im vorigen Versuche, so wurden auch hier je 100 ccm Lösung in Kölbchen von 250 ccm Inhalt sterilisiert, mit 10 g des betreffenden Bodens geimpft und im Thermostaten 4 Tage lang stehen gelassen. Die mit MgO abdestillierten Ammoniakmengen, so wie die Färbung der Flüssigkeiten sind in folgender Tabelle zusammengestellt. Außerdem sind auch in dieser Tabelle die Verhältniszahlen zwischen der Ammoniakabspaltung in beiden Peptonlösungen, d. h. mit und ohne K_2HPO_4 angegeben:

(Sieh Tab. X, Seite 56—57).

Aus den Zahlen dieser Tabelle ist zu entnehmen, daß die Schnelligkeit der Ammoniakabspaltung in 1%-iger Peptonlösung, welche mit einer gewissen Menge verschiedener Bodenarten geimpft wird, wenigstens von zwei Eigenschaften dieses Bodens abhängig ist:

- 1) von seinem Gehalt an assimilierbarer Phosphorsäure.
- 2) von seinem bakteriologischen Zustande.

Die Abhängigkeit von dem Gehalte des Impfbodens an assimilierbarer Phosphorsäure, welche wir schon bei den Versuchen mit dem Boden verschiedenartig gedüngter Parzellen des Versuchsfeldes konstatiert haben, tritt in den Zahlen der Tabelle X deutlich in dieser Tatsache zutage, daß in allen Versuchen ohne Ausnahme bei Impfung mit gleichem Boden, in der Lösung mit K_2HPO_4 -Zusatz mehr Ammoniak abgespalten wurde als in der Lösung ohne diese Zugabe. Dieser Unterschied war am größten in den Lösungen, welche mit stark auf Phosphorsäuredüngung reagierenden Bodenarten geimpft wurden. Als solche sind uns schon aus dem ersten Teile dieser Abhandlung die Böden aus Nowy Targ und aus Zakopane (Mała Łąka) bekannt.

Auch war bei der Impfung mit diesen Böden die Ammoniakabspaltung in der Peptonlösung mit K_2HPO_4 dreimal so groß wie

in der Peptonlösung ohne diesen Zusatz, dagegen war bei der Impfung mit anderen, an assimilierbarer Phosphorsäure nicht so armen Böden, der Unterschied in der Ammoniakabspaltung in beiden Lösungen bei weitem nicht so groß. Demnach wäre es nicht unmöglich, aus den Unterschieden in der Ammoniakabspaltung in Peptonlösungen mit und ohne K_2HPO_4 -Zusatz, welche mit gleicher Menge eines gewissen Bodens geimpft wurden, Anhaltspunkte über den Gehalt dieses Bodens an assimilierbarer Phosphorsäure zu bekommen. Nun ist aber die Sache nicht ganz so einfach, als es auf den ersten Blick scheinen könnte, da sie durch das andere hier wirkende Moment, d. h. durch den bakteriologischen Zustand des Bodens kompliziert wird. Daß die Menge des während des Versuches sich abspaltenden Ammoniaks nicht nur durch den Reichtum des Impfbodens an assimilierbarer Phosphorsäure, sondern auch durch den bakteriologischen Zustand desselben beeinflusst wird, folgt schon daraus, daß nicht nur in der Peptonlösung ohne K_2HPO_4 , sondern auch in derjenigen mit K_2HPO_4 -Zugabe die Menge des sich abspaltenden Ammoniaks je nach der Natur und Herkunft des Impfbodens, ja auch je nach der Jahreszeit, in welcher die Bodenprobe zur Impfung entnommen und der Versuch angestellt wird, verschieden ausfällt. So sehen wir z. B. in dem Versuche, welcher am 9/VIII mit den Böden aus dem Versuchsgute Mydlniki in K_2HPO_4 -haltigen Peptonlösungen ausgeführt wurde, daß in der mit alluvialen und mit sandig-lehmigem Boden geimpften Lösung über 86 mg, in der mit Löß geimpften 73 mg, in der mit Mergelboden geimpften 60 mg und in der mit Lettenboden geimpften nur 54.2 mg Ammoniak abgespalten wurde. Diese Unterschiede in Ammoniakabspaltung in K_2HPO_4 -haltigen Peptonlösungen können kaum auf etwas anderes, als auf den bakteriologischen Zustand des entsprechenden Impfbodens zurückgeführt werden. Aber nicht nur in den mit verschiedenen Böden geimpften, sondern auch in den Lösungen, welche mit einem und demselben Boden, aber in verschiedenen Jahreszeiten geimpft wurden, sind die Mengen des abgespaltenen Ammoniaks, trotz gleicher Versuchsdauer und gleicher Temperatur, bei welcher experimentiert wurde, sowohl in den Lösungen ohne wie mit Zusatz von K_2HPO_4 verschieden.

Vergleichen wir z. B. die Versuche mit den Böden aus dem Versuchsgute Mydlniki vom 9/VII und vom 15/XI, so sehen wir, daß bei dem im Spätherbst schon bei gefrorenem Boden ausgeführten

X. TABELLE.
Ammoniakabspaltung in 1%iger Peptonlösung während 4-tägiger Versuchsdauer
mit verschiedenen Bodenarten geimpft. 4-tägige Versuchsdauer bei 19.5–20.5° C.

Herkunft des Impfbodens	Beginn des Versuches	1% Peptonlösung mit K ₂ HPO ₄		1% Peptonlösung ohne K ₂ HPO ₄		Abgespaltenes NH ₃ in der Lösung ohne K ₂ HPO ₄ , wenn NH ₃ in der Lösung mit K ₂ HPO ₄ =100 gesetzt wird
		Abgespaltenes NH ₃ in mg	Färbung der Lösung	Abgespaltenes NH ₃ in mg	Färbung der Lösung	
Versuchsfeld-Parzelle mit Volldüngung	10/VI	84.7 } 84.4 84.1 }	rot	84.7 } 80.8 76.8 }	schwarz	95.7
"	1/VIII	82.0 } 82.8 83.6 }	rot	80.5 } 78.4 76.3 }	schwarz	94.7
Versuchsfeld-Parzelle ohne P ₂ O ₅	"	83.6 } 83.1 82.6 }	rot	60.2 } 61.5 62.8 }	grau	74.0
Mydlniki-Lößboden	9/VII	71.2 } 72.3 75.2 }	hellgrau	53.3 } 54.5 55.7 }	schwärzlich	74.4
" Mergelboden	"	53.7 } 60.1 66.5 }	—	51.2 } 49.6 48.1 }	hellgrau	82.0
" Tertiärer Lettenboden	"	54.2 } 54.2 54.3 }	rot	42.3 } 41.2 40.2 }	grau	76.0
" Sandiger Lehm Boden	"	82.0 } 80.5 78.9 }	rot	66.8 } 69.6 72.5 }	schwarz	86.5
" Alluvialer Boden	"	83.4 } 84.3 85.1 }	schwarz	52.1 } 50.8 49.5 }	grau	60.2
Zahradniki (Tatra)	15/IX	82.9 } 83.3 83.7 }	hellgrau	50.8 } 54.2 57.7 }	grau	65.1

Versuchsfeld-Parzelle mit Volldüngung	15/IX	74.3 } 76.2 78.1 }	rot	66.2 } 69.0 71.8 }	schwarz	90.7
Nowy Targ. Vollgedüngte Parzelle	"	72.8 } 75.4 78.0 }	hellgrau	23.6 } 25.1 26.5 }	hellgelb	33.4
Nowy Targ. Ungedüngte Parzelle	"	72.6 } 73.0 73.4 }	hellgrau	23.4 } 25.7 28.3 }	hellgelb	35.2
Zakopane. Mała Łąka, ungedüngt	"	76.4 } 74.8 73.2 }	hellgrau	23.4 } 27.1 30.8 }	hellgelb	36.2
Zakopane. Mała Łąka mit P ₂ O ₅ , K ₂ O und CaO gedüngt	"	85.6 } 84.5 83.4 }	hellgrau	50.8 } 50.8 — }	hellgelb	60.0
Zakopane. Mała Łąka mit K ₂ O und CaO gedüngt	"	83.3 } 83.3 83.4 }	hellgrau	49.5 } 45.3 41.0 }	hellgelb	54.3
Versuchsfeld-Parzelle mit Volldüngung	24/X	71.7 } 76.8 81.9 }	violett	47.0 } 50.0 52.9 }	—	65.1
Mydlniki-Lößboden	15/XI	97.7 } 96.9 96.0 }	schwarz	73.1 } 70.0 66.9 }	schwarz	73.0
" Mergelboden	"	103.3 } 105.6 107.8 }	schwarz	57.7 } 58.4 59.1 }	schwärzlich	55.4
" Tertiärer Lettenboden	"	75.7 } 78.5 81.3 }	schwarz	39.2 } 45.5 51.8 }	—	58.2
" Sandiger Lehm Boden	"	90.3 } 87.3 84.2 }	schwarz	52.8 } 58.2 63.5 }	dunkel	66.6
" Alluvialer Boden	"	99.7 } 102.3 105.0 }	schwarz	73.2 } 73.0 72.8 }	dunkel	71.3

Versuche die Zahlen der Ammoniakabspaltung für die Lösungen mit K_2HPO_4 ohne Ausnahme und für die Lösungen ohne K_2HPO_4 mit einer einzigen Ausnahme höher sind als die entsprechenden Zahlen der Juliversuche.

Daraus kann man den sicheren Schluß ziehen, daß der bakteriologische Zustand dieser sämtlichen Böden im Spätherbst ein anderer und für den Fäulnisprozeß der Peptonlösung günstiger war als im Sommer. Gegen diesen Schluß könnte man zwar freilich den Einwand erheben, daß die höheren Zahlen des Herbstversuches vielleicht durch irgend welche zufällige, vom Versuchsansteller übersehene und für den Prozeß günstigere Bedingungen des Herbstversuches (z. B. höhere Temperatur oder etwas längere Versuchsdauer) verursacht wurden. Wäre aber dieser Einwand wirklich stichhaltig, so müßte die Erhöhung der Ammoniakabspaltung im Herbstversuche wenigstens annähernd überall gleichmäßig ausfallen, was aber durchaus nicht der Fall war. Setzen wir nämlich alle Zahlen des Juliversuches = 100, so berechnen sich die Zahlen für Ammoniakabspaltung im Herbstversuche, wie folgt:

Lösung mit Lößboden		Lösung mit K_2HPO_4	Lösung ohne K_2HPO_4
	geimpft	132	129
"	" Mergelboden "	175	118
"	" Tertiärlettenboden "	145	110
"	" sandigem Lehm Boden "	108	83
"	" alluvialem Boden "	121	143

Wir sehen demnach, daß die Zahlen für die Lösungen mit K_2HPO_4 zwar alle größer als 100, aber doch recht verschieden sind, und daraus folgt, daß nicht die günstigeren Versuchsbedingungen des Herbstversuches, sondern die geänderten Eigenschaften der Impfböden eine stärkere Ammoniakabspaltung beim Herbstversuche verursacht haben. Diese geänderten Eigenschaften der Impfböden sind nun kaum anderswo zu suchen als in der Bakterienflora dieser Böden, welche sich im Spätherbst für den Fäulnisprozeß in K_2HPO_4 -haltiger Peptonlösung günstiger gestaltete.

Daß diese Zusammensetzung der Bakterienflora der Böden von Mydlniki im Spätherbste eine andere war als im Sommer, beweist auch der Umstand, daß die Färbung der Lösungen mit K_2HPO_4 am Schlusse des Versuches im Herbst überall schwarz, im Sommer dagegen meistens rot war; daraus kann man folgern, daß im Herbst

andere Bakterien als im Sommer die Hauptrolle bei der Peptonzersetzung gespielt haben.

Die Färbung der zersetzten Peptonlösungen ist, wie aus Tabelle X ersichtlich ist, nicht nur je nach der Jahreszeit, sondern auch je nach der Herkunft der Impferde und nach der An- oder Abwesenheit von K_2HPO_4 in der Lösung verschieden; daraus ergibt sich nun wieder der Schluß, daß je nach diesen Umständen verschiedene Bakterien sich an dem Prozesse der Ammoniakabspaltung aus dem Pepton mehr oder weniger beteiligen.

Was nun die Versuche über den Einfluß der Jahreszeit auf die Ammoniakabspaltung in Peptonlösungen ohne K_2HPO_4 anbetrifft, so ist hier die Sache insofern komplizierter und die Deutung der Resultate schwieriger, als der Impfboden in solcher Lösung nicht nur durch seinen veränderten bakteriologischen Zustand, sondern auch durch seinen möglicherweise veränderten Gehalt an assimilierbarer Phosphorsäure auf die Intensität der Ammoniakabspaltung wirken könnte. Inwiefern der Gehalt des Bodens an assimilierbarer Phosphorsäure in unseren Versuchen im Herbst größer oder kleiner war als im Sommer, ist schwer mit Sicherheit anzugeben; manche Gründe sprechen aber eher für die zweite als für die erste Annahme. So kann vor allem die Tatsache, daß bei der Impfung mit sandigem Lehmboden die Ammoniakabspaltung in der Peptonlösung ohne K_2HPO_4 im Herbste geringer, dagegen in der Lösung mit K_2HPO_4 größer war als im Sommer, kaum anders gedeutet werden, als durch die Annahme, daß die bakteriologische Beschaffenheit dieses Impfbodens sich im Herbste für den Fäulnisprozeß etwas günstiger gestaltete, dagegen dessen Gehalt an assimilierbarer Phosphorsäure kleiner als im Sommer war. Zu Gunsten der Annahme, daß im Herbste der Gehalt des Bodens an assimilierbarer Phosphorsäure sinkt, sprechen auch die Versuche mit dem Boden des Versuchsfeldes, bei welchem im Herbste im Vergleich mit dem Sommer die Ammoniakabspaltung in beiden Lösungen sank, und zwar in der Lösung mit K_2HPO_4 nur wenig, nämlich von 82·8 auf 76·8 mg, in der Lösung ohne K_2HPO_4 stark, nämlich von 78·4 auf 50 mg. Hier darf man mit Sicherheit annehmen, daß dieses viel stärkere Sinken der Ammoniakabspaltung in Peptonlösung ohne K_2HPO_4 im Gegensatz zu der Lösung mit K_2HPO_4 dem geringeren Gehalt des Impfbodens an assimilierbarer Phosphorsäure im Herbst gegenüber demjenigen im Sommer zugeschrieben werden darf.

Demnach können wir mit großer Wahrscheinlichkeit vermuten, daß der Boden überhaupt, besonders wenn er bepflanzt ist, im Herbst weniger assimilierbare Phosphorsäure enthält als im Sommer, was ja auch leicht begreiflich ist, da ein großer Teil dieses Nährstoffes während der Vegetationsperiode von den Pflanzen dem Boden entzogen wird.

Betreffs der Anwendung der Fäulnisversuche als eines diagnostischen Mittels zur Beurteilung des Gehaltes eines gewissen Bodens an assimilierbarer Phosphorsäure muß hervorgehoben werden, daß die oben dargelegte Abhängigkeit der Ammoniakabspaltung aus Peptonlösung von dem jeweiligen bakteriologischen Zustande des Impfbodens diese Methode etwas unsicher macht. Denn als Maßstab für den Gehalt an assimilierbarer Phosphorsäure eines gewissen Bodens soll das Verhältnis der Ammoniakabspaltung in einer mit diesem Boden gleichmäßig geimpften Peptonlösung mit und ohne K_2HPO_4 -Zusatz gelten. Nun ist es klar, daß angesichts des oben Gesagten auch dieses Verhältnis nicht nur durch den Gehalt des Impfbodens an assimilierbarer Phosphorsäure, sondern auch durch seinen jeweiligen bakteriologischen Zustand beeinflusst werden kann, so daß auch bei gleichem Gehalte zweier Impfböden an assimilierbarer Phosphorsäure dieses Verhältnis nicht gleich zu bleiben braucht. Daß es wirklich so ist, folgt z. B. aus der Vergleichung des fraglichen Verhältnisses im Juli- und im Novemberversuche für die Böden von dem Versuchsgute Mydlniki.

Die Ammoniakabspaltung in der Lösung ohne K_2HPO_4 gestaltet sich nämlich, falls wir diejenige in der Lösung mit $K_2HPO_4 = 100$ setzen, folgendermaßen:

Bei der Impfung	im Juliversuche	im Novemberversuche
mit Lößboden	74·4	73·0
„ Mergelboden	82·0	55·0
„ Tertiärlettenboden	76·0	58·2
„ sandigem Lehm Boden	80·5	66·6
„ alluvialem Boden	60·2	71·3

Das betreffende Verhältnis ist demnach nur bei dem Lößboden im November dasselbe wie im Juli geblieben, bei dem alluvialen Boden ist es im November enger, bei allen übrigen weiter als im Juli geworden.

Es ist kaum anzunehmen, daß diese in manchen Fällen so starken

Änderungen des betreffenden Verhältnisses allein durch entsprechend starke Änderungen des Gehaltes dieser Böden an assimilierbarer Phosphorsäure im Herbste verursacht würden; viel eher ist es anzunehmen, daß die veränderte bakteriologische Beschaffenheit der Böden im Herbste dabei vielleicht in hohem Grade mitgespielt hat. Es ist ja leicht begreiflich, daß, wenn bei der Peptonzersetzung in verschiedenen Fällen verschiedene Bakterien tätig sind, die Ammoniakabspaltung in der Lösung ohne K_2HPO_4 -Zusatz größer oder kleiner sein kann, je nachdem die betreffenden Bakterien weniger oder mehr Phosphorsäure zu ihrer Entwicklung bedürfen und je nach dem Grade, in welchem sie imstande sind, die im Impfboden vorhandenen Phosphate auszunützen. Man kann z. B. vermuten, daß die im alluvialen Boden im Herbst auftretenden Bakterien nicht soviel leicht assimilierbare Phosphorsäure bedürfen als die des Mergel- oder Tertiärlettenbodens.

Das sind alles Gründe, welche die Anwendung der Fäulnisversuche als Orientierungsmittel über den Gehalt eines bestimmten Bodens an assimilierbarer Phosphorsäure erschweren und die Sicherheit der Schlüsse aus den entsprechenden Versuchsergebnissen vermindern, so daß diese Schlüsse nur dann als ziemlich sicher gelten können, wenn die Unterschiede in der Ammoniakabspaltung in der Lösung mit und ohne K_2HPO_4 -Zusatz sehr groß oder sehr klein sind.

Andererseits wäre es aber nicht unmöglich, die oben angeführten Schwierigkeiten zu überwinden und eine exaktere Methode auszuarbeiten, und zwar, indem man die beiden Peptonlösungen samt den ihnen zugesetzten Bodenproben sterilisieren und mit Reinkultur gewisser Fäulnisbakterien, deren Verhalten vorerst zu studieren wäre, impfen würde. In diesem Falle wäre der Einfluß des bakteriologischen Zustandes des Bodens eliminiert und der Unterschied in der Ammoniakabspaltung in beiden Lösungen könnte dann nur von der Menge der für die betreffende Bakterienspezies assimilierbaren Phosphorsäure in dem zur Lösung zugefügten und mit ihr sterilisierten Boden abhängig sein.

Einfluß verschiedener organischer Substanzen auf Ammoniakabspaltung in Peptonlösung.

Bei den bisherigen Versuchen wurde als organische Nahrung und Energiequelle für die mit dem Impfboden in die Lösung ein-

geführten Bakterien Pepton allein verwendet. Der folgende Versuch hatte zum Zweck zu untersuchen, inwiefern ein Zusatz anderer organischer Substanzen zur Peptonlösung die Ammoniakabspaltung in derselben beeinflusst.

Zur Peptonlösung wurden neben der Impferde verschiedene organische Substanzen zugesetzt und die Lösungen samt diesen Zusätzen 4 Tage im Thermostaten bei 19·5—20·5° C stehen gelassen. Als Impferde diente der Boden aus der vollständig gedüngten Parzelle des Versuchsfeldes. Die abgespaltenen Ammoniakmengen, die Färbung und Reaktion der Lösungen am Ende des Versuches sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

XI. TABELLE.

Zugesetzte organische Substanz	Abgespaltenes Ammoniak in mg	Färbung	Reaktion
Keine	70·4 } 69·7 69·0 }	schwärzlich	neutral
Humussaures Natron	76·7 } 77·0 77·3 }	schwarz	"
Getrockneter Mist	63·8 } 64·3 64·8 }	grau	"
Zellulose	63·1 } 61·1 59·2 }	grau	"
Torf	58·7 } 55·2 51·8 }	grau	"
Stärke	6·7 } 6·3 5·9 }	gelblich	sauer
Glukose	2·8 } 3·1 3·5 }	gelblich	sauer

Wir sehen, daß der Zusatz von humussaurem Natron die Ammoniakabspaltung in Peptonlösung ziemlich deutlich steigerte, der Zusatz irgend einer anderen organischen Substanz sie aber mehr oder weniger, manchmal sehr stark herabdrückte. Die stärkste Verminderung der Ammoniakbildung war beim Zusatz von leicht zersetzbaren Kohlehydraten, wie Stärke und Glukose, zu beobachten.

Diese Tatsache ist leicht begreiflich, da einerseits die saure Reaktion, welche infolge des Stärke- oder Glukosezusatzes in der Flüssigkeit entstand, die Entwicklung der Fäulnisbakterien herabsetzen musste, andererseits die für die Bakterien leicht assimilierbaren stick-

stofffreien Stoffe denselben als Energiequelle dienten, was zur Folge hatte, daß Pepton weniger in den Stoffwechsel der Bakterien einge- zogen wurde. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß auch unter natürli- chen Verhältnissen die Anwesenheit einer größeren Menge von stick- stofffreien Stoffen die Zersetzung der stickstoffhaltigen Substanzen und also auch die Ammoniakbildung im Boden herabsetzen kann.

Einfluß eines größeren oder geringeren Luftzutrittes auf die Ammoniakabspaltung aus der Peptonlösung.

Um den Fäulnisprozeß der Peptonlösung bei starkem Luftzutritt zu beobachten, wurden die Versuche in U-Röhren ausgeführt. Der gebogene Boden dieser U-Röhren enthielt je 100 g zerbrochene Glasstücke, welche mit etwas Glaswolle bedeckt waren. In die Arme einer jeden dieser U-Röhren brachte man eine Mischung von je 200 g sterilisiertem Sand, 10 g Impferde und 25 ccm Peptonlösung. Es wurde dafür gesorgt, daß in beiden Armen annähernd die glei- che Menge dieser Mischung enthalten sei. Die Lösung enthielt pro 1 Liter Leitungswasser 10 g Pepton, 1 g K_2HPO_4 , 0.5 g $MgSO_4$ und 0.5 g $CaCO_3$. Beide Arme einer jeden U-Röhre wurden mit Gummipfropfen, in welchen je ein unter rechtem Winkel geboge- nes Röhrchen steckte, geschlossen. Die auf obige Weise mit einer Mischung von Sand, Peptonlösung und Impferde beschickten U-Röh- ren wurden in einem Wasserbade von 27—30° aufgehängt, und es wurde durch dieselben mittels eines Aspirators ein Strom feuchter Luft ge- sogen, so daß während der zweitägigen Dauer des Versuches durch jede Röhre ungefähr 20 Liter Luft hindurchgingen. Um die Entwei- chung des sich bildenden Ammoniaks zu verhindern, wurde die Luft aus den U-Röhren durch Kugelapparate mit einer bestimmten Menge titrierter Schwefelsäure geleitet. Durch Titrierung dieser Säure nach dem Versuche wurde in keinem Falle in derselben Ammoniak nach- gewiesen, es fand also bei der Luftdurchleitung keine Ammoniak- entweichung aus der Mischung statt.

In demselben Wasserbade, in welchem die U-Röhren hingen, wurden auch Erlenmayer'sche Kölbchen mit je 25 ccm derselben Lösung und 10 g gleicher Impferde während der ganzen Versuchs- zeit gehalten. Nach 48 Stunden wurde das gebildete Ammoniak sowohl in dem Inhalte dieser Kölbchen wie in dem der U-Röhren bestimmt. In dem Inhalte der Kölbchen geschah die Ammoniak-

bestimmung durch einfaches Abdestillieren mit frisch gebrannter MgO, in dem Inhalte der U-Röhren auf diese Weise, daß man ihren ganzen Inhalt in ein Glasgefäß überführte, mit 500 ccm 2% Schwefelsäure gut durchschüttelte und in 400 ccm der so erhaltenen Lösung das Ammoniak nach Neutralisation mit Natronlauge durch Abdestillieren mit MgO bestimmte. Die erhaltene Ammoniakmenge ergab, mit $\frac{525}{400}$ multipliziert die Gesamtmenge des Ammoniaks in dem Inhalte der U-Röhre.

Als Impferde wurde bei diesen Versuchen der Boden aus zwei Parzellen des Versuchsfeldes benutzt, und zwar aus der vollständig und aus der ohne Phosphorsäure gedüngten. Die Resultate des Versuches sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

XII. TABELLE.

Herkunft der Impferde	Ammoniakabspaltung in mg im Laufe von 48 Stunden	
	Versuch in Kölbchen	Versuch in den Röhren mit Luftdurchleitung
Parzelle mit Volldüngung	22.7 } 22.0 21.4 }	12.0 } 12.4 12.9 }
Parzelle ohne P ₂ O ₅	21.7 } 21.8 22.0 }	9.5 } 9.7 11.1 } 8.4 }

Die Zahlen dieser Tabelle zeigen, daß beim reichlichen Luftzutritt in gleicher Zeit weniger Ammoniak bei der Zersetzung des Peptons abgespalten wurde als bei erschwertem Luftzutritt. Die Zahlen der Versuche in U-Röhren scheinen aber auf einen gewissen Unterschied in dem bakteriologischen Zustande der vollständig gedüngten Parzelle ohne P₂O₅ hinzuweisen, welcher Unterschied mit der gewöhnlichen Remy'schen Methode nicht zum Vorschein kommt.

Zusammenfassung der Resultate.

1. Die Remy'sche Methode der bakteriologischen Bodenuntersuchung kann uns nur dann über den bakteriologischen Zustand des Bodens in gewisser Hinsicht zuverlässige Resultate geben, wenn

BULLETIN INTERNATIONAL
DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE CRACOVIE
CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES.

SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES.

DERNIERS MÉMOIRES PARUS.

(Les titres des Mémoires sont donnés en abrégé).

*R. Gutwiński. Flora Algarum Montium Tatrensium	Avril 1909
A. Dzierzbicki. Einfluß d. Humusstoffe auf Entwicklung d. Hefe	Avril 1909
N. Cybulski, J. Borkowski. Membranen etc. u. el.-motor. Kräfte	Avril 1909
J. Jarosz. Kohlenkalk in der Umgebung von Krakau	Avril 1909
J. D. Borkowski, Z. Szymanowski. Agglutination und Hämolyse von roten Blutkörperchen	Mai 1909
St. Weigner. Cenomanbildungen von Podolien	Mai 1909
J. Siemiradzki. Faune dévonienne des environs de Kielce	Mai 1909
Ed. Janczewski. Suppléments à la monographie des groseilliers. I.	Juin 1909
C. Ruppert. Révision du genre Sphaerosoma	Juin 1909
W. Staniszki. Umsatz von P_2O_5 im Pflanzenorganismus	Juin 1909
Br. Frenkel. Die Kleinhirnbahnen der Taube	Juin 1909
T. Kurkiewicz. Histogenese des Herzmuskels der Wirbeltiere	Juin 1909
Br. Rydzewski. Faune crétacique de Miały	Juin 1909
K. Wójcik. Eine neue Entblößung von Oolith	Juill. 1909
J. Jarosz. Fauna des Kohlenkalks in d. Umgebung von Krakau. I.	Juill. 1909
M. Raciborski. Azalea pontica im Sandomierer Wald	Juill. 1909
J. Brzeziński. Les graines du raifort et les résultats de leurs semis	Juill. 1909
E. Niezabitowski. Materialien zur Kiefern-Flora Galiziens	Juill. 1909
B. Namysłowski. Actinomyceten aus der menschlichen Hornhaut	Juill. 1909
*VI. Kulczyński. Fragmenta arachnologica, VII	Juill. 1909
L. Mierzejewski. Entwicklung des Lymphgefäßsystems der Vögel	Juill. 1909
Z. Woycicki. Wachstums-, Regenerations-, Propagationserscheinungen	Oct. 1909
*VI. Kulczyński. Fragmenta arachnologica, VIII	Oct. 1909
R. Hulanicka. Terminaisons nerveuses dans la peau de <i>Rana escul.</i>	Oct. 1909
W. Rogala. Lamellibranchen aus dem Lemberg-Nagorzanyer Senon	Oct. 1909
S. Krzemieniewski. Phototaktische Bewegungen	Nov. 1909
J. Nowak. Obere Kreide in der Umgebung von Halicz	Nov. 1909
J. Talko-Hryncewicz. Les Tchouvaches du Volga	Nov. 1909
L. Sawicki. Die Bevölkerung der Westkarpaten	Nov. 1909
J. Nowak. Zur Kenntnis des Senons im Königreich Polen	Déc. 1909

* Ce Mémoire se vend aussi séparément.

TABLE DES MATIÈRES.

JANVIER 1910.

	Page
J. NUSBAUM et M. OXNER. Beiträge zur Kenntnis der Regenerationserscheinungen bei den Nemertinen	1
B. FULIŃSKI. Ein Beitrag zur Embryonalentwicklung der Agelastica alni L.	12
G. POLUSZYŃSKI. Über einige Abnormitäten im Baue der Geschlechtsausführungsgänge bei <i>Helix pomatia</i> L.	17
A. DZIERZBIKI. Beiträge zur Bodenbakteriologie	21

Les livraisons du «Bulletin International» se vendent séparément. — Adresser les demandes à la Librairie «Spółka Wydawnicza Polska», Rynek Gł., Cracovie (Autriche).

Prix: 1 K 60 h
