

DE ROL DER STIKSTOF IN HET LEVEN DER PLANT.

DOOR

J. M. GEERTS.

Alle organismen hebben voor den opbouw van hun protoplasma stikstof noodig. De voornaamste bronnen van stikstof zijn: salpeter, ammoniak, de organische stikstofverbindingen en de vrije stikstof uit de atmosfeer.

Allereerst zullen wij nagaan uit welke bronnen de plant stikstof put en hoe ze deze verwerkt, waarbij wij voorloopig alleen die planten zullen beschouwen, welke bij hare voeding van andere organismen onafhankelijk zijn.

In het midden der vorige eeuw dacht men, dat ammoniak de voornaamste stikstofbron voor de planten was. Men zag gunstige resultaten van ammoniakbemesting en wist nog niet, welke omzettingen er in den grond onder den invloed van bacteriën plaats vinden.

BOUSSINGAULT bewees echter in 1860, dat nitraten voor de meeste phanerogamen de beste stikstofbron zijn. Hij kweekte planten o.a. *Helianthus argophyllus*, op drieërlei wijze, n.l. 1o. in zand, 2o. in zand met alle aschbestanddeelen, doch zonder nitraat; 3o als onder 2, maar met nitraat. Terwijl er in de eerste en tweede proef slechts een geringe toename in substantie was, groeide de plant in de laatste proef krachtig, en gaf een droog gewicht, dat ongeveer 60 maal zoo groot was, als in de eerste en tweede. Toch was aan die plant slechts 1.4 gr. kaliumnitraat toegevoegd op 1½ K G. zand.

Of naast nitraten door planten ook nitrieten verbruikt kunnen worden, is nog niet uitgemaakt. MOLISCH vond, dat nitrieten in sterke concentratie zeer giftig werken, terwijl ze uit een zwakke oplossing b.v. van 0.05 pCt. kaliumnitriet gretig opgenomen en in de plant veranderd worden.

Nitraten zijn dus voor de planten de beste stikstofbron. Echte

nitraat-organismen zijn b.v. boekweit, aardappel, beetwortel. Toch hebben ook ammoniakzouten voedende waarde, zooals uit proeven van MAZÉ en anderen gebleken is. Deze zouten, vooral koolzure ammoniak, werken echter in sterkere concentratie, evenals nitrieten, schadelijk op de wortels. Maïs en andere Gramineëen, verder kool en uisoorten kunnen zich evenwel uitstekend met ammoniumzouten voeden.

Hoewel groene planten met hare bladeren de sporen ammoniak uit de lucht en de weinige stikstofverbindingen, die met den regen op de bladeren vallen, tot zich kunnen nemen, worden toch de stikstofverbindingen grootendeels door de wortels opgenomen. Het wortelsysteem kan door zijne sterke vertakkingen, niettegenstaande de bodem slechts weinig gebonden stikstof bezit, voldoende van die noodzakelijke voedingsstof bemachtigen.

In vele planten kan men dan ook gemakkelijk salpeterzure zouten aantoonen. Bij aardappel en boekweit bedraagt de salpeter 0.015 tot 0.028 deel van het drooggewicht, bij Amarantus zelfs 0.15. Het meeste nitraat vindt men in de wortels, minder in stengel en blad. Kweekt men een plant in een ammoniakhoudende voedingsoplossing, dan kan men er geen nitraat in aantoonen; de plant vormt dus zelf het nitraat niet, maar moet het als zoodanig met de wortels opnemen.

In welke plantendeelen en op welke wijze worden nu deze anorganische stikstofverbindingen geassimileerd, d.w.z. overgevoerd in soortgelijke organische stikstofverbindingen als waaruit het protoplasma is opgebouwd?

Op deze vraag is nog geen afdoend antwoord gegeven.

SCHIMPER beweerde in 1888. dat stikstof-assimilatie, evenals koolstofassimilatie, een functie is van het chlorophyl en het zonlicht. Bladeren van pelargonium zonale zijn steeds rijk aan nitraten; in het donker neemt het gehalte toe; in het zonlicht vermindert het echter spoedig; bij chlorophylvrije bladeren van de bonte variëteiten van dit geslacht verandert het nitraatgehalte in het licht niet. Tevens ontstaat in de groene, belichte bladeren veel calciumoxalaat. De bijproducten bij de eiwitvorming toch worden meesttijds door kalkzouten omgezet in onoplosbare stoffen en dus onschadelijk gemaakt.

Deze waarnemingen bewijzen nog niet, dat de stikstofassimilatie door het zonlicht in het chlorophyl plaats vindt. De invloed daarvan kan indirekt zijn. Want, indien door koolstof-assimilatie rijkelijk koolhydraten aanwezig zijn, is het ook mogelijk, dat nu verder daaruit, of reeds uit de eerste assimilatieprodukten en uit de opgenomen stikstofverbindingen, eiwitten worden gevormd, zonder verdere hulp

van zonlicht en chlorophyl. Is dat het geval, dan kan de eiwitvorming dus ook in het donker plaats vinden.

GODLEWSKY constateerde in 1897, dat bij kiemende tarwekorrels in 't licht overvloedig proteïden gevormd werden, ten koste van nitraten en reserve-koolhydraten. In het donker was die produktie nagenoeg nul, maar er werden amiden gevormd, door onvolkomen assimilatie der nitraten in tegenwoordigheid van de reservestoffen van het zaad.

LAURENT en MARCHAL beweren ook dat bij hogere planten in de groene deelen, onder de rechtstreeksche inwerking van het licht en wel van de ultra-violette stralen, meer eiwitachtige stoffen kunnen worden gevormd dan in het donker.

Andere onderzoekers beweren echter, dat ook in het donker eiwit gevormd wordt. Dat dit onmogelijk is, is nog geenszins bewezen. In analogie met bacteriën en schimmels, die zeker eiwit in het donker kunnen vormen, is de waarschijnlijkheid, dat ook phanerogamen dit vermogen bezitten, groot.

In de plant worden allerlei stikstofhoudende producten aangetroffen, soortgelijke als ook bij hydrolytische splitsing van eiwitten ontstaan. Vooral asparagine is herhaaldelijk aangetoond. Hoewel 't zeer waarschijnlijk is, dat dergelijke producten de eiwitvorming voorafgaan, is dit tot nog toe niet bewezen. Wel is reeds dikwijls geconstateerd dat planten, zoowel hogere als lagere, in staat zijn uit organische stikstofhoudende stoffen eiwitten te vormen, hetgeen PFEFFER reeds in 1872 deed veronderstellen dat eiwitten uit asparagine en koolhydraten gevormd worden.

TRUB beweert, op grond van zijn onderzoek van blauwzuur-houdende planten, o.a. *pangium edule*, dat dit zuur als eerste product bij de eiwitvorming ontstaat.

De hogere planten, behalve zij die een mycorrhiza hebben, moeten de organische producten zelf vormen uit nitraten. Zij kunnen ze zeer waarschijnlijk niet uit den bodem bemachtigen, door de concurrentie met schimmels en bacteriën. Van deze toch zijn de meesten juist op organische stoffen aangewezen, saprophytisch of parasietisch.

Onder deze saprophyten en parasieten vindt men zoowel vormen, die stikstof op dezelfde wijze kunnen assimileeren als hogere planten, als vormen, die eiwit als zoodanig moeten opnemen, benevens vele tusschenvormen.

Nitraatorganismen als *Mucor racemosus*, *Aspergillus glaucus*, faeces- en nitraatbacteriën assimileeren nitraten.

Ammoniakorganismen, b.v. *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis*, assimileeren ammoniak.

Deze nitraat- en ammoniakorganismen zijn wat de stikstof betreft dus onafhankelijk van andere organismen. Tevens kunnen ze de stikstof zonder lichtstralen assimileeren, terwijl de koolhydraten dan de noodige energie voor de eiwitvorming leveren.

Tusschenvormen zijn de amido- en peptonorganismen. De eerste, b.v. *Bacillus typhi*, groeien uitstekend op asparagine, de laatste, b.v. *Bacillus Anthracis* op peptonen.

Afhankelijk van andere organismen, ook ten opzichte van de stikstof, zijn de eiwitorganismen, als *Bacillus Diphtheriae*. Deze groeien dus op eiwitten.

Evenals de voedingswaarde van de koolstofhoudende stoffen afhangt van de daarnaast gegeven stikstofbronnen, hangt ook de voedingswaarde dezer laatste af van de eerste. *Bacillus subtilis* kan zich met nitraat voeden, als tevens glucose gegeven wordt, heeft echter ammoniak noodig, als glycerine als koolstofbron toegevoegd wordt. Gewoonlijk is pepton en glucose de beste combinatie van koolstof en stikstof. *Aspergillus niger* verbruikt echter aminozuren in tegenwoordigheid van glucose beter dan van pepton.

Over 't geheel zijn de lagere organismen in staat zich met de meest verschillende stoffen te voeden en daar ze tevens aan zeer hooge concentratie aangepast kunnen zijn, (*Aspergillus niger* groeit nog op 53 pCt. glucoseoplossing) is het te begrijpen, dat ze overal voorkomen. In de eerste plaats ziet men fungi op doode plantenweefsels, als afgefallen bladeren, maar ook op dierlijke resten, indien deze zuur reageeren; reageeren ze alkalisch, dan treden de bacteriën meer op den voorgrond.

Door deze lagere organismen wordt de stikstof, die in de planten in den vorm van eiwitten, alkaloïden, chlorophyl enz. is vastgelegd, weer vrij.

Deze trapsgewijze afbreking der eiwitten door bacteriën is het rottingsproces; daarnaast vinden allerlei gistingsprocessen van de stikstofvrije stoffen plaats. Daalt de temperatuur onder een zekere grens, dan rotten lijken niet, zooals b.v. blijkt uit de mammouths, die uit den ijstijd bewaard zijn gebleven. Ook droogte gaat rotting tegen. Daardoor vergaan soms in grafkelders de lijken niet. Zoo vindt men b.v. in een grafkelder in de kerk te *Wiewerd (Friesland)* eenige volkomen uitgedroogde lijken, o.a. van ANNA MARIA SCHÜRMAN, die leefde in de 17de eeuw.

Bij het rotten van zuivere eiwitten ontstaan soortgelijke producten als bij koken van eiwitten met zoutzuur of kaliloog; grootendeels dezelfde producten als ook bij de vertering in de darmen ontstaan,

Onder de rottingsbacteriën zijn voornamelijk drie groepen te onderscheiden:

1o. Trypsinogene bacteriën, die onder vorming van ammonia en aminen het eiwitmolecule afbreken. Deze maken door die eerste splitsing, dat ook anderen bacteriën het eiwitmolecule kunnen aangrijpen.

2o. Saprophile bacteriën. Deze gebruiken de stinkende rottingsprodukten en spelen daardoor een groote rol. Sommige leven van de laagste splitsingsprodukten, b.v. de zwavelbacteriën en de nitrificerende bacteriën, zooals we later zullen zien.

3o. Saprogene of eigenlijke rottingsbacteriën, b.v. *Bacillus vulgaris*. Deze vormt sterk vertakte draden, bijeen gehouden door slijm, welke als een mycelium de geheele galatineplaat overspinnen. Terwijl door deze bacteriën peptongelatine snel vervloeit en eiwitlichamen onder den doordringenden stank van zwavelwaterstof, ammoniak en indol in rotting gaan, gebeurt dit niet, als er tevens suiker aanwezig is. De bacteriën toch vormen uit suiker melkzuur en dit gaat hunne saprogene werking tegen.

De belangrijkste rottingveroorzakende bacterie is wel *Bacillus putrificus* (*Plectridium*), wiens sporen o.a. steeds in den darminhoud voorkomen. De aanwezigheid van koolhydraten gaat bij deze bacterie de rotting niet tegen, daar hij ze niet vergisten kan. Is er echter een gistingsbacterie en dus zuur aanwezig, dan wordt de rottende werking van *Bac. putrificus* wel tegengehouden.

Zoodoende gaat ongekookte melk niet door *Bac. putrificus* rotten, daar de melkzuurbacteriën de rotting tegengaan, gesteriliseerde melk wel.

Evenzoo zijn vruchten, als peren, appels, kersen, druiven, sinaas-appels, enz., die gewoonlijk arm zijn aan eiwit maar rijk aan plantenzuren, daardoor tegen bacteriënwerking beschermd en kunnen dus niet op de gewone wijze rotten. Wat men in 't dagelijksch leven rotten van vruchten noemt, berust op de werking van schimmels als *Penicillium*, *Mucor*, *Botrytis*, die hoogere concentraties kunnen verdragen. Daar de fungi voornamelijk de zuren verbruiken, worden in 't algemeen rottende vruchten zoeter. Bruin worden ze door oxydatie van looistoffen.

Keeren we nu tot de eigenlijke rotting terug. Terwijl *Bacillus vulgaris* zich het beste bij aanwezigheid van weinig zuurstof ontwikkelt, werken sporen van dit gas reeds schadelijk op den groei van *Bacillus putrificus*. Deze laatste, die dus streng anaëroob is, kan toch, ingeval er tevens een zuurstofverbruikende bacterie is, die weinig zuur vormt, aan de lucht leven. In de natuur verloopt de rotting gewoonlijk zoo,

dat er weinig zuurstof kan toetreden; de lucht toch wordt door de gassen, die door de rotting zelf ontstaan, grootendeels verdrongen.

Slechts een klein gedeelte van de stikstof, die door de planten als eiwit is vastgelegd, komt na den dood van de plant dadelijk weer vrij. 't Meeste eiwit toch wordt door de dieren opgenomen en een ander deel blijft, doordat het als reservevoedsel in het zaad is gegaan, in de levende planten. Afgestorven plantendeelen, als dorre bladeren, zijn stikstofarm en celluloserijk; ze vergaan langzaam en vormen den humus. In den humus is wel stikstof, maar deze is zeer moeilijk oplosbaar, zoodat hoogere planten ze niet kunnen bemachtigen.

Een huminezuur, waarvan de droogsubstantie 4.92 pCt. asch, 51.56 pCt. koolstof en 3.22 pCt. stikstof bevatte, kon voor 30 verschillende bodembacteriën wel als stikstofbron dienen, indien tevens rietsuiker aanwezig was, maar niet als koolstofbron. Met chemische oplossingsmiddelen kan men geen andere bruikbare voedingsstoffen uit den humus trekken. Toch kunnen fungi, door de enzymen die ze afscheiden, nog voedsel uit den humus halen.

De eiwitstikstof, die door de dieren is opgenomen, komt gedeeltelijk met de excrementen en de urine weer vrij en gedeeltelijk na den dood door rotting. In het darmkanaal begint de darminhoud reeds te rotten, voornamelijk in het midden; de darmwand toch is bezet met *Bacterium coli*, die uit de suiker van den darminhoud zuren maakt en deze zuren gaan de rottende werking van *Bacillus vulgaris* en *Bacillus putrificus* tegen. Sterft een dier, dan dringen de rottingsbacteriën van uit de darmen naar alle zijden in 't weefsel en de rotting begint van binnen uit, ook, doordat de eigenlijke rottingsbacteriën weinig zuurstof kunnen verdragen.

Van de urine wordt het ureum en het urinezuur omgezet door de urobacteriën, als *Urobacillus Pasteurii*, *Urococcus ureae*, in koolzure ammoniak. Ureum neemt dan evenals bij enzymwerkingen water op. De Urobacteriën veroorzaken deze omzetting waarschijnlijk ook door een enzym, de urase. BEYERINCK toch vond, dat ureum, waarin de bacteriën door chloroform gedood waren, ook nog werd omgezet. Van ureum alleen kunnen de bacteriën niet leven; zij moeten er naast een koolstofbron hebben.

In den bodem wordt de urine ook omgezet tot ammoniak; maar de werking der urobacteriën strekt zich niet verder dan $\frac{1}{2}$ M. in de diepte uit. Toch komt langs dezen weg veel stikstof weer voor de planten beschikbaar. Een stad als Amsterdam zou per dag uit de urine 4600 K.G. stikstof kunnen geven.

Door al deze werkingen van lagere organismen komt de stikstof

weer terug in een eenvoudige verbinding, als ammoniak. Deze is echter geen goede voedingsstof. Toch gaat zij niet voor de planten verloren, want in den grond die haar sterk absorbeert, zijn organismen, die ammoniak omzetten in nitraten, n.l. de nitrificeerende bacteriën of nitrobacteriën. *)

Vroeger hield men deze omzetting voor een zuiver chemische werking. Daar SCHLÖSING en MÜNTZ in 1878 zagen, dat dit proces van uitwendige omstandigheden afhangt, zooals temperatuur en anaesthetica, dacht men aan de werking van organismen. Alle pogingen om die organismen met de gewone bacteriologische methoden uit den bodem te isoleeren mislukten, totdat in 1890/91 WINOGRADSKY daarin slaagde. In 1887 had hij de levenswijze van *Beggiatoa*, de zwavelbacterie, bestudeerd, waarbij het hem gebleken was, dat dit organisme beter groeit, indien weinig organische stof aanwezig is. Daarom trachtte hij ook de nitro-bacteriën te kweken op een voedingsbodem met weinig organische stof; echter zonder resultaat, totdat hij een geheel anorganischen voedingsbodem ging gebruiken.

Hierin ontstond een sterke nitrificatie; binnen 14 dagen was al de ammoniak uit de oplossingen verdwenen. In deze cultures waren nog velerlei bacteriën. Hoewel 't aantal soorten door herhaalde overenting wel verminderde, slaagde hij er op deze manier toch niet in de bacteriën te scheiden.

Boven op de vloeistof kwam eene troebeling, waarin hij de nitrificeerende bacteriën zocht. Hierin vond hij 5 soorten van organismen, die echter geen van allen de oorzaak der nitrificatie bleken te zijn. Die vond hij onder in de vloeistof, in het bezinksel van koolzure magnesia als in slijm gedoken ovale bacteriën. Bij 't kweken van deze bleek, dat door toevoeging van een carbonaat van een der aardalkaliën de nitrificatie sterker werd; verder, dat, indien weinig ammoniak werd toegevoegd, er meer nitraat ontstond. Toch bleef er steeds een hoeveelheid nitriet in de cultuur. Dit kwam niet door ongunstige cultuurvoorwaarden, want, niettegenstaande het hem gelukte een cultuur, die per dag 9 m.gr. stikstof nitrificeerde, op een nitrificatie van 22.7 m.gr. te brengen, door het oppervlak 4 maal te vergrooten en dus het toetreden der lucht te verbeteren, toch bleef in deze virulente cultuur nitriet; ja de hoeveelheid nam toe. Zijn vermoeden, dat hier twee organismen werkzaam waren, waarvan het eene ammoniak in nitriet omzet en het andere nitriet in nitraat, bleek juist. Toen hij van een cultuur, die sterk nitriet vormde, een

*) Ammoniak = NH_3 , nitrieten b.v. kaliumnitriet = KNO_2 , nitraten b.v. kaliumnitraat = KNO_3 .

nieuwe cultuur maakte, trad hierin alleen nitrietvorming op. Het gelukte hem de beide organismen afzonderlijk te kweken en wel de nitraatbacteriën op den volgende voedingsbodem:

1 gr. natriumnitriet
 0.59 gr. kaliumphosphaat
 0.3 gr. magnesiumsulfaat
 1 gr. watervrije soda
 0.5 gr. keukenzout
 0.4 gr. ferrosulfaat
 1 l. gedistilleerd water.

Nitraatbacteriën zijn kleine, onbeweeglijke staafjes, die de voedingsoplossing niet troebel maken en op den bodem en aan den wand van het vat dunne vliezen vormen.

De nitrietorganismen kweekte hij op een colloïdale kiezelzuuroplossing, waaraan de noodige zouten werden toegevoegd. De nitrietbacteriën maken de voedingsoplossing troebel en vormen slijmmassa's, die zich vooral rondom kristalletjes van koolzure magnesia ophoopen. De nitrietbacteriën zijn of onbeweeglijke kogelbacteriën (*Nitrosococcus* uit Amerika) of ellipsoïdische staafjes, die zich met één geesel sterk bewegen (*Nitrosomonas* uit Java en Europa).

Dat de salpeter- of nitrobacteriën (d.z. de nitraat- en nitrietbacteriën) onder toetreding van lucht leven, dus aëroob zijn, hebben wij boven reeds medegedeeld en ook hoe zij zich het best ontwikkelen bij afwezigheid van organische stoffen.

Waar krijgen zij nu de koolstof, die zij nodig hebben, vandaan? WINOGRADSKY kweekte de bacteriën op geheel anorganische voedingsoplossing en zorgde er voor, dat alles, glaswerk, vloeistof, enz., vrij was van organische stoffen, terwijl er ook geen stof uit de lucht kon binnendringen. De bacteriën groeiden en nitrificeerden zoo sterk, dat de toename in organische substantie bepaald kon worden. Deze bedroeg in drie maanden 15 tot 26 mgr. gebonden koolstof. Deze kan slechts ontstaan zijn uit het koolzuur van de lucht, of uit carbonaten. GODLEWSKI toonde in 1895 aan, dat een carbonaat niet voldoende is als koolstofbron en dat bij afsluiting van de lucht, de nitrificatie niet begint.

De nitrobacteriën zijn dus in staat uit het koolzuur van de lucht organische stoffen op te bouwen.

Hoogere planten bezitten dit vermogen, voorzoover zij chlorophyl bevatten, en kunnen slechts bij voldoende licht assimileeren. De zon levert haar dus de energie. De nitrobacteriën kunnen ook in het donker organische stof uit het koolzuur van de lucht produceeren.

Door de oxydatie van de ammoniak tot nitriet en nitraat verkrijgen zij de noodige energie.

Voordat de werking der nitrobacteriën in de natuur ons duidelijk kan worden, dienen wij hun gedrag ten opzichte van organische stoffen nog nader te bespreken. WINOGRADSKY en OMELIANSKY voegden aan reïncultures allerlei verbindingen toe en bepaalden de hoeveelheid, die de nitrificatie tegenhouden of geheel opheffen kon. Het bleek hun, dat nitraatbacteriën zeer gevoelig zijn voor ammoniak en dat 0,0005 pCt. daarvan reeds de nitraatvorming vertraagt, terwijl zij bij 0,15 pCt. opgeheven wordt. Nitrietbacteriën kunnen veel minder organische stof verdragen dan nitraatbacteriën, hoewel ook deze laatste daarvoor gevoelig zijn.

Daar de nitrietorganismen zoo gevoelig zijn voor organische stoffen, zullen, volgens WINOGRADSKY, deze bacteriën niet eerder hun werkzaamheid in den grond kunnen beginnen, dan nadat alle organische stoffen door rotting omgezet zijn. De nitrietbacteriën zetten dan de ammonia om in nitriet; zoolang er echter nog ammonia aanwezig is, kunnen de nitraatbacteriën hun werking niet beginnen; eerst, als deze volledig omgezet is in nitriet, wordt dit verder geoxydeerd tot nitraat.

Het is echter niet waarschijnlijk, dat deze omzettingen in de natuur trapsgewijze, zooals WINOGRADSKY op grond van bovenbeschreven proeven meende, plaats vinden. Want en in de natuur en in de z.g. salpeterbedden wordt zelden nitriet aangetroffen. In de salpeterbedden worden namelijk organische stikstofhoudende stoffen gemengd met lagen aarde, opgestapeld. Wanneer men deze voldoende vochtig houdt, liefst met urine en er basen, als kalk of zeepwater aanwezig zijn, dan worden die stikstofverbindingen, bij genoegzame toetreding van lucht, rechtstreeks overgevoerd in nitraat. Alleen in het begin, wanneer een nieuw bed aangelegd wordt, treedt nitriet op.

BOULANGER en MASSOL vonden, in 1905, dat indien men van een cultuur, die reeds nitraat uit ammoniak gevormd heeft, de vloeistof afgiet en nieuwe toevoegt, er ook rechtstreeks nitraat optreedt, zonder dat nitriet is aan te toonen, m.a.w. de nitriet- en nitraatbacteriën gaan samenwerken. Ammoniak werkt dan niet meer zoo verlamdend op de organismen. Eerst als er 0,11 gr. per Liter aanwezig is, treedt er vertraging van het proces op; bij 1,8 gr. per L. staat de omzetting nog niet stil. Dus werkt ammoniak zoo schadelijk op de ontwikkeling der nitraatorganismen, niet op de oxydeerende werking van reeds bestaande nitraatvormers. In de natuur vindt volgens hen ook samenwerking tusschen beide nitrificeerende organismen plaats.

Zoo kan dus de stikstof, die door de planten was opgenomen als

nitraat, door haar omgezet in eiwit, door de rotting overgevoerd in ammoniak en door de nitrificatie in nitraten, weer door de planten worden opgenomen, om denzelfden kringloop nog eens te volbrengen.

In de natuur treden echter nog allerlei complicaties op. Behalve ammonia ontstaat bij de eiwitrotting ook vrije stikstof, maar betrekkelijk weinig.

Een ander proces, de denitrificatie, is van meer belang. Nitraten worden daarbij gereduceerd tot nitrieten, ammoniak en vrije stikstof. Daardoor gaat een deel van de stikstof, die door de planten als voedsel kon worden gebruikt, voor hen verloren. Naar men meende was dit proces een gevaar voor den landbouw. Een groote hoeveelheid stikstof toch wordt met de oogst van het land gehaald en een stikstofbemesting is noodzakelijk. Daar veel met Chilisalpeter bemest wordt, dient de landbouwer de voorwaarde, waaronder de denitrificatie plaats vindt, te kennen, om dat proces zooveel mogelijk tegen te gaan. Daarom is de denitrificatie uitvoerig bestudeerd.

Terwijl er zeer veel bacteriën zijn, die nitraten tot nitrieten en ammoniak maken, zijn er betrekkelijk weinig bacteriën, die haar afbreken tot vrije stikstof. Het best bestudeerd zijn *Bacillus denitrificans* en *Bacillus pyocyaneus*. De eerste komt vooral in stroo en in mest van planteneteren dieren voor; de laatste, behalve in aarde en mest, dikwijls in verontreinigde wonden. Kweekt men de denitrificerende bacteriën op eene voedingsoplossing, die bestaat uit.

1000 gr. water.

2 gr. kalium- of natriumnitrat.

5 gr. citroenzuur.

2 gr. magnesiumsulfaat.

2 gr. zuur kaliumphosfaat.

0,2 gr. calciumchloride en een spoor ijzerchloride,

dan ziet men de vrije stikstof opschuimen. Het nitraat is hierin de eenige stikstofbron, terwijl de benoodigde koolstof moet worden ontleend aan organische verbindingen, tot de eenvoudigste toe. Tevens blijkt uit dergelijke cultures, daar zij bij toetreding van de lucht genomen worden, dat deze bacteriën niet streng anaëroob zijn, zooals men vroeger meende. Volgens JENSEN zijn de denitrificerende bacteriën aëroob, maar in tegenwoordigheid van nitraten anaëroob, want dan nemen zij de zuurstof, die zij voor de ademhaling noodig hebben, van het nitraat. Hiermee in overeenstemming is, dat chloraten de denitrificatie tegengaan, daar de zuurstof van de chloraten gemakkelijker wordt opgenomen dan die van de nitraten.

De bacteriën denitrificeeren niet om de stikstof te bemachtigen, want 90—96 pCt. daarvan ontwijkt in vrijen toestand, maar om de

voor hun ademhaling benoodigde zuurstof. De voorwaarden voor de denitrificatie zijn dus: 1o. aanwezigheid van salpeter 2o. gemakkelijk te assimileeren organische stoffen en 3o. weinig vrije zuurstof.

Door 't omspitten van den grond kan er voldoende lucht toetreden, zoodat in den landbouw de voorwaarden voor denitrificatie gewoonlijk niet vervuld zijn en 't verlies aan stikstofvoedsel voor de planten op deze wijze zeer gering is.

Veel meer nitraten gaan waarschijnlijk door de salpeterassimilatie van mikroorganismen verloren; maar dit is nog te weinig onderzocht.

Indien er dus geen organismen waren, die in staat zijn stikstof uit de lucht te binden, dan zou de hoeveelheid, die door de planten gebruikt kan worden, verminderen en dus de plantengroei moeten afnemen. Gelukkig zijn er vele zulke organismen. Een belangrijke plaats daaronder nemen de vlinderbloemigen in.

Reeds lang was het bekend, dat een akker door het kweken van Leguminosen geschikter wordt voor een nieuwen oogst en wel zonder nieuwe stikstofbemesting, ja, dat het stikstofgehalte, niettegenstaande voortdurende bebouwing met vlinderbloemigen, toeneemt. Bij een proef met erwten, waarvan de zaden 16 mgr. stikstof bevatten, ontstond een oogst met 499 mgr. stikstof, terwijl de stikstof van 4 KG. grond van 22 mgr. tot 57 mgr., klom dus een gezamenlijke winst van 518 mgr. De gewone wikke (*Vicia sativa*) gaf per hectare 126,77 KG. stikstof winst in den oogst. Daartegenover wordt jaarlijks slechts 0,09—1,8 KG. per HA. grond door regen en dauw uit den dampkring neêrgeslagen als salpeterigzuur en salpeterzuur, dat door electrische ontladingen uit de stikstof van den dampkring is ontstaan.

Hieruit blijkt welk een groote rol vlinderbloemigen als stikstof-verzamelaars spelen.

Het duurde lang, voordat de juiste verklaring van dit verschijnsel werd gevonden. HELLRIEGEL en WILFARTH waren de eersten, die aantoonde, dat de stikstofverzamelende werking van de Papilionaceëen aan organismen in de knolletjes moet worden toegeschreven en dat die stikstof uit de atmosfeer opgenomen wordt.

Bij hun proeven begoten zij planten, die in gesteriliseerd stikstof-vrij zand stonden, zonder dat stikstofverbindingen werden toegevoegd, met een uittreksel van leguminosengrond en zagen, dat er knolletjes aan de wortels kwamen en dat de planten uitstekend groeiden, ook in een omgeving vrij van stikstofverbindingen. Daar die planten onder die omstandigheden eiwitten konden produceeren, meenden zij te mogen concludeeren, dat de planten in staat waren, de vrije

stikstof uit de lucht, als eenig mogelijke bron, te assimileeren.

Door het uittreksel van leguminosengrond kwamen echter in de kultuur allerlei organismen, wier werking op de planten onbekend was, zoodat hun proeven niet afdoende waren. Daarom herhaalde PRAZMOWSKI in 1891 ze nog eens, met weglating van deze fout. Hij wist, door de potten met een reinkultuur van knolletjesbacteriën te begieten, zijn kultuur volkomen vrij van andere organismen te houden, zoo zelfs, dat na alloop der proef geen organismen uit die potten waren op te kweken. Ook nu nam het stikstofgehalte sterk toe en, daar nu werkelijk alleen uit de lucht stikstof kon zijn opgenomen, was het bewijs geleverd, dat de bacteriën uit de knolletjes der vlinderbloemigen in staat zijn stikstof uit de lucht te binden.

In 1891 gelukte het BEYERINCK voor het eerst die bacteriën, welke hij *Bacillus radicola* doopte, te kweken, zonder nog in de cultuur een toename van stikstof te kunnen constateeren. MAZE echter kreeg in 1898 in reinkultures vrij aanzienlijke ophooping van daarvan. Terwijl BEYERINCK asparagine toevoegde, gaf hij eiwit, in de veronderstelling, dat de bacteriën dit ook van de plant ontvingen.

De bacteriën, die aëroob zijn, groeiden bij kamertemperatuur snel, als slanke, levendig bewegende staafjes: na 2 à 3 dagen kwamen over de cultures slijmerige draden, die er op wezen, dat de stikstofassimilatie begonnen was; dit slijm, het eerste zichtbare assimilatieproduct, bleek namelijk stikstofhoudend. MAZE kreeg in 500 cM³ boonenafkooksel, als voedingsvloeistof, in 19 dagen 12,1 mgr. stikstoftoename bij 1,209 gr. saccharose verbruik, dat de energie leverde.

Bij kiemplanten van eenige weken oud, ontstaan de knolletjes als massieve aanzwellingen, die soms zeer dicht bijeen zitten en den geheelen wortel kunnen vervormen. Worden de planten ouder, dan schrompelen de knolletjes min of meer in en verdrogen ten slotte. Zij staan steeds in verbinding met de vaatbundels van de wortels.

PRAZMOWSKI onderzocht uitvoerig de wijze van samenleving van de bacteriën met de Vlinderbloemigen.

De wortelharen dringen overal tussehen de aardkluitjes door en scheiden stoffen af, waardoor de bacteriën worden aangelokt; ook de beschadigde wortelharen zullen de bacteriën lokken, vooral door het asparagine, dat in de kiemplanten aanwezig is, en bij verwonding vrij komt. BEYERINCK zag namelijk hoe kiemende zaden van Vlinderbloemigen op een kultuur van *Bacillus radicola*, op gelatineplaten, gebracht, den groei dier koloniën sterk vermeerderde. Dus scheiden de wortels een stof af. Voegt men aan een cultuur van een Vlinderbloemige een filtraat van stuk gewreven knolletjes toe, zonder

bacteriën, dan buigen de wortelharen zich op dezelfde wijze als bij infectie door bacteriën uit een reinkultuur. De bacteriën scheiden dus ook een stof af, die op de wortelharen inwerkt.

In een wortelhaar vermenigvuldigen de bacteriën zich door de voedingsstoffen, die de plant hun biedt sterk tot een kolonie, die zich terstond door een stevig, doorschijnend vlies omgeeft, dat slechts oplost in sterk zwavelzuur. De plant vertoont dan een toestand van zwakte en blijft tijdelijk in groei achter bij andere, niet geïnfecteerde planten.

De bacteriënkolonie groeit als een zak naar de epidermiscel, waarvan het haar uitgaat, boort hier door den wand en komt dan in de buitenste schorscel. Hier gaat de buis zich vertakken en verspreidt zich in de oppervlakkige lagen van de wortelschors. Onder invloed dezer bacteriënbuizen gaan 4 tot 5 der meest centraal gelegen lagen van de schors zich deelen, het knolletje ontstaat en wordt door deeling steeds grooter, zoodat het aan de oppervlakte van den wortel zichtbaar wordt. Vermoedelijk werkt een afscheidingsproduct van de bacteriën, dat door de buis diffundeert, op die schorscellen en brengt ze tot deeling. Op dezelfde wijze ontstaan plantengallen door den prikkel van de door het insect afgescheiden stoffen. De bacteriënbuizen kunnen, volgens PRAZMOWSKI, niet door de verkurkte celwanden van de grenslaag tusschen schors en centralen vaatbundel en bereiken dus de laag, van waaruit de zijworteltjes aangelegd worden, 't z.g. pericambium, niet. De wortelknolletjes ontstaan dus volgens hem op willekeurige plaatsen.

BEYERINCK meent, dat de bacteriënbuizen, die van cel tot cel gaan door de fijne poriën in de wanden, 't pericambium wel bereiken en dat het knolletje van hieruit ontstaat. Hij vat de knolletjes dus op als een bundel zijwortels. De buitenste lagen van het knolletje worden beschuttend weefsel, kurk; daarbinnen ontstaan eenige lagen gevuld met zetmeel, als een scherpe weefselzone en nog meer naar binnen het belangrijkste, het centrale parenchym met intercellulaire ruimten. In deze verruimde cellen van het knolletje krijgen de binnengedrongen bacteriënbuizen blaasvormige aanzwellingen, doordat de bacteriën zich plaatselijk zeer sterk gaan vermenigvuldigen, zoo zelfs, dat de buiswand springt en de bacteriën vrij worden, waardoor die cellen zich opvullen met bacteriën. De lucht stroomt door de intercellulaire ruimten rondom de bacteriënrijke cellen, zoodat de bacteriën gemakkelijk stikstof kunnen opnemen.

De vrijgeworden bacteriën ondergaan nu echter veranderingen, worden van staafjes tot onregelmatige vormen, als sterren, Y-vormen, enz., de zoogenaamde bacterioiden. De inhoud der cellen van dit

bacteroïdenweefsel, namelijk plasma en bacteroïden, wordt gedeeltelijk geresorbeerd, de resten der buizen gaan doorgroeien en snoeren blaasvormige koloniën van bacteriën af. Bij het vergaan der wortels komen deze vrij in den grond en kunnen later weer andere planten infecteeren. Het is nog niet bekend, of de bacteriën zich in den grond vermeerderen kunnen; ook de isoleering uit den grond is nog niet gelukt.

Hoe de Vlinderbloemigen de stikstofverbindingen, die door de bacteriën in de knolletjes gevormd worden, tot zich nemen, wordt duidelijk door de nieuwe onderzoekingen van HILTNER. Dat de voeding niet berust op het absorbeeren der bacteroïden, zooals men vroeger meende, blijkt wel hieruit, dat planten, waarbij het gezamenlijk gewicht der knolletjes slechts 300 mgr. bedroeg, soms tot 1 gr. stikstof uit de lucht opnamen.

HILTNER vond, dat bij het optreden van bacteroïden in een oplossing met veel koolstofhoudend voedsel in de bacteriën vacuolen ontstaan en het protoplasma zich differentiëert in een lichtbrekend deel, dat zich met jodiumtinctuur roodbruin kleurt en een ander deel, dat zich hiermee geel kleurt, terwijl door salpeter de bacteroïdevorm wel optreedt, maar die plasmadifferentiatie niet plaats vindt.

De plant nu kan dat zich donkerbruin kleurende deel opnemen. Zoo lang de plant zich voedt met de stikstofverbindingen uit het zaad of uit den grond, ontstaan wel bacteroïden, maar het plasma daarin differentiëert zich niet. Krijgt de plant gebrek aan stikstof, dan zal veel zetmeel, dat anders voor eiwitvorming verbruikt wordt, als suiker naar de knolletjes gevoerd worden, waardoor de differentiatie optreden kan.

Gedurende den tijd, die hiervoor noodig is, lijdt de plant gebrek aan stikstof en verkeert in het zoogenoemde hongerstadium.

Gewoonlijk wordt de verhouding tusschen bacteriën en vlinderbloemigen een symbiose genoemd.

HILTNER vat haar echter op als een strijd, waarin de bacteriën zich staande houden door den bacteroïdenvorm aan te nemen.

Er kunnen zich naar den virulentiegraad der bacteriën verschillende gevallen voordoen:

1o. De bacteriën kunnen niet in de wortels doordringen, b.v. bacteriën uit de knolletjes van klaver kunnen niet in boonenwortels dringen; wel zijn zij door langdurige aanpassing zoover te brengen.

2o. De bacteriën dringen in, maar worden terstond door de krachtige plant geabsorbeerd; de wortelaanzwellingen verdwijnen weer.

3o. De bacteriën dringen in, de knolletjes ontstaan, maar de cel-

kernen absorbeeren de bacteriën en de knolletjes blijven onwerkzaam.

40. De bacteriën veroorzaken knolletjes en zijn krachtig werkzaam.

50. De binnengedrongen bacteriën zijn zoo virulent, dat er weinig bacteroiden ontstaan en de plant in groei achter blijft bij de met minder krachtige bacteriën geënte planten.

60. De bacteriën treden in zwakke planten meer op als parasieten, voeden zich ten koste van de plant en veranderen niet in bacteroiden, leveren dus geen voedsel.

Werkzame knolletjes maken de plant immuun voor bacteriën van dezelfde of mindere virulentie. Komen b.v. bij een watercultuur knolletjes aan het boven water staande deel der wortels, die krachtig kunnen werken, dan ontstaan in het water, ook na herhaalde enting, geen knolletjes. Worden de planten jong geïnfecteerd, dan vindt men ook later gewoonlijk alleen bovenaan knolletjes, daar de plant door de eerste knolletjes voor verdere infectie immuun wordt. Weinig virulente bacteriën vormen de knolletjes slechts aan de worteluiteinden, daar ze niet eerder kunnen indringen, voordat de plant haren stikstofvoorraad verbruikt heeft.

Soortgelijke ervaringen hebben ook wij bij onze cultuur van Vlinderbloemigen, op geënten en ongeënten grond, die sommige lezers misschien op de biologische tentoonstelling hebben gezien, opgedaan.

Is de bacterie in de knolletjes der verschillende Leguminosen dezelfde? Terwijl de bacteriën zich in cultures gewoonlijk gelijk gedragen en ook bacteriën uit de knolletjes van de eene vlinderbloemige zich na eenige generaties volkomen aan andere vlinderbloemigen aanpassen, zijn er volgens HILTNER toch waarschijnlijk twee soorten, n.l. *Rhizobium Beyerinckii* (= *Bacillus Beyerinckii*), die in Lupine en *Rhizobium radicicola* (= *Bac. radicicola*), die in boonen voorkomt.

Behalve Leguminosen zijn ook andere planten in staat door middel van lagere organismen vrije stikstof te binden. Zoo vond HILTNER in 1896 dat de *Els*, door middel van den fungus in zijn wortelknolletjes, *Schinzia Albi* of *Frankia subtilis* genaamd, in staat is, in stikstofvrijen grond te leven. Evenzoo *Elaeagnus*, de *Olijfwilg*.

Podocarpus, een conifeer, die in knolletjes veranderde zijwortels bezit, dicht opgevuld met de hyphen van een fungus, werd door NOBBE en HILTNER 5 jaar lang gekweekt in een kuip met stikstofvrij zand; hierin groeide zij uitstekend.

HILTNER meent, dat de fungus, dien men in *Lolium temulentum*, de giftige dolik, vindt, ook de vrije stikstof assimileert en spreekt het vermoeden uit, dat ook de sterke woekeringen door parasitaire fungi veroorzaakt, de zoogenaamde hypertrophieën, ontstaan doordat de

fungi vrije stikstof kunnen binden. Voor Brandzwammen gaat, volgens BREFELD, dit vermoeden volstrekt niet op.

Ook de beteekenis der mycorrhizen voor hogere planten wordt dikwijls gezocht in het binden van vrije stikstof. MAGNUS toch vond in 1900, dat bij de endotrophe mycorrhizen van *Neottia Nidus Avis*, de fungus van buiten af indringt en zich op eenigen afstand van de epidermis gaat vertakken, zoodat een aantal concentrisch gelegen cellagen in wortel en rhizoom met den fungus opgevuld worden. In sommige van deze cellen wordt het protoplasma verdrongen en vormt de schimmel organen om te overwinteren en 't volgend jaar nieuwe planten te infecteeren. In andere cellen wordt de fungus gedeeltelijk verteerd, terwijl de niet verteerde deelen, omgeven door een laag cellulose, tot een klomp in de cel opgehoopt worden. Ongeveer 't zelfde vond SHIBATA (1902) bij *Psilotum triquetrum*. Daar bij de *Podocarpus*-knolletjes, waar de schimmel waarschijnlijk vrije stikstof assimileert, de fungus ook verteerd wordt, is 't zeer goed mogelijk, dat de endotrophe mycorrhizen vrije stikstof binden en de verbindingen aan de plant leveren.

Maar is het ook mogelijk, dat de mycotrophe planten pepton- of amido-organismen zijn, en dat die stoffen door den fungus uit den humus gehaald worden?

STAHL zegt (1900), dat de mycorrhizen de plant gemakkelijk de anorganische zouten leveren door deze te assimileeren en ze dan aan de plant af te staan. Als bewijs hiervoor voert hij aan, dat in de mycotrophe planten geen afvalprodukten van de assimilatie, als calciumoxalaat, gevonden worden.

Soms gebeurt het, dat de oogst van een veld, waarop gedurende achtereenvolgende jaren een gewas, als winterrogge, dat zelf geen stikstof kan binden, gekweekt is, toeneemt, niettegenstaande er geen stikstofbemesting wordt gegeven. Op een dergelijk veld wordt dus meer stikstof in den bodem gebonden, dan er met den oogst verwijderd wordt.

Zooals weer uit onderzoekingen van WINOGRADSKY is gebleken, hebben wij hier te doen met de werking van bodembacteriën, die vrije stikstof uit de lucht kunnen binden.

Evenals bij de zwavel- en nitrobacteriën paste WINOGRADSKY een voedingsoplossing met weinig organische stof toe. Hierin ontstond, na enting met aarde, een krachtige boterzuurgisting, totdat alle suiker opgebruikt was; tevens traden bacteriën-„draden” op, omgeven door slijm. De vloeistof had veranderingen ondergaan, want op de oplossing kwamen fungi en nadat deze het boterzuur hadden verbruikt,

ontwikkelden zich groene Algen. Eerst konden deze organismen niet in de vloeistof leven, door gebrek aan stikstof. Door chemische analyse bleek, dat er stikstof in de vloeistof was gekomen.

Bij het onderzoek vond WINOGRADSKY twee soorten draadbacteriën en een bacteriesoort, die bij sporenvorming spoelvormig aanzwelt. Het bleek dat de eerste saprophyten zijn, zelf geen stikstof kunnen binden en niet de oorzaak waren van de boterzuurgisting. Het gelukte hem de andere, die hij *Clostridium Pasteurianum* noemde, te isoleeren, door ze in het luchtledige op aardappels uit te zaaien. Na de isoleering gaf *Clostridium* in de cultuurvloeistof geen gisting en stikstofbinding, doch wel, als hij de zuurstof wegnam, of de beide andere bacteriën toevoegde. *Clostridium* moet dus in van de lucht afgesloten ruimten leven en is in staat vrije stikstof te binden. Zijn er organismen aanwezig, die de zuurstof verbruiken, dan kan deze soort ook in den bovengrond leven. Die organismen moeten echter eerst hun werkzaamheid beginnen en dus met zeer weinig stikstofverbindingen kunnen leven, dan pas kan *Clostridium* zich ontwikkelen en hun verder de benodigde stikstof leveren. Tevens kan *Clostridium* rietsuiker, dextrose, laevulose en andere koolhydraten vergisten, eenerzijds (45 pCt. van de suiker) in boterzuur en azijnzuur, anderzijds (55 pCt. van de suiker) in waterstof en koolzuur. Deze gisting levert de energie noodig voor de stikstofverbinding.

Over de vraag hoe deze plaats vindt, is men het niet eens. WINOGRADSKY denkt, dat de waterstof, die als gistingsprodukt in statu nascendi ontstaat, zich met stikstof tot ammonia verbindt.

GERLACH en VOGEL nemen aan, dat de stikstof zich als zoodanig met organische koolstofverbindingen tot eiwit verbindt. LOEW vergelijkt de stikstofassimileerende werking van de bacteriën met die van fijn platina, dat met lucht sporen ammoniumnitraat vormt.

Zeer waarschijnlijk bezitten ook andere bodemorganismen het vermogen vrije stikstof te binden. Zoo kan *Azotobacter chroococcum* volgens BEYERINCK vrije stikstof assimileeren, misschien in verbinding met andere bacteriën, misschien zelfstandig. Tot nog toe zijn verder geen bacteriën gevonden, die vrije stikstof binden; maar dit komt misschien doordat zij de gevormde verbindingen niet in hun lichaam ophoopen, zooals *Clostridium* en *Azotobacter* doen.

In elk geval is in ruwkultures de winst steeds veel grooter; misschien wordt dit veroorzaakt door andere bacteriën, die de stikstofbindende werking bevorderen of door Algen. In de natuur toch leveren vooral Algen aan deze bacteriën de benodigde koolstofverbindingen; zoo vindt bij cultures in de buitenste zandlagen, als er Algen

opgroeien, dikwijls een energische stikstofbinding plaats. Het oude geloof der boeren, dat Algen en dergelijke groene organismen een waarborg zijn, dat de zaden 't volgende jaar goed zullen gedijen, vindt dus hierin zijn theoretische verklaring.

In de praktijk moet men er zich op toe leggen de werkzaamheid der bodembacteriën te verbeteren door voor goede bodemdoorluchting en veel licht te zorgen.

Ook heeft men, en hiermee komen we tot het laatste deel van ons opstel, n.l. de bodembacteriën in den landbouw, cultures van bacteriën in den handel gebracht, die in staat heeten te zijn vrije stikstof te binden.

Zoo wordt aliniet d.i. een poeder bestaande uit een sporenrijke ruwkultuur van bacteriën met aardappelbrij gemengd, aanbevolen als een meststof voor alle graansoorten. Deze bacteriën laten zich, in tegenstelling met *Clostridium* en andere, heel goed op een pepton voedingsbodem kweken.

Daar ze eiwitten helpen oplossen, steunen ze de werkzaamheid van de bacteriën, die reeds in den bodem aanwezig zijn. Zoo kan soms de oogst na alinietbemesting iets grooter uitvallen. Het is echter niet waar, dat ze de vrije stikstof assimileeren.

Een andere bacteriën-mest in den handel is nitragine, d.i. een rein-kultuur van *Bacillus radicola* op voedingsgelatine, dus levende organismen, die men met 't zaad of met de aarde vermengd uitstrooit, voor iedere vlinderbloemige soort een aan haar aangepaste vorm.

Nitragine moet gebruikt worden, indien men Leguminosen wil zaaien op een bodem, waar in langen tijd dergelijk gewas niet geplant is en die dus arm aan deze bacteriën is. In de praktijk zijn de resultaten zeer uiteenlopend, zoodat de werking moeilijk te beoordeelen valt. Men heeft in Duitschland de fabricage dan ook gestaakt.

In de laatste jaren is HILTNER er weer meê begonnen.

In Amerika heeft Dr. G. T. MOORE de proeven met nitragine herhaald, eerst met dezelfde vrij slechte resultaten; in 1902 gelukte het echter de oorzaken daarvan te vinden. De bacteriën werden bij voortdurend op stikstofhoudenden voedingsbodem gekweekt, waardoor ze hun vermogen om vrije stikstof te binden, hoe langer hoe meer verloren. Brengt men ze echter van een stikstofhoudenden bodem geleidelijk over op een stikstofvrijen, dan wordt dit vermogen niet kleiner, maar grooter, zelfs tot 10 maal zoo groot als van virulente bacteriën uit den grond.

Nadat hij de gewenschte bacteriënsoort verkregen had, deed zich de vraag voor, hoe de praktische toepassing daarvoor te vinden. Ook

hierin slaagde hij; het bleek n.l., dat de bacteriën, door ze zorgvuldig te drogen, in sporenvorm overgaan en dus later onder gunstige omstandigheden zich weër kunnen ontwikkelen. Hierdoor werd het tevens mogelijk de bacteriën gemakkelijk te verzenden. Voor de toepassing ontvangt men n.l. 3 pakjes. No. 1 bevat gemalen suiker, kaliumphosphaat en zwavelzure magnesia; no. 2 gewoonlijk een prop watten met de bacteriën; no. 3 ammoniumphosphaat. Door nu het eerste pakje in een emmer water op te lossen en er dan pakje 2 bij te doen, verkrijgt men na 24 uur eene troebele vloeistof. Nu doet men er pakje 3 bij en laat nogmaals 24 uur staan. In de melkwitte vloeistof vindt men dan bij mikroskopisch onderzoek tal van staafvormige bacterien, die zich sterk bewegen. Bij onze reeds genoemde cultuurproef bleek duidelijk, hoe krachtig deze Amerikaansche bacteriën werkzaam zijn. Want, terwijl de verschillen tusschen de planten met en zonder bacteriën bij die gewassen, welke wij met entaarde, dus grond waarop het vorig jaar Vlinderbloemigen gekweekt waren, behandelden, betrekkelijk gering waren, bestonden er tusschen de potten zonder en die met nitragine van dezelfde soort treffende verschillen. De laatste planten hadden vele en zeer duidelijke knolletjes.

Indien een boer zich nooit schuldig maakt aan roofbouw en voor geregelde wisselbouw met juiste bemesting zorgt kan de grond lang een rijken oogst leveren; de organismen in den bodem toch zorgen, dat de hoeveelheid stikstof voldoende blijft.

Wordt op een land jaren achtereen hetzelfde gewas verbouwd, dan gaat de grond, niettegenstaande goede bemesting, toch hoe langer hoe minder opbrengen; de planten kwijnen en worden ziek.

Gedeeltelijk komt dit door secundaire oorzaken, b.v. doordat de parasieten op dat gewas zich in hooge mate ontwikkelen en een nieuwe generatie dus veel kans loopt, ook ziek te worden.

Maar de primaire oorzaak is, dat de bodem voor dat bepaalde gewas uitgeput is. Er zijn aanduidingen, dat ook hier bacteriën in het spel zijn.

Door steriliseering kan een dusdanige bodem weer meer opleveren, terwijl een „gezonde” grond door die bewerking geen verandering ondergaat. Omgekeerd wordt de „gezonde” bodem door begieten met een uittreksel van uitgeputten minder. Ook is het mogelijk, dat de grond, door ophooping der stoffen uitgescheiden door de wortels van de plant, voor die bepaalde plant ongeschikt wordt.

Daar men bang was, dat de opbrengst van den grond, speciaal aan tarwe, geen gelijken tred kon houden met de sterke toename der bevolking, doordat de planten geen voldoende stikstof beschikbaar

zouden vinden, heeft men op allerlei wijzen getracht, langs chemischen weg stikstofverbindingen te maken.

In de gasfabrieken wordt de stikstof, die eeuwen geleden door de planten is vastgelegd, overgevoerd in ammoniumsulfaat.

BRADLEY trachtte door elektrische vonken stikstof uit de lucht over te voeren in nitraat.

FRANK en CARO leidden stikstof over calcium-carbide, waardoor calciumdicyanide ontstaat.

Dit laatste proces voldoet het beste; toch zijn de resultaten voor de praktijk nog niet afdoende.

De vrees echter, dat er een te kort aan stikstof zal komen, is, zooals uit het medegedeelde blijkt, ongegrond. Wel is nog lang niet alles bekend, vooral niet omtrent de bacteriënwerking, maar reeds is duidelijk, hoe de Natuur zelf door al die organismen er voor zorgt, dat de voorraad gebonden stikstof voor de planten beschikbaar, eerder toe- dan afneemt.