

Undersøgelser over Forholdet mellem Azotobacterprøven og Jordens Reaktionstilstand.

Ved Erik J. Petersen.

186. Beretning fra Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur.

Nærværende Arbejde fremkommer som en første Meddelelse af en Undersøgelsesrække over fritlevende kvælstofbindende Mikroorganismer, der i 1924 blev optaget som et særligt Led af Arbejdsplanen for Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur. Undersøgelsen, der er planlagt og ledet af Afdelingsbestyrer, mag. scient. *Erik J. Petersen*, er paabegyndt i Vinteren 1924.

Arbejdet er udført paa Statens Planteavls-Laboratoriums bakteriologiske Afdeling i nøje Samarbejde med Laboratoriets øvrige Afdelinger. Forsøgene er udførte under Medvirken af Assistenterne, cand. polyt. *Tovborg Jensen*, Frøken *E. Thorborg*, Landbrugskandidat *H. Jensen* og Fru *P. Eiby*.

Beretningen er udarbejdet af *Erik J. Petersen*.

Forsøgslederne ved Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur.

I. Reaktionsforhold og Reaktionsmaaling.

Paa det Tidspunkt, da de systematiske Kalktrangsundersøgelser paabegyndtes her i Landet, fandtes endnu ingen sikker Metode til Maaling af et givet Substrats Surhedsgrad — først senere banede Danskeren, *S. P. L. Sørensen*, Vejen for et eksakt

Arbejde paa dette Omraade, der har faaet en usædvanlig Betydning inden for alle Grene af Biologien¹⁾.

Ved en Vædskes Brintionkoncentration forstaas den Mængde af Brintioner, udtrykt i Grammolekyler, som findes i en Liter af Vædsken. Antallet af Brintioner er afgørende for Vædskens Surhedsgrad — jo flere Brintioner pr. Liter, desto surere Reaktion. Brintionkoncentrationen i neutrale, svagt sure eller basiske Opløsninger er meget smaa Talstørrelser, der lettest angives som negative Potenser af 10; saa længe Brintionkoncentrationen har saa afrundede Værdier som $1/10$ ($= 10^{-1}$), $1/100$ ($= 10^{-2}$), $1/100000$ ($= 10^{-5}$) o. s. v., er Tallene lette at overse; som oftest vil de dog ikke have Tælleren 1, men have en Værdi som f. Eks.

$\frac{4.2}{100000000}$; en saadan Brøk skrives da som 4.2×10^{-8} ; Tal af denne Størrelsesorden er selvfølgelig vanskelige at sammenligne indbyrdes, og efter S. P. L. Sørensens Forslag angives nu en Opløsnings Reaktion ved Hjælp af den negative Værdi af Logaritmen til Brintionkoncentrationen; denne Værdi, den saakaldte BrintionekspONENT, betegnes som p_H (efter Sørensen) eller Reaktionstallet (Hasselbalch). Ved Hjælp af disse Begreber sættes vi i Stand til paa en simpel og overskuelig Maade at regne med Talstørrelser af den ovenfor omtalte Karakter.

Hvis Brintionkoncentrationen betegnes som C_{H+} , har vi ifølge ovenstaaende:

$$(1) \quad C_{H+} = 10^{-p_H} \quad \text{eller}$$

$$(2) \quad p_H = -\log C_{H+}$$

Er f. Eks. $C_{H+} = 10^{-5}$, da bliver $p_H = 5$.

Vil vi omregne den ovenfor anførte Brintionkoncentration $C_{H+} = 4.2 \cdot 10^{-8}$ til sin p_H -Værdi, vil vi finde

$$\log C_{H+} = \log 10^{-8} + \log 4.2 = -8 + 0.62 = -7.38$$

$$p_H = -\log C_{H+} = 7.38.$$

¹⁾ Den i det følgende fremsatte Fremstilling angaaende Reaktionsforhold og Reaktionsmaaling gør ikke Krav paa at gælde som en blot nogenlunde fyldig videnskabelig Fremstilling, men tilsigter kun i saa letfattelig Form som muligt at belyse saadanne Forhold, der er af afgørende Betydning for den fulde Forstaaelse af de følgende Undersøgelser. Interesserede Læsere henvises i øvrigt til et nyligt udkommet Arbejde af Henriques (1924).

Paa lignende Vis er vi i Stand til at omregne en given p_H -Værdi til den tilsvarende Brintionkoncentration; er f. Eks.

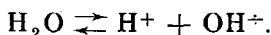
$$p_H = 9.18$$

da er

$$\log C_{H^+} = -p_H = -9.18 = 0.82 \div 10$$

$C_{H^+} = 6.6 \cdot 10^{-10}$ (ca. 0.00000000066 normal med Hensyn til Brintioner).

Rent destilleret Vand er neutralt, men selv det allerreneste Vand leder dog Elektriciteten noget, idet det nemlig i ringe Grad er dissocieret i Brintioner og Hydroxylioner, lige mange af hver; disse Ioner vil nu søge at forene sig til Vand, men samtidig hermed vil der foregaa en Dissociation af det enkelte Vandmolekyle. Processen, der altsaa er »reciprok«, forløber efter Ligningen



Mellem Ionerne og Vandmolekylerne hersker der en vis Ligevægtstilstand, der ifølge Massevirkningsloven er bestemt ved Ligningen

$$\frac{C_{H^+} \cdot C_{OH^-}}{C_{H_2O}} = k,$$

hvor C_{H^+} , C_{OH^-} og C_{H_2O} betegner Koncentrationen af Vand, Brintion og Hydroxylion. Men Vandets Koncentration paa-virkes ikke af den ringe Dissociation, C_{H_2O} er konstant, og $C_{H_2O} \cdot k$ kan derfor sættes lig med en Konstant K. Af oven-staaende Ligning faas

$$(3) \quad C_{H^+} \cdot C_{OH^-} = k C_{H_2O} = K,$$

d. v. s.: Koncentrationen af H^+ -Ioner multipliceret med Koncentrationen af OH^- -Ioner (udtrykt i Gram-Ækvivalenter) er konstant = K. Denne Konstant, der kaldes Vandets Dissociationskonstant, har ved 22° C en Værdi af 0.0000000000001 = 10^{-14} (nøjagtigt $10^{-14.14}$). Selv i stærkt sure vandige Opløsninger er der Hydroxylioner til Stede, ligesom der i alkaliske Opløsninger forekommer Brintioner. Imidlertid kan vi, hvad enten Opløsningen er sur eller basisk, angive dens Reaktion ved dens Brintionkoncentration C_{H^+} . Er denne bestemt, kan vi jo af Ligning (3) beregne samme Opløsnings Hydroxylionkoncentration

$$C_{OH^-} = \frac{10^{-14}}{C_{H^+}}.$$

Af praktiske Grunde angives aldrig Hydroxylionkoncentrationen i alkaliske Opløsninger, men kun Brintionkoncentrationen, udtrykt som p_H . Er Hydroxylionkoncentrationen i en alkalisk Opløsning, f. Eks. $\frac{2.39}{10\,000} = 2.39 \cdot 10^{-4}$, har man

$$C_{H^+} = \frac{K}{C_{OH^+}} = \frac{10^{-14}}{2.39 \cdot 10^{-4}} = \frac{10^{-10}}{2.39} = \frac{10 \cdot 10^{-11}}{2.39} = 4.18 \cdot 10^{-11}.$$

Heraf

$$\log C_{H^+} = \log \frac{10^{-14}}{2.39 \cdot 10^{-4}} = -14 - (\log 2.39 + \log 10^{-4}) = -14 \\ - (0.38 \div 4) = -10.38.$$

$$p_H = -\log C_{H^+} = 10.38.$$

Som andet Eksempel vil vi betragte en 0.001 normal Salt-syre; den er omtrent fuldstændig dissocieret, og Brintionernes Koncentration er da ogsaa 0.001, altsaa 10^{-3} ; Hydroxylionernes Koncentration C_{OH^+} er da $\frac{10^{-14}}{10^{-3}} = 10^{-11}$. Som man ser, er den sure Opløsning altsaa ikke fri for Hydroxylioner.

Da rent destilleret Vand er neutralt, indeholder det lige mange H^+ - og OH^+ -Ioner, altsaa $C_{H^+} = C_{OH^+}$. Indsættes denne Værdi i (3) faas

$$(C_{H^+})^2 = 10^{-14}$$

eller

$$2 \log C_{H^+} = -14$$

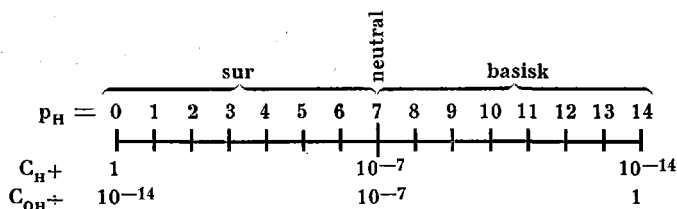
$$\log C_{H^+} = -7$$

$$-\log C_{H^+} = p_H = 7.$$

Rent destilleret Vand har altsaa en p_H -Værdi paa 7 (nøjagtigt 7.07).

Nu kan Brintionkoncentrationen i forskellige Opløsninger veksle inden for et relativt stort Omraade, lige fra omtrent 1 (d. v. s. en een-normal Opløsning af Brintioner) til omtrent 10^{-14} (d. v. s. en 0.00000000000001 normal Opløsning af Brintioner); naar C_{H^+} veksler mellem 1 og 10^{-14} , varierer p_H i Overensstemmelse hermed mellem 0 (idet $10^0 = 1$) og 14. Tallene mellem 0 og 14 er derfor den p_H -Skala, ved Hjælp af hvilken vi er i Stand til at angive en hvilken som helst i Biologien forekommende Reaktion. Kender vi p_H , er $p_{OH} = 14 \div p_H$ og omvendt, men som tidligere omtalt angives i Praksis altid p_H -Værdierne som Udtryk for saavel Surhedsgrad som Alkalinitet. Sure Op-

løsninger karakteriseres ved p_H -Værdier mindre end 7 — jo mere p_H fjærner sig fra 7, desto surere er Opløsningen; de basiske Opløsninger derimod karakteriseres ved p_H -Værdier større end 7 — jo højere p_H -Værdi, desto stærkere basisk. Grafisk kan vi fremstille p_H -Skalaen og dermed Opløsningens Reaktion paa følgende Vis:



Ved alle p_H -Angivelser maa man imidlertid erindre, at p_H er en saakaldt logaritmisk Funktion af C_{H^+} . Naar p_H -Værdien falder een Enhed, vil det sige, at Brintionkoncentrationen er blevet 10 Gange saa stor som tidligere; falder p_H med 2 Enheder, bliver Brintionkoncentrationen 100 Gange større, og ved et Fald i p_H paa 3 Enheder forøges Brintionkoncentrationen 1000 Gange (sml. Fig. 1). En Vædske med Reaktionstallet 4 er altsaa 1000 Gange mere sur end en Vædske med Reaktions-tallet 7¹⁾. — Hvis derimod Reaktionstallet ændres med en Brøkdel af en Inddeling, f. Eks. 0.30, da ændres Brintionkoncentrationen ikke proportionalt hermed (altsaa $0.30 \cdot 10 = 3.0$) — p_H er jo nemlig et logaritmisk Udtryk, og ved den omtalte p_H -Ændring paa 0.30 ændres derfor Brintionkoncentrationen med antilog $0.30 = 1.995$. For at naa til Forstaaelse af den Betydning, man kan lægge i en given p_H -Værdi, maa disse Forhold stadig have for Øje. Med andre Ord: For hver Enhed, som man gaar frem fra 0 til 14 paa p_H -Skalaen, bliver Brintionkoncentrationen 10 Gange mindre, og for hver Gang Brintionkoncentrationen forøges til det dobbelte, aftager Reaktionstallet med 0.3. Som Følge heraf har vi — saafremt vi ønsker et Gennemsnitstal af flere enkelte p_H -Bestemmelser — ikke Lov til at lægge de enkeltvis fundne Reaktionstal sammen og derpaa beregne Gennemsnits-

¹⁾ Siden Reaktionstallene i Praksis er blevet saa at sige Allemands Eje, har dette Forhold ofte givet Anledning til nogen Misforstaaelse.

værdien! Den eneste Maade, paa hvilken en Gennemsnitsberegning kan foretages, er ved at omsætte de enkelte Reaktionstal til de tilsvarende C_{H^+} -Værdier, af hvilke vi da paa sædvanlig Vis kan udregne en Gennemsnitsværdi, der, om ønskes, kan omregnes til sin p_H -Værdi¹⁾.

Hvis vi til rent Vand sætter en ringe Mængde af en stærk Syre, stiger

Brintionkoncentrationen overordentlig stærkt, fordi alle den tilsatte Syres Ioner bliver frie i Opløsningen; hvis vi til 100 Liter rent destilleret Vand sætter $1/10 \text{ cm}^3$ (ca. 2 Draaber) normal Saltsyre, forårsager dette straks et Fald af Reaktionstallet fra 7.0

til 6.0. — Helt anderledes forholder det sig derimod, hvis vi f. Eks. blander en svag Syre med et af dens

Alkalisalte; i en saadan Blanding ændres Reaktionen kun lidt ved Tilsætning af en stærk Syre eller Base, og den paagældende Blanding kaldes derfor en »Stødpudeblanding«. I Almindelighed betegnes som Stødpude ethvert Stof, der kun i ringe Grad ændrer sin p_H -Værdi, naar der tilføres eller fjernes H_+ - eller OH^- -Ioner. Som Følge heraf vil selv en nogenlunde stærk Fortynding med Vand ikke ændre nævneværdigt paa den øjeblikkelige Reaktion af en Stødpudeblanding; ved stigende Fortynding med Vand formindskes derimod Blandingsens Stødpudevirkning — altsaa dens Evne til at fastholde Reaktionen over for yderligere Tilsætning af stærke Syrer eller Baser. Det er S. P. L. Sørensens store Fortjeneste at have gjort saadanne Stødpudeblandinger til Gen-

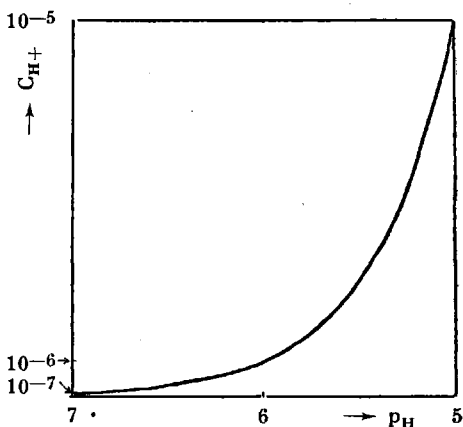


Fig. 1. Grafisk Fremstilling af Forholdet mellem Brintionkoncentration og Reaktionstal.

¹⁾ Saafremt Enkeltbestemmelserne ikke er ret langt fjærnedede fra hinanden paa p_H -Skalaen, vil man kunne opnaa en for Praktis tilstrækkelig Nøjagtighed ved paa sædvanlig Vis at beregne Middeltallet af Enkeltbestemmelserne. Metoden tør dog kun benyttes efter moden Overvejelse.

stand for et indgaaende Studium, saaledes at vi nu ved passende Sammenblanding af forskellige nærmere angivne Præparater er i Stand til at fremstille Vædsker med nøjagtig forud beregnet, konstant Brintionkoncentration.

Som Eksempel paa, hvorledes en Stødpudeblanding virker, kan anføres følgende: Rent Vand har $p_H = 7$. Tilsættes lidt

Syre, saa Vandet bliver $n/100$ med Hensyn til Saltsyre, synker p_H fra 7 til 2. Hvis vi derimod forinden tilsætter saa meget Eddikesyre og Natriumacetat, at Blandingen er $n/10$ med Hensyn til hver af disse Stoffer, faar vi en Begyndelsesreaktion paa 4.75; denne Blanding vil nu virke som Stødpude, og tilsættes den samme Mængde Saltsyre som tidligere, vil dette kun bevirke et Fald i p_H fra

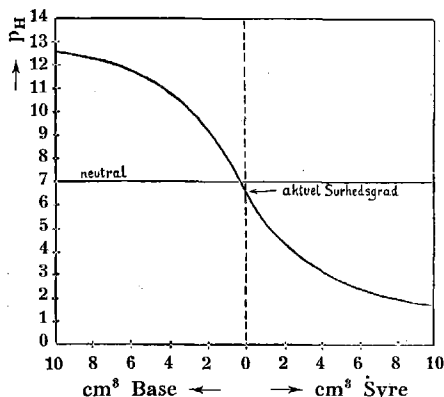


Fig. 2. Skematisk Titreringskurve.

4.75 til 4.65. Som almindelig Regel kan siges, at svage Baser og Salte af svage Syrer virker som Stødpude ved Tilsætning af en stærk Syre, og svage Syrer og Salte af svage Baser virker som Stødpude over for Tilsætning af stærke Baser.

Vi vil nu tænke os, at vi er i Besiddelse af en saadan Stødpudeblanding og ønsker at se, i hvor høj Grad denne ændrer sin Reaktion ved Tilsætning af vekslende Mængder af en stærk Syre og en stærk Base. Efter at have maalt Begyndelsesreaktionen, aftapper vi lige store Mængder af Blandingen i f. Eks. 20 Kolber; til de 10 af disse Kolber sættes stigende Basemængder, til de øvrige stigende Syremængder. Efter nogen Tids Henstand maales Reaktionen i de forskellige Kolber, og i de stedfundne Reaktionsændringer har vi da et Maal for den paagældende Blandings Evne til at fastholde sin oprindelige Reaktion, altsaa dens Stødpudevirkning. Fremstilles dette Forhold grafisk, faar man en Kurve som vist paa Fig. 2 — en saakaldt Titreringskurve. Den gennem en saadan Titreringskurve fundne syre- eller basebindende Evne kaldes Opløsningens potentielle Surhedsgrad; den giver et Maal for, hvor

mange H^+ - eller OH^- -Ioner der i alt staar til Raadighed til Neutralisering af en bestemt Mængde tilsat Base eller Syre. I Modsætning hertil betegner vi den Reaktionstilstand, i hvilken en Opløsning befinder sig i et givet Øjeblik uden Syre- eller Basetilsætning, som dens aktuelle Surhedsgrad.

Til den praktiske Bestemmelse af en Opløsnings Reaktionstal er udarbejdet to forskellige Metoder. Den ene af disse, den kolorimetriske Metode, beror paa, at en Række forskellige Stoffer, de saakaldte Indikatorer, fremtræder med forskellige Farvenuancer, naar de sættes til Substrater med varierende Brintionkoncentration: til en bestemt Farvenuance svarer altsaa et ganske bestemt Reaktionstal, saaledes som fremstillet i Fig. 3.

En af de i tidligere Tider mest benyttede Indikatorer var Lakmus, der som bekendt ved Overgang fra alkalisk til sur Reaktion slaar over fra blaa til rød Farve, medens andre Indikatorer, som f. Eks. Fenolftalein, »slaar over« fra rødviolet til ufarvet. Hver Indikator har sit ganske bestemte Omslagspunkt paa Reaktionsskalaen, ligesom den paagældende Indikator kun kan finde Anvendelse inden for et mere eller mindre begrænset Omraade af denne Skala; kommer vi ud over dette Omraade, ændres Farvenuancen ikke ved yderligere Syre- (resp. Base-) Tilsætning. Vi raader nu over et stort Antal forskellige Indikatorer, der hver inden for sit Omraade udviser meget tydelige Farvenuancer for selv en ringe Ændring af Reaktionstallet og tilsammen spændende over hele det Reaktionsomraade, vi har Brug for ved alle biologiske Undersøgelser. Nedenfor er angivet nogle af de mest anvendte Indikatorer samt deres Maaleomraade (Clarks og Lubs Indikatorer).

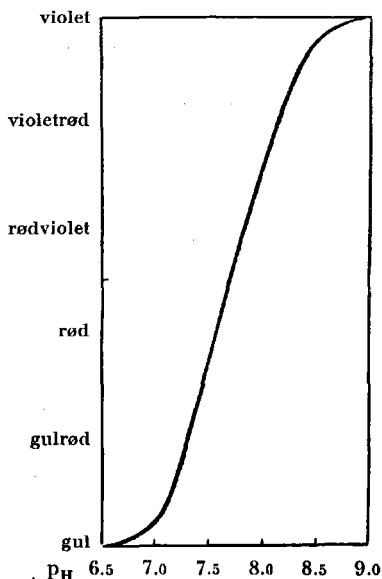


Fig. 3. Skematisk Fremstilling af Forholdet mellem Farvenuancerne af Fenolrødt og Opløsningens Brintionkoncentration.
(Efter Henriques.)

Navn	Maaleomraade	Farveskifte	Omslagspunkt
Thymolblaat (sure Omraade) .	1.2—2.8	rød—gul	1.7
Bromfenolblaat	3.0—4.6	gul—blaa	4.1
Methylrødt	4.4—6.6	rød—gul	5.1
Bromkresolpurpur	5.2—6.8	gul—purpur	6.3
Bromtymolblaat	6.0—7.6	gul—blaa	7.0
Fenolrødt	6.8—8.4	gul—rød	7.9
Kresolrødt	7.2—8.8	gul—rød	8.3
Thymolblaat (alk. Omraade)..	8.0—9.6	gul—blaa	8.9

Sættes nu et Par Draaber af en af disse Indikatorer til et Reagensglas med det Substrat, hvis Reaktion man ønsker at bestemme, antager dette straks en bestemt Farvenuance. Til Sammenligning afmaales et lige saa stort Rumfang af forskellige af *S. P. L. Sørensens* Stødpudeblandinger (Standardopløsninger); hver af disse Opløsningers Reaktionstal er i Forvejen nøje kendt, og tilsættes nu et Par Draaber Indikatoropløsning til hvert af Glassene, har man her en Oversigt over vedkommende Indikators Farveskala med tilhørende Reaktionstal. Det paagældende Substrat har da samme Reaktionstal som det Glas i Standardrækken, der tilnærmelsesvis udviser samme Farvenuance. Med lidt Øvelse og Omhyggelighed kan man paa denne Vis i absolut klare Vædsker bestemme Reaktions-tallet med en Nøjagtighed paa 0.05—0.1 p_H -Enhed.

Den anden Metode, den elektrometriske Reaktionsbestemmelse¹⁾, sker ved at maale »Brintiontrykket« i en Nernst's Gaskæde, hvor Elementets ene Pol repræsenteres af den variable Brintelektrode, medens en Kalomel- eller Kinhydronelektrode med kendt konstant Potential udgør den anden Pol; naar vi da kender det samlede Potential, kan Reaktions-tallet udregnes efter særlige Formler. Denne Metode tillader en mere nøjagtig Bestemmelse af Brintionkoncentrationen, men kræver i Modsætning til den kolorimetriske Metode et kompliceret Apparat, ligesom en enkelt Reaktionsbestemmelse kan være ret langvarig, idet der ofte medgaar $\frac{1}{2}$ Time eller mere, før Potentiallet bliver konstant. Begge disse Ulemper er nu — takket være den af *Biilmann* angivne Kinhydronelektrode —

¹⁾ Den elektrometriske Metode er den egentlige »Standardmetode«; Forudsætningen for den kolorimetriske Reaktionsbestemmelse er jo, at vi ad elektrometrisk Vej er sat i Stand til at bestemme Reaktionen i de til Sammenligning benyttede »Standardopløsninger«.

enten helt ophævet eller reduceret saa stærkt, at en enkelt Reaktionsbestemmelse kan foretages let og simpelt paa 3—4 Minutter. — Da Metodens teoretiske Grundlag saavel som dens Udførelse i Praksis nylig har været beskrevet her i Tidsskriftet, er det tilstrækkeligt at henvise til de paagældende Arbejder (*Harald R. Christensen og Tovborg Jensen, 1923, Tovborg Jensen, 1924*).

Disse forskellige nys beskrevne Forhold er af den allerstørste Betydning for det praktiske Jordbrug. Det er antagelig Jordbundens aktuelle Surhedsgrad, der i væsentlig Grad bestemmer Forløbet af de i Jordbunden foregaaende Processer, ligesom Reaktionen har Indflydelse paa Jordbundens fysiske Egenskaber (Struktur-Forhold), dens Bakterief flora o. s. v. Men af mindst lige saa stor Betydning er Jordbundens potentielle Surhedsgrad, idet en Jord med en ringe Stødpudevirkning meget let — f. Eks. ved Syreproduktion fra de højere Planter eller fra de i selve Jorden forekommende Mikroorganismer — kan bringes over i en for de højere Planter ugunstig Reaktions-tilstand, selv om den oprindelig har haft en for Plantevæksten gunstig p_H -Værdi. En stødpuderig Jord vil derimod reagere over for en stedfindende Syreproduktion ved at »mobilisere« sine Stødpudeioner og saaledes blive i Stand til i længere Tid tilnærmelsesvis at opretholde den oprindelige Reaktions-tilstand.

For at naa til fuld Klarhed med Hensyn til en given Jordbunds Reaktions-tilstand maa vi derfor bestemme saavel dens aktuelle Surhedsgrad (Reaktions-tal) som dens potentielle Surhedsgrad (Stødpudevirkning), saaledes som denne kommer til Udtryk i den paagældende Jords Titreringskurve.

Allerede da Arbejdet for en systematisk gennemført Under-søgelse af danske Agerjorders Kalktrang paabegyndtes her i Landet under Ledelse af *Harald R. Christensen*, var man klar over, at Jordreaktionen kunde være af afgørende Betydning for Plantevæksten. Ved Undersøgelser over Jordens Reaktions-tilstand anvendtes da — efter *Harald R. Christensens Forslag*¹⁾ —

¹⁾ S. P. L. Sørensens klassiske Arbejder vedrørende Brintionkoncentra-tionen og dennes Indflydelse paa biologiske Processer fremkom først omkring 1909—1910.

3 forskellige Metoder, nemlig 1) Brunsprøven, 2) Lakmusprøven og 3) Azotobacterprøven.

I sit Princip er Lakmusprøven en simpel kolorimetrisk p_H -Bestemmelse, men da Lakmus ikke er særlig følsom over for smaa Reaktionsforskelligheder, og da den desuden i sig selv er i Besiddelse af en ringe Stødpudevirkning, var det en meget væsentlig Forbedring af Metoden, da Statens Planteavls-Laboratorium gik over til at erstatte Lakmusprøven med en kolorimetrisk Reaktionsbestemmelse under Anvendelse af *Clark* og *Lubs* fortrinlige Indikatorer (*Harald R. Christensen*, 1923). Ogsaa denne Metode var dog behæftet med visse Ulemper, idet man enten maatte sætte Indikatorerne direkte til en Jordopslemning eller først frafiltrere Jordpartiklerne og derpaa til-sætte Indikatoren. I første Tilfælde vanskeliggøres Bedømmelsen af de finere Farvenuancer paa Grund af de opslemmede Jordpartikler, der ofte først bundfældes efter længere Tids Henstand, medens man ved at vælge det sidstnævnte Alternativ kommer til at arbejde med en overordentlig stødpudefattig Vædske, hvor forskellige ydre Forhold, som f. Eks. Luftens Kulsyre, let vil komme til at udøve en afgørende Indflydelse paa Bestemmelsen af Reaktionstallet. — Efter at Statens Planteavls-Laboratorium imidlertid nu i 1924 er gaaet over til den elektrometriske Reaktionsbestemmelse med *Biilmanns* Kinhydronelektrode, maa det siges, at Spørgsmaalet om Bestemmelse af Jordens aktuelle Surhedsgrad er løst omtrent til Fuldkommenhed (sml. *Harald R. Christensen* og *Tovborg Jensen*, 1923).

Hvad nu Azotobacterprøven angaar, da er den ifølge hele sin Oprindelse en ren empirisk Metode, der bygger paa den lagttagelse, at den kvælstofbindende fritlevende Bakterie *Azotobacter chroococcum* er meget ømfindtig over for Tilstedeværelsen af selv smaa Mængder Syrer og derfor ikke forekommer i Jorder med udpræget sur Reaktion. Hvis man til 50 cm³ af en Opløsning af Mannit og K₂HPO₄ sætter nogle faa Gram Jord, vil der, saafremt *Azotobacter* har været til Stede i den paagældende Jordprøve, efter nogle Dages Forløb dannes en tæt sammenhængende Hinde paa Vædskens Overflade, bestaaende af de typiske, tykvæggede Azotobacterceller samt forskellige andre Bakteriearter, der i Litteraturen hyppigt omtales som »Følgebakterier«. I systematisk Henseende henføres disse Mikroorganismer til forskellige Bakteriegupper, men fysiologisk

set er de alle karakteriseret ved at være mannitforgærende; som de vigtigste Former kan nævnes de sporedannende aerobe Bakterier, hørende til *Bacillus asterosporus*-Gruppen, samt den lille, ikke sporedannende *Bacterium radiobacter* og beslægtede Former, der i flere Henseender minder om Bælglplanternes Knoldbakterier. — Saafremt *Azotobacter* derimod ikke har været til Stede i den foreliggende Jordprøve, dannes der ingen saadan Hinde, hvorimod Mannitforgæringen foregaar under en mere eller mindre kraftig Luftudvikling.

I denne Form er *Azotobacter*prøven altsaa en Prøve paa Jordbundens mikrobiologiske Tilstand (Tilstedeværelsen af *Azotobacter*), der igen skulde være et Udtryk for visse kemiske Egenskaber, Reaktionsforholdene. Imidlertid viste det sig snart, at *Azotobacter*udvikling langt fra foregaar i alle de Tilfælde, i hvilke Betingelserne for en saadan har været til Stede (sml. *Harald R. Christensen*, 1914, Side 331); naar der i Forsøg, som ovenfor beskrevet, ikke fremkom nogen *Azotobacter*hinde, da behøvede dette altsaa ikke i alle Tilfælde at være ensbetydende med en ugunstig Reaktionstilstand. For at eliminere denne Mulighed, tilførte man derfor *Azotobacter* i Form af et lille Stykke Hinde fra en anden Kolbe med kraftig *Azotobacter*udvikling (»Podehinden«); herved udjævnes de forskellige Jordprøvers ovenfor omtalte mikrobiologiske Forskelligheder, og dersom Hindedannelsen nu udebliver, idet Podehinden falder hen i Smaastykker eller opløses helt, da kan dette kun være et Udtryk for en for *Azotobacter* ugunstig Reaktionstilstand, medens omvendt en kraftig Hindedannelse tyder paa en tilnærmelsesvis neutral eller alkalisk Reaktion. — I Overensstemmelse hermed udviste de praktiske Markforsøg (*Harald R. Christensen* og *O. H. Larsen*, 1910), at Jorder, der i Mannitopløsningen var i Stand til at foranledige Vækst af Podematerialet, ikke gav større Høstudbytte efter Kalktilførsel end de ukalkede Parallelparceller, medens Jorder, der ikke gav *Azotobacter*udvikling i Laboratoriet, næsten altid gav Udslag for Kalktilførsel i Markforsøgene. Paa Grundlag af dette Erfaringsmateriale opstilledes som almindelig Regel: *Azotobacter*negative Jorder er kalktrængende, *azotobacter*positive Jorder er ikke kalktrængende. Idet der samtidig tages Hensyn til Hindedannelsens Styrke (ingen — meget svag — svag — kraftig og meget kraftig), indgaar *Azotobacter*prøven da som en biologisk

Kalktrangsbestemmelse i det systematiske Undersøgelsesarbejde og har i de svundne Aar været af meget stor Betydning ved Undersøgelsen af danske Jorders Kalktrang.

For at fremskaffe et teoretisk Grundlag for den indpodede Azotobacterhindes Udvikling opstillede *Harald R. Christensen* (1914) — nærmest som et Grundlag for en videre Diskussion — den Teori, at Prøvens Udfald er afhængig af elektro-kemiske Forhold: Podematerialet betragtes som en Gel og er ladet med negativ Elektricitet; Stoffer med samme elektriske Ladning vil bestræbe sig for at bringe Hinden over i Sol-Tilstanden, hvorved Cellerne indbyrdes løsnes fra hinanden og fordeles i Vædsken. Denne Opløsningsproces vil modvirkes af Stoffer med modsat elektrisk Ladning, der i stærkere eller ringere Grad vil holde Bakteriehinden i koaguleret (udfældet) Tilstand. »Bevarelsen af Azotobacterhinden . . . vil da sandsynligvis herefter kunne betragtes som et Udtryk for, at Jorddelene er ladede med positiv Elektricitet og altsaa indeholder et vist Overskud af saadanne Elektrolyter, som er i Stand til at holde de negativt elektriske Jordkolloider i udfældet Tilstand. — Forsvinder Azotobacterhinden derimod i Opløsningen, er Jorden i hvert Fald meget fattig paa Elektrolyter af den omtalte Art« (l. c., Side 367).

Bondorff (1918) angiver, at et positivt Udfald af Azotobacterprøven er betinget af 1) Tilstedeværelsen af Kalk og 2) en passende Brintionkoncentration. »Kan en Jord, anvendt som Podemateriale i en Mannitopløsning, frembringe en Azotobacterhinde (eventuelt efter Podning med *Azotobacter*), vil det sige, at den, foruden at tilføre Opløsningen Kalksalte, tillige er i Stand til at bibringe Vædsken den for *Azotobacters* Vækst passende Brintionkoncentration og opretholde denne. De mannitforgærende, stærkt syredannende Organismer begynder nemlig deres Virksomhed, og er der ikke i den tilsatte Jord Stoffer, der kan tjene som Stødpuder, forhindre Brintionkoncentrationens Stigning, vil *Azotobacters* Vækst hurtig hæmmes paa Grund af Syredannelse« (l. c., Side 351). I danske Agerjorder vil en saadan Stødpudevirkning hovedsagelig være betinget af Tilstedeværelsen af Karbonater og basiske Fosfater, og i det store og hele kan Azotobacterhinden derfor anvendes som Reagens paa Tilstedeværelsen af Kalciumkarbonat i Jorden. Azotobacterprøven er med andre Ord en »biologisk Titration« af Jorders

basiske Stoffer: de syredannende Bakterier træder i Stedet for Syretilsætning fra en Burette og *Azotobacter* i Stedet for en Indikator.

Denne »Stødpudeteori« vinder hurtig almindelig Anerkendelse, og fra at være en kvalitativ mikrobiologisk Prøve er *Azotobacter*prøven hermed omdannet til en kemisk Undersøgelsesmetode med kvantitativ Karakter.

Ved de praktiske Kalktrangsundersøgelser ligger Sagen da i Øjeblikket saaledes, at en Jordprøves aktuelle Surhedsgrad (Reaktionstallet) bestemmes ved en enkelt Reaktionsmaaling, den potentielle Surhedsgrad (Stødpudevirkningen) derimod ved en biologisk Titring (*Azotobacter*prøven), idet det dog fremhæves, at man ikke paa Forhaand maa vente, at *Azotobacter*prøven »er i Stand til at give kvantitative eller i Grænsetilfælde (Overgangsjorder) heller ikke helt sikre Udtryk for den nævnte Stødpudevirkning, hvis Bestemmelse i Virkeligheden er det centrale i Kalkspørgsmaalet (*Harald R. Christensen*, 1923, Side 763).

Allerede i Sommeren 1921 iagttog Forfatteren, at enkelte Jordprøver, der paa Landbohøjskolens plantefysiologiske Laboratorium undersøgte for Kalktrang, udviste et Forhold, der ikke kunde bringes i Overensstemmelse med den herskende Opfattelse af *Azotobacter*prøven. Eksempelvis skal nævnes, at en Jord med Reaktionstallet 5.8 (maalt kolorimetrisk) til trods for dette lave Reaktionstal dog forårsagede en svag *Azotobacter*udvikling; efter Forsøgets Afslutning foretoges yderligere en Reaktionsbestemmelse, og det viste sig da, at Vædskens p_H i Løbet af de 4 Dage var dalet til 5.10. Da det endvidere — ved Overpodning og Spredning — viste sig, at de enkelte *Azotobacter*celler i den ganske vist meget tynde Hinde dog stadig var livskraftige, sluttedes heraf, at *Azotobacter* var i Stand til at holde sig i Live ved langt større Brintionkoncentration end svarende til Reaktionstallet 6.70, der af *Bondorff* (1918) angives som den kritiske Grænseværdi. Ved nogle orienterende Forsøg viste det sig da ogsaa, at *Azotobacter* endog var i Stand til at formere sig livligt ved langt surere Reaktion end den af *Bondorff* angivne. — Paa Grund af særlige Omstændigheder blev disse første — i øvrigt meget primitive — Forsøg og Iagttagelser ikke offentliggjorte, men da Forfatteren i Foraaret 1923

tiltraadte sin nuværende Stilling ved Statens Planteavls-Laboratorium, blev de afbrudte Forsøg genoptagne paa en bredere Basis; da *Biilmanns* Kinhydronmetode omtrent samtidig blev indført ved det daglige Arbejde paa Planteavls-Laboratoriet, var Vejen hermed aabnet for ved en fornyet eksperimentel Undersøgelse at kaste lidt Lys over de fysisk-kemiske Forhold, der er betingende for Udfaldet af Azotobacterprøven.

I det foreliggende Arbejde findes Resultatet af disse Undersøgelser, der paabegyndtes i Foraaret 1924. Forfatteren ønsker dog straks at understrege, at det ikke er Hensigten med det foreliggende Arbejde at undersøge Azotobacterprøvens Værdi for den praktiske Kalktrangsundersøgelse, men først og fremmest at belyse det ene Spørgsmaal: Er Azotobacterprøven et Udtryk for Jordens Stødpudevirkning i p_H -Intervallet omkring Neutralpunktet?

For at naa til endelig Vished med Hensyn til Værdien af de Metoder, der i Øjeblikket staar til vor Raadighed ved de praktiske Kalktrangsundersøgelser, kræves et langt større statistisk Materiale end det foreliggende, ligesom Markforsøg i Forbindelse med Laboratorieundersøgelserne vil være meget ønskelige for ikke at sige nødvendige. Naar de foreliggende Resultater offentliggøres allerede paa nærværende Tidspunkt, da sker det bl. a. i Haab om, at de Tanker, der danner Grundlaget i det foreliggende Arbejde, muligvis kunde fremskynde Udførelsen af saadanne Forsøg.

II. Azotobacterprøven og den aktuelle Surhedsgrad.

1. Om Betingelser for Dannelsen af Azotobacterhinden.

Det Spørgsmaal, der allerførst maa besvares, er dette, om Azotobacterprøven er en direkte Prøve paa Jordens Reaktions-tilstand og ikke i første Række afhængig af Tilstedeværelsen af andre Stoffer, der muligvis igen kunde være afhængig af Jordens Reaktion. Et saadant Forhold forekom mig — efter de foreliggende Iagttagelser — ingenlunde at ligge uden for Mulighedernes Grænse; jeg skal saaledes minde om, at *Prazmowski* allerede i 1912 fandt, at *Azotobacter* i en Rørsukkeropløsning ved Tilsætning af $\text{Fe}(\text{OH})_3$ omgav sig med mægtige

Slimkapsler, hvorimod en yderligere Tilsætning af Kalciumkarbonat foraarsagede, at de enkelte Celler voksede ud til lange, leddelte Traade, samtidig med at Slimdannelsen formindskedes til et Minimum. Da nu Erfaringen viser, at det netop er et Karaktertræk for de vel udviklede *Azotobacter* hinder, at de enkelte Celler paa et tidligt Tidspunkt omgives med et Slimlag og derefter gaar over i et Hvilestadium i Form af tykvæggede Smaacyster, laa det ret nær at sætte Slimproduktionen og Hindedannelsen i Aarsagsammenhæng; det maatte da blive Opgaven eksperimentelt at fastslaa, hvilke Stoffer, der specielt foraarsager saadanne morfologiske Ejendommeligheder, der maatte antages at være af Betydning for Hindedannelsen. Imidlertid gav de videre Forsøg ikke Støttepunkter for denne Hypothese, der bl. a. støder paa den Vanskelighed, at en typisk Hindedannelse aldrig kan fremtvinges eksperimentelt i Renkulturer, selv om man ved passende Forsøgsbetingelser kan fremkalde en abnorm stærk Forsliming af Væggene omkring de enkelte *Azotobacter* celler. I saadanne Kulturer ses ofte en Ringdannelse langs Kulturglassets Væg, men aldrig en typisk Hindedannelse. *Bondorff* har tidligere søgt at fremstille *Azotobacter* hinderne syntetisk, idet han ved Overpodning i en steriliseret Mannitopløsning kombinerede *Azotobacter* med forskellige velkendte Bakteriearter — i intet Tilfælde dannedes imidlertid nogen Hinde. Anvendtes til *Azotobacter* prøven Jord, der forinden var pasteuriseret ved 85° C. i 5 Minutter samt en Renkultur af *Azotobacter*, fremkom stadig den typiske *Azotobacter* hinde, hvorimod Hindedannelsen ganske udeblev, saafremt man til Forsøget anvendte en ved Autoklavering steriliseret Jord. Hvilke Mikroorganismer, der foruden *Azotobacter* er nødvendige til en normal Hindeudvikling, vides altsaa ikke, men Spørgsmaalet er formentlig uden større Interesse saavel for den teoretiske Forklaring af *Azotobacter* prøven som for den praktiske Udførelse af denne, idet der jo i den overpodede Raahinde altid vil forefindes de nødvendige Mikroorganismer. — I øvrigt har jeg gentagne Gange gjort den Iagttagelse, at Renkulturer i flydende Substrat, der ved Overpodningen er blevet inficeret med Skimmelsvamp, hyppigt danner en typisk Hinde, selv i saadanne Tilfælde, hvor Skimmelinfektionen er saa ringe, at den først opdages efter en omhyggelig mikroskopisk Undersøgelse. Rimeligvis er det da ikke en specifik

Mikroorganisme, men snarere Tilstedeværelsen af visse mikrobiologiske Stofskifteprodukter, der ikke produceres af *Azotobacter* selv, der er beliggende for Hindeudviklingen i Raakulturerne¹⁾.

For nu at undersøge Rigtigheden af den hidtil gældende Opfattelse af *Azotobacter*prøven som en Prøve paa Jordens Reaktionstilstand, anstilledes følgende Forsøg:

I store koniske Kogekolber afvejes 20 g af Jordprøver, der ved tidligere Undersøgelser har vist sig at være *azotobacter*-negative; til hver Kolbe sættes 200 cm³ Mannitopløsning²⁾, hvorefter Kolberne paa sædvanlig Vis podes med en *Azotobacter*-Raahinde og henstilles i Termostat ved 25° C., idet der til hver Jordprøve svarer 3 Parallelkolber (i Tabellen betegnet

Tabel 1. Udfaldet af *Azotobacter*prøven ved Tilsætning af NaOH.

Prøve Nr.	Jordbundsbeskaffenhed	Brusning	Reaktionstal	Azotobacter-prøve	Azotobacter-udvikling 3. Dag			Azotobacter-udvikling 4. Dag		
					a	b	c	a	b	c
07166	Let Lermuld	0	6.3	0	4	4	4	4	4	4
4852	Let Lermuld	0	6.3	0	4	4	4	4	4	4
4325	Sandmuld	0	6.4	0	4	4	4	4	4	4
07079	Let Lermuld	0	6.5	0	4	4	4	4	4	4
4308	Sandmuld	0	6.5	0	4	4	4	4	4	4
4944	Let Lermuld	0	6.5	0	4	4	4	4	4	4
4416	Let Lermuld	0	6.6	0	4	4	4	4	4	4
4810	Sandmuld	0	6.6	0	4	4	2	4	4	4
4593	Sandmuld	0	6.6	0	4	4	4	4	4	4
07030	Let Lermuld	0	6.7	0	2	2	2	4	4	4

¹⁾ Muligvis kunde der være Grund til at have sin Opmærksomhed henvendt paa Tilstedeværelsen af overfladeaktive Stoffer (Alkohol o. lign.), idet dette Forhold efter nyeste Undersøgelser (sml. *Janke*, 1924, Side 13) skal kunne være af afgørende Betydning for Dannelsen af Bakteriehinder.

²⁾ Naar der i det følgende tales om »Mannitopløsning«, forstaas herved den til *Azotobacter*prøven sædvanlig benyttede Mannit-Kaliumfosfatopløsning med Tilsætning af en ganske ringe Mængde Kaliumsulfat, der efter Erfaringer fra de praktiske Kalktrangsundersøgelser paa Statens Planteavlslaboratorium har vist sig at begunstige Dannelsen af særlig kraftige Hinder uden dog at forrykke Prøvens endelige Resultat.

som a, b og c). Fra hver Kolbe udtages forsigtigt — med 1 Døgn Mellemrum — en Prøve paa 10 cm³ Vædske, der med Bromthymolblaat som Indikator titreres med $n/10$ NaOH til p_H 7. Idet man umiddelbart derefter tilsætter den beregnede Mængde Natriumhydroxyd, sørger man for, at Reaktionen i Kolberne stadig, medens Forsøget staar paa, holdes oppe paa en Værdi omkring Neutralpunktet.

Som det ses af Tabel 1, fremkommer nu efter nogle Dages Forløb en kraftig Azotobacterhinde i samtlige Kolber, og Forsøget synes saaledes at tyde paa Rigtigheden af Stødpudeteorien — under alle Omstændigheder synes Reaktionsforholdene at være afgørende for Udfaldet af Prøven. Det vil derfor være paa sin Plads at undersøge, hvorledes en Renkultur af *Azotobacter* forholder sig over for vekslende Brintionkoncentrationer.

2. Azotobacter i Renkultur og den aktuelle Surhedsgrad.

Vedrørende dette Forhold foreligger i Litteraturen flere indbyrdes uoverensstemmende Angivelser. Saaledes meddeler Bondorff (1918), at *Azotobacter* ikke formerer sig — ja endogsaa dræbes — ved en p_H -Værdi mindre end 6.7, og omtrent samtidig angiver Fred og Davenport (1918) Reaktionstallet 6.5 som nedre Grænseværdi for *Azotobacters* Vækst, idet dog den ene af de to undersøgte Azotobacterstammer standsede i Væksten allerede ved Reaktionstal under 6.8. Efter nyere Undersøgelser synes dog denne nedre Grænseværdi at ligge væsentlig lavere, idet Gainey (1923), Gainey og Batchelor (1923) samt Yamagata og Itano (1923) angiver, at Surhedsgrænsen for Azotobacter-udviklingen ligger ved en p_H -Værdi omkring 6¹⁾.

Uoverensstemmelsen mellem disse Angivelser kunde tænkes at bero paa, at de Azotobacterstammer, der har været anvendt til de paagældende Undersøgelser, ikke har været absolut rene, idet det ved Rendyrkningen tit kan være ret vanskeligt at befri *Azotobacter* for de i Hinden forekommende »Følgelbakterier« (Krzemieniewski, 1908, Side 932). For at være sikker i saa Henseende valgte jeg da at gennemføre Undersøgelsen med en »absolut Renkultur«, d. v. s. en Kultur, om hvilken man med

¹⁾ I Overensstemmelse hermed angiver Johnson og Lipman (1923), at Kvælstofbindingen i Renkulturer standser ved p_H -Værdier mindre end 6.0.

den absolute Sikkerhed, der vindes ved direkte mikroskopisk iagttagelse af Koloniudviklingen, ved, at den nedstammer fra een og kun een enkelt Celle. Til Isoleringen, der er foretaget under Anvendelse af den af Ørskov (1922) angivne Metodik, benyttedes en *Azotobacter*stamme, der gennem et Par Aar havde været Genstand for ret indgaaende morfologiske Undersøgelser. — Som Næringssubstrat valgte jeg, efter at have arbejdet med forskellige mineralske Opløsninger, en Opløsning af følgende Sammensætning:

Mannit	1 pCt.
Magniumsulfat	0.02 —
Kaliumklorid	0.02 —
Kaliumnitrat	0.02 —
Calciumglycerofosfat	0.5 —
FeCl ₃ , 10 pCt. Opl.: 2 Draaber pr. Liter.	

Dette Næringssubstrat med Calciumglycerofosfat, der vistnok ikke tidligere har været anvendt i den bakteriologiske Teknik, har i vekslende Koncentrationer vist sig at være overordentlig vel egnet for *Azotobacter*udviklingen; i Mod-sætning til de sædvanlige Næringsopløsninger for *Azotobacter*, i hvilke Calcium og Fosforsyre forekommer samtidig, er dette Substrat fuldstændig vandklart og uden Bundfald. Ved at ændre Koncentrationen af Calciumglycerofosfatet er man i Stand til at regulere Substratets Stødpudevirkning, men overstiger Koncentrationen 0.5 pCt., vil Autoklaveringen af Substratet — navnlig da saafremt man ønsker at arbejde med lave p_H -Værdier — medføre en Hydrolysering af Calciumglycerofosfatet, hvilket forårsager et mere eller mindre voluminøst Bundfald. I saa Fald kan dog Steriliseringen af Substratet foretages let og hurtigt ved steril Filtrering gennem et Chamberland Filter. — Efter at det uautoklaverede Substrats Titreringskurve var optaget paa sædvanlig Vis, fremstilledes i Overensstemmelse hermed Substrater med de ønskede p_H -Værdier, idet Stamopløsningen deles i Portioner paa hver 100 cm³, og til hver af disse føjes den paa Grundlag af Titreringskurven beregnede Mængde $n/10$ HCl (a cm³) samt $25 \div a$ cm³ destilleret Vand. De saaledes fremstillede Substrater fordeles paa smaa 50 cm³ Erlenmeyerkolber (10 cm³ i hver) og autoklaveres ved 120° C. i 20 Minutter. Efter Autoklaveringen udtages yderligere Kolber til Reaktions-

bestemmelsen; som det fremgaar af Tabel 2, har Reaktionen ikke ændret sig nævneværdigt ved Autoklaveringen.

De saaledes fremstillede Næringssubstrater podes rigeligt fra en 1 Maaned gammel Azotobacterrenkultur, i hvilken samt-

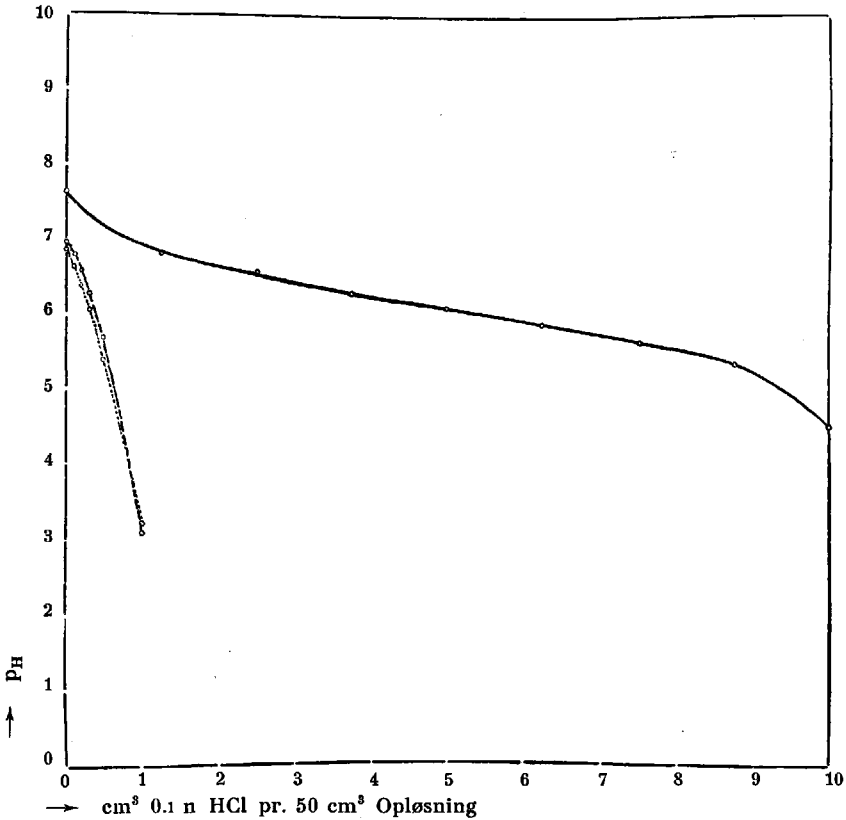


Fig. 4. Titreringskurver af de til Forsøgene benyttede Næringssubstrater.

— Mannit + 0.5 pCt. Calciumglycerofosfat.
 - - - do. + 0.04 - do.
 - · - Kaliumfosfat-Mannitopløsning.

lige Celler var gaaet over i det morfologisk vel karakteriserede tykvæggede Hvilestadium; for hver p_H -Værdi podes 4 Parallelkolber.

Efter at Kulturerne havde henstaaet ved 25° C. i 5 Dage, undersøgtes de saavel makroskopisk som mikroskopisk. Resultaterne findes opførte i Tabel 3.

Tabel 2. Fremstilling af Næringssubstrat med vekslende Brintionkoncentration.

Grund-opløsning, cm ³	0.1 n HCl, cm ³	Destilleret Vand, cm ³	p _H beregnet	p _H fundet
100	5	20	6.55	6.58
100	7.5	17.5	6.24	6.32
100	8.75	16.25	6.15	6.22
100	10	15	6.06	6.05
100	12.50	12.50	5.85	5.89
100	15	10	5.59	5.62
100	17.5	7.5	5.33	5.26

I de Kolber, hvis Reaktionstal er større end 6.05, er Azotobacterudviklingen stærk og makroskopisk synlig paa 4. Dag; hele Podematerialet er spiret under Udvikling af typiske Sværmerceller. Ved p_H 6.05 hengaar der en hel Uge, før Azotobacterudviklingen makroskopisk lader sig fastslaa med Sikkerhed. En mikroskopisk Undersøgelse viser, at vi her stærkt nærmer os den kritiske nedre Grænseværdi, idet de ved Hvilecellernes Spiring opstaaede Celler alle er ubevægelige; foruden disse i øvrigt ret typiske Azotobacterceller forefindes i Kulturen endvidere ikke helt faa Celler af afvigende Form¹⁾, der aabenbart svarer til de af Løhnis (1916, 1923) beskrevne Celletyper. — Gaar vi ned til Reaktionstallet 5.89, da forekommer her — selv efter en Uges Forløb — ingen makroskopisk synlig Vækst; undersøges det benyttede Podemateriale, der er forblevet i Sammenhæng i Form af en kompakt, mørkt farvet Masse, viser det sig, at det store Flertal af de overpodede Hvileceller overhovedet ikke er spiret; hist og her træffes enkelte Delingsstadier af Celler, hørende til den normale Celletype, men dog stærkt præget af ugunstige Livsforhold. De »afvigende Celleformer« er dog afgjort i Flertal; i den ene af Kolberne (a) var saaledes omtrent Halvdelen af de overpodede Hvileceller spiret under Dannelsen af stærkt granulerede Celleformer, der

¹⁾ I et senere Arbejde vil disse Celletyper og andre Forhold vedrørende *Azotobacters* Morfologi blive gjort til Genstand for en mere indgaaende Behandling.

Tabel 3. Forsøg med Renkultur af *Azotobacter*
ved forskellig Brintionkoncentration.

Begyn- delses- reaktion	Kolbe Nr.	Kulturens Vækst: 4. Dag		Resultat af Nypodning fra 4. Dags Kulturer ¹⁾	Kulturens Vækst: 7. Dag		Ny- podning fra 7. Dag ¹⁾	Slut- reak- tion
		makro- skopisk	mikro- skopisk		makro- skopisk	mikro- skopisk		
6.58	a	××××	++	××××	××××	++	××××	6.69 6.63
	b	××××	++		××××	++		
	c	××××	++		××××	++		
	d	××××	++		××××	++		
6.32	a	××××	++	××××	××××	++	××××	6.46 6.43
	b	××	++		××××	++		
	c	××	++		××××	++		
	d	××	++		××××	++		
6.22	a	×	++	××××	××××	++	××××	6.28 6.28
	b	×	++		××××	++		
	c	×	++		××××	++		
	d	××	++		××××	++		
6.05	a	× (?)	+⊕	××××	×	+⊕	××××	6.10 6.13
	b	×	+⊕		×	+⊕		
	c	÷	+⊕		×	+⊕		
	d	÷	+		×	+		
5.89	a	÷	⊕+	××××	÷	⊕+	××××	5.89 5.88
	b	÷	⊕+		÷	⊕+		
	c	÷	⊕+		÷	⊕+		
	d	÷	⊕+		÷	⊕+		
5.62	a	÷	÷	××××	÷	⊕+	××××	5.60 5.61
	b	÷	÷		÷	⊕+		
	c	÷	⊕+		÷	⊕+		
	d	÷	⊕+		÷	⊕+		
5.26	a	÷	÷	××××	÷	⊕+	××××	5.20 5.19
	b	÷	⊕		÷	⊕+		
	c	÷	⊕		÷	⊕+		
	d	÷	÷		÷	⊕+		

××××: Stærk Udvikling.

××: Ret god do.

×: Svag do.

÷: Ingen do.

++: Sværmecceller fordelt i hele Vædsken.

+ : Podematerialet udviklet til normale, men ubevægelige Celleformer.

⊕ : Podematerialet udviklet til afvigende Celleformer.

Hvor de to sidstnævnte Tegn (+ ⊕) findes i samme Rubrik, er der i den paagældende Kolbe fundet saavel normale som afvigende Celleformer; det til den fremherskende Type svarende Tegn er anbragt forrest.

¹⁾ Se nærmere Side 268.

i morfologisk Henseende udviste en forbløffende Lighed med de Bakterieformer, der sædvanligvis træffes i daarligt udviklede *Azotobacterraahinder* (eller endog i Kolber med manglende *Azotobacterudvikling*) og som sædvanligvis antages at være identiske med de af forskellige Forfattere beskrevne »*Granulobacterformer*«; ved de mikroskopiske Undersøgelser, foretaget nogle Dage senere, viste det sig, at heller ikke disse Celletyper har været i Stand til at formere sig nævneværdigt ved denne ret sure Reaktion. — I de Kolber, hvis Reaktionstal er mindre end 5.89, foregaar overhovedet ingen makroskopisk synlig Vækst, og det mikroskopiske Billede stemmer i store Træk overens med de ovenfor omtalte Iagttagelser, idet dog Antallet af spirede Celler er reduceret overordentlig stærkt; Spiringen er flere Steder indledet, men kun gennemført i faa Tilfælde, og den videre Udvikling derpaa standset med 1. eller 2. Celledeneration.

I Tilknytning til ovenstaaende Forsøg anstilledes samtidig Undersøgelser over Hvileporernes Resistens over for de stærkere Brintionkoncentrationer; hertil benyttes lidt af det i Kolberne tilbageværende, ikke spirede Podemateriale, der ved Hjælp af en steril Vatspensel udgnides paa den stivnede Overflade af et for *Azotobacter* gunstigt Agarsubstrat (*Lohnis'* Mannit-nitratagar) — fra hver Kolbe anlægges to saadanne »Pladekulturer«. Ved en mikroskopisk Undersøgelse af Agarfladen, foretaget 2 Dage senere, viste det sig, at Hovedparten af de overførte Celler var spiret under normal Celledannelse, ligegyldigt, fra hvilke Kolber de stammede.

Af disse Forsøg fremgaar det da med stor Tydelighed, at den nedre Grænseværdi, ved hvilken *Azotobacter* endnu er i Stand til at formere sig normalt, ligger omkring Reaktions-tallet 6.0, men Hvilecellernes Levedygtighed kan bevares i fuld Udstrækning ved betydeligt lavere Reaktionstal, idet en dræbende Reaktion endnu ikke er naaet ved en p_H -Værdi paa 5.26. — Disse Tal stemmer ret nøje overens med de af *Gainey* og *Batchelor* (1923) angivne Resultater, ifølge hvilke samtlige undersøgte *Azotobacterstammer*¹⁾ (i alt 9) endnu voksede svagt ved

¹⁾ Det maa dog bemærkes, at flere af disse Stammer muligvis ikke har været helt renset for »Følgelbakterierne«: Cultures 407 — 5 and 449 did not grow as abundantly as did the other cultures, even when the reaction was favourable. These two cultures failed to produce a surface film (l. c. p. 761).

Reaktionstal beliggende mellem 5.9 og 6.0 (maalt kolorimetrisk); i et enkelt af Forsøgene udviste den ene af Stammerne endnu svag Vækst ved p_H 5.8, men Parallelkolberne gav her negativt Resultat. Væksten ved disse lave Reaktionstal var dog overalt meget svag, men tiltog i Styrke med stigende Reaktionstal indtil p_H -Værdier mellem 6.1 og 6.3; ved denne Reaktion var Væksten overalt lige saa kraftig som i Kolberne med højere p_H -Værdier.

Af Forsøget fremgaar endvidere, at de Reaktionsforskydninger, der foregaar under Væksten i et stødpuderigt Substrat, er ret uvæsentlige; det vil nu være af Interesse at se, hvilke Reaktionsforskydninger der sker i en meget stødpudefattig Næringsopløsning. De i Litteraturen foreliggende Angivelser desangaaende er ret uoverensstemmende, idet *Fred* og *Davenport* (1918) finder en Reaktionsforskydning fra Begyndelsesreaktionen 7.2 til 5.1, og *Stoklasa* (1908) angiver en Reaktionsforskydning svarende til 3.33 cm³ Normalsyre pr. 100 cm³ Næringsopløsning. Disse Angivelser forekommer paa Forhaand ret usandsynlige, idet *Azotobacter* (sml. *Krzemieniewski*, 1908, Side 1048) overhovedet ikke producerer andre Syrer end Kulsyre, og som fremhævet af *Krzemieniewski* (1908) og *Bonazzi* (1921) synes i hvert Fald *Stoklasa* at have arbejdet med urene Kulturer. — I Modsætning hertil angiver *Gainey* og *Batchelor* (1923), at de af *Azotobacter* forårsagede Reaktionsforskydninger er ganske uvæsentlige, selv i stødpudefattigt Substrat. »Very slight, if any, changes in the reaction of the media are produced by the growth of the various strains of *Azotobacter* studied, indicating the production of inappreciable quantities of acid or basic metabolic by-products« (l. c. Side 767). Som Eksempel paa de af *Gainey* og *Batchelor* fundne Reaktionsforskydninger skal nævnes, at en Begyndelsesreaktion paa 6.8 holdt sig uforandret gennem en 2 Ugers Forsøgsperiode; i et enkelt Tilfælde ændredes Reaktionen i samme Tidsrum fra Begyndelsesreaktionen 6.2 til 5.4, men i de øvrige Forsøg ændredes Reaktionen kun ± 0.1 — 0.2 p_H -Enheder.

Sagen ligger da vistnok saaledes, at Reaktionsændringerne er betingede saavel af Substratets Sammensætning (Stødpudevirkning) som af Begyndelsesreaktionen. I det foreliggende Tilfælde vil det være Opgaven at undersøge Reaktionsændringen i et Substrat, der i kemisk Henseende nogenlunde svarer til

den Mannitopløsning, der anvendes ved den praktiske Udførelse af Azotobacterprøven. Som det fremgaar af Titreringskurven Side 265 opfyldes disse Betingelser tilnærmelsesvis af en Næringsopløsning af samme Sammensætning som den i det foregaaende Forsøg anvendte, idet Calciumglycerofosfatkoncentrationen dog nedsættes til 0.04 pCt.; i denne stødpudefattige Opløsning foregaar der en kraftig Azotobacterudvikling allerede efter 1—2 Dages Forløb.

Det færdigfremstillede, ganske vandklare Substrat fordeles paa smaa Erlenmeyerkolber, og efter endt Autoklaving maaes Reaktionen i to af Kolberne til henholdsvis 7.03 og 7.09. Den 20. Juni paabegyndes Forsøget med i alt 50 Kolber, der alle podes med en absolut Renkultur af *Azotobacter* — 24 Kolber henstilles upodet til Kontrol. I de følgende Uger udtages med nogle Dages Mellemrum 3 eller 4 Kolber til elektrometrisk Reaktionsbestemmelse. For Anordningen af hele Forsøgsserien har det været mig magtpaaliggende at undgaa unødvendig Rystning af Kulturkolberne, hvorfor jeg — ligesom Walbum (1922) — har foretrukket at foretage Forsøget med en større Serie af Smaakolber frem for en enkelt større Kolbe, hvorfra de enkelte Prøver kunde udtages sterilt. Som Regel er der god indbyrdes Overensstemmelse mellem de enkelte Parallelbestemmelser; de i enkelte Tilfælde forekommende indbyrdes Uoverensstemmelser skyldes det velkendte Forhold, som ogsaa Walbum gør opmærksom paa, at Bakteriekulturer, trods alle Bestræbelser for Ensartethed, kan udvikle sig forskelligt — et Forhold, der i øvrigt ofte kan iagttages direkte ved makroskopisk Undersøgelse af Kulturkolberne.

Som det fremgaar af Tabel 4, viser det sig, at Reaktions-tallet i Kolberne falder nogenlunde regelmæssigt i de første 10 Dage indtil en p_H -Værdi beliggende omkring 6.30 — i en enkelt af Kolberne falder Reaktionstallet endog til 6.20. Den mikroskopiske Undersøgelse, der stadig foretages i Tilslutning til Reaktionsbestemmelserne, viser, at Flertallet af Sværme-cellerne paa dette Tidspunkt er ved at gaa over i Hvilecelle-stadiet eller Forstadier til dette. Hele den vegative Bakterie-udvikling er nu i Hovedsagen tilendebragt, og i Overensstem-melse hermed stiger Reaktionstallet paany, idet der finder en Udligning Sted mellem Kulsyren i Kulturkolberne og den omgivende atmosfæriske Luft. Efter 3 Ugers Forløb har

Tabel 4. Reaktionsforskydninger under *Azotobacters* Vækst i en Mannitopløsning med 0.04 pCt. Calciumglycerofosfat.

Dato	Reaktionsbestemmelse (p _H)							
	Podet						Upodet	
21/6	6.85	6.90	6.89	6.77			7.10	6.98
22/6	6.90	6.90	6.91	6.91			7.09	7.10
25/6	6.55	6.98	6.58	6.98	6.72	6.81	6.81	6.98
	6.70							
26/6	6.60	6.63	6.54	6.60			6.96	7.09
							6.86	7.01
27/6	6.57	6.63	6.50	6.59			6.72	7.00
28/6	6.41	6.47	6.38	6.40			6.81	6.86
29/6	6.34	6.32	6.41	6.29			6.63	6.98
30/6	6.30	6.20	6.38	6.34			6.72	6.89
2/7	6.32	6.36	6.38	6.34			6.86	6.81
5/7	6.34	6.58	6.41	6.41			6.82	6.86
9/7		6.57	6.65	6.72			6.89	
14/7	6.66	6.75	6.84	6.55				

Reaktionstallet i de podede Kolber antaget omtrent samme Værdi som i de upodede Kontrolkolber — Vandfordampningen begynder nu at gøre sig gældende i enkelte af Kolberne.

3. Om Forholdet mellem Jordbundens aktuelle Surhedsgrad og Forekomsten af *Azotobacter*.

I de nærmest paafølgende Aar efter, at *Azotobacter* var blevet opdaget og rendyrket (af *Beijerinck*, 1901), var man tilbøjelig til at antage, at denne Bakterie saa godt som altid fandtes i godt gennemluftede Jordbundslokaliteter. Allerede i 1904 iværksatte *Burri* en systematisk Undersøgelse over *Azotobacters* Forekomst i schweiziske Jordprøver og fandt da, at af 105 Jordprøver manglede *Azotobacter* i de 34, ligesom den heller ikke fandtes i flere Jordprøver fra Omegnen af Göttingen (sml. *Benecke*, 1912, Side 587). *Harald R. Christensen* er vistnok den første, der stiller Forekomsten af *Azotobacter* i Relation til den paagældende Jordbunds Surhedsgrad, idet han — paa Grundlag af et meget stort Undersøgelsesmateriale — gør opmærksom paa, at *Azotobacter* saa godt som aldrig forekommer i Jorder, der reagerer surt over for Lakmus, sjældent i neutrale, men derimod saa godt som altid i alkaliske Jorder (sml.

Harald R. Christensen, 1914, Side 328). I Overensstemmelse hermed angiver *Weis* og *Bornebusch* (1914), at *Azotobacter* kun yderst sjældent forekommer i danske Skovjorder; af 64 undersøgte Lokalteter forekom *Azotobacter* kun i 2, og i begge Tilfælde drejede det sig formodentlig ikke om den almindeligst forekommende *Azotobacter*art (*Azotobacter chroococcum*), men om nærstaaende Former (*A. Beijerinckii* eller *A. vitreum*), der ikke danner det for *Azotobacter chroococcum* saa karakteristiske brune Pigment. Begge de paagældende Jordprøver bruste stærkt med Syre og reagerede stærkt alkalisk. I det nedfaldne Løv-dække fandtes *Azotobacter* aldrig — en Angivelse, der ikke stemmer med Erfaringer andet Steds fra, idet *Perotti* (1907) og *Düggeli* saa godt som altid kunde paavise *Azotobacter* i det nedfaldne Løv- og Naaledække.

Imidlertid er det dog først efter, at vi i de senere Aar har faaet bekvemmere Metoder til Reaktionsmaaling, at vi ved eksakte talmæssige Angivelser kan fastslaa Forholdet mellem Jordbundens Surhedsgrad og Sammensætningen af dens Bakteriflora. *Gainey* (1918) undersøger i alt 90 Jordprøver fra forskellige Lokalteter med følgende Resultat:

Ingen <i>Azotobacter</i> udvikling.....	37	Jordprøver
Svag do.	28	do.
Stærk do.	25	do.

Den nedre Grænseværdi for *Azotobacters* Forekomst repræsenteres her af 2 Prøver med Reaktionstallet 5.6 og een Prøve med Reaktionstallet 5.5. — I alle 3 Prøver er *Azotobacter*udviklingen dog kun svag, og *Gainey* udtaler Formodningen om, at *Azotobacter*forekomsten ved disse lave Reaktionstal kan bero paa en tilfældig Forurening¹⁾.

Støttet til et meget stort og i enhver Henseende uangribeligt Materiale vender *Gainey* i 1923 paany tilbage til Spørgsmaalet, idet han i alt undersøger 374 Jordprøver, der fordeler sig nogenlunde ligeligt over Reaktionsskalaen fra 7.50 til 4.50.

¹⁾ Ved »Svag *Azotobacter*udvikling« (»nontypical growth«) forstaar *Gainey* Udviklingen af løse, svagt sammenhængende, uregelmæssige Hinder af graa, gullig eller svagt brunlig Farve; den mikroskopiske Undersøgelse viser, at *Azotobacter* ikke desto mindre altid er til Stede i disse Hinder, om end den oftest træder i Baggrunden for forskellige andre Bakteriearter, Skimmel-svampe og Protozoer.

I Tabel 5 a angives Undersøgelsens Hovedresultater. Det fremgaar heraf, at *Azotobacter* endnu ved Reaktionsstal mellem 5.99 og 5.50 forekommer i ca. hver 3. af de undersøgte Lokaliteter; selv i Jorder med Reaktionsstal under 4.99 forekommer *Azotobacter*, om end i et beskedent Antal af de undersøgte Prøver. Som det laveste Reaktionsstal, ved hvilket *Azotobacter* endnu forekommer, angives 4.53, men Hindedannelsen var dog kun svag.

Tabel 5 a. Forholdet mellem Jordbundens Reaktionsstal og Forekomsten af *Azotobacter* efter *Gainey's* Undersøgelser.

Reaktionsstal (elektrom.)	Antal Jordprøver	Azotobacter til Stede		Azotobacter ikke til Stede	
		Antal	pCt.	Antal	pCt.
Over 7.50	57	57	100	0	0
7.49—7.00	49	45	92	4	8
6.99—6.50	33	27	82	6	18
6.49—6.00	38	30	80	8	20
5.99—5.50	64	22	34	42	66
5.49—5.00	75	7	9	68	91
4.99—4.50	42	5	12	37	88
Under 4.50	16	0	0	16	100
I alt	374	193		181	

Paa Baggrund af disse af *Gainey* selv fastslaaede Kendsgerninger virker det lidt overraskende, naar han til Slut erklærer: »very few soils more acid than indicated by a hydrogen-ion-concentration of 1×10^{-6} contain *Azotobacter*« (l. c., p. 937). Denne Slutning synes ikke helt at være i Overensstemmelse med *Gainey's* egne Resultater (sml. ovenfor), ifølge hvilke *Azotobacter* forekommer i ca. hver 3. af samtlige Jordprøver med Reaktionsstal mellem 5.99—5.50. — Som ovenfor omtalt (se Side 268) har i øvrigt *Gainey* selv fastslaaet den nedre p_H -Værdi for Vækst af *Azotobacter* i Renkultur til ca. 6.0.

Det vil af ovenstaaende Litteraturgennemgang — der i øvrigt ikke gør Fordring paa at være komplet — fremgaa, at de i de seneste Aar foretagne udenlandske Undersøgelser ikke stemmer overens med de hjemlige Erfaringer angaaende *Azotobacter's* Udbredelse i Naturen. Det besluttedes derfor at underkaste Forholdene i danske Agerjorder en fornyet Undersøgelse.

Til dette Formaal udvalgte i alt 30 Jordprøver, af hvilke de 10 ved en tidligere foretagen Azotobacterprøve havde givet positivt Resultat, de øvrige 20 derimod negativt. Af hver Prøve henstilles i alt 5 Kolber med den sædvanlige Mannitopløsning; de to af disse, der skal belyse Spørgsmaalet om *Azotobacters* Forekomst i de paagældende Prøver, podes ikke med Raahinde, men tilsættes derimod en Spatelfuld Calciumkarbonat; de øvrige 3 »kalkfrie« Kulturkolber podes paa sædvanlig Vis, idet de tjener til en Orientering med Hensyn til selve Azotobacterprøven. Allerede efter faa Timers Forløb udtages den ene af disse tre Kolber til elektrometrisk Reaktionsbestemmelse, idet det er af Betydning at undersøge, hvilke Reaktionsforskydninger der finder Sted ved Opslemningen i Mannitfösfat-Opløsninger. De øvrige 2 Kolber henstaar i Termostaten til 3. Døgn efter Forsøgets Paabegyndelse — derpaa udtages de begge til Bedømmelse af Azotobacterudviklingen, og Reaktionen maales i den ene af Kolberne. 4. Dag slutter Azotobacterprøven med Reaktionsmaaling i den sidste Kolbe. — De upodede Kolber med Kalktilsætning henstaar 5 Dage; paa dette Tidspunkt er der i de fleste af Kolberne indtraadt en livlig Mannitforgæring med mere eller mindre stærk Skumdannelse. Kun en enkelt af Prøverne, den »azotobacternegative« Nr. 11019, har været i Stand til at udvikle en tæt sammenhængende, kraftig Azotobacterhinde; i de 10 af Prøverne findes en svag, men ikke sammenhængende Hinde, der mikroskopisk viser sig at bestaa af *Azotobacter* i Hvilestadiet samt Clostridieformer og Protozoer. Fra hver af disse Hinder anlægges nye Udstrygningskulturer paa Mannitnitratagar, der efter faa Dages Forløb udvikler sig til typiske Kulturer af *Azotobacter chroococcum* med rigelig Pigmentdannelse. Som Resultat af denne Undersøgelse fremgaar det, hvad der i øvrigt ogsaa har vist sig ved tidligere Undersøgelser af *Harald R. Christensen*, at *Azotobacter* forekommer saavel i »azotobacterpositive« som i »azotobacternegative« Jordprøver — den eneste Jordprøve med en kraftig, sammenhængende Hinde er endog azotobacternegativ. Endvidere kan *Azotobacter* sikkert paavises i Jordprøver med Reaktionstal omkring 5.5.

Disse Resultater tyder saaledes paa, at de af *Gainey* fundne Grænseværdier ogsaa er gyldige for danske Jordtyper. Tilsyneladende svarer disse Resultater lige saa lidt som *Gainey*s til

Tabel 5 b. Forholdet mellem Jordbundens Reaktionstal og Forekomsten af *Azotobacter chroococcum*. Begyndelses- og Slutreaktionen ved Azotobacterprøven.

Prøve Nr.	Jordbunds- beskrivelse	Brusning med Syre	Udfald af tidligere Azotobacterprøve	pH i vandig Jordopslemning	pH efter Opslemning i Mannitfosfat-opløsningen	Forsøgets 3. Dag		Forsøgets 4. Dag		Forekomst af Azotobacter
						pH	Azotobacter-udvikling	pH	Azotobacter-udvikling	
11154	Lermuld	0	0	5.6	6.22	4.80	0	4.73	0	
11032	Let Lermuld.....	0	0	5.8	6.20	4.86	0	4.78	0	
11153	Let Lermuld.....	0	0	5.9	6.37	4.99	0	4.76	0	
11112	Lermuld	0	0	6.0	6.72	4.84	0	4.63	0	
11029	Let Lermuld.....	0	0	6.1	6.35	5.02	0	5.02	0	+
11006	Let Lermuld.....	0	0	6.3	6.39	4.80	0	4.80	0	++
11019	Sandmuld	0	0	6.4	6.51		0	4.75	0	⊕
11036	Let Lermuld.....	0	0	6.7	6.33	4.92	0	4.82	0	⊕
11001	Let Lermuld.....	1	0	6.9	6.58	4.84	0	4.95	0	+
11008	Sandmuld	0	0	7.1	6.49	4.73	0	4.73	0	++
11179	Let Sandmuld ...	0	0	5.3	6.34	4.84	0	4.84	0	0
11236	Sandmuld	0	0	5.7	6.39	4.80	0	4.50	0	
11187	Let Sandmuld ...	0	0	7.0	6.89	5.26	0-1	4.68	1-2	
0169	Sandmuld	0	0	4.8	6.27	4.83	0	4.62	0	
0129	Sandmuld	0	0	5.2	5.73	4.88	0	4.55	0	
081	Let muldrig Sand-									
	jord.....	0	0	5.4	6.04	4.98	0	4.67	0	+
047	Let Sandmuld ...	0	0	5.5	6.20	4.80	0	4.50	0	+
053	Ret muldrig Sand-									
	jord.....	0	0	6.2	6.46	4.86	0	4.62	0	++
0219	Let Sandmuld ...	0	0	6.5	6.58	5.09	0	4.70	0	
0147	Sandmuld	0	0	6.6	6.86	5.19	0	4.74	2	
11044	Sandmuld	0	4	6.7	6.70	5.04	1	4.88	4	++
0492	Sandmuld	0	4	6.6	6.67	5.31	4	4.79		++
11137	Let Lermuld.....	1	4	6.8	6.74	5.16	4	4.87	4	
11138	Let Lermuld.....	0	4	6.5	6.68	5.41	3	4.77	4	
11143	Lermuld.....	0	4	6.6	6.54	4.85	0	4.66	0-1	
11146	Lermuld.....	0	4	6.5	6.56	5.21	4	4.79	4	
11181	Let Sandmuld ...	1	4	6.5	6.81	5.53	4	4.71	4	
23	Lermuld.....	0	4	6.8	6.58	5.11	4		4	+
105	Ret svær Lermuld	0	4	6.6	6.51	4.92	0-1	4.64	4	
11157	Let Lermuld.....	0	4	6.6	6.56	5.13	4	4.80	4	

+: Azotobacterudvikling under svag Hindedannelse (++: i begge Parallelkolber, +: kun i den ene).

⊕: Azotobacterudvikling under stærk Hindedannelse.

4: (Ved Azotobacterprøven) Kraftig Vækst af Pødehinden.

2: (- do.) Svag - - do.

0: (- do.) Ingen - - do.

den for Renkulturer gældende nedre Grænseværdi. Hvorledes dette skal forklares, maa foreløbig staa hen i det uvisse, men der kunde dog maaske være Grund til at gøre opmærksom paa, at vi endnu ikke er i Besiddelse af et fyldigt Talmateriale til Belysning af Spørgsmaalet om Størrelsen af de Reaktionsforskydninger, der utvivlsomt foregaar inden for hver Jordbundslokalitet. Det er hævet over enhver Tvivl, at Reaktions-tilstanden paa »naturlige Lokalteter«, der gennem et længere Tidsrum ikke er udsat for Paavirkning fra Menneskets Haand, ændrer sin Reaktionstilstand i Overensstemmelse med Arten af den fremherskende Vegetationstype (sml. *Raunkjær*, 1922); noget lignende gør sig selvfølgelig gældende paa dyrkede Lokalteter, hvor Reaktionsforholdene formentlig er underkastede ret betydelige Svingninger Aar for Aar alt efter Afgrødens Art, Jordens Behandling o. s. v. Nøjere Undersøgelser desangaaende foreligger dog vistnok ikke, lige saa lidt som vi med Sikkerhed kan udtale os om Betydningen af de meteorologiske Forhold (Nedbør, Udtørring, Temperatursvingninger)¹⁾. At de sidstnævnte Faktorer under alle Omstændigheder er af afgørende Betydning for Sammensætningen af Bakteriefloreen paa en given Lokaltet, er forlængst fastslaaet af flere forskellige Forfattere; af særlig Interesse i denne Forbindelse er *Pillais* (1908) Paavisning af, at Forekomsten af *Azotobacter chroococcum* er underkastet regelmæssige Svingninger med Aarstiderne: Maksimum indtræder Foraar og Efteraar, Minimum Sommeren og Vinteren. Da nu *Azotobacter* i Hvilestadiet er meget modstandsdygtig over for Udtørring²⁾ og — i det mindste for en kortere Tid — ikke svækkes i Livskraft ved Reaktionstal, der er betydeligt lavere end Minimumsværdien for Væksten, da er der intet til Hinder for, at den kan holde sig i Live forholdsvis lang Tid paa en Lokaltet, hvis Reaktionstal til en Begyndelse har ligget over 6.0, men senere — paa Grund af ovenfor omtalte Forhold — er sunket til en betydeligt lavere p_H -Værdi. Saafremt denne Hypothese er rigtig, skulde Forekomsten af *Azotobacter* paa sure Lokalteter netop være et Udtryk for, at den paagældende Jordbund kun har været i Besiddelse af ringe Stødpudevirkning.

¹⁾ Sml. i øvrigt *Raunkjær* (1922), Side 10, og *Fr. Weis* (1924), Side 97.

²⁾ Efter Forfatterens iagttagelser bevarer *Azotobacter* sig uforandret selv efter 2 Aars Udtørring paa sterile Glassplinter.

I denne Forbindelse kunde det maaske være af Interesse at minde om et ældre Forsøg af *Harald R. Christensen* (l. c., 1914, Side 356—57) ifølge hvilket *Azotobacter* — efter at være iblandet forskellige Jordprøver — først efter 84 Dages Forløb gaar til Grunde i en over for Lakmus svagt surt reagerende Jordprøve, medens den i en anden, neutral Jordprøve er forsvundet efter 31 Dages Forløb og i en tredje, ligeledes neutral Jordprøve er forsvundet allerede efter 2 Dages Forløb. Ved Bedømmelsen af disse Forsøg maa følgende Forhold tages i Betragtning: 1) Betegnelsen »Gaaet til Grunde« er i denne Forbindelse ensbetydende med »Ingen Hindedannelse«, hvilket altsaa ikke udelukker, at *Azotobacter* ligefuldt kan have været til Stede i Form af ganske smaa, næppe synlige usammenhængende Hindedannelser (sml. *Gainey's* »non-typical type of growth« og Forsøgsresultaterne i Tabel 5 b). 2) De til Forsøget benyttede Jorder henstaar under Betingelser, under hvilke en Nitrifikation meget vel kan have fundet Sted¹⁾. 3) »Svagt sur« svarer til Reaktions-tal omkring 5.50—5.75.

Disse faa — i alt kun 6 — Forsøg viser da med Sikkerhed, at *Azotobacter* under tilnærmelsesvis naturlige Forhold kan opretholde Livet i længere Tid, selv i Jorder med Reaktionsforhold, der virker hindrende paa dens Vækst.

Imidlertid er det sikkert ikke Reaktionsforholdene alene, der er afgørende for Forekomsten af *Azotobacter*. Flertallet af senere Forfattere samstemmer med *Harald R. Christensen* i, at *Azotobacter* langtfra altid forekommer paa saadanne Lokalteter, hvis Reaktionstilstand er gunstige for deres Udvikling — et Forhold, der jo ogsaa fremgaar af Tabel 5 b. Hertil maa dog bemærkes, at selv om vi ikke kan paavise selv det ringeste Spor af *Azotobacter* i de »kalkede«, upodede Kulturkolber, kan denne dog lige fuldt have været til Stede, idet Tilstedeværelsen af selv saa smaa Mængder Salpeter, som ofte ophobes i Jordprøverne ved et Par Ugers Henstand i Laboratoriet, er tilstrækkeligt til, at *Azotobacter* fuldstændig undertrykkes af forskellige andre Grupper af Mikroorganismer (sml. *Kruse*, 1910, Side 630, der angiver 10 mg KNO_3 pr. Liter som tilstrækkeligt til at undertrykke *Azotobacter*). Denne Kendsgerning forklarer muligvis ogsaa et Forhold, som allerede i

¹⁾ Om Nitraters Indflydelse paa Hindedannelse, sml. Side 283.

1914 omtales af *Harald R. Christensen*, idet det undertiden trods Kalktilsætning, viste sig umuligt at fremkalde *Azotobacter*-udvikling i de »podede« Kontrolkolber (sml. *Harald R. Christensen*, 1914, Side 380).

Alt i alt har vi her at gøre med et sikkert ret kompliceret Problem, til hvis Løsning der kræves et større Arbejde end det foreliggende spinkle Iagttagelsesmateriale, om end dette i Forbindelse med *Gainey*s Undersøgelser absolut tyder hen paa, at den for de sædvanlige Renkulturer gældende kritiske Grænseværdi paa p_H 6.0 ikke kan gøres absolut gældende med Hensyn til Forekomsten i Naturen¹⁾.

4. Jordprøvens Reaktionstal og Begyndelsesreaktionen ved *Azotobacter*prøven.

Paa Grundlag af et stort Materiale²⁾ har *Harald R. Christensen* (1923) og *Harald R. Christensen* og *Tovborg Jensen* (1923) kunnet konstatere, at den nedre Grænseværdi for et positivt Udfald af *Azotobacter*prøven ligger ved Reaktionstallene 5.9—6.0, altsaa Værdier, der er i nøje Overensstemmelse med den af *Gainey* (1923) først fundne og i nærværende Arbejde nøjere fastslaaede nedre Grænseværdi for *Azotobacter*s Vækst. Man kunde paa Forhaand være tilbøjelig til heri at se en direkte Sammenhæng mellem Jordens aktuelle Surhedsgrad og Udfaldet af *Azotobacter*prøven: naar den paagældende Jordprøves Reaktionstal er beliggende under 6.0, skulde Reaktionen i Kulturkolberne ved *Azotobacter*prøven allerede fra første Færd være saa sur, at en videre Vækst af den til Podningen benyttede *Azotobacter*rhinde ikke skulde kunne finde Sted.

Imidlertid kan man dog — om end sjældent — træffe Jorder med Reaktionstal under 5.9—6.0, som desuagtet giver positivt Resultat ved *Azotobacter*prøven; under Udarbejdelsen af nær-

¹⁾ Det bør tilføjes, at Forfatterens seneste Undersøgelser, hvis nærmere Resultater forbeholdes en senere Meddelelse, synes at tyde paa, at *Azotobacter* under visse Omstændigheder vil være i Stand til at formere sig ved endnu lavere Reaktionstal. Ved Anvendelse af stærkere Koncentrationer af Calcium-glycerofosfat formerer *Azotobacter* sig ret livligt ved en p_H -Værdi omkring 5.65. Da *Walbum* (1922) har iagttaget noget lignende for patogene Bakterier, der dyrkes ved optimal Temperatur, er dette Forhold muligvis af almen biologisk Gyldighed.

²⁾ 3800 Jordprøver.

værende Arbejde har Forfatteren — foruden den tidligere omtalte Skovjord — (sml. Side 259) 3 Gange iagttaget saadanne Tilfælde (se Tabel 6). Mærkeligt nok fremkom disse tre afvigende Tilfælde omtrent paa samme Tidspunkt, hvad der muligvis kunde tyde hen paa, at den til Prøverne anvendte Azotobacter-Raahinde har været af en afvigende Beskaffenhed; da den mikroskopiske Kontrol af Hinderne imidlertid viste, at disse var af ganske normal Sammensætning, maa vi indtil videre konstatere, at Hindeudviklingen undtagelsesvis kan forekomme i Jordprøver med Reaktionstal under 5.9—6.0. — I allerseneste Tid angiver *Lemmermann* (1924), at have faaet Azotobacter-udvikling ved Reaktionstallene 5.3—5.4 og 5.6.

Tabel 6. Jorder med Reaktionstal under 5.9, men med positivt Udfald af Azotobacterprøven¹⁾.

Nr.	Indgaaet til Laboratoriet	Under-søgt	Jordbundsbeskaffenhed	Brusning	Reaktionstal	Azotobacterprøven
658	$\frac{29}{4}$	$\frac{7}{5}$	Sandmuld	0	5.7	3—4
0858	$\frac{18}{4}$	$\frac{7}{5}$	Let muldrig Sandjord ..	0	5.6	3—4
0887	$\frac{18}{4}$	$\frac{7}{5}$	Let, ret muldrig Sandjord	0	5.6	3—4

Til Undersøgelse af Betydningen af Jordprøvernes øjeblikkelige Reaktion benyttedes de ovenfor omtalte 30 Jordprøver, der samtidig undersøgte for Azotobacters Forekomst (sml. Side 275). Af Tabel 5 b fremgaar det, at der efter et Par Timers Forløb er foregaaet en Udjævning af Reaktionen i samtlige Kolber henimod Reaktionstal beliggende omkring 6.00. Med andre Ord: Mannit-Fosfat-Opløsningen virker straks ved Forsøgets Begyndelse som reaktionsbestemmende Faktor, over for hvilken Jordens egen Reaktion træder i Baggrunden, om end den selvfølgelig er medbestemmende; jo mere Jordprøvens p_H er fjærnet fra Mannitopløsningens, og jo større Stødpudevirkning

¹⁾ Efter Udarbejdelsen af denne Beretning er yderligere iagttaget et afvigende Tilfælde, idet en Skovjord med Reaktionstal 4.62 giver et sikkert positivt Udslag ved Azotobacterprøven (Hindeudvikling: 3). Den paagældende Jord indeholdt 50 mg Nitratkvælstof pr. kg. Efter Opslemning i Mannit-fosfatopløsningen maalttes p_H til 5.9.

den paagældende Jordprøve er i Besiddelse af, desto mere vil Begyndelsesreaktionen i Kolberne fjærne sig fra Mannitopløsningens Reaktionstal og nærme sig den paagældende Jordprøves aktuelle Surhedsgrad.

I Tilslutning til disse Forsøg foretoges nogle Undersøgelser, ved hvilke den til Azotobacterprøven anvendte Jordmængde varieredes fra 0.5 til 32 g pr. 50 cm³ Mannitopløsning. — Ligesom ved det forrige Forsøg er Reaktionsmaalingerne foretagne efter nogle Timers Henstand; hvert Reaktionstal repræsenterer en Gennemsnitsprøve af to sammenblandede Kulturer. Disse Forsøg viser (sml. Tabel 7), at vi, saafremt Azotobacterprøven anstilles paa Jorder med Reaktionstal omkring 6, i de undersøgte Tilfælde maa anvende indtil 32 g Jord, før Jordprøvens egen Surhedsgrad bliver absolut afgørende for Reaktionen i Kolberne i de første Timer af Forsøget.

Tabel 7. Varierende Jordmængders Indflydelse paa Begyndelsesreaktionen.

Gram Jord	P _H			
	Nr. 4821	Nr. 07934	Nr. 4175	Nr. 4650
0.5	6.88	6.94	6.91	6.96
1	6.78	6.90	6.88	6.90
2	6.81	6.79	6.78	6.80
4	6.69	6.56	6.74	6.75
5	6.48	6.58	6.75	—
8	6.39	6.44	6.67	6.64
16	6.20		6.54	6.39
32	5.99		6.42	6.32

Nr. 4821. Sandmuld. Ingen Brusning med Syre.

Azotobacterprøve: ÷. Reaktionstal: 6.1.

Nr. 07934. Let Lermuld. Ingen Brusning.

Azotobacterprøve: ÷. Reaktionstal: 6.0.

Nr. 4175. Let Lermuld. Brusning: svag.

Azotobacterprøve: +. Reaktionstal: 6.8.

Nr. 4650. Sandmuld. Brusning: svag.

Azotobacterprøve: +. Reaktionstal: 7.1.

Til Sammenligning foretoges Forsøg med to andre Jordprøver med Reaktionstal omkring 7 — begge azotobacterpositive (Hindeudvikling : 4). I alle Tilfælde synker Reaktionstallet med

stigende Jordmængder; inden for visse Grænser er Forskellen ret uvæsentlig (2, 4, 5 og 8 g), saaledes som det jo ogsaa er Tilfældet i vandige Opslemninger (sml. *Harald R. Christensen*, 1923, Side 751). Ved større Variationer af Forholdet mellem Vædskemængde og Jord kan denne Forskel blive ret betydelig, nogenlunde af samme Størrelse som angivet af *Arrhenius* (1923) for Sandjorders Vedkommende.

Forsøgenes Hovedresultat er da dette, at der ved Forsøgets Begyndelse i praktisk talt alle Tilfælde vil være Mulighed til Stede for en videre *Azotobacter*-udvikling.

*Azotobacter*prøvens Udfald er derfor ikke direkte afhængig af Jordprøvernes øjeblikkelige Reaktionstal, men maa bero paa Jordens Stødpudevirkning samt Arten af de under selve Forsøget foregaaende mikrobiologiske Omsætningsprocesser.

III. *Azotobacter*prøven og de mikrobiologiske Omsætningsprocesser i Kultursubstratet.

Paa Forhaand kan det siges, at de i Kulturkolberne foregaaende Omsætningsprocesser maa være betinget af følgende Faktorer:

1) Podehinden, 2) Substratets Indhold af Næringsstoffer, 3) Jordprøvernes mikrobiologiske Tilstand. — Vi vil nu undersøge disse Faktorer hver for sig.

1. Om Betydningen af Podehinden.

Lige fra *Azotobacter*prøvens første Tid har man været klar over, at Beskaffenheden af den til Podningen benyttede *Azotobacter*hinde kunde være absolut afgørende for Prøvens endelige Udfald. Som *Harald R. Christensen* har vist (1914, Side 377), kan man ved en mikroskopisk Undersøgelse af Podehinden ofte afgøre, hvorvidt denne er vel egnet, idet Erfaringen viser, at saadanne Raahinder, der ved Overføring i Kulturer med Kalktilsætning ikke formaar at fremkalde en typisk *Azotobacter*hinde, hyppigt er stærkt blandet med forskellige andre, mindre Bakterierformer« og det er da rimeligvis disse, som ved delvis at fortrænge *Azotobacter* og foranledige en for kraftig

Øjeblikket ikke muligt at afgøre; muligvis staar den i Forbindelse med den meget ringe Omsætning af Mannitten, der, som nævnt, finder Sted; som oftest synes Fænomenet dog at skyldes en abnorm Sammensætning af den Azotobacterraakultur, der har tjent som Podemateriale« (l. c., Side 378).

Det er netop denne Opgave, at fremskaffe vel egnet Podemateriale, der i nogen Grad kan besværliggøre Azotobacterprøvens Udførelse ved Masseundersøgelser, og Opgaven er saa meget vanskeligere, som man ikke paa Forhaand, men kun ved at sammenligne Resultaterne indbyrdes, kan bedømme Kvaliteten af det benyttede Podemateriale.

Idet Betingelserne for Fremkomsten af disse daarlige, netagtige eller »svampede« Hinder vil blive drøftede i det følgende Afsnit, skal vi her indskrænke Undersøgelsen til kun at omfatte Forsøg med godt og i alle Henseender tilfredsstillende Podemateriale, men hidrørende fra forskellige Raakulturer.

Til Forsøget anvendes en stærkt kalket Jord fra Forsøgsstationen ved Tylstrup (32 000 kg Kalk pr. ha), der behandles og podes paa sædvanlig Vis; hver Dag udtages 5—10 Kolber til Reaktionsmaaling og Azotobacterbedømmelse. — Umiddelbart efter Afslutning af denne Forsøgsserie henstilles et nyt Sæt Kolber fra samme Jordprøve, podet med Raahinde fra Kolber, der ved Parallelforsøg med Kalktilsætning viste sig at være i Stand til at fremkalde en i enhver Henseende normal Hindeudvikling.

Af Resultaterne af disse Forsøg, der er fremstillede i Tabel 8, a og b, fremgaar det, at Azotobacterudviklingen inden for samme Forsøgsserie er i nogen Grad varierende — p_H -Bestemmelserne i Parallelkolberne kan endog være meget afvigende indbyrdes. Ved Anvendelse af forskelligt, men tilsyneladende lige vel egnet Podemateriale kan der indtræde ret store og sikkert paaviselige Forskelligheder i Azotobacterudviklingen, uden at Prøvens Slutresultat dog i det foreliggende Tilfælde kan siges i Hovedsagen at være blevet forrykket.

2. Jordens Indhold af opløselige Næringsstoffer og Azotobacterprøven.

Azotobacterprøven er blevet sammenlignet med en biologisk Titration: en ukendt Basemængde (Jordens Kalkindhold)

søges bestemt ved Hjælp af den ved Mannitsønderdelingen producerede Syre under Anvendelse af en Indikator (*Azotobacter*) med kendt Omslagspunkt, der tidligere angaves at være beliggende omkring p_H 6.8, men som senere Undersøgelser har vist maa ansættes til en p_H -Værdi omkring 5.9—6.0.

For at Hypotesen i sin fulde Udstrækning formelt set kan betragtes som fyldestgørende, maa dens logiske Forudsætning dog være, at Syreproduktionen enten er forud kendt eller tilnærmelsesvis af samme Størrelse ved samtlige Undersøgelser — i modsat Fald er Stødpudehypotesen problematisk som teoretisk Forklaring paa Azotobacterprøven, hvad der selvfølgelig ikke udelukker, at sidstnævnte i visse Tilfælde kan give værdifulde Fingerpeg med Hensyn til Stødpudevirkningen — kun maa den i saa Tilfælde ikke tages som en eksakt Bestemmelse af Stødpudevirkningen, men kun som et grovt Udtryk for Forholdet mellem Jordens syreproducerende Evne og dens Stødpudevirkning.

Syreproduktionen i Kulturkolberne vil imidlertid være afhængig saavel af de paagældende Jordprøvers Mikroflora som af deres Indhold af letopløselige Næringsstoffer. Forskellighederne med Hensyn til Mikrofloraen menes at kunne udjævnnes helt eller delvis ved Podning med *Azotobacter*hinden, men med Hensyn til Jordprøvernes forskellige Værdi som Næringssubstrat for Bakterier stiller Sagen sig vistnok noget anderledes.

Idet vi opslemmer 5 g af Jordprøven i en Mannitopløsning med Tilsætning af K_2HPO_4 , vil her altid forefindes de for *Azotobacter* nødvendige Næringsstoffer, hidrørende dels fra Mannitopløsningen, dels fra Jordprøven. Saafremt den i Kulturkolberne opslemmede Jordmængde har været omtrent fri for Kvælstof, vil kun *Azotobacter* og de med denne overpodede »Følgébakterier« komme til Udvikling, idet de alle i mere eller mindre Grad ligesom *Azotobacter* formaar at dække deres Kvælstofbehov ved Hjælp af Luftens Kvælstof — Kulturen er »elektiv« over for *Azotobacter*. Hvis derimod de undersøgte Jordprøver ikke er absolut frie for Kvælstofforbindelser, arbejder vi ikke længere med elektive Kulturer, idet nu Jordprøvens egen Mikroflora, hovedsageligt bestaaende af Bakterier, der ikke selv er i Stand til at udnytte Atmosfærens Kvælstof, vil søge at gøre sig gældende i Konkurrencen med de overpodede

kvælstofbindende Mikroorganismer. Omsætningsprocessen i Kulturkolberne vil da være afhængig saavel af de til Raadighed staaende Kvælstofforbindelser som Mængden og Arten af de i Jordprøverne værende Mikroorganismer, og da selv smaa Mængder af Salpeter — som tidligere omtalt — er i Stand til at hindre Azotobacterudviklingen i »Ophobningskulturer«, kan Udfaldet af Azotobacterprøven meget let komme til at bero paa den paagældende Jordprøves Nitratindehold.

Ogsaa *Harald R. Christensen* har i sine tidligere Arbejder haft sin Opmærksomhed henvendt paa dette Forhold. Det hedder herom (l. c., 1909, Side 318): »Efter Iagttagelser af Forfatteren faar man ved til den almindelig anvendte Næringsvædske for *Azotobacter* (Mannit + Kalifosfat + Kalk) at tilføje en ringe Mængde Salpetersyre og pode denne Vædske med lidt af en *Azotobacter*raakultur en Vegetation frem, som makroskopisk minder noget om *Azotobacter*vegetationen, men i hvilken *Azotobacter* enten slet ikke eller kun ganske sparsomt er repræsenteret. Vegetationen bestaar derimod sandsynligvis af salpeterassimilerende Bakterier, der under disse Betingelser har fortrængt *Azotobacter*. I Renkulturer kan denne Bakterie dog godt udvikle sig ved Tilstedeværelsen af smaa Mængder Nitrater« »Ved Podning af Mannitopløsningen med meget kvælstofrige Jorder, som f. Eks. stærkt gødede Havejorder, kan man faa et ganske tilsvarende Billede frem som ved Salpeter-tilsætning. Efter de Iagttagelser, som Forfatteren har haft Lejlighed til at anstille, synes Udviklingen af den af de salpeterassimilerende Mikrober dannede Vegetation under de ved »Azotobacterprøven« givne Betingelser, ligesom Udviklingen af Azotobactervegetationen, at være betinget af Jordens Basicitet« (1914, l. c., Side 370). Ogsaa i en Afhandling af nyere Dato gør samme Forfatter (1923) opmærksom paa den Indflydelse, som Jordbundens Indhold af let opløselige Kvælstofforbindelser har paa Azotobacterhindens S sammensætning«. Denne Vegetation udviser sandsynligvis et andet Forhold over for Reaktions-tilstanden end den rigtige Azotobactervegetation. Tilfælde af denne Art forekommer dog ved Anvendelse af almindelige Agerjorder kun meget sjældent« (1923, l. c., Side 762). Disse Iagttagelser svarer i Hovedsagen til *Kruses* Angivelser (1910, Side 630), ifølge hvilke 10 mg Salpeter pr. Liter skulde være tilstrækkelig til at hindre Azotobacterudviklingen i Kulturer

med Kalktilsætning, der podes med en Jordprøve indeholdende *Azotobacter*.

Carsten Olsen (1921) har tidligere undersøgt, hvor meget Salpeter der i Løbet af en Maaned ophobes i forskellige Skovjorder uden Tilsætning af Ammoniumsulfat; som Maksimumværdi finder han en Salpeterophobning paa 1290 mg NO_3 pr. kg Tørjord (l. c., Side 86), medens Nitratmængder paa 3—400 mg NO_3 ingenlunde var ualmindelige.

Paa Baggrund af disse Kendsgerninger vil det være af betydelig Interesse at undersøge de ved *Azotobacter*prøven benyttede Jordprøvers Nitratindhold. Forholdet er jo dette, at der ofte medgaar mindst 1—2 Uger mellem Prøveudtagningen i Marken og Prøvens Bearbejdning i Laboratoriet. Selv om nu Jordprøverne er praktisk talt nitratfrie ved Udtagningen — f. Eks. paa Grund af en forudgaaende stærk Nedbør — da vil der i Løbet af disse Par Uger meget vel kunne ophobes ret anselige Nitratmængder, indtil Vandfordampningen, der jo foregaar let fra de nu som Emballage benyttede Papæsker, sætter en Grænse for Nitrifikation¹⁾.

Til de paafølgende Nitratbestemmelser, der alle udførtes paa ca. 3—4 Uger gamle, ganske lufttørre Jordprøver, benyttedes den sædvanlige kolorimetriske Fenolsvovlsyremetode. Denne Undersøgelse viser (sml. Tabel 26, Side 329), at der i alle de undersøgte 49 Jordprøver forekommer Salpeter i større eller mindre Mængder. Beregnes Nitratmængden i de til *Azotobacter*prøven benyttede 5 Gram Jord, vil det ses, at vi i ikke saa helt faa Tilfælde arbejder med en Salpeterkoncentration i Kulturkolberne, der kommer paa Højde med eller endog overstiger den Værdi, der af *Kruse* angives at være tilstrækkelig til at hindre *Azotobacter*udviklingen.

Nu maa det imidlertid erindres, at vi i det foreliggende Tilfælde i Form af Podehinden tilfører Kulturkolberne et meget stort Overskud af *Azotobacter*celler, saaledes at der er Mulighed for, at denne Mikroorganisme fra første Færd er i saadan

¹⁾ Paa Grund af den lettere Adgang for Luften til disse Papæsker end til de tidligere benyttede Blikæsker maa det i øvrigt antages, at der i de førstnævnte er væsentlig bedre Betingelser for Salpeterdannelsen. Muligvis vil det af denne Grund vise sig heldigt igen at vende tilbage til Blikdaaserne, som man i Krigsaarene maatte gaa bort fra paa Grund af den enorme Prisstigning.

Overvægt, at de salpeterassimilerende Bakterier ikke formaar at undertrykke den i Væksten, selv ved Tilstedeværelsen af større Nitratmængder end de af *Kruse* angivne. Det vil i denne Forbindelse være af Interesse direkte at undersøge Salpeterkoncentrationens Indflydelse paa Hindendviklingen ved Azotobacterprøven. Til dette Formaål foretoges Forsøg med 48 Jordprøver, hvoraf Halvdelen var azotobacterpositive, Halvdelen azotobacternegative. Salpeterkoncentrationen i den til Forsøgene benyttede Mannitopløsning varieredes med 5, 10 og 20 mg KNO_3 pr. Liter. Samtlige Forsøg anstilledes med 2 Parallelkolber.

Disse Forsøg har vist, at selv saa smaa Mængder Salpeter som 5 mg pr. Liter kan være i Stand til at ændre Udfaldet af Azotobacterprøven. Enten Jordprøverne oprindelig har givet positivt eller negativt Resultat ved Azotobacterprøven, bliver Resultatet ved Tilsætning af Kaliumnitrat i de nævnte Mængder, at der i det ganske overvejende Antal af Kolberne fremkommer en Hinde, der makroskopisk minder en Del om de ægte Azotobacterhinder; undersøges disse mikroskopisk, viser det sig imidlertid — ganske svarende til *Harald R. Christensens* ovenfor citerede Iagttagelser —, at Azotobactercellerne er traadt mere eller mindre i Baggrunden for smaa stav- eller kugleformede Bakterier samt store Mængder af Amøber¹⁾. Navnlig i Forsøgs-serierne med 20 mg KNO_3 pr. Liter var dette Forhold stærkt fremtrædende. Imidlertid udviser saavel det makroskopiske som det mikroskopiske Billede ret jævne Overgange fra »typiske« til »falske« Azotobacterhinder. I de mest udprægede Tilfælde vil man vel altid kunne afgøre, om man staar over for en typisk eller falsk Hinde, men ved det praktiske Laboratoriearbejde vil det dog altid komme til at bero paa et personligt Skøn, hvor Grænsen skal trækkes²⁾.

¹⁾ Sml. de nyeste Undersøgelser af *Winogradsky*, efter hvilke man ved Tilsætning af relativt smaa Mængder Salpeter helt kan undertrykke *Azotobacter* i den naturlige Jordbund, til Trods for, at en ringe Salpeterilsætning bevirker en stærk Forøgelse af Væksten i Renkultur.

²⁾ Der maa i denne Forbindelse erindres om det tidligere (Side 278) anførte Forhold, at der ved de af *Harald R. Christensen* (1923) og *Harald R. Christensen* og *Tovborg Jensen* (1923) udførte Undersøgelser ikke er fremkommet Azotobacterhinder ved pH -Værdier under pH 5.5—6.0; skønt det dog sikkert maa antages, at der under denne nedre pH -Værdi har været mange Jorder, hvis Salpeterindhold har været saa stort, at Nitratkoncentrationen ved Azotobacterprøven er kommet paa Højde med den, der ved de ovenfor om-

Resultaterne af disse Undersøgelser maa vistnok forklares saaledes: I de Kulturkolber, der indeholder Jordprøver, som tidligere har givet positivt Resultat, vil der ogsaa efter Salpeter-tilsætningen fremkomme en Hinde, der dog er mere eller mindre blandet med andre Bakterierformer. Hindeudviklingen er ikke saa typisk som tidligere, og *Azotobacter*prøven resulterer i disse Tilfælde i gennemgaaende lavere »Karakterer«. I Kulturkolber med *azotobacter*negative Jorder fremkommer ligeledes Hinder af en afvigende Beskaffenhed. Dette beror formodentlig paa, at saavel »Følgelbakterierne« (sml. *Löhnis*, 1905, Side 598) som de i enhver Jordbund forekommende »æggehvide-dannende« Bakterier (*Gerlach* og *Vogel*, 1901) er salpeterassimilerende, hvilken Proces maa medføre en intermediær Reduktion af Salpeterkvælstof til NH_3 -Kvælstof (sml. *Czapek*, 2. Bind, 1920, Side 176, samt *Kruse*, 1910, Side 612). Hertil kommer endvidere, at et meget stort Antal af de almindelige, saavel i Podehinden som i selve Jordprøverne forekommende Bakterier forårsager en Nitratreduktion under Dannelsen af NH_3 (*Stoklasa* og *Vitek*, 1901, sml. *Czapek*, 2. Bind, 1920, Side 176). Ogsaa *Azotobacter* selv er ifølge *Beijerinck* og *Van Deldens* Undersøgelser (l. c., 1902, Side 45) i Stand til at forårsage en overordentlig livlig Nitratreduktion under Ammoniakdannelse. Det skal endvidere bemærkes, at der ved Salpeterreduktionen samtidig med Ammoniakproduktionen foregaar en Frigørelse af Nitratets basiske Bestanddel. Det ligger da nær at formode, at der under den videre Udvikling rent lokalt omkring de enkelte *Azotobacter*-celler vil ske en saa livlig Salpeterreduktion (resp. Salpeterassimilation), at de herved dannede basiske Stoffer vil virke beskyttende mod saadanne ugunstige Reaktionsændringer, der ellers vilde virke hæmmende paa den videre *Azotobacter*udvikling eller endog bringe denne til helt at standse.

Efter denne Undersøgelse kan det da næppe betvivles, at Jordprøvernes Salpeterindhold i visse Tilfælde kan faa Betydning for Udfaldet af *Azotobacter*prøven.

For nu at undersøge, om den tidligere omtalte logiske For-

talte Forsøg med direkte Tilsætning af Kaliumnitrat til Mannitopløsningen har været tilstrækkelig til at foranledige en Hindedannelse i *azotobacter*negative Jorder. Dette Forhold bør søges belyst ved fortsatte Undersøgelser.

udsætning for Stødpudehypotesen er i Overensstemmelse med de faktiske Forhold, bestemtes det at undersøge Mængden af de ved Azotobacterprøven dannede organiske Syrer. Til Undersøgelse af dette Forhold benyttedes en Serie Jordprøver fra et Kalkningsforsøg ved Borris, tilført stigende Mængder af kulsur Kalk pr. ha. Kolberne behandles og podes paa sædvanlig Vis. Med 24 Timers Mellemrum udtages fra hver Serie 10 Kolber; de 5 af disse sammenblandes til en Gennemsnitsprøve, hvis Reaktionstal bestemmes — de øvrige Kolber rystes godt, indtil hver enkelt udviser en homogen Jordopslemning, hvorpaa der fra hver Kolbe udtages en Prøve paa 10 cm³ til Reaktionsbestemmelse; i den tilbageværende Rest bestemmes Mængden af de dannede Syrer ved Destillation og Titring paa sædvanlig Vis¹⁾. Alle Forsøg paabegyndes samtidig med Anvendelse af samme Podemateriale.

Som det fremgaar af Tabel 9, er der med Hensyn til Reaktionstallene ret god Overensstemmelse mellem de enkelte Parallelkolber inden for samme Forsøgsserie; i de fleste Tilfælde overstiger Afvigelsen ikke mere end 0.2—0.3 p_H-Enheder, hvad der vel maa betegnes som tilfredsstillende, da man ved slige mikrobiologiske Forsøg aldrig vil kunne forvente en absolut ens forløbende Omsætningsproces; hertil kommer endvidere, at selve Reaktionsmaalingen ikke kan foretages med samme Sikkerhed i Kulturkolberne som i en vandig Jordopslemning. — Navnlig naar Kulturkolberne er blevet mere end 3 Dage gamle, besværliggøres p_H-Bestemmelserne undertiden af de ved Forgæringen dannede Stofskifteprodukter (Alkohol). Som en Række forskellige Maalinger har vist, karakteriseres dette Forhold altid ved et stadigt Potentialfald, der ofte kan vedvare i lang Tid, før der opnaas en konstant Værdi. Det synes, som om man ved en stærk Omrystning af Kulturkolberne kan bevirke, at Potentiallet hurtigere antager en praktisk talt konstant Værdi. I disse — i øvrigt faa — tvivl-

¹⁾ Den dannede Syremængde lader sig selvfølgelig ikke — saaledes som det ellers sker i den bakteriologiske Teknik — bestemme ved direkte Titring af selve Kulturkolberne før og efter Forsøget; ved en saadan Fremgangsmaade vilde man kun faa Besked om den frie Syre, medens den Syremængde, der allerede er bundet af Jordprøvens basiske Stoffer, ganske vilde unddrage sig Bestemmelsen. Navnlig i de stødpuderige Jordprøver (D, E og F) vilde denne Bestemmelse give et ganske misvisende Resultat.

Tabel 9. Azotobacterprøven

		1. Døgn						2. Døgn							
		Enkeltbestemmelser					p_H i Blandingsprøven	Afdest. Syre, Gm.-snit	Enkeltbestemmelser					p_H i Blandingsprøven	Afdest. Syre, Gm.-snit
Serie A (Ukalket) Reaktionstal 6.03	p_H	5.46	5.48	5.80	5.60	5.58	5.49		4.88	4.69	4.80	4.88	4.88	4.87	
	Azot. ..	0	0	0	0	0			1	0-1	0-1	0-1	0-1		
	Syre $cm^3 n/10$	0.50	0.45	0.40	0.30	0.50		0.43	0.90	1.25	1.20	1.10			1.11
Serie B (2000 kg Kalk) Reaktionstal 6.55	p_H	6.46	6.47	6.35	6.38	6.33	6.25		4.94	5.00	5.14	4.94	5.16	4.97	
	Azot. ..	0	0	0	0	0			0	0	0	0	0		
	Syre $cm^3 n/10$	0.30	0.30	0.25	0.25			0.28	1.00	1.30	1.10	1.05			1.11
Serie C (4000 kg Kalk) Reaktionstal 6.70	p_H	6.42	6.59	6.44	6.50	6.49	6.38		4.90	5.07	5.37	5.16	5.09	5.02	
	Azot. ..	0	0	0	0	0			0	0	0	0	0		
	Syre $cm^3 n/10$	0.25	0.20	0.20	0.15	0.20		0.20	0.70	1.50	0.50	1.10			0.95
Serie D (8000 kg Kalk) Reaktionstal 7.09	p_H	6.66	6.66	6.77	6.66	6.67	6.69		5.62	5.53	5.65	5.70	5.62	5.53	
	Azot. ..	0	0	0	0	0			4	4	4	4	4		
	Syre $cm^3 n/10$	0.15	0.10	0.10	0.10			0.11	0.70	0.60	0.70	0.80			0.70
Serie E (16 000 kg Kalk) Reaktionstal 7.35	p_H	6.77	6.77	6.89	6.74	6.86	6.98		6.44	6.33	6.44	6.36	6.42	6.30	
	Azot. ..	0	0	0	0	0			3	3	2-3	3	3		
	Syre $cm^3 n/10$	0.15	0.15	0.10	0.20			0.15	0.55	0.60	0.55	0.35			0.51
Serie F (32 000 kg Kalk) Reaktionstal 7.44	p_H	6.97	6.95	6.97	6.86	6.92	6.98		6.50	6.74	6.64	6.56	6.57	6.52	
	Azot. ..	0	0	0	0	0			0	0	0	0	0		
	Syre $cm^3 n/10$	0.20	0.15	0.15	0.15			0.16	1.15	1.35	1.15	1.20			1.21

somme Tilfælde er det nødvendigt at foretage en kolorimetrisk Kontrolbestemmelse. Naar Kulturens Alder ikke overstiger 3 Dage, synes dette Forhold at være uden Betydning, og da det jo fortrinsvis er Omsætningen i Kolberne i de 2—3 første Dage, der er af Interesse i denne Forbindelse, tør man uden Betænkelighed benytte de i de følgende Tabeller opførte Værdier, selv om disse ikke kan gøre Fordring paa at sidestilles med fuldt ud eksakte Præcisionsmaalinger. Af Tabel 9 fremgaar endvidere, at p_H -Bestemmelserne i de enkelte Kulturkolber ikke afviger nævneværdigt fra p_H -Bestemmelserne i Gennem-

og Syreproduktionen. I.

3. Døgn							4. Døgn						
Enkelbestemmelser					pH i Blandings- prøven	Afdest. Syre, Gm.snit	Enkelbestemmelser					pH i Blandings- prøven	Afdest. Syre, Gm.snit
4.67	6.62	4.70	4.84	4.64	4.57		4.40	4.43	4.45	4.36	4.43	4.45	
2	0-1	0-1	2-3	1			1	0-1	1	0-1	0-1		
1.55	1.55	1.55	1.35			1.50	2.10	2.90	3.15	2.80			2.74
4.72	4.69	4.69	4.72	4.70	4.67		4.63	4.62	4.63	4.67	4.57	4.60	
0-1	0	0	0-1	0-1			0	0	0-1	0	0		
1.85	2.20	2.15	1.75			1.99	2.10	2.15	2.35	2.00			2.15
4.82	4.69	4.72	4.74	4.74	4.77		4.57	4.70	4.65	4.72		4.69	
0	0	0	0	0			0	0	0	0			
2.40	2.80	2.20	2.50			2.48	2.95	2.80	3.20	2.65			2.90
5.24	5.24	5.22	5.18	5.16	5.11		4.82	4.81	4.94	4.77		4.87	
4	4	4	4	4			4	4	4	4			
1.45	1.25	1.30	1.25			1.31	2.15	2.00	2.10	1.60			1.96
5.65	5.55	5.68	5.66	5.68	5.65		5.11	4.79	5.09	5.16	5.01	5.28	
4	4	4	3	4			4	4	4	4	4		
1.15	1.25	1.10	1.15			1.16	2.70	2.70	2.30	2.15			2.46
6.45	6.43	6.35	6.45	6.53	6.49		6.86	6.04	6.55			6.23	
4	4	0	4	4			0	4	4				
1.15	1.10	1.05				1.10	3.45	4.50	3.75				3.90

snitsprøven, ligesom den indbyrdes Overensstemmelse mellem de enkelte Syrebestemmelser maa betegnes som tilfredsstillende¹⁾.

For at være sikker paa, at ovenstaaende Forsøgsresultater ikke beroede paa uegnet Podemateriale (sml. Side 281), gen-

¹⁾ I Forbindelse med ovenstaaende Forsøg foretoges kvantitativ Bestemmelse af Mannitomsætningen, idet Mængden af »organisk Stof« daglig bestemtes ved Titring med Kaliumpermanganat efter den af *Harald R. Christensen* og *Bondorff* (1922) angivne Metode. Efter disse Bestemmelser at dømme synes der ikke at være nogen paaviselig Forbindelse mellem Mannitforgæring og Syreproduktion.

Tabel 10. Azotobacterprøven

Serie	1. Døgn		2. Døgn						
	pH i Blandingsprøven	Afdest. Syre pr. 200 cm ³ Raakultur (cm ³ n/10 HCl)	pH i Blandingsprøven	Afdest. Syre pr. 200 cm ³ Raakultur (cm ³ n/10 HCl)	Azotobacterudvikling				
A	6.21	1.30	5.21	5.35	1	1	1	0-1	0-1
B	6.30	1.15	5.07	6.60	0	0	0	0	0
C	6.53	0.90	5.60	5.05	1	1	1	1	1
D	6.76	0.50	6.34	1.75	3	3	3	4	4
E	6.80	0.75	6.53	2.60	3	3	2	2	0
F	6.96	0.85	6.58	4.65	4	4	4	4	3-4

toges Forsøget i en lidt ændret Form, idet Reaktionsmaalingerne saavel som Syrebestemmelsen foretoges i Blandingsprøver, repræsenterende 5 Enkeltkolber. Resultaterne svarer i det store og hele til de ovenfor anførte (sml. Tabel 10). Det fortjener dog at bemærkes, at Jordprøverne fra Parcel C, der i forrige Forsøg overalt gav negativt Resultat ved Azotobacterprøven, nu giver kraftig Hindedannelse efter 3 Dages Forløb¹⁾.

I ovenstaaende Forsøg er det dog kun de flygtige organiske Syrer, der er bestemt paa direkte Vis. Dette er imidlertid ikke fuldt tilfredsstillende, idet der jo ved Mannitforgæringen tillige vil kunne dannes forskellige ikke-flygtige Syrer. Saaledes vil de saakaldte Colibakterier, der forekommer almindelig udbredt i Jordbunden, forgære Mannitten under Dannelse af Mælkesyre, der ikke — eller kun i ringe Grad — vil kunne afdestilleres.

Den totale Syremængde i de ovenfor nævnte Forsøgsserier bestemmes nu indirekte paa følgende Vis: I en Række Kolber afvejes 5 Gram af de paagældende Jordprøver og til hver Kolbe sættes derpaa den sædvanlige Mængde Mannitfosfatopløsning samt henholdsvis 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 og 5 cm³ n/10 HCl. Efter 18 Timers Henstand maales Reaktionen i hver enkelt af Kolberne, og de saaledes bestemte sammenhørende Værdier mellem den tilsatte Syremængde og de dertil svarende Reaktions-

¹⁾ Ved tidligere Undersøgelser, udførte paa Statens Planteavls-Laboratorium, har Jordprøver fra denne Parcel givet positivt Resultat ved Azotobacterprøven.

og Syreproduktionen. II.

3. Døgn							4. Døgn						
pH i Blandingsprøven	Afdest. Syre pr. 200 cm ³ Raakultur (cm ³ n/10 HCl)	Azotobacter-udvikling					pH i Blandingsprøven	Afdest. Syre pr. 200 cm ³ Raakultur (cm ³ n/10 HCl)	Azotobacter-udvikling				
4.73	9.40	1	1	1	0-1	0-1	4.75	8.80	0-1	0-1	1	1	2
4.81	8.95	0	0	0-1	0-1	0	4.83	9.80	0-1	0-1	0-1	0-1	0-1
5.12	8.00	3	3	4	4	4	4.86	11.95	0-1	0-1	4	4	4
5.88	2.70	4	4	4	4	4	5.57	6.45	4	4	4	4	4
6.18	4.15	3	3	4	4	4	5.17	13.0	4	4	4	4	4
6.56	10.35	4	4	4	4	4	5.86	28.35	4	4	4	4	4

tal indtegnes i et Kurvesystem. Vi bestemmer med andre Ord Titreringskurven for de forskellige Jordprøver under Anvendelse af 5 Gram Jord og 50 cm³ Mannitfosfatopløsning (se Tabel 11).

Tabel 11. Titreringstabel over Jordprøver fra
Kalkningsforsøget ved Borris.
5 g Jord, 50 cm³ Kaliumfosfat-Mannitopløsning.

Jordprøvens Mærke	cm ³ n/10 HCl						
	0	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
A	6.76	6.13	5.09	3.88	3.23	2.90	2.65
B	6.96	6.35	5.77	4.75	3.76	3.22	2.98
C	—	6.64	5.92	4.72	3.56	—	—
D	7.14	6.82	6.34	5.47	5.20	4.05	3.46
E	7.30	7.12	6.93	6.24	5.28	4.75	4.18
F	7.42	7.35	7.29	7.14	6.61	6.49	6.28

Ved Hjælp af disse Kurver er vi nu i Stand til at beregne, hvor meget Syre der paa ethvert Tidspunkt er produceret af en bestemt Jordprøve; ved en simpel p_H-Maaling skaffer vi os Underretning om de i Substratet foregaaede Reaktionsændringer, og paa den til Jordprøven svarende Kurve kan vi da direkte aflæse den Syremængde, der svarer til den fundne p_H-Værdi.

Naar vi paa denne Vis beregner Syremængden paa Grundlag af de i Blandingsprøverne fundne Reaktionstal (sml. Tabellerne 9 og 10), faar vi de i Tabel 12 opførte Værdier for den totale Syreproduktion.

Selv om Forfatteren ikke er blind for, at disse indirekte Bestemmelser aldrig vil kunne betragtes som fuldt ud eksakte Maalinger, kan der dog ikke herske Tvivl om, at de fundne Forskelligheder er saa store, at det med Sikkerhed tør betragtes

Tabel 12. Den totale Syremængde bestemt indirekte.
(Tallene i Tabellen angiver i cm^3 den til Syreproduktionen svarende Mængde $\text{n}/_{10}$ HCl.)

Jord- prøvens Mærke	1. Døgn		2. Døgn		3. Døgn		4. Døgn	
	I	II	I	II	I	II	I	II
A	0.80	0.40	1.15	0.95	1.40	1.25	1.50	1.25
B	0.60	0.55	1.85	1.75	2.15	2.05	2.20	2.05
C	0.60	0.60	1.80	1.25	2.00	1.65	2.10	1.95
D	0.60	0.55	1.90	0.95	3.10	1.45	3.30	1.85
E	0.90	1.25	1.95	1.85	2.60	2.05	3.10	3.25
F	2.35	2.40	3.60	3.30	4.00	3.50	5.50	ca. 7.00

som fastslaaet, at der allerede fra Forsøgets første Dag er foregaaet en meget stærkere Syreproduktion i Jordprøverne fra de stærkest kalkede Parceller end i Prøverne fra de svagere kalkede. Dette Forhold træder navnlig tydeligt frem i Forsøg I; ved Gentagelsen af Forsøget (II) synes Omsætningsprocesserne at have taget et afvigende Forløb i Serierne C og D, men under alle Omstændigheder finder vi ogsaa her den stærkeste Syreproduktion i Serierne E og F — i sidstnævnte Serie er der overalt produceret 2—3 Gange saa meget Syre som i Prøverne fra den svagest kalkede Parcel.

Sammenligner vi disse Værdier med Mængden af flygtige Syrer, da fremgaar det heraf, at der i Prøverne fra de svagest kalkede Parceller under hele Forsøget fortrinsvis produceres flygtige Syrer, hvorimod der i de stærkest kalkede Parceller i de første Dage næsten udelukkende dannes ikke-flygtige Syrer, der ved Forsøgets Slutning delvis er omdannet til flygtige Syrer.

Som Hovedresultat kan vi da fastslaa, at Syreproduktionen saavel kvalitativt som kvantitativt forløber uens i de forskellige Forsøgsserier. — Dette beror næppe paa Forskelligheder med Hensyn til Mængden af den Kalk, der staar til Raadighed i de forskellige Jordprøver, thi bestemmes Mængden af den klorammoniumopløselige Kalk, faas følgende Hovedresultater:

A.....	0.120	pCt. CaO	
B.....	0.149	—	—
C.....	0.161	—	—
D.....	0.205	—	—
E.....	0.259	—	—
F.....	0.378	—	—

I Betragtning af, at Bakterierne kun kræver en meget ringe Mængde af Kalk som Næringsstof, maa den Tanke absolut afvises, at den ringere Syreproduktion i Serierne A—D skulde bero paa, at Bakterieu udviklingen her hæmmes paa Grund af »Kalkmangel« — alle de undersøgte Jordprøver er i saa Henseende rigeligt forsynede.

Det ligger nu ret nær at antage, at Forskellighederne mellem de her behandlede 6 Jorders Syreproduktion kunde bero paa mikrobiologiske Forhold, idet et større Kimantal pr. g Jord i de stærkest kalkede Parceller kunde tænkes at medføre en forøget Syreproduktion i de tilsvarende Jordprøver.

For at undersøge dette Forhold foretoges en Række Kimtællinger under Anvendelse af 3 Fortyndingsgrader og med 8 Parallelbestemmelser.

Til Bestemmelse af Antallet af Bakterier plus Aktinomyceter anvendes den af Waksman og Fred angivne Caseinagar med følgende Sammensætning:

Druesukker, rent	2.0 g
Casein, opløst i 8 cm ³ 0.1 n NaOH.....	0.25 g
K ₂ HPO ₄	0.50 g
MgSO ₄ aq	0.20 g
FeCl ₃	Spor
Agar	15.0 g
Destilleret Vand	1000 cm ³

Det færdige Substrat titreres til p_H 6.5.

Til Bestemmelse af Antallet af Skimmelsvampe benyttes følgende Substrat:

Druesukker	20.0 g
Asparagin	2.0 g
KH ₂ PO ₄	1.0 g
MgSO ₄	0.5 g
NaCl	0.5 g
FeCl ₃	0.1 g
Agar	25.0 g
Destilleret Vand	1000 cm ³

Substratet titreres til p_H 3.8—4.0.

Af Resultaterne, der findes sammenstillede i Tabel 13 fremgaar det, at der ikke er nogen sikker paaviselig Forskel m. H. t. Kimantallet i de paagældende Jorder.

Tabel 13. Kimtælling i Jordprøver fra Kalkningsforsøg ved Borris.

Parcel	Bakterier + Aktinomyceter (Millioner pr. g Jord)	Aktinomyceter, (pCt.)	Svampe (Totalantal)
A	10.3 ± 0.20	28.1	96000 ± 6300
B	10.6 ± 0.19	26.2	104800 ± 4900
C	9.9 ± 0.36	31.8	113400 ± 3600
D	11.2 ± 0.15	27.0	104400 ± 4400
E	11.0 ± 0.20	28.1	112000 ± 4700
F	10.5 ± 0.27	28.3	109600 ± 3700

Forskellighederne beror da snarere paa Kalkens syre-neutraliserende Egenskaber. De allerfleste Bakterier trives jo bedst ved alkalisk eller neutral Reaktion, og Bakterieaktiviteten aftager derfor, efterhaanden som den dannede Syremængde forårsager uheldige Reaktionsforhold. Indeholder Jordprøverne større Mængder syreneutraliserende Stoffer, vil der være Mulighed til Stede for, at Bakterieaktiviteten i længere Tid holder sig tilnærmelsesvis uforandret. Syreproduktionens Størrelse bliver derfor afhængig af Jordprøvernes Stødpudevirkning, hvorimod Forskelligheder med Hensyn til Jordprøvernes aktuelle Surhedsgrad er af mindre Betydning, idet jo Reaktionen ved Azotobacterprøvens Begyndelse er nogenlunde ens i samtlige Forsøg (sml. Tabellerne 5 b og 11).

Ifølge Stødpudehypotesen søger vi at bestemme Jordens Stødpudevirkning ved Hjælp af Syreproduktionen; men denne veksler i de forskellige Tilfælde med Jordens Indhold af Kalk — der jo netop er afgørende for Stødpudevirkningen. »Ringene« turde hermed være sluttet, og Hypotesen i sin fulde Udstrækning formelt set uantagelig.

3. Jordprøvernes mikrobiologiske Egenskaber.

I de 5 g Jord, der anvendes ved Azotobacterprøven, vil Antallet af Mikroorganismer selvfølgelig være stærkt varierende alt efter de paagældende Jordprøvers Art; saaledes vil f. Eks.

en næringsfattig let Sandjord kun indeholde en lille Brøkdæl af det Antal Mikroorganismer, som vi træffer i svær Lerjord i god Gødningskraft. Som Følge heraf vil Mannitsønderdelingen og Syreproduktionen forløbe meget uensartet i de forskellige Jordprøver.

Omsætningsprocesserne vil dog ikke alene være betinget af Mikroorganismernes Antal, men ogsaa af Mikrofloraens Arts-sammensætning. Og her er der da Sandsynlighed for, at Jordbundens Reaktionsforhold bliver af væsentlig Betydning. Saaledes omtaler *Harald R. Christensen* (1914), at . . . »flere udpræget sure Jorder foranlediger en kraftig Mannitforgæring, og ganske paafaldende har det ved disse saavel som ved tidligere Undersøgelser været, at Lavmosetørv eller Dyndjord, selv ved udpræget sur Reaktion, saa godt som altid foranlediger en overordentlig hurtig og kraftig Forgæring af Mannitten. Medens Mannitforgæringen ved Anvendelse af Højbundsjorder (Mineraljorder) sædvanlig først indledes 2. eller 3. Dagen efter Kulturens Henstilling i Termostaten, er den ved Anvendelse af Lavmosetørv hyppig meget stærkt fremskreden efter blot et Døgns Forløb. De paagældende Mosejorder indeholder da utvivlsomt Stoffer, som i ganske særlig Grad begunstiger Mannitforgæringen, og da denne forløber omtrent lige hurtigt i »podede« og »upodede« Kulturer, maa disse Jorder være særdeles rige paa mannitforgærende Mikrober«. (1914, Side 397).

Systematisk gennemførte Undersøgelser over Forholdet mellem en bestemt Jordbunds Brintionkoncentration og Sammensætningen af dens Bakterieflorea foreligger endnu ikke. Eet er imidlertid sandsynligt: de i sure Jordbundsformer dominerende Bakteriearter maa nødvendigvis have et p_H -Optimum for Vækst, der ikke ligger ret langt fjærnet fra den paagældende Jordbunds aktuelle p_H -Værdi; hvorvidt der tillige i store Træk kan paavises nogen Sammenhæng mellem en Bakteriearts p_H -Optimum og Syreproduktion ved Forgæring af de almindeligste Kulhydrater og højere Alkoholer, maa fremtidige Undersøgelser nærmere klarlægge, men Tanken i sig selv er vel ingenlunde usandsynlig. Det kan i denne Forbindelse bemærkes, at nyere Undersøgelser har godtgjort, at visse af de i Jorden almindeligt forekommende Skimmelsvampe, der som bekendt trives bedst ved sur Reaktion, er i Stand til at producere meget store Mængder af organiske Syrer som Oxalsyre, Citronsyre o. s. v.

(sml. *Brierley*, 1923, Side 139). — Hele dette Forhold, der er af saa stor Interesse saavel for den rent teoretiske Mikrobiologi som for den anvendte Jordbunds bakteriologi, fortjener utvivlsomt et indgaaende Studium. (Sml. *Rippel*, 1924).

Idet vi poder samtlige Kolber med et lille Stykke af Hinden fra en *Azotobacterraakultur*, menes de mikrobiologiske Forskelligheder mellem Jordprøverne at blive udlignet, idet den overførte Podehinde foruden *Azotobacter* indeholder mannitforgærende Mikroorganismer i saa stort Antal, at Jordprøvernes mikrobiologiske Forskelligheder i Sammenligning hermed skulde blive ganske betydningsløse. Denne Formodning bør dog gøres til Genstand for en nøjere Prøvelse, idet enkelte tidligere Iagttagelser tyder paa, at denne Udligning ikke er fuldstændig. Om dette Forhold skriver *Harald R. Christensen* bl. a.: Det Antal, i hvilket *Azotobacter* er til Stede i Jorden, synes inden for visse Grænser at udøve en væsentlig Indflydelse paa den Hurtighed, hvormed Udviklingen af *Azotobactervegetationen* foregaar. I de med *Azotobacterraakultur* podede Mannitopløsninger, i hvilke der altsaa er indført et meget stort Antal *Azotobacterceller*, er der, saafremt Betingelserne for en kraftig *Azotobacterudvikling* i øvrigt er til Stede, sædvanlig allerede efter 2 Dages Henstand ved 25° C. opnaaet den maksimale Udvikling af Vegetationen, hvorimod der i de upodede Opløsninger sjældent iagttages *Azotobacterudvikling* før efter 3 Dage og hyppigst først efter 4—5 Dages Forløb . . . » (l. c. 1914, Side 339). For nu nærmere at undersøge dette Forhold, vil vi i det følgende drage en Sammenligning mellem Udfaldet af *Azotobacterprøven* foretaget paa sædvanlig Vis, og *Azotobacterprøven* paa samme Jordprøve, men med yderligere Tilsætning af henholdsvis *Azotobacter* og mannitforgærende Bakterier.

1) Podning med *Azotobacterhinde* + *Azotobacter* i Renkultur. Til disse Forsøg anvendes udelukkende tilnærmelsesvis neutrale Jordprøver, der ved tidligere Forsøg har vist sig at være *azotobacternegative*. Prøven udføres paa sædvanlig Vis, idet der dog — før Podningen med *Azotobacterhinden* — tilføres hver Kulturkolbe en normal Øskenfuld af Belægningen fra en 2—3 Døgn gammel Agarkultur af *Azotobacter* i Renkultur.

Disse Forsøg viser nu (sml. Tabel 14), at man ved at forøge det samlede Antal *Azotobacterceller* i hver enkelt Kolbe

Tabel 14. Azotobacterprøven ved ekstra Tilførsel af Azotobacterceller fra Renkultur.

Jordprøvens Nr.	Jordprøvens Beskaffenhed	Brusning	Reaktions-tal	Azotobacterprøven	
				Kun podet med Raahinde	Raahinde + 1 Øskenfuld Renkultur
5285	Let Lermuld	0	6.6	0	2—3
5372	Ret muldrig Sandjord	0	6.8	0	2
5364	Sandmuld	0	6.5	0	4
5355	Lermuld	0	6.5	0	2
5304	Sandmuld	0	6.9	0	4
5359	Let Lermuld	0	6.7	0	2
5290	Sandmuld	0	6.9	0	4
5419	Let Lermuld	0	6.6	0	2
5299	Sandmuld	0	6.5	0	1—2
5422	Let Lermuld	0	6.9	0	1

er i Stand til at ændre Udfaldet af Azotobacterprøven saaledes, at visse Jorder, der tidligere har givet negativt Resultat, nu kan give Anledning til en mere eller mindre kraftig Udvikling af Hinden; skønt Hinderne ved Forsøgets Afslutning (5. Dag) er fuldstændig sammenhængende, afviger de dog fra de sædvanlige Azotobacterhinder ved at være meget tynde, næsten som Silkepapir, og helt igennem af en meget skrøbelig Konsistens. Ved en mikroskopisk Undersøgelse viser de sig at bestaa næsten udelukkende af Azotobacterceller i Hvilestadiet eller Forstadium til dette.

Forsøget gentages nu i en lidt ændret Form, idet hver Kolbe foruden med Raahinden podes med 5 cm³ af en Opslemning af *Azotobacter* i Mannitopløsningen, svarende til ca. Halvdelen af en 3 Dage gammel Renkultur. I alt undersøges paa denne Vis 44 azotobacternegative Jordprøver med Reaktionstal beliggende mellem 6.1 og 6.9. De 24 af disse Prøver giver nu en mere eller mindre kraftig Hindeudvikling (5: kraftig Hinde), medens de øvrige 20 giver enten ingen eller kun yderst svag Hindeudvikling.

2) Podning med Azotobacterhinde + mannitforgærende Bakterier. Disse Forsøg gennemføres udelukkende med Jordprøver fra Kalkningsforsøget ved Borris; før end Podningen med Azotobacterhinden foretages, tilføres der hver Kolbe et stort Antal mannitforgærende Bakterier. For at fremskaffe

sidsnævnte, udstryges en Øskenfuld af Kulturvædsken fra en ældre Raakultur uden Azotobacterudvikling paa en skraat stivnet Agarflade (*Lohnis'* Mannit-Nitratagar); efter et Par Dages Forløb har disse Kulturer naaet Højdepunktet af deres Udvikling og repræsenterer nu en Agar-Raakultur af forskellige mannitsønderdelende Bakterier med ringe eller slet ingen Indblanding af Azotobacterceller. Bakteriebelegningen af disse Kulturer opslemmes i Vand og benyttes til Podningsforsøget, idet der i hver Kolbe overføres 1 cm³ Bakteriopslemning, svarende til ca. 2 store Øskenfulde af Bakteriebelegningen.

Det første Forsøg udføres med Jordprøver fra Parcel C (4000 kg Kalk pr. ha), der som oftest giver en typisk Azotobacterudvikling. For Sammenligningens Skyld henstilles samtidig Kolber, podede paa sædvanlig Vis, samt Kolber, der overhovedet ikke var podede; til samtlige podede Kolber anvendes ensartet Podemateriale. Med 24 Timers Mellemlum bestemmes Reaktionstallet og Mængden af flygtige Syrer i Sammenblandingsprøver, hver bestaaende af 5 Enkeltprøver (Syremængden er i Tabellen omregnet pr. Kulturkolbe). Den totale Syreproduktion bestemmes paa Grundlag af Gennemsnitsprøvens Reaktionstal i Forbindelse med Jordprøvernes Titreringskurver i Mannitfosfatopløsningen.

Forsøgene, der findes sammenstillede i Tabel 15, viser, at det i dette Tilfælde har været muligt at ændre Udfaldet af Azotobacterprøven, idet Prøverne fra Parcel C hører til Overgangstyperne; Azotobacterprøven er af den Grund her ret usikker og giver ved Gentagelse undertiden forskellige Resultater, alt efter Podehindens Beskaffenhed. (Sml. saaledes nærværende Resultater med Tabellerne 9 og 10). I det foreliggende Forsøg kommer der en kraftig og typisk Azotobacterudvikling i samtlige Kolber, der er podede paa normal Vis; ved ekstra Tilførsel af mannitsønderdelende Bakterier har det her været muligt at ændre dette Resultat i negativ Retning, og i Overensstemmelse hermed udviser de sidsnævnte Kulturer en forøget Syreproduktion¹⁾.

Foretages samme Forsøg med Jord fra Parcel D, der er

¹⁾ I denne Forbindelse bør bemærkes, at Syreudviklingen i de paa normal Vis podede Kolber aabenbart standser med begyndende Hindeudvikling.

Tabel 15. Azotobacterprøven ved ekstra Tilførsel
af mannitsønderdelende Bakterier. *Borris C.*

		pH	Total Syrepro- duktion cm ³ n/10 HCl	Flyg- tige Syrer	Azotobacter- udvikling				
1. Døgn	Ingen Podning.....	6.63	0.5	0.15	0	0	0	0	0
	Podet med Raahinde.....	6.41	0.7	0.25	0-1	0-1	0-1	0-1	0-1
	Podet med Raahinde + mannitsønderdelende Bakt.	5.99	0.9	0.40	0-1	0-1	0-1	0-1	0-1
2. Døgn	Ingen Podning.....	5.71	1.2	0.85	0	0	0	0	0
	Podet med Raahinde.....	5.54	1.3	1.20	0-1	0-1	0-1	0-1	0-1
	Podet med Raahinde + mannitsønderdelende Bakt.	5.25	1.5	1.15	0-1	0-1	0-1	0-1	0-1
3. Døgn	Ingen Podning.....	5.05	1.8	2.3	0	0	0	0	0
	Podet med Raahinde.....	5.52	1.3	1.2	4	4	3	3	2-3
	Podet med Raahinde + mannitsønderdelende Bakt.	4.82	2.0	2.5	1	1	1	0-1	0-1
4. Døgn	Ingen Podning.....	4.88	1.9		0	0	0	0	0
	Podet med Raahinde.....	5.40	1.4		4	4	4	4	4
	Podet med Raahinde + mannitsønderdelende Bakt.	4.65	2.1		1	1	1	1	1

Tabel 16. Azotobacterprøven ved ekstra Tilførsel
af mannitsønderdelende Bakterier. *Borris D.*

		pH	Total Syrepro- duktion cm ³ n/10 HCl	Flyg- tige Syrer	Azotobacter- udvikling				
1. Døgn	Ingen Podning.....	6.79	0.5	0.2	0	0	0	0	0
	Podet med Raahinde.....	6.76	0.5	0.1	0	0	0	0	0
	Podet med Raahinde + mannitsønderdelende Bakt.	6.62	0.6	0.2	0	0	0	0	0
2. Døgn	Ingen Podning.....	6.37	0.9	0.6	0	0	0	0	0
	Podet med Raahinde.....	6.34	0.9	0.5	4	4	4	4	4
	Podet med Raahinde + mannitsønderdelende Bakt.	6.08	1.1	0.6	3	3	3-4	3	3-4
3. Døgn	Ingen Podning.....	5.43	2.2	1.9	0	0	0	0	0
	Podet med Raahinde.....	5.88	1.4	0.7	4	4	4	4	4
	Podet med Raahinde + mannitsønderdelende Bakt.	5.45	2.1	0.9	3-4	4	4	4	4
4. Døgn	Ingen Podning.....	—	—	—	—	—	—	—	—
	Podet med Raahinde.....	5.57	1.9	1.6	4	4	4	4	4
	Podet med Raahinde + mannitsønderdelende Bakt.	5.26	2.8	1.9	4	4	4	4	4

absolut sikker azotobacterpositiv¹⁾, viser det sig, at Slutresultatet — til Trods for den forøgede Mængde mannitforgærende Bakterier og større Syreproduktion — ikke ændres i negativ Retning (sml. Tabel 16), om end den maksimale Hindeudvikling i de dobbelt podede Kolber aabenbart indtræder lidt senere end i de normale Kontrolkolber. Virkningen af den paagældende »Dobbeltpodning« gør sig aabenbart relativt stærkt gældende i forholdsvis stødpudefattige Jorder, saaledes som det jo ogsaa var at vente.

Af ovenstaaende Forsøg fremgaar, at vi ved at tilføre en given Jordprøve en større Mængde Azotobacterceller, resp. mannitsonderdelende Bakterier, er i Stand til i visse Tilfælde at ændre Udfaldet af Azotobacterprøven. Der er altsaa Mulighed for, at to Jordprøver, der i kemisk Henseende er fuldkommen ensartede, vil kunne give forskelligt Resultat ved Azotobacterprøven, saafremt de i mikrobiologisk Henseende afviger væsentligt fra hinanden. Efter dette synes det da, som om den Bakteriemængde, vi tilfører med Azotobacterhinden, ikke altid er tilstrækkelig til helt at udligne de mikrobiologiske Forskelligheder i de forskellige Jordprøver. Det vil derfor være ønskeligt at sætte selve Podningsprincippet under Diskussion.

Dette Princip er først bragt i Anvendelse ved de jordbundsbiologiske Undersøgelser af *Harald R. Christensen* (1906), der nærmere præciserer Metoden saaledes: »Gennem det af Forfatteren (1906) foreslaaede Podningsprincip, hvorefter man til Sammenligning med de almindelige med Jord podede elektive Næringssubstrater henstiller Næringssubstrater, som foruden med Jord ogsaa podes med en meget rigelig Mængde af de Mikrober, der foranlediger Stofomsætningen i det paagældende Substrat, har man, idet man i de sidstnævnte Kulturer foretager en Udjævning af eventuelle Forskelligheder i de enkelte Jorders mikrobiologiske Tilstand, et Middel til at faa Rede paa, om Aarsagerne til Jordernes forskellige Forhold i første Linie maa føres tilbage til en forskellig Sammensætning af Mikrofloraen eller til en forskellig kemisk Sammensætning« (l. c. 1914, Side 327).

¹⁾ Reaktionsstallet i denne Parcel ligger mellem 7.1—7.3. Sml. i øvrigt *Tovborg Jensen* (1924) Side 577.

Tabel 17. Syreproduktionen ved Azotobacterprøven.
Sammenligning mellem podede og upodede Kolber.

Jord- prø- vens Mær- ke	1. Døgn				2. Døgn				3. Døgn			
	Ingen Podning		Podet med Raahinde		Ingen Podning		Podet med Raahinde		Ingen Podning		Podet med Raahinde	
	P _H	Total Syre- produktion cm ³ n/10 HCl	P _H	Total Syre- produktion cm ³ n/10 HCl	P _H	Total Syre- produktion cm ³ n/10 HCl	P _H	Total Syre- produktion cm ³ n/10 HCl	P _H	Total Syre- produktion cm ³ n/10 HCl	P _H	Total Syre- produktion cm ³ n/10 HCl
A												
B	6.51	0.4	6.30	0.6	5.89	0.9	5.07	1.8	5.08	1.7	4.81	2.1
C	6.63	0.5	6.53	0.6	5.71	1.1	5.60	1.3	5.05	1.7	5.12	1.7
D	6.79	0.5	6.76	0.6	6.37	0.9	6.34	1.0	5.43	2.2	5.88	1.5
E	6.98	0.8	6.80	1.3	6.72	1.4	6.53	1.7	6.09	2.2	6.18	2.1
F	7.13	2.0	6.96	2.4	6.86	2.6	6.58	3.3	6.27	5.0	6.56	3.5

Saafernt man ønsker at lægge Podningsprincippet til Grund for kvantitative Bestemmelser af de i hver enkelt Jordprøve (resp. Kulturkolbe) foregaaende Omsætningsprocesser, maa vi altsaa tilføre saa stort et Podemateriale, at Intensiteten af de Omsætningsprocesser, der foraarsages af Jordprøvens egen Mikroflora, bliver af underordnet Betydning i Sammenligning med Omsætningsprocesserne i de podede Kulturer. Naar Podningsprincippet bringes i Anvendelse ved Azotobacterprøven, er det da bl. a. ud fra den Forventning, at der med det indførte Podemateriale er tilvejebragt tilnærmelsesvis optimale biologiske Betingelser for Syredannelsen, og at Forskellighederne i de enkelte Jorders Indhold af syredannende Mikroorganismer kun i uvæsentlig Grad gør sig gældende.

Imidlertid kan man, ved at sammenligne Syreproduktionen i upodede Kolber og Kolber, der er podede med et Stykke Azotobacterhinde, hurtigt overbevise sig om, at mere end Halvdelen af den samlede Syremængde kan hidrøre fra Jordens egen Mikroflora. Endvidere viser Forsøgene (sml. Tabel 17), at de upodede Jordprøvers Syreproduktion stiger med Prøvernes Kalkrigdom. Supplerende Undersøgelser, hvis nærmere Enkeltheder kan forbigaaes, har vist, at Podehindens Betydning som syreproducerende Faktor kan variere stærkt; i nogle Tilfælde er Jordprøvernes Syreproduktion saa ringe, at Pode-

hinden bliver ganske dominerende som syreproducerende Faktor, medens vi i andre Tilfælde finder lignende Forhold som ovenfor beskrevet. Tilsvarende Resultater opnaas ved med en fin Pipette at udtage Vædskeprøver fra Kulturens Overflade samt fra Kolbens Bund. Reaktionstallet i een og samme Kolbe viser sig da at variere ret betydeligt, idet Udligningen af lokale Forskelligheder med Hensyn til Syrekonzentrationen aabenbart tager nogen Tid. I visse Tilfælde maaes det laveste Reaktions-tal i »Bundprøven«, og i saa Tilfælde har Syreproduktionen fra selve de paagældende Jordprøver været stærkere end den Syreproduktion, der hidrører fra Podehinden. Hyppigt kan dog ogsaa det omvendte Tilfælde indtræde, hvorfor det ikke er muligt at opstille en almindelig Regel desangaaende.

Paa Grundlag af nogle rent teoretiske Betragtninger maa det da ogsaa forekomme tvivlsomt, om den med Podehinden overførte Bakteriemængde er tilstrækkelig til helt at udviske Jordprøvernes mikrobiologiske Forskelligheder.

Kimtallet kan som tidligere omtalt være overordentlig forskelligt alt efter Jordbundens Art; saaledes angiver *Löhnis* (1913), at Antallet af Bakterier pr. g dyrket Agerjord svinger mellem 5 og 100 Millioner. Disse Tal gælder dog kun saadanne Bakteriearter, der kommer til Udvikling paa de i Jordbundsbakteriologien sædvanligvis benyttede Gelatine- eller Agarsubstrater; anvendes elektive Substrater af forskellig Art, maa disse Talværdier forøges meget stærkt. Eksempelvis skal nævnes nogle af *W. Millard* fundne Kimtal: en Jordprøve, der ved Spredning paa et Gelatinesubstrat gav et Kimtal paa ca. 50 Millioner Bakterier pr. g Jord, viste sig ved Anvendelse af passende elektive Næringssubstrater at indeholde

75 Millioner peptonsønderdelende Bakterier	
27.5 — urinstofsønderdelende	—
100 000 Salpeterbakterier	—
162 500 denitrificerende	—
2.5 Millioner kvælstofbindende	—

Hertil kommer endvidere de anaerobe (iltskyende) Bakterier, hvis Antal (sml. *Löhnis* 1910, Side 515) kan overskride 10 Millioner pr. Gram.

Lægger vi *Löhnis'* Angivelser til Grund for vore Betragtninger, da maa vi regne med, at Kimtallet i de Jorder, der undersøges ved Azotobacterprøven, vil kunne variere mellem 10 og 100 Millioner pr. g Jord — i de upodede Kolber med 5 g Jord vil Kimtallet følgelig svinge mellem 50 og 500 Millioner Bakterier. Skal denne Forskel udlignes, maa vi med

Podehinden tilføres et saa stort Antal syreproducerende Bakterier, at disse 450 Millioner kun kommer til at udgøre en forholdsvis ringe Procentdel af det samlede Antal. Om Størrelsen af dette Tal kan vi danne os et Begreb ved at sammenligne det med nogle af *Neisser* og *Klein* (1923) angivne Værdier: med en Øsken af Middelstørrelse er man i Stand til paa een Gang at overpode 2 Millioner levende Kim fra en ca. 24 Timer gammel Bouillonkultur af *Staphylococcus aureus*, hvorimod man med samme Øsken formaar paa een Gang at overpode 1000 Millioner Kim fra en Agarkultur. — Den til Podningen benyttede Hindestump varierer ved det praktiske Arbejde i Laboratoriet ret betydeligt; en Række Vejninger af forskellige Podehinder gav til Resultat, at deres Vægt — efter at Vædsken var fordampet — svingede mellem 0.2 og 0.6 mg med 0.5 mg som Middelvægt¹⁾. Paa Grundlag af *Löhns*' Angivelser (1913, Side 83) kan Vægten af 1000 Millioner Bakterier ansættes til 1 mg (som gennemsnitlig Størrelse af Bakterierne beregnes en Kugle med Diameter 1 μ). Med Podehinden overfører vi imidlertid rundt regnet kun 0.5 mg, der altsaa skulde svare til ca. 500 Millioner Bakterier, hvoraf endda den allerstørste Part repræsenteres af de meget store Azotobacterceller, der ikke danner organiske Syrer. — Efter tilendebragt Podning vil Bakterieantallet i de to omtalte Eksempler beløbe sig til henholdsvis 550 Millioner og 1000 Millioner. De mikrobiologiske Forskelligheder er, hvad Kimtallet angaar, ikke tilnærmelsesvis udviskede.

Disse Tal gør selvfølgelig ikke Krav paa at gælde for andet end meget grove, skønsmæssige Overslag, men de viser dog den indbyrdes Størrelsesorden af de Faktorer, med hvilke vi opererer, naar vi gennemfører Podningsprincippet i det praktiske Laboratoriearbejde. Og saa meget tør dog siges, at en enkelt Podning med en Stump Raahinde i ikke helt faa Tilfælde vil være utilstrækkelig til helt at udjævne Jordprøvernes mikrobiologiske Forskelligheder, saaledes som det jo er fremgaaet af Forsøgene.

Til Belysning af Podningsprincippet skal sluttelig kort om-

¹⁾ En direkte Bestemmelse af Kimtallet ved Fortynding og Spredning paa Agarsubstrat lader sig vanskeligt gennemføre med Sikkerhed, idet Udgangsmaterialets (Podehindens) særlige Beskaffenhed umuliggør en Opslemning med ensartet Tæthed.

Tabel 18. Kimtal i 6 Jorder med og uden Tilsætning af Mannitopløsning.

Nr.	Millioner Kim pr. Gram Jord	Procentvis Forekomst af Aktinomyceter	Procentvis Forekomst af Azotobacter
419	15.7 $\pm$ 0.4	16.3	0
419 M	167.5 $\pm$ 3.6	ca. 0.5	ca. 6
428	17.6 $\pm$ 0.3	16	0
428 M	173.5 $\pm$ 2.9	ca. 0.5	9
458	22.5 $\pm$ 0.5	15.7	0
458 M	168.0 $\pm$ 2.6	ca. 0.5	ca. 9

tales Resultaterne af et Par foreløbige orienterende Forsøg desangaaende.

Det første af disse Forsøg tager direkte Sigte paa Azotobacterprøven. Der udvælges til dette Formaal 3 lufttørre Jorder (Nr. 419, 428 og 458), til hvilke der — som til de sædvanlige Mannitsønderdelingsforsøg — sættes 0.5 pCt. Mannit samt Vand til optimal Fugtighedsindhold (ca. 70 pCt. af Vandkapaciteten), hvorpaa Prøverne podes med et Stykke af en Azotobacterhinde og henstilles i Termostaten ved 25° C. Den 13. Dag udtages Prøverne, og Kimindholdet saavel i disse som i de ubehandlede Jordprøver bestemmes ved Spredning paa det af *Waksman* og *Fred* (sml. Side 295) foreslaaede Agarsubstrat under Anvendelse af 8 Parallelfortyndinger; Kimtallet bestemmes efter 8 Dages Vækst i Fortyndingsgraden 1:500 000. Af disse Undersøgelser, der er sammenstillede i Tabel 18¹⁾, fremgaar det, at Kimtallet i de mannitbehandlede Prøver er steget til omtrent det tidobbelte; i floristisk Henseende er det bemærkelsesværdigt, at Aktinomyceterne i disse Prøver praktisk talt helt undertrykkes, hvorimod *Azotobacter* træder saa stærkt i Forgrunden, at den endogsaa fremkommer ved de direkte Spredninger paa det anvendte Næringssubstrat, uagtet dette slet ikke er elektivt over for denne Mikroorganisme, som derfor ikke lader sig paa-vise i direkte Spredninger fra de ubehandlede Jordprøver.

Samtidig hermed bestemmes de samme 6 Jordprøvers Titreringskurve ved Opslemning af 5 g Jord i 50 cm³ Ka-

¹⁾ I denne og de følgende to Tabeller opføres de ubehandlede Prøver kun med Nummertal, hvorimod de mannitbehandlede opføres med det tilsvarende Nummertal samt Bogstavet M.

Tabel 19. Titrering af 6 Jorder med og uden Tilsætning af Mannitopløsning.

(Tallene i Tabellen angiver p_H efter Tilsætning af vekslende Mængde $n/10$ HCl.)

Nr.	$cm^3 n/10$ HCl						
	0	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
419	7.32	6.72	5.96	4.49	3.55	2.96	2.72
419 M	7.23	6.50	5.88	4.50	3.72	3.11	—
428	7.26	6.78	6.00	4.54	3.19	3.01	2.66
428 M	7.07	6.58	5.79	4.32	3.43	2.95	2.68
458	7.24	6.72	5.91	4.60	3.67	3.11	2.77
458 M	6.98	6.32	5.78	4.56	3.65	3.06	2.77

liumfosfat-Mannitopløsning. Resultaterne findes opført i Tabel 19, i hvilken Tallene angiver de tilsvarende p_H -Værdier efter Tilsætning af vekslende Mængder $n/10$ HCl. Sammenlignes Titreringskurverne to og to, vil det ses, at den overordentlig stærke kvantitative Forøgelse af Mikrofloraen kun giver sig et meget ringe Udslag som en svag Formindskelse af Stødpude-virkningen.

Paa disse 6 Jordprøver foretages nu en Azotobacterprøve, idet der af hver Jordprøve henstilles i alt 15 Kolber. I 3 paa hinanden følgende Dage udtages af hvert Nummer 5 Kolber, der sammenblandes til en Gennemsnitsprøve; dennes Reaktionstal bestemmes, og ved Sammenligning med de i Tabel 19 opførte Titreringskurver beregnes Syreproduktionen som sædvanlig paa indirekte Vis.

Efter at 5 g af disse Prøver er blevet opslemmet i Mannitopløsningen, svarer de to og to ret nøje til hinanden, undertagen med Hensyn til de mikrobiologiske Forskelligheder, der jo, som ovenfor fremført, er særdeles fremtrædende. Saaframt Podningen med Azotobacterhinden virkelig har formaaet helt at udviske disse, skal Syreudviklingen for de podede Kolbers Vedkommende være ens for to og to samhørende Forsøgsnumre. Resultaterne af hele Forsøget findes fremstillet i Tabel 20, hvoraf det vil fremgaa, at dette ikke har været Tilfældet. Allerede efter 1. Døgn viser det sig, at den samlede Syreproduktion gennemgaaende har været lidt stærkere i de kimrigeste Kolber; 2. Døgn træder dette Forhold stærkere frem,

Tabel 20. Podningens Indflydelse paa Syreproduktionen i Jorder med varierende Kimtal, men samme Stødpudevirkning.

Nr.	Behandling	1. Døgn		2. Døgn		3. Døgn	
		P _H	Syrepro- duktion (cm. ³ n/10)	P _H	Syrepro- duktion (cm. ³ n/10)	P _H	Syrepro- duktion (cm. ³ n/10)
419	Podet.	6.93	0.3	6.10	0.9	5.65	1.2
419	Upodet	7.29	0.0	7.26	0.0	7.09	0.2
419 M	Podet.	6.89	0.3	5.68	1.1	—	—
419 M	Upodet	6.99	0.2	6.36	0.6	5.95	0.9
428	Podet.	6.92	0.4	6.03	1.0	5.43	1.4
428	Upodet	7.26	0.0	7.19	0.1	6.71	0.5
428 M	Podet.	6.64	0.5	5.44	1.3	5.19	1.5
428 M	Upodet	6.88	0.3	5.87	1.0	5.54	1.2
458	Podet.	6.72	0.5	5.97	1.0	5.68	1.2
458	Upodet	7.27	0.0	7.10	0.2	6.70	0.5
458 M	Podet.	6.55	0.4	5.60	1.1	5.42	1.3
458 M	Upodet	7.04	0.0	6.29	0.5	5.57	1.2

idet Forskellen her endog kan andrage 0.3 cm³ n/10 HCl pr. Forsøgskolbe (sml. 428, Podet, med 428 M, Podet); 3. Døgn udviskes dette Forhold paa Grund af Dannelsen af en mere eller mindre vel udviklet Azotobacterhinde.

I de upodede Kolber er Syreproduktionen ret naturligt langt større i de kimrige end i de kinfattige Jordprøver. Sammenlignes sluttelig podede og upodede Parallelkolber fra samme Nummer, vil det ses, at i de kimrige Jordprøver er der af selve Jordprøverne produceret en Syremængde svarende til Halvdelen eller mere af den samlede Syremængde, og Azotobacterhinden træder mere eller mindre i Baggrunden som syreproducerende Faktor. I de kinfattige Jorder derimod er Syreproduktionen fra Podehinden ganske dominerende (sml. i øvrigt Side 303).

Som andet Eksempel paa Podningsprincipets Anvendelse skal anføres Resultaterne af en Undersøgelse over Peptonsønderdeling, til hvilken benyttes en Agerjord tilsat 0.5 pCt. Dekstrose. Med 24 Timers Mellemrum bestemmes Kulsyreproduktionen af en Jordprøve paa 50 g; efter 7 Dages Forløb er Kulsyreproduktionen næsten ophørt, og en Beregning paa Grundlag af den samlede Kulsyreproduktion viser, at hele den tilsatte Sukkermængde nu er totalt nedbrudt. Herefter lufttørres saavel de oprindelige Jordprøver som Prøven med

Sukkertilsætningen, og Kimtallet bestemmes for begge Jorders Vedkommende med følgende Resultater:

Ubehandlet Jord: 14.7 ± 0.5 Millioner Bakterier + Aktinomyceter pr. g tør Jord. — Heraf 14.9 pCt. Aktinomyceter.

Jordprøve med Sukkertilsætning: 37.6 ± 0.8 Millioner pr. g tør Jord — praktisk talt udelukkende Bakterier.

Jordprøverne undersøges derpaa for deres peptonsønderdelende Evne, idet der dog — for at udligne en eventuel Formindskelse af Næringsstofferne i den sukkerbehandlede Jordprøve — tilsættes begge Jordprøver en ringe Mængde K_2HPO_4 (0.01 g pr. Glas) samt 0.5 g $CaCO_3$. Af hver Prøve henstilles i alt 24 Glas med 2 g Jord og 15 cm³ 1.5 pCt. Peptonopløsning. De 8 af disse Glas podes ikke, de 8 derimod med hver 2 Øskenfulde af en forraadnende Peptonopløsning og de sidste 8 Glas med 4 Øskenfulde. Efter 4 Dages Forløb afdestilleres Kulturerne med MgO og den udviklede Ammoniak bestemmes paa sædvanlig Vis ved Titring med Metylrødt som Indikator. Forsøgsresultaterne findes opført i Tabel 21.

Paa Grund af det store Antal Fællesbestemmelser tør Resultaterne betragtes som sikre, og de viser da, at Podningen med 2 Øskenfulde Raakultur ikke har været tilstrækkelig til at udligne de 2 Jordprøvers mikrobiologiske Forskelligheder, der jo ellers ikke var særlig stærkt fremtrædende.

Tabel 21. Podningens Betydning ved Peptonsønderdelingsforsøg.

	Ubehandlet Jord (mg N)	Jord med Sukkertilsætning (mg N)
Upodet.....	10.61	11.87
Podet med 2 Øskenfulde	11.38	11.94
Podet med 4 Øskenfulde	12.96	12.82

Saafermt Podningsprincippet ønskes bragt i Anvendelse ved kvantitative Undersøgelser, bør man vistnok anvende et langt større Kvantum Podemateriale end det, der almindeligvis benyttes; Maalet bør være en saa stærk Podning, at den undersøgte Jordprøve praktisk talt kun kommer til at spille en Rolle som Næringssubstrat. Navnlig ved kortvarige Forsøg vil en utilstrækkelig Podning kunne faa Indflydelse paa Forsøgsresultatet; ved mere langvarige Forsøg vil mindre mikrobiologiske Forskelligheder sikkert være udvisket efter nogen Tids Forløb. — Efter Udfaldet af disse Undersøgelser synes

der at være nogen Grund til at tage hele Spørgsmaalet om Podningsprincipets Anvendelse i den mikrobiologiske Jordbundsundersøgelse op til en systematisk Undersøgelse. Intet af de to nysnævnte Forsøg kan betragtes som fyldestgørende i saa Henseende, men viser dog de Veje, man muligvis kan slaa ind paa ved fremtidige Undersøgelser af denne Art.

Vi kan da kort sammenfatte de foreløbige Resultater saaledes:

1) Syreproduktionen varierer stærkt i de forskellige Jordprøver; Aarsagerne hertil kan dels søges i Jordprøvernes forskellige Stødpudevirkning, dels i deres mikrobiologiske Forskelligheder, idet den tilførte Podehinde ikke altid er tilstrækkelig til at udjævne disse kvantitativt.

2) Jordprøvernes kemiske Forskelligheder udlignes ikke før Forsøgets Begyndelse, idet der ikke tages Hensyn til Jordprøvernes vekslende Indhold af Kvælstofnæring. I Overensstemmelse hermed kan det eksperimentelt godtgøres, at Jordprøvernes Indhold af Nitratkvælstof i visse Tilfælde kan faa Betydning for Udfaldet af Azotobacterprøven.

I hvor høj Grad disse forskellige Faktorer vil gøre sig gældende, kan man ikke paa Forhaand vide med Sikkerhed; det maa erindres, at vi ved disse Forsøg ikke arbejder med Renkulturer, men at et meget stort Antal forskellige Faktorer, der unddrager sig vor Kontrol, kan gribe forstyrrende ind saavel paa direkte som indirekte Vis. Den Mulighed er da ikke udelukket, at de ovenfor omtalte Forhold i Praksis vil træde fuldstændig i Baggrunden, saaledes at Azotobacterprøven alligevel kan betragtes som et nogenlunde tilfredsstillende Maal for Stødpudevirkningen. Skulde dette være Tilfældet, vilde der ikke være nogen Grund til, at lade de teoretiske Indvendinger mod Stødpudehypotesen være afgørende for vor Opfattelse af hele Problemet, og her er vi da i det heldige Tilfælde, at være i Stand til saa at sige at kunne isolere en enkelt Faktor og studere dens Indflydelse paa Azotobacterprøven uafhængig af alle andre Forhold: Ved at optage et større Antal Titreringskurver af forskellige Jordtyper er vi i Stand til at skaffe os Besked om Stødpudevirkningen; paa Grundlag af det saaledes indvundne Materiale kan vi da statistisk fastslaa Forholdet mellem Stødpudevirkningen og Udfaldet af Azotobacterprøven.

IV. Azotobacterprøven og Jordens potentielle Surhedsgrad.

De første Forfattere, der stærkt understregede, at en enkelt Bestemmelse af en Jordprøves aktuelle Surhedsgrad kun giver en i høj Grud ufuldstændig Oplysning om den paagældende Jordbunds Reaktionsforhold, var *Bjerrum* og *Gjaldbæk* (1919): Vil vi skaffe os et dybere Indblik heri, maa vi optage den paagældende Jordprøves Titreringskurve, hvorigennem vi skaffer os et Maal for dens potentielle Surhedsgrad (Stødpudevirkning). I de senere Aar er de Tanker, der danner Grundlaget i *Bjerrum* og *Gjaldbæks* Arbejde, ført ud i Praksis, idet der ved dette grundlæggende Arbejde skabtes Mulighed for en eksakt kvantitativ Bestemmelse af Jordbundens Kalktrang. Omtrent samtidig med *Bjerrum* og *Gjaldbæk* optog *Hudig* og *Sturm* (1919) Titreringskurver af forskellige Jordbundsformer, og lidt senere har *Gaarder* og *Hagem* (1921) undersøgt den potentielle Surhedsgrad i Jordprøver fra forskellige naturlige Lokalteter, ligesom *Brenner* (1924) har benyttet Titreringskurver som Grundlag for en Gruppeinddeling af Finlands naturlige Jordbundsformer. I Sverige har *O. Arrhenius* benyttet Titreringskurver til Beregning af den Mængde Kalk, der paa en given Jordbund skal tilføres hver Hektar for at fremskaffe en forønsket aktuel Surhedsgrad, og i allerseneste Tid har *Tovborg Jensen* (1924) udarbejdet en Metode, der muliggør en Sammenligning af forskellige Jorders Stødpudevirkning, idet de paagældende Titreringskurver alle sættes i Relation til een og samme Standardkurve, nemlig Titreringskurven for rent, udlødet Kwartssand.

Man har paa forskellig Vis søgt at skabe et talmæssigt Udtryk for et Substrats Stødpudevirkning: *Brown* beregner simpelthen det Antal cm^3 NaOH, der medgaar for at ændre Substratets Reaktion fra p_H 5.5 til 8 — dette kalder han Substratets »Bufferindex«. Et matematisk korrekt Maal angives af *Hill*, der benytter Tangens til Kurvens Hældning mod Abscissen som Maal for Stødpudeevnen ($\text{tg } \alpha$). *van Slyke* beregner Differentialkvotienten for Tilføjelse af stærk Syre eller Base i Forhold til Ændringen i p_H ¹⁾. *Henriques* foreslaar »som Maal for Stødpudeevnen, Bufferværdien, β , at angive det Antal Millimol Syre eller Base, der kræves til 1 Liter for at ændre Reaktionen 1^0 S^2) inden for det biologiske Omraade. β_s kaldes Stødpude-

¹⁾ Ref. efter *Henriques* (1924). ²⁾ $1^0 \text{ S} = 1.0 \text{ } p_H\text{-Enhed}$.

tallet« (l. c., 1924, Side 109). Dette sidstnævnte Forslag forudsætter dog, at det paagældende Substrat udviser en tilnærmelsesvis ensartet Stødpudevirkning inden for hele det »biologiske Omraade«, d. v. s., at Stødpudekurven inden for dette Omraade har et tilnærmelsesvis retlinjet Forløb, og da dette ikke er Tilfældet med Jordopslemninger, lader dette Maal for Stødpudevirkningen sig ikke anvende ved Jordbundsundersøgelser. Til Brug for dette specielle Formaal foreslaar *Tovborg Jensen* at benytte dels de saakaldte Stødpudearealer, hvorved han forstaar Arealet mellem den paagældende Titreringskurve og Standardkurven, dels »Stødpudetallet«, repræsenteret ved den horizontale Afstand mellem Kurverne i Titreringskurvens Endepunkt. En Forudsætning for Anvendelsen og den indbyrdes Sammenligning af disse Maal er, at Titringen og den grafiske Fremstilling af Kurven foregaar under bestemt fastlagte Betingelser. »Stødpudearealet« er saaledes en rent empirisk Størrelse, hvorimod »Stødpudetallet« er et direkte Maal for, hvor stor en Mængde Brintioner der under Titringen bindes af den anvendte Jordmængde. (Sml. *Tovborg Jensen*, 1924, Side 578—82).

For nu nærmere at fastslaa det talmæssige Forhold mellem de enkelte Jorders Stødpudevirkning og Udfaldet af Azotobacterprøven udvælges i alt 100 Jorder, saaledes at Halvdelen af disse er azotobacterpositive, Halvdelen azotobacternegative, ligesom der lægges Vægt paa at faa en nogenlunde ligelig Repræsentation af Lerjorder og Sandjorder. Da det af talrige Undersøgelser er fremgaaet, at Jorder med Reaktionstal mindre end 6.0 praktisk talt altid er azotobacternegative, medens Jorder med Reaktionstal over 7.3 altid er azotobacterpositive (sml. *Harald R. Christensen* og *Tovborg Jensen*, 1923), omfatter de 100 omtalte Jordprøver udelukkende saadanne, hvis Reaktionstal er beliggende mellem 5.9 og 7.3. Dette Interval deles i 6 Grupper med følgende Antal Jordprøver:

1. Gruppe	p_H	7.3 — 7.0	10	Jordprøver
2.	—	- 6.99 — 6.80	10	—
3.	—	- 6.79 — 6.60	30	—
4.	—	- 6.59 — 6.40	30	—
5.	—	- 6.39 — 6.20	10	—
6.	—	- 6.19 — 5.90	10	—

Den nærmere Fordeling inden for disse Grupper af Lerjorder og Sandjorder, azotobacterpositive og azotobacternegative Jordprøver, fremgaar af Tabel 22.

Tabel 22. Oversigt over de til Titreringskurverne benyttede Jordprøver.

Azotobacter-udvikling	1. + 2. Gruppe p_H : 7.25—6.80		3. Gruppe p_H : 6.79—6.60		4. Gruppe p_H : 6.59—6.40		5. + 6. Gruppe p_H : 6.39—5.90		I alt
	Ler-jord	Sand-jord	Ler-jord	Sand-jord	Ler-jord	Sand-jord	Ler-jord	Sand-jord	
$+$ (2, 3 og 4)	5	5	11	4	6	9	3	7	50
$\div$ (0 og 1)	4	6	5	10	9	6	6	4	50
I alt	9	11	16	14	15	15	9	11	100

Af disse 100 Jordprøver optages der Titreringskurver under Anvendelse af den af *Tovborg Jensen* udarbejdede Metodik: De pulveriserede og lufttørrede Jordprøver afvejes i Portioner paa 10 g, der overføres i 300 cm³ Erlenmeyerkolber. Til disse Portioner sættes n/10 HCl og n/10 Ca(OH)₂ i Mængder stigende fra 0 til 10 cm³, hvorefter de fortyndes med kulsyreftit destilleret Vand til 100 cm³, og Kolberne omrystes fra Tid til anden. Efter 1 Døgns Henstand bringes Jordopslemningerne med Ca(OH)₂-Tilsætning i Kulsyreligevægt med den atmosfæriske Luft, hvorved muligt overskydende Kalciumhydroxyd omdannes til Kalciumkarbonat (sml. *Tovborg Jensen*, 1924, Side 510). Resultaterne af Titreringen findes opført i Tabel 27 (Side 330).

Som talmæssige Maal for Stødpudevirkningen er i Hovedsagen anvendt de af *Tovborg Jensen* foreslaaede. Imidlertid drejer det sig jo ikke om at faa et Maal for den samlede Stødpudevirkning, men kun om »Stødpudevirkningen omkring Neutralpunktet«, der jo ifølge »Stødpudehypotesen« skulde være afgørende for Udfaldet af Azotobacterprøven. Det simpleste Udtryk for »Stødpudevirkningen omkring Neutralpunktet« faas utvivlsomt ved paa Grundlag af Titreringskurven at beregne den Mængde n/10 HCl, der medgaar for at bringe Reaktionstallet fra den aktuelle Værdi ned til et bestemt Reaktionstal, ens for alle de undersøgte Jordprøver. Denne Fremgangsmaade kan muligvis synes irrationel, idet den aktuelle Surhedsgrad jo ikke er ens for samtlige Jordprøver; een Jordprøve bliver f. Eks. titreret fra p_H 7.2 til p_H 5.5, medens en anden med Begyndelsesreaktionen 6.1 kun bliver titreret fra 6.1 til 5.5. Imidlertid maa det her erindres, at Udfaldet af

Azotobacterprøven — stadig ifølge Stødpudehypotesen — ikke direkte er afhængig af Jordprøvens aktuelle Surhedsgrad men derimod af den Syremængde, den paagældende Jord er i Stand til at binde, inden Reaktions-tallet falder under den for *Azotobacter* kritiske nedre p_H -Værdi. Som Følge heraf vil det i dette Tilfælde være berettiget at beregne Jordprøvernes Stødpudevirkning som den Mængde Syre, de formaar at binde, inden Reaktions-tallet falder til p_H 5.5. Endvidere er vi i Stand til at beregne Stødpudevirkningen i bestemte Intervaller omkring Neutralpunktet. Paa Grund af det specielle Formaal, at stille Azotobacterprøven i Relation til Stødpudevirkningen, vil der ikke her være nogen Grund til at beregne Jordprøvernes Stødpudevirkning over for Baser. Derimod kan vi beregne Stødpudevirkningen i p_H -Intervallet 6.5—5.5, en Metode, der selvfølgelig kun kan bringes i Anvendelse ved Jorder, hvis aktuelle Surhedsgrad overstiger 6.5. Beregner vi Stødpudevirkningen i Intervallet p_H 6.0—5.0, er vi ganske vist i Stand til at inddrage samtlige Jordprøver i Undersøgelsen, men til Gengæld fjærner vi os temmelig langt fra Neutralpunktet. Endelig er vi i Stand til at beregne Stødpudearealerne; vi vil af de ovenfor anførte Grunde foretrække ikke at beregne det samlede Stødpudeareal, men derimod Arealet mellem den paagældende Titreringskurve, Standardkurven og en Linie parallel med X-Aksen og skærende Y-Aksen i et Punkt, svarende til p_H 5.0.

Til Karakterisering af Titreringskurverne benyttes altsaa følgende Værdier:

- 1) Stødpudetallet i Intervallet fra den aktuelle Surhedsgrad til p_H 5.5 — skrives i det følgende som $S_{5.5}^R$ ¹⁾.
- 2) Stødpudetallet i p_H -Intervallet 6.5—5.5 — skrives $S_{5.5}^{6.5}$.
- 3) — i p_H — 6.0—5.0 — skrives $S_{5.0}^{6.0}$.
- 4) Stødpudearealet i p_H — fra den aktuelle Surhedsgrad til p_H 5.0 — skrives $A_{5.0}^R$.

¹⁾ Det vil være hensigtsmæssigt ved fremtidige Angivelser af Stødpudetallet i bestemte Intervaller, at gøre det til Regel at skrive den p_H -Værdi, der ligger nærmest ved den aktuelle Surhedsgrad, som »Tæller« i »Brøken«.

$S_{7.0}^{6.0}$ betegner altsaa den Basemængde, som Jordprøven kan binde i p_H -Intervallet 6.0—7.0, hvorimod $S_{6.0}^{7.0}$ betegner den Syremængde, som en Jordprøve kan binde i det tilsvarende Interval. Er »Brøken« > 1, giver den altsaa Udtryk for Stødpudevirkningen over for Syrer; er den derimod < 1, betegner den Stødpudevirkningen over for Baser.

Det maa endvidere understreges, at de anførte Tal kun har Gyldighed, saafremt man ved Optagelsen af Titreringskurven følger ganske bestemte Metoder — i dette Tilfælde de af *Touborg Jensen* angivne. Desuden afhænger Tallene af de valgte Enheder i Koordinatsystemet, som derfor altid bør præciseres. De nedenfor anførte Værdier er udmaalte paa Diagrammer, hvor 1 cm i Abcissen svarer til $1 \text{ cm}^3 \text{ n}/10$ Syre eller Base, og 1 cm i Ordinaten til 0.5 Enheder paa p_H -Skalaen.

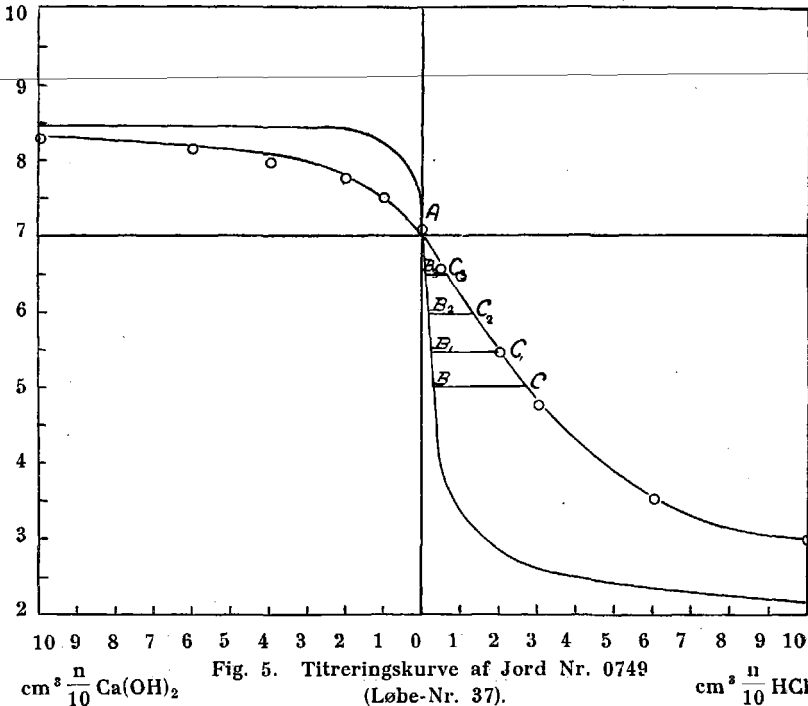


Fig. 5. Titreringskurve af Jord Nr. 0749

(Løbe-Nr. 37).

Som Eksempel paa Beregningen skal anføres:

Figur 5 repræsenterer Titreringskurven for Jordprøve Nr. 0749 (Løbe Nr. 37, sml. Tabel 28). Her findes ved direkte Udmaaling paa Originalkurven¹⁾

$$A_{5.0}^R = \text{Arealet } ABC = 460 \text{ mm}^2,$$

$$S_{5.5}^R = B_1C_1 = 17 \text{ mm (svarende til } 1.7 \text{ cm}^3 \text{ n}/10 \text{ HCl)},$$

$$S_{5.0}^{6.0} = BC \div B_2C_2 = 12 \text{ mm (svarende til } 1.2 \text{ cm}^3 \text{ n}/10 \text{ HCl)},$$

$$S_{5.5}^{6.5} = B_1C_1 \div B_3C_3 = 13 \text{ mm (svarende til } 1.3 \text{ cm}^3 \text{ n}/10 \text{ HCl)}.$$

¹⁾ Paa den foreliggende Reproduktion er 0.5 cm paa X-Aksen = 1 cm^3 Syre.

Gennemføres en lignende Beregning for samtlige Jordprøver (sml. Tabel 28), fremskaffes et homogent Forsøgsmateriale, der vil kunne bearbejdes statistisk.

Deles Materialet i de to store Grupper efter Udfaldet af Azotobacterprøven (+ eller ÷) finder vi følgende i Tabel 23 opførte Værdier. Til Forklaring af de i Tabellen benyttede Tegn skal anføres:

M betegner Gennemsnitsværdien (Middeltallet).

n — det samlede Antal enkelte Tilfælde,

σ — Standardafvigelsen, der beregnes efter Formlen

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum D^2}{n}},$$

hvor $\sum D^2$ betegner Summen af Kvadratet paa Afvigelsen fra Middeltallet.

m betegner Middelfejlen paa Gennemsnitsværdien; beregnes efter Formlen $m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$.

Differensen beregnes som Differens mellem de paagældende Middeltal $\pm$ Middelfejlen paa Differensen, der beregnes efter Formlen: $m_{\text{Diff.}} = \pm \sqrt{m_1^2 + m_2^2}$.

Tabel 23. Sammenlignende Oversigt over Stødpudevirkningen i azotobacterpositive og azotobacternegative Jordprøver.

	$S_{5.5}^R$ (mm)				$S_{5.0}^{6.0}$ (mm)				$A_{5.0}^R$ (mm ²)			
	M	σ	n	m	M	σ	n	m	M	σ	n	m
Azotobacter +..	11.3	± 8.1	50	± 1.1	12.8	± 5.9	50	0.8	278	± 229	50	± 32
Azotobacter ÷..	9.5	± 4.8	50	± 0.7	10.9	± 3.7	50	0.5	226	± 133	50	± 19
Differens	$11.3 \div 9.5 \pm \sqrt{1.70}$ $= 1.8 \pm 1.3$				$12.8 \div 10.9 \pm \sqrt{0.89}$ $= 1.7 \pm 0.9$				$278 \div 226 \pm \sqrt{1385}$ $= 52 \pm 37$			

Af Tabellen fremgaar det, at de fundne Differenser mellem Stødpudevirkningen i de to Grupper ikke er tilstrækkelig tilforladelige, idet de i sig selv er ret ubetydelige og kun andrager 1.4—1.7 Gange de tilsvarende Middelfejl.

Ved ovenstaaende Beregning er der imidlertid ikke taget Hensyn til Graden af Azotobacterudviklingen: enten Azotobacterhinden har faaet Karakteren 2 eller Karakteren 4, er den

paagældende Jordprøve i alle Tilfælde henregnet til de azotobacterpositive Jorder. Ønsker vi at faa et talmæssigt Udtryk for Gensidighedsforholdet (Korrelationen) mellem Jordprøvernes Stødpudevirkning og Azotobacterudvikling, da sker dette bedst ved Beregning af Korrelationskoefficienten.

Af de to Egenskaber, med hvilke vi opererer, hvor Talen er om et Korrelationsforhold, benævnes den, hvis Variation benyttes som Korrelationstabellens første Inddeling, »Den supponerede Egenskab« eller X-Egenskaben; den anden benævnes »Den relative Egenskab« eller Y-Egenskaben. Variationen af denne Egenskab skal bedømmes i Relation til den første Egenskabs Variation. Man kan selvfølgelig frit afgøre, hvilken Egenskab man ønsker at betragte som den supponerede og hvilken som den relative; i det foreliggende Tilfælde vil det være naturligt at betragte Stødpudevirkningen som den supponerede Egenskab og Azotobacterudviklingen som den relative¹⁾.

Som Udtryk for Korrelationen mellem to variable Størrelser har *Bravais* allerede i 1846 opstillet Formlen

$$r = \frac{\sum D_x D_y}{n \sigma_x \sigma_y}$$

r betegner her et ubenævnt Tal, Korrelationskoefficienten, der kan være positiv, negativ eller Nul, men antager kun Værdier beliggende mellem $+1$ og -1 . Korrelationskoefficientens Fortegn er et Udtryk for, om de to paagældende Egenskaber varierer i samme eller modsat Retning — i hvor høj Grad dette er Tilfældet, udtrykkes ved Korrelationskoefficientens numeriske Størrelse. Er denne netop 1 , er der altid fuldstændig Sammentræf mellem de to Egenskaber, enten i samme ($r = +1$) eller i modsat Retning ($r = -1$). Saafremt Korrelationskoefficienten er Nul, betyder det, at der overhovedet ikke er det mindste Gensidighedsforhold mellem de to undersøgte Egenskaber. I ovenfor anførte Formel betyder endvidere $\sum D_x D_y$ Summen af Produkterne af de enkelte Afvigelser fra henholdsvis M_x (Middeltallet af X-Værdierne) og M_y (Middeltallet af Y-Værdierne). n betyder som sædvanlig det samlede Antal enkelte Tilfælde og σ_x og σ_y Standardafvigelserne i henholdsvis X- og Y-Rækken.

Ligesom et Middeltal saaledes er ogsaa Korrelations-

¹⁾ Om Korrelationsforhold og Korrelationsberegning se *Johannsen* 1913.

koefficienten behæftet med en vis Fejl, Middelfejlen, der kan beregnes efter Formlen

$$m_r = \frac{1-r^2}{\sqrt{n}}.$$

Som Eksempel paa, hvorledes Beregningen af en Korrelationskoefficient udføres i Praksis, skal henvises til Tabel 24, der tjener til Beregning af Korrelationskoefficienten mellem $S_{5.0}^{6.0}$ og Azotobacterudviklingen. I første Kolonne (X) angives $S_{5.0}^{6.0}$ udtrykt i mm, i anden Kolonne den tilsvarende Jordprøves »Azotobacterkarakter«¹⁾. Heraf findes $M_x = \frac{\Sigma x}{n} = 11.7$ og $M_y = \frac{\Sigma y}{n} = 1.7$. Afvigelserne fra disse Middeltal er indførte i de tilsvarende Kolonner D_x og D_y , og i følgende Kolonner de tilsvarende Værdier for $D_x \cdot D_y$, alt efter som Fortegnet bliver + eller -. I sidste Kolonner findes endelig Kvadratet paa Afvigelserne, D_x^2 og D_y^2 , der er nødvendige til Beregningen af Standardafvigelserne σ_x og σ_y .

Af Tabellen fremgaar:

$$\sigma_x = \pm \sqrt{\frac{\Sigma D_x^2}{n}} = \pm \sqrt{\frac{2481.80}{100}} = \pm 4.982$$

$$\sigma_y = \pm \sqrt{\frac{\Sigma D_y^2}{n}} = \pm \sqrt{\frac{301}{100}} = \pm 1.735$$

$$\Sigma D_x D_y = + 383.80 \div 176.90 = + 206.90$$

$$r = \frac{\Sigma D_x D_y}{n \sigma_x \sigma_y} = \frac{+ 206.90}{100 \cdot 4.982 \cdot 1.735} = + 0.239$$

$$m_r = \frac{1-r^2}{\sqrt{n}} = \frac{1-0.239^2}{\sqrt{100}} = \pm 0.0943$$

Det endelige Resultat bliver altsaa

$$r = + 0.239 \pm 0.094.$$

Da Korrelationskoefficienten saaledes er 2—3 Gange saa stor som Middelfejlen, maa det betragtes som sandsynligt, at der virkelig eksisterer et Gensidighedsforhold mellem Graden af Azotobacterudviklingen og Stødpudevirkningen (udtrykt ved $S_{5.0}^{6.0}$). At Korrelationskoefficienten er positiv betyder, at Stødpudevirkningen og Azotobacterudviklingen varierer i samme Retning: en større Stødpudevirkning vil medføre en stærkere

¹⁾ Det erindres, at 1 mm svarer til 1 cm³ n/10 HCl.

Tabel 24. Beregning af Korrelationskoefficienten mellem $S_{5.0}^{6.0}$ og Graden af Axotobacterudvikling.

Løbe-Nr.	$S_{5.0}^{6.0}$ (x)	Azoto- bacter- udvikling (y)	Afvigelse fra Middel		$D_x \cdot D_y$		Afvigelsens Kvadrat		Gruppens Nr.
			D_x	D_y	+	÷	D_x^2	D_y^2	
37	12	2	+ 0.3	+ 0.3	0.09		0.09	0.09	1
49	5	4	- 6.7	+ 2.3		15.41	44.89	5.29	—
65	27	3	+ 15.3	+ 1.3	19.89		234.09	1.69	—
75	27	4	+ 15.3	+ 2.3	35.19		234.09	5.29	—
77	14	4	+ 2.3	+ 2.3	5.29		5.29	5.29	—
32	15	0	+ 3.3	- 1.7		5.61	10.89	2.89	—
41	7	0	- 4.7	- 1.7	7.99		22.09	2.89	—
71	19	0	+ 7.3	- 1.7		12.41	53.29	2.89	—
76	14	0	+ 2.3	- 1.7		3.91	5.29	2.89	—
78	17	0	+ 5.3	- 1.7		9.01	28.09	2.89	—
12	11	4	- 0.7	+ 2.3		1.61	0.49	5.29	2
28	15	4	+ 3.3	+ 2.3	7.59		10.89	5.29	—
46	10	3	- 1.7	+ 1.3		2.21	2.89	1.69	—
54	9	2	- 2.7	+ 0.3		0.81	7.29	0.09	—
73	42	4	+ 30.3	+ 2.3	69.69		918.09	5.29	—
1	7	0	- 4.7	- 1.7	7.99		22.09	2.89	—
63	10	0	- 1.7	- 1.7	2.89		2.89	2.89	—
70	11	0	- 0.7	- 1.7	1.19		0.49	2.89	—
79	17	1	+ 5.3	- 0.7		3.71	28.09	0.49	—
80	13	0	+ 1.3	- 1.7		2.21	1.69	2.89	—
6	9	4	- 2.7	+ 2.3		6.21	7.29	5.29	3
10	10	3	- 1.7	+ 1.3		2.21	2.89	1.69	—
19	14	4	+ 2.3	+ 2.3	5.29		5.29	5.29	—
21	12	4	+ 0.3	+ 2.3	0.69		0.09	5.29	—
23	14	4	+ 2.3	+ 2.3	5.29		5.29	5.29	—
25	13	4	+ 1.3	+ 2.3	2.99		1.69	5.29	—
29	11	3	- 0.7	+ 1.3		0.91	0.49	1.69	—
43	13	4	+ 1.3	+ 2.3	2.99		1.69	5.29	—
52	16	4	+ 4.3	+ 2.3	9.89		18.49	5.29	—
53	11	2	- 0.7	+ 0.3		0.21	0.49	0.09	—
56	12	2	+ 0.3	+ 0.3	0.09		0.09	0.09	—
59	10	3	- 1.7	+ 1.3		2.21	2.89	1.69	—
72	12	4	+ 0.3	+ 2.3	0.69		0.09	5.29	—
74	11	4	- 0.7	+ 2.3		1.61	0.49	5.29	—
86	16	4	+ 4.3	+ 2.3	9.89		18.49	5.29	—
2	6	1	- 5.7	- 0.7	3.99		32.49	0.49	—
15	8	0	- 3.7	- 1.7	6.29		13.69	2.89	—
22	9	0	- 2.7	- 1.7	4.59		7.29	2.89	—
24	7	0	- 4.7	- 1.7	7.99		22.09	2.89	—
27	15	0	+ 3.3	- 1.7		5.61	10.89	2.89	—
38	4	0	- 7.7	- 1.7	13.09		59.29	2.89	—
39	13	0	+ 1.3	- 1.7		2.21	1.69	2.89	—
42	7	0	- 4.7	- 1.7	7.99		22.09	2.89	—
60	9	0	- 2.7	- 1.7	4.59		7.29	2.89	—
62	5	0	- 6.7	- 1.7	11.39		44.89	2.89	—
66	16	0	+ 4.3	- 1.7		7.31	18.49	2.89	—
67	13	0	+ 1.3	- 1.7		2.21	1.69	2.89	—
68	14	0	+ 2.3	- 1.7		3.91	5.29	2.89	—
88	13	0	+ 1.3	- 1.7		2.21	1.69	2.89	—

Tabel 24 (fortsat).

Løbe-Nr.	$S_{5.0}^{6.0}$	Azoto- bacter- udvikling	Afvigelse fra Middel		D _x · D _y		Afvigelsens Kvadrat		Gruppens Nr.
			D _x	D _y	+	÷	D _x ²	D _y ²	
94	11	0	— 0.7	— 1.7	1.19		0.49	2.89	3
4	12	4	+ 0.8	+ 2.3	0.69		0.09	5.29	4
8	17	4	+ 5.3	+ 2.3	12.19		28.09	5.29	—
14	12	3	+ 0.3	+ 1.3	0.39		0.09	1.69	—
16	10	4	— 1.7	+ 2.3		3.91	2.89	5.29	—
18	18	4	+ 6.3	+ 2.3	14.49		39.69	5.29	—
30	10	2	— 1.7	+ 0.3		0.51	2.89	0.09	—
31	13	4	+ 1.3	+ 2.3	2.99		1.69	5.29	—
44	9	2	— 2.7	+ 0.3		0.81	7.29	0.09	—
47	12	2	+ 0.3	+ 0.3	0.09		0.09	0.09	—
57	8	3	— 3.7	+ 1.3		4.81	13.69	1.69	—
69	9	3	— 2.7	+ 1.3		3.51	7.29	1.69	—
83	16	4	+ 4.3	+ 2.3	9.89		18.49	5.29	—
84	11	3	— 0.7	+ 1.3		0.91	0.49	1.69	—
90	11	4	— 0.7	+ 2.3		1.61	0.49	5.29	—
93	8	3	— 3.7	+ 1.3		4.81	13.69	1.69	—
3	10	0	— 1.7	— 1.7	2.89		2.89	2.89	—
7	8	0	— 3.7	— 1.7	6.29		13.69	2.89	—
9	13	0	+ 1.3	— 1.7		2.21	1.69	2.89	—
13	9	0	— 2.7	— 1.7	4.59		7.29	2.89	—
17	12	0	+ 0.3	— 1.7		0.51	0.09	2.89	—
26	9	0	— 2.7	— 1.7	4.59		7.29	2.89	—
33	11	0	— 0.7	— 1.7	1.19		0.49	2.89	—
48	9	1	— 2.7	— 0.7	1.89		7.29	0.49	—
50	13	0	+ 1.3	— 1.7		2.21	1.69	2.89	—
85	13	0	+ 1.3	— 1.7		2.21	1.69	2.89	—
87	8	0	— 3.7	— 1.7	6.29		13.69	2.89	—
89	8	0	— 3.7	— 1.7	6.29		13.69	2.89	—
97	16	0	+ 4.3	— 1.7		7.31	18.49	2.89	—
99	13	0	+ 1.3	— 1.7		2.21	1.69	2.89	—
100	16	0	+ 4.3	— 1.7		7.31	18.49	2.89	—
35	7	2	— 4.7	+ 0.3		1.41	22.09	0.09	5
36	7	3	— 4.7	+ 1.3		6.11	1.69	1.69	—
45	13	4	+ 1.3	+ 2.3	2.99		0.49	5.29	—
64	11	3	— 0.7	+ 1.3		0.91	7.29	1.69	—
92	9	4	— 2.7	+ 2.3		6.21	13.69	5.29	—
11	8	0	— 3.7	— 1.7	6.29		22.09	2.89	—
81	7	0	— 4.7	— 1.7	7.99		0.09	2.89	—
91	12	0	+ 0.3	— 1.7		0.51	0.09	2.89	—
95	12	0	+ 0.3	— 1.7		0.51	18.49	2.89	—
98	16	0	+ 4.3	— 1.7		7.31	22.09	2.89	—
40	7	3	— 4.7	+ 1.3		6.11	7.29	1.69	6
51	9	3	— 2.7	+ 1.3		3.51	22.09	1.69	—
55	7	2	— 4.7	+ 0.3		1.41	0.49	0.09	—
61	11	4	— 0.7	+ 2.3		1.61	10.89	5.29	—
82	15	3	+ 3.3	+ 1.3	4.29		22.09	1.69	—
5	7	0	— 4.7	— 1.7	7.99		32.49	2.89	—
20	6	0	— 5.7	— 1.7	9.69		59.29	2.89	—
34	4	0	— 7.7	— 1.7	13.09		59.29	2.89	—
58	13	0	+ 1.3	— 1.7		2.21	1.69	2.89	—
96	12	0	+ 0.3	— 1.7		0.51	0.09	2.89	—

Azotobacterudvikling. Numerisk set er Korrelationskoefficienten ikke saa stor, som man maatte være berettiget til at vente, saafremt »Stødpudehypotesen« »holdt Stik« i alle Tilfælde.

Gennemføres en saadan Korrelationsberegning under Hensyn tagen til de forskellige tidligere omtalte Maal for Stødpudevirkningen ($S_{5.5}^R$, $S_{5.0}^{6.0}$ og $A_{5.0}^R$) faas de i Tabel 25 opførte Resultater.

Med Hensyn til Beregningen skal dog bemærkes, at Gennemsnitsværdierne for henholdsvis X- og Y-Rækken (altsaa M_x og M_y) er afrundede: »Azotobacterkarakterer« har jo i alle Tilfælde en fuldstændig skønsmæssig Karakter, og at anvende en »nøjagtig« Værdi for M_y , som f. Eks 1.93 vilde være en illusorisk Nøjagtighed, da man ofte vil være i Tvivl om, hvorvidt en given Azotobacterhinde skal have »Karakteren« 2 eller 3, medens man i et andet Tilfælde kan være i Tvivl om Alternativet 1 eller 2. Noget lignende gælder for Stødpudetallene og Stødpudearealerne: saavel Optagelsen af Titreringskurven som Udmaalingen af de paagældende Størrelser paa Millimeterpapiret er i hvert enkelt Tilfælde behæftet med større eller mindre Fejl. M_x og M_y er derfor kun beregnet med Nøjagtighed som den, med hvilken vi kan foretage en Enkeltbestemmelse. For Sammenligningens Skyld er dog foretaget nogle Beregninger med Anvendelse af større »Nøjagtighed«, og det viser sig da ogsaa, at Forskellen mellem de saaledes beregnede Korrelationskoefficienter for samme X- og Y-Række er saa ringe, at den ganske træder i Baggrunden for den Middelfejl, med hvilken Korrelationskoefficienten er behæftet.

Tabel 25. Korrelationskoefficienten mellem Azotobacterudviklingen og Stødpudevirkningen.

Det til Beregningen benyttede Udtryk for Stødpudevirkningen	Korrelationskoefficienten, r						
	1. + 2. Gruppe	3. Gruppe	4. Gruppe	5. + 6. Gruppe	1. + 2. + 3. Gruppe	4. + 5. + 6. Gruppe	Hele Materialet 1.—6. Gruppe
$S_{5.5}^R$	$+0.40 \pm 0.19$	$+0.24 \pm 0.17$	$+0.19 \pm 0.18$	$+0.10 \pm 0.22$	$+0.24 \pm 0.13$	$+0.10 \pm 0.14$	$+0.19 \pm 0.10$
$S_{5.5}^{6.5}$	$+0.43 \pm 0.18$	$+0.24 \pm 0.17$			$+0.28 \pm 0.13$		
$S_{5.0}^{6.0}$	$+0.31 \pm 0.20$	$+0.35 \pm 0.16$	$+0.16 \pm 0.18$	$+0.10 \pm 0.22$	$+0.29 \pm 0.12$	$+0.17 \pm 0.11$	$+0.24 \pm 0.09$
$A_{5.0}^R$							$+0.21 \pm 0.10$

Af Tabellen fremgaar, at enten vi benytter $S_{5.5}^R$, $S_{5.0}^{6.0}$ eller $A_{5.0}^R$ som Maal for Stødpudevirkningen, da er Korrelationskoefficienten i alle Tilfælde positiv, numerisk ret ringe og i alle Tilfælde behæftet med en betydelig Middelfejl. Hvilket Maal vi end benytter for Stødpudevirkningen, synes der at være bedst Korrelation i Grupperne med højeste Reaktionstal. Paa Grund af den betydelige Middelfejl, med hvilken Korrelationskoefficienten er behæftet, er de fundne Forskelligheder dog ikke saa store, at de tør betragtes som sikre. For at formindske Middelfejlen og naa til et absolut sikkert Resultat, vil det i det hele taget være nødvendigt at undersøge Titreringskurverne for et langt større Antal Jorder, end det har været muligt at gennemføre i dette Arbejde, der kun kan give foreløbige Fingerpeg.

I Tilslutning til Titreringskurverne er et Antal af Jordprøverne¹⁾ endvidere undersøgt i deres Forhold over for henholdsvis *Combers* og *Hasenbaümers* Prøver, der tidligere har været beskrevne her i Tidsskriftet (*Harald R. Christensen*, 1923, Side 745—46). Hvad *Hasenbaümer*-Prøven angaar, da er der, som det fremgaar af Tabel 28, skelnet mellem Farvnuancerne Gul, Orange, Zinnober og Karmin, der ved den statistiske Behandling har faaet tildelt Talværdierne 6 (gul), 4, 2 og 0. Ved *Combers* Prøve er der skelnet mellem farveløs, svagt lyserød, lyserød og vinrød — som tilsvarende Talværdi er benyttet henholdsvis 6, 4, 2 og 0²⁾.

Af disse Undersøgelser fremgaar det, at Resultaterne af *Hasenbaümers* Prøve falder væsentlig bedre sammen med Resultaterne af de direkte Stødpudebestemmelser end Azotobacterprøven, idet vi her træffer en saa høj Korrelationskoefficient som $+0.51 \pm 0.08$ (Stødpudevirkningen udtrykt ved

¹⁾ Desværre har disse to Prøver ikke kunnet gennemføres for samtlige Jorder, idet hele Jordmængden i flere af de indsendte Jordprøver er medgaaet til Udførelse af Reaktionsbestemmelse, Azotobacterprøven, Titreringskurve o. s. v. Af de 100 her bearbejdede Jordprøver er *Combers* Prøve udført paa 92, *Hasenbaümers* paa 95.

²⁾ Det skal bemærkes, at den meget mørke, vinrøde Farver, der hyppigt fremkommer ved Undersøgelsen af meget sure Jorder, som f. Eks. Skovjorder (sml. *Fr. Weis*, 1924, Side 95), ikke er forekommet ved de her undersøgte Jordprøver.

$S \frac{R}{5.6}$). Hvad *Combers* Prøve angaar, stiller Forholdene sig her noget ugunstigere, idet Korrelationskoefficienten kun antager Værdien $+0.39 \pm 0.09$.

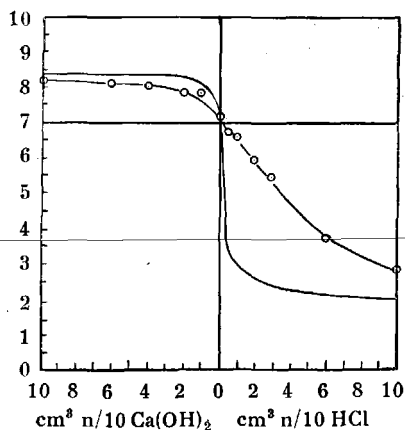


Fig. 6. Jord Nr. 280 (Løbe-Nr. 32).

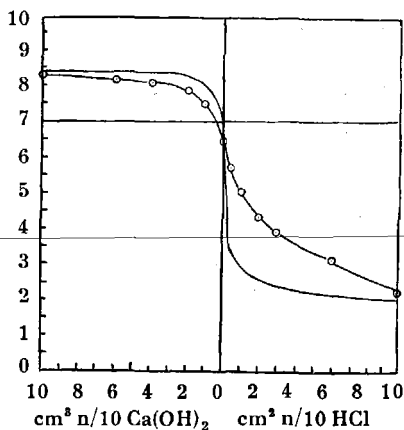


Fig. 7. Jord Nr. 632 (Løbe-Nr. 57).

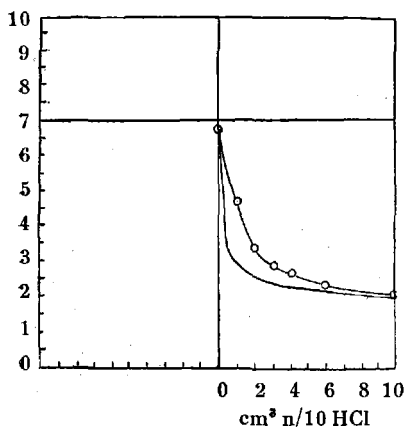


Fig. 8. Jord Nr. 05242 (Løbe-Nr. 38).

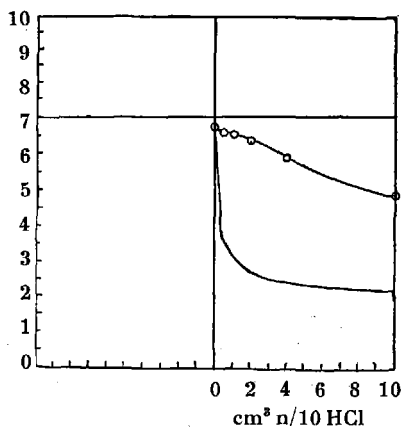


Fig. 9. Jord Nr. 1704 (Løbe-Nr. 73).

I Tilslutning til ovenstaaende vil det muligvis være paa-krævet at fremsætte et Par supplerende Bemærkninger angaaende de her behandlede Titreringskurver.

Vi vil da begynde med at betragte et Par ejendommelige Titreringskurver; i Fig. 6 er gengivet Kurven for Nr. 32; til

Trods for det høje Reaktionstal (7.20) og den meget store Stødpudevirkning ($S_{5.5}^R = 26$), giver denne Jord ingen Azotobacterhinde, skønt Forsøget er gentaget flere Gange. Som Modsætning hertil kan eksempelvis nævnes Nr. 57 (Fig. 7), hvor Azotobacterprøven ligeledes er gentaget flere Gange med positivt Resultat (Azotobacterudvikling: 3); ikke desto mindre viser Titreringskurven, at denne Jord maa betegnes som stødpudefattig ($S_{5.5}^R = 5$, $S_{5.0}^{6.0} = 8$).

Endvidere skal betragtes et Par Tilfælde, der tjener til Belysning af Forholdet mellem den aktuelle Surhedsgrad og Stødpudevirkningen. Nr. 38 (Fig. 8) og Nr. 73 (Fig. 9) har praktisk talt samme Reaktionstal, nemlig henholdsvis 6.78 og 6.80 — ikke desto mindre er der en overvældende Forskel i deres potentielle Surhedsgrad ($S_{5.5}^R$: henholdsvis 5 og 54; $S_{5.0}^{6.0}$: 4 og 42; $A_{5.0}^R$: 124 og 1390). Det turde være umiddelbart indlysende, at disse to Jorder — til Trods for samme Reaktionstal — er fuldkommen forskellige med Hensyn til »Kalktrang«. Disse to sidste Eksempler maner til Forsigtighed og viser klart, hvor let man vil naa til ganske misvisende Resultater ved at bedømme en Jords Kalktrang ud fra en Bestemmelse af Reaktionstallet alene. Der kan ikke være Tvivl om, at en saadan Fremgangsmaade i det lange Løb vil vise sig at være til Skade for en rationel Løsning af Kalktrangsspørgsmaalet. Det bør staa alle interesserede Parter klart, at Bestemmelsen af Reaktionstallet ikke er ensbetydende med en kvantitativ »Kalktrangsbestemmelse« — fyldestgørende Oplysninger om en Jords Reaktionsforhold forudsætter nødvendigvis Bestemmelsen af saavel den aktuelle som den potentielle Surhedsgrad, enten saa dette sker ved Optagelse af Titreringskurver eller paa anden Vis.

Det fortjener i denne Forbindelse at bemærkes, at man i Sverige — paa Grundlag af Arrhenius' Arbejder — har forsøgt at løse den kvantitative Side af Kalktrangsproblemet ved at kombinere en Bestemmelse af Reaktionstallet med en Bedømmelse af Jordbundens Sværhedsgrad (sml. Arrhenius, 1924). Til dette Formaal opstiller Arrhenius følgende Tabel, hvor Tallene angiver den Mængde CaO, udtrykt i kg, som det er nødvendigt at tilføre de paagældende Jorder pr. ha, saafremt Reaktionstallet ønskes ændret 1.0 p_H -Enhed.

	Muldfattig	Muldholdig	Muldrig
»Sand«.....	500	1000	1500—3000
»Mo«.....	500—1000	1000—1500	2000—3000
»Lättlera«.....	1500	2500	3500
»Mellanlera«.....	2500	3500	4000
»Styv lera«.....	3000	4000	4500
»Muljordar« (over 15 pCt. Muldindhold) ...	4000—8000		

Omsættes denne Tabel efter danske Forhold, vil vi faa følgende nogenlunde tilsvarende Skala:

Let Lermuld.....	1500	Let Sandjord	500
Lermuld.....	2500	Sandjord	1000
Ret svær og svær Lermuld .	3500	Ret muldrig Sandjord	2000
Meget svær Lermuld.....	4000	Muldrig Sandjord.....	3000
Humusjorder	4000—8000		

Saafermt vi regner, at det dyrkede Jordlag i hver ha svarer til 3 Millioner kg Jord, vil vi paa Grundlag af de i Tabel 28 opførte Værdier være i Stand til at foretage en Sammenligning mellem den kvantitative Kalktrang i nogle af de til nærværende Undersøgelse benyttede Jordprøver, beregnede dels efter *Arrhenius'* Forslag, dels paa Grundlag af de optagne Titreringskurver, idet det dog skal bemærkes, at de Værdier, der fremgaar direkte af Titreringskurverne, overalt bør forhøjes meget væsentligt, idet man i Praksis maa regne med, at Kalken langtfra fordeles saa godt i Marken som ved Laboratorieforsøget.

Af en saadan Sammenligning vil da fremgaa, at *Arrhenius'* Kalktrangsbedømmelse vel i mange Tilfælde vil give Resultater, der i Praksis vil være tilfredsstillende, men at dog Uoverensstemmelsen med de direkte af Titreringskurverne beregnede Værdier i ikke saa ganske faa Tilfælde er saa stor, at det vil være betænkeligt at anvende den som en Universalmethode, navnlig i Betragtning af, at vi med de moderne tekniske Hjælpemidler (Kinhydronelektroden o. a.) er i Stand til paa ret kort Tid at optage en Titreringskurve, der giver langt sikrere Besked. Imidlertid kan der ikke være Tvivl om, at *Arrhenius'* Metode betyder et Skridt i den rigtige Retning, idet den jo hviler paa Erkendelsen af, at Kalktrangsproblemet ikke lader sig løse ved en enkelt Bestemmelse af Reaktionstallet alene.

V. Oversigt over Resultaterne. — Afsluttende Bemærkninger.

Resultaterne af ovenstaaende Arbejde kan kort sammenfattes saaledes: *Azotobacter*prøvens Resultater kan ikke i Almindelighed anses for at give et sikkert Udtryk for

de undersøgte Jordprøvers Stødpudevirkning omkring Neutralpunktet. Ved en statistisk Bearbejdelse af Stødpudediagrammer af 100 forskellige Jordprøver, fordelt i p_H -Intervallet 5.9—7.3, viser det sig, at Korrelationskoefficienten mellem Azotobacterudviklingen og Stødpudevirkningen i flere Tilfælde er ret ringe og tilmed usikker. Forklaringen paa dette Forhold er denne: Udfaldet af Azotobacterprøven kan være afhængigt af flere forskellige Forhold, af hvilke kan nævnes: 1) Podehindens Beskaffenhed. 2) Jordprøvernes mikrobiologiske Forskelligheder, der ikke altid udlignes fuldt ud ved Podning med Raahinden. 3) Jordprøvernes vekslende Indhold af Nitratkvælstof, der ikke udlignes ved Azotobacterprøven, som jo netop foretages i et elektivt, kvælstoffrit Næringssubstrat. 4) Jordprøvernes Forskelligheder med Hensyn til Stødpudevirkning omkring Neutralpunktet. Den sidste Faktor, som man hidtil har tillagt den største Betydning, er altsaa kun een af flere. At den i et større eller mindre Antal Tilfælde kan gøre sig stærkere gældende end de øvrige, fremgaar af, at der, som omtalt, virkelig kan paavises et Korrelationsforhold mellem Azotobacterprøven og Stødpudevirkningen.

Hvis den ret almindelige Opfattelse, at det centrale Punkt i Kalktrangsproblemet er Jordens Stødpudevirkning, er rigtig, vil en direkte Bestemmelse af denne være betydelig mere rationel end Azotobacterprøven, og de paa Statens Planteavls-Laboratorium i den nyeste Tid udførte Undersøgelser maa siges at give Løfter om, at en saadan Fremgangsmaade ogsaa vil kunne udformes til Brug ved Masseundersøgelser, idet man da til dette rent praktiske Formaal vil kunne nøjes med langt færre Bestemmelser, end der er benyttet i det foreliggende Arbejde — de Punkter paa Kurven, der er beliggende over 7.5 eller under 5.0, vil jo temmelig sikkert være uden Betydning for Praxis. Muligvis kunde der være Grund til at have sin Opmærksomhed henvendt paa *Hasenbaümers* Prøve, der, som ovenfor vist, er den af de hidtil anvendte Prøver, der snarest vil kunne træde i Stedet for Titreringskurven, saafremt det af tekniske Grunde skulde vise sig ugørligt at optage Titreringskurver ved Masseundersøgelser. Prøven vil vel med

Fordel kunne ændres, saaledes at vi i Stedet for at benytte Farvenuancen som Maal direkte bestemmer Klorkaliumopslemningens Reaktionstal ved Hjælp af Kinhydronelektroden. Efter en saadan Modifikation vil *Hasenbaümers* Prøve være særdeles vel egnet til Masseundersøgelser.

Imidlertid er det ikke givet, at Kalktrang og Stødpudevirkning er Begreber, der fuldt ud dækker hinanden i ethvert givet Tilfælde; det maa ikke glemmes, at det er selve de levende Planteorganismer, der er højeste Instans i Bedømmelsen af Metodernes Anvendelighed. De forskellige Metoder maa nu som før gennemprøves under Forholdene, som de foreligger i Marken, og man kan paa nærværende Tidspunkt ikke se bort fra, at Azotobacterprøven er den eneste af samtlige i Øjeblikket anvendte Metoder, der med Held er gennemprøvet ved Markforsøg i større Udstrækning (*Harald R. Christensen* og *O. H. Larsen*, 1910). Forsøgene viste dengang, at Udfaldet af Azotobacterprøven, anstillet paa lakmusneutrale Jorder, i de 76 pCt. af Tilfældene var i sikker Overensstemmelse med Udfaldet af de tilsvarende Markforsøg. Et mere sikkert statistisk Udtryk for det omtalte Gensidighedsforhold faas ved Beregning af den tilsvarende Korrelationskoefficient. Gennemføres denne for de 50 lakmusneutrale Jorder, finder vi $r = \div 0.58 \pm 0.09$, altsaa en ret betydelig Korrelation (at Korrelationen er negativ, vil i dette Tilfælde sige: jo kraftigere Azotobacterudvikling, desto ringere Merudbyttet ved Kalktilførsel). Korrelationen er dog paa den anden Side ikke større, end at de tidligere i Tilknytning til Markforsøg udførte Undersøgelser saa nogenlunde kan bringes i Overensstemmelse med de Tanker, der er fremførte i nærværende Arbejde. I øvrigt kan det maaske heller ikke betragtes som helt sikkert, at en Gentagelse af Markforsøgene vil give lige saa god Overensstemmelse med Azotobacterprøven nu som for 15—20 Aar siden; de danske Agerjorders forbedrede Gødningskraft og den deraf følgende Ændring af den kemiske og mikrobiologiske Tilstand kan, som Helhed set, muligvis i nogen Grad have forrykket Azotobacterprøvens Relation til Markforsøgene¹⁾.

¹⁾ Det fortjener ogsaa at fremhæves, at alle, der i længere Tid har arbejdet med Azotobacterprøven, samstemmer i, at Azotobacterhinderne gennemgaaende ikke er saa kraftige og typisk udviklede som for Aar tilbage. Dette Forhold kan muligvis føres tilbage til, at den til Prøverne anvendte Mannit ikke er samme Kvalitet som tidligere — før Krigen.

Imidlertid har Azotobacterprøven jo bestaaet sin Prøve ved Markforsøgene og vil ikke uden Betænkelighed kunne forlades til Fordel for nyere Metoder, saalænge disse ikke ligeledes har været kontrolleret ved Markforsøg. Til Trods for sine Mangler har jo Azotobacterprøven vist sin Betydning for Kalktrangsundersøgelserne ved de Tusinder af Jordprøver, der i Aarenes Løb er blevet undersøgte efter denne Metode. Sin store Betydning har Azotobacterprøven netop haft derved, at den paa et Tidspunkt, da Reaktionsmaalingen endnu var i sin Vorden, og da »Stødpudevirkning« og »Reaktionstal« var ukendte Begreber, satte os i Stand til paa en let Maade at skaffe en bedre og relativt sikrere Underretning om Jordbundens Reaktionsforhold end man paa daværende Tidspunkt var i Stand til at fremskaffe paa anden Vis. I hvert Fald er det jo en Kendsgerning, at ved Jorder, hvis Reaktionstal ved elektrometrisk Maaling er beliggende under 6.0 eller over 7.3, giver Azotobacterprøven saa godt som altid henholdsvis negativt og positivt Resultat — Undtagelserne herfra er kun yderst faa. Og naar Azotobacterprøven ved de foreliggende Undersøgelser i flere Tilfælde synes at have givet et mindre tilfredsstillende Resultat, da maa det ikke glemmes, at vi ved disse Undersøgelser stadig har bevæget os inden for det kritiske p_H -Interval 6.0—7.3, hvor den enkelte, simple Reaktionsbestemmelse ikke giver Oplysning om Jordens Kalktrang, og at Azotobacterprøven her altid udføres som Supplement til Brintionmaalingen.

Det er saaledes i Intervallet p_H 6.0—7.3, at vi allermest har Brug for en sikker og bekvem Metode, og her maa da fortsatte Undersøgelser prøve at finde nye Baner, og de nyere Metoder kontrolleres ved Markforsøg. Først naar vi i Laboratoriet er i Stand til at udføre en eksakt kvantitativ Kalktrangsbestemmelse og samtidig ved os i Overensstemmelse med de praktiske Markforsøg, kan Problemet vedrørende Bestemmelse af Jordens Kalktrang videnskabeligt og praktisk siges at have fundet sin Løsning. Og naar Forfatteren af nærværende Arbejde offentliggør dette nu — til Trods for dets ufuldstændige Løsning af mange af Problemerne —, da er det først og fremmest i det Haab, at det muligvis vil kunne bidrage til Fremskyndelsen af saadanne Forsøg.

Tabel 26. Salpeterkoncentrationen ved Azotobacterprøven.

Jord- prøvens Nr.	Jordbundsbeskaffenhed	Azoto- bacter- prøven	Reak- tions- tal	mg. KNO ₃ pr. kg Tør- jord	Salpeter- koncentrationen ved Azotobacter- prøven (mg KNO ₃ pr. Liter)
5253	Sandmuld.....	4	7.6	57.7	5.8
5254	do.	4	7.4	46.9	4.7
5255	do.	4	6.8	100.9	10.1
5258	do.	4	7.4	25.2	2.5
5259	do.	4	7.1	126.2	12.7
5262	do.	4	6.8	57.7	5.8
5285	Let Lermuld.....	0	6.6	32.5	3.3
5286	Sandmuld.....	4	7.0	252.4	25.2
5287	do.	4	7.4	126.2	12.6
5288	Lermuld.....	4	7.3	162.2	16.2
5290	Sandmuld.....	0	6.9	64.9	6.5
5299	do.	0	6.5	36.1	3.6
5304	do.	0	6.5	25.2	2.5
5306	do.	0	6.7	50.5	5.1
5372	Ret muldrig Sandjord....	0	6.8	28.8	2.9
5419	Let Lermuld.....	0	6.6	43.3	4.3
5422	do.	0	6.9	14.4	1.4
5430	Sandmuld.....	4	7.0	93.7	9.4
5436	do.	3	6.6	46.9	4.7
5437	do.	4	7.0	39.7	4.0
5438	Let Lermuld.....	3	6.6	50.5	5.1
5439	do.	4	7.3	43.3	4.3
5446	Sandmuld.....	2	6.2	32.5	3.3
5455	Let Lermuld.....	3	6.9	21.6	2.2
5456	Sandmuld.....	4	6.8	144.2	14.4
5460	do.	3	7.2	7.2	0.7
5473	Let Lermuld.....	4	7.3	21.6	2.2
5476	do.	4	7.5	10.8	1.1
5480	do.	3	6.3	129.8	13.0
5483	do.	0	6.6	158.6	15.9
5498	do.	0	6.3	360.5	36.1
5505	do.	4	8.3	14.4	1.4
5516	Sandmuld.....	2	6.9	93.7	9.4
5547	do.	0	6.5	32.5	3.3
5561	Let, ret muldrig Sandjord.	1	6.4	28.8	2.9
5572	Sandmuld.....	4	6.4	72.1	7.2
5590	do.	2	6.7	57.1	5.8
5593	do.	0	6.7	36.1	3.6
07590	Let Lermuld.....	0	6.5	86.5	8.7
07615	Sandmuld.....	0	6.3	10.8	1.1
07755	Let Lermuld.....	4	6.3	270.4	27.0
07777	Lermuld.....	1	6.6	176.7	17.7
07820	Sandmuld.....	2	6.8	18.0	1.8
07832	do.	2	6.8	10.8	1.1
07835	Let Lermuld.....	0	6.5	14.4	1.4
07838	Sandmuld.....	4	7.0	10.8	1.1
07841	Let Lermuld.....	0	6.4	14.4	1.4
07866	Sandmuld.....	4	7.2	10.8	1.1
07918	do.	2	6.5	50.5	5.1

Tabel 27. Titreringstabel.

Løbe-Nr.	Jord- prøvens Nr.	pH i Opslemninger, tilsat cm ³ n/10 Ca(OH) ₂ pr. 10 g Jord, 100 cm ³ Vædske									Reak- tions- tal	pH i Opslemninger, tilsat cm ³ n/10 HCl pr. 10 g Jord, 100 cm ³ Vædske								
		0.5	1	1.5	2	3	4	6	8	10		0	0.5	1	2	3	4	6	10	
1	130	7.91			8.02		8.18	8.36		8.38	6.92	6.23	5.65	4.55	4.06			3.23	2.62	
2	134	7.58			7.82		7.92	8.10		8.30	6.73	5.80	5.22	4.25	3.46			2.84	2.40	
3	0 131	6.81			7.45		7.82		8.15	8.30	6.42	5.90	5.25	4.66	4.20			3.18	2.55	
4	11 108	7.45			7.75		8.00		8.30	8.30	6.40	5.90	5.50	4.82	4.45			3.60	2.92	
5	11 121	6.76			7.10		7.69	7.93		8.10	6.08	5.48	5.00	4.38	4.05			3.29	2.75	
6	11 082	7.55			7.81		8.05	8.23		8.35	6.78	6.23	5.70	4.80	4.35			3.40	2.70	
7	47	6.80			7.26		7.68				6.50	5.88	5.25	4.55	4.08			3.24	2.70	
8	140	7.22			7.40		7.70				6.58	6.18	5.90	5.26	4.78			3.78	3.12	
9	18 501	7.25			7.46		7.73	8.04		8.30	6.55	5.96	5.60	4.95	4.48			3.45	2.73	
10	11 097	7.53			7.78		8.13	8.30		8.40	6.70	6.10	5.55	4.76	4.40			3.54	2.82	
11	11 085	7.14			7.53		8.03	8.23		8.40	6.33	5.68	5.18	4.60	4.20			3.90	2.73	
12	11 077	7.56			7.83		8.04	8.20		8.37	6.85	6.46	5.86	5.07	4.70			3.73	3.10	
13	11 244	7.30			7.50		7.83	8.10		8.20	6.40	5.55	5.18	4.62	4.12			3.20	2.58	
14	11 117	6.97			7.30		7.65			8.00	6.48	5.96	5.45	4.90	4.55			3.85	3.30	
15	18 508	7.45			7.64		7.93	8.05		8.15	6.61	6.15	5.43	4.61	4.20			3.33	2.70	
16	11 147	7.50			7.80		8.05	8.23		8.30	6.55	5.92	5.42	4.72	4.20			3.20	2.68	
17	11 208	7.15			7.50		8.00	8.15		8.35	6.48	5.95	5.45	5.00	4.50			3.62	2.92	
18	11 105	7.45			7.82		8.00	8.15		8.19	6.52	6.30	5.90	5.28	4.92			4.13	3.55	
19	11 087	7.52			7.76		8.03	8.16		8.32	6.77	6.20	5.73	5.12	4.78			3.88	3.14	
20	11 111	6.85			7.28		7.73	7.91		8.22	6.12	5.31	4.86	4.30	3.78			2.94	2.48	
21	11 100	7.70			8.00		8.28		8.43	8.45	6.73	6.20	5.75	4.91	4.51			3.42	2.74	
22	11 216	7.60			7.93		8.09		8.39	8.37	6.75	5.78	5.22	4.60	4.02			3.19	2.46	
23	11 151	7.50			7.60		8.15	8.37		8.40	6.63	6.00	5.62	5.03	4.55			3.85	3.00	
24	11 243	7.44			7.61		8.11	8.34		8.42	6.65	5.85	5.18	4.53	4.00			3.12	2.45	
25	11 237	7.61			7.88		8.13	8.24		8.32	6.76	6.10	5.63	5.00	4.45			3.45	2.75	
26	11 218	7.61			7.95		8.20	8.30		8.42	6.55	5.70	5.20	4.53	4.00			3.10	2.54	
27	0 380	7.45			7.72		8.00	8.20		8.32	6.67	6.18	5.95	5.16	4.77			3.60	2.97	
28	0 440	7.50			7.70		7.98	8.15		8.30	6.80	6.40	5.93	5.35	4.82			3.76	3.00	
29	459	7.50			7.85		8.06	8.15		8.20	6.71	6.07	5.45	4.80	4.35			3.40	2.75	
30	0 783	6.88			7.15		7.55	7.79		8.05	6.40	5.75	5.30	4.56	4.03			3.20	2.55	
31	449	7.42			7.71		7.98	8.09		8.18	6.45	6.05	5.65	4.93	4.45			3.40	2.70	
32	280	7.85			7.80		8.00	8.08		8.15	7.20	6.75	6.60	5.90	5.38			3.78	2.78	
33	2 382										6.58	5.96	5.43	4.75	4.28	3.82		3.35	2.70	
34	389	6.55	7.03	7.23	7.42	7.65	7.80	8.02	8.20	8.27	5.96		4.48	3.61		2.96	2.65	2.32		
35	390	7.03	7.31	7.50	7.62	7.87	8.03	8.22	8.28	8.32	6.30		5.00	4.23		3.40	2.85	2.45		
36	391	7.00	7.25	7.40	7.56	7.78	7.92	8.09	8.15	8.16	6.20		4.94	4.15		3.34	2.85	2.35		
37	0 749		7.55		7.80		8.01	8.20		8.35	7.10	6.61	6.43	5.56	4.79			3.56	2.70	
38	05 242										6.78	5.87	4.75	3.43	2.97	2.75		2.42	2.08	
39	269		7.35		7.60		7.90	8.00		8.20	6.75	6.28	5.84	5.33	4.55			3.20	2.63	
40	0 730		7.29		7.50		7.84	8.00		8.24	6.18	5.51	5.02	4.10	3.75			2.84	2.41	
41	273		7.58		7.72		7.95	8.10		8.37	7.16	6.60	5.79	4.90	3.95			3.01	2.90	
42	246		7.48		7.73		8.02	8.20		8.36	6.71	6.10	5.30	4.33	3.65			2.80	2.30	
43	347	6.90	7.20		7.60		7.98	8.20		8.29	6.60	5.86	5.58	4.95	4.50			3.51	2.90	
44	379	7.10	7.35		7.60		7.95	8.15		8.24	6.45	5.90	5.23	4.50	4.00			3.10	2.55	
45	0 825		7.02	7.20	7.49		7.90	8.01		8.25	6.39	6.05	5.74	4.80	4.50			3.45	2.75	
46	341		7.49	7.78	8.00		8.19	8.30		8.47	6.87		5.94	4.90	4.24			3.34	2.75	
47	377		7.15	7.50	7.84		8.05	8.23		8.33	6.54		5.60	4.90	4.45			3.25	2.70	
48	339		7.20	7.50	7.80		8.20	8.29		8.45	6.54	5.90	5.30	4.70	4.25			3.05	2.50	
49	268			7.79	7.86		8.00	8.15		8.30	7.05	6.90	6.70	6.20	4.80			3.91	3.00	
50	05 266										6.59	6.08	5.60	5.06	4.52	4.09		3.52	2.85	

Tabel 27 (fortsat).

Løbe-Nr.	Jord- prøvens Nr.	p _H i Opslemninger, tilsat cm ³ n/10 Ca(OH) ₂ pr. 10 g Jord, 100 cm ³ Vædske								Reak- tions- tal	p _H i Opslemninger, tilsat cm ³ n/10 HCl pr. 10 g Jord, 100 cm ³ Vædske							
		0.5	1	1.5	2	3	4	6	8		10	0	0.5	1	2	3	4	6
51	0 805	6.70	6.95		7.35		7.70	7.96		8.16	6.19	5.50	5.11	4.40	3.80		2.96	2.45
52	368	7.20	7.45		7.73		7.98	8.10		8.30	6.65	6.20	5.82	5.22	4.75		3.85	3.20
53	367	6.85	7.19		7.54		7.85	7.96		8.10	6.60	6.17	5.35	4.80	4.35		3.40	2.75
54	674		7.41		7.71		8.00	8.10		8.30	6.80	6.20	5.60	4.79	4.10		3.05	2.50
55	673		6.81		7.30		7.72	7.93		8.11	5.96	5.25	4.80	4.11	3.50		2.70	2.35
56	675		7.25		7.50		7.73	7.95		8.07	6.60	5.95	5.60	4.84	4.38		3.25	2.66
57	632		7.50		7.85		8.09	8.20		8.30	6.43	5.70	5.10	4.40	4.00		3.20	2.80
58	2 156										6.18	5.70	5.42	4.73	4.28	4.00	3.43	2.78
59	01 964										6.78	5.98	5.77	4.79	4.20	3.92	3.20	2.67
60	01 943										6.70	6.20	5.78	4.91	3.78	3.47	2.95	2.48
61	01 982										6.00	5.48	5.05	4.64	4.18	3.87	3.32	2.82
62	02 087										6.78	5.99	5.06	3.84	3.27	2.93	2.55	2.28
63	02 806										6.96	6.25	5.68	5.21	4.21	3.63	3.06	2.43
64	02 316										6.21	5.46	5.20	4.64	4.40	3.91	3.40	2.84
65	02 638										7.25	6.75	6.57	6.03	5.44	5.29	4.47	3.29
66	02 415										6.75	6.08	5.73	5.08	4.91	4.54	3.98	3.04
67	1 479										6.77	6.31	5.84	4.98	4.66	4.36	3.90	3.26
68	1 499										6.74	6.04	5.67	5.03	4.50	4.12	3.47	2.97
69	1 574										6.54	5.77	5.31	4.62	4.17	3.77	3.28	2.73
70	1 603										6.98	6.34	5.82	5.01	4.33	4.08	3.37	2.75
71	1 673										7.12	6.91	6.45	5.62	5.28	4.83		3.23
72	1 693										6.67	6.18	5.87	5.06	4.52	4.08	3.38	2.75
73	1 704										6.80	6.63	6.58	6.38				4.86
74	03 123										6.78	5.85	5.42	4.82	4.32	3.96	3.28	2.75
75	1 646										7.25	7.22	6.66	6.02	5.41	5.28	4.79	4.03
76	1 617										7.18	6.57	6.10	5.37	4.85	4.42	3.68	2.85
77	1 622										7.16	6.92	6.32	5.59	4.96	4.59	3.88	3.01
78	1 659										7.02	6.49	6.16	5.36	4.81	4.64	3.96	3.27
79	02 384										6.98	6.60	6.30	5.58	5.06	4.65	3.86	2.93
80	1 738										6.93	6.43	5.92	5.15	4.59	4.18	3.64	2.96
81	1 796										6.31	5.36	4.86	4.30	3.88	3.61	3.14	2.65
82	1 886										6.00	5.89	5.64	4.61	4.10			2.65
83	1 898										6.56	6.08	5.62	5.08	4.66	4.28	3.59	2.85
84	1 627										6.41	5.76	5.33	4.64	4.02	3.59	3.05	2.63
85	05 499										6.59	6.04	5.56	4.93	4.45	4.12	3.57	2.84
86	1 687										6.78	6.33	5.94	5.30	4.76	4.35	3.76	3.13
87	1 842										6.57	5.77	5.16	4.45	3.96	3.57	3.07	
88	03 410										6.68	6.06	5.67	4.97	4.40	4.11	3.52	2.89
89	03 413										6.50	5.78	5.18	4.40	3.77	3.37	2.95	2.48
90	03 427										6.58	6.07	5.58	4.85	4.33	3.99	3.34	2.77
91	2 133										6.30	5.73	5.30	4.79	3.33	3.89	3.42	2.75
92	1 918										6.30	5.74	5.19	4.60	4.01	3.57	3.06	2.56
93	1 932										6.40	5.57	5.20	4.35	3.88	3.48	3.04	2.56
94	1 942										6.75	6.32	5.65	4.80	4.40	3.96	3.33	2.72
95	1 985										6.32	6.02	5.47	4.89	4.32	3.94	3.46	2.75
96	1 997										6.19	5.67	5.30	4.72	4.21	3.87	3.19	2.65
97	2 000										6.44	5.93	5.60	5.02	4.70	4.30	3.77	3.02
98	2 012										6.29	5.84	5.50	5.01	4.53	4.20	3.66	3.09
99	2 099										6.53	5.87	5.42	4.90	4.59	4.04	3.49	2.84
100	2 132										6.43	6.09	5.77	5.20	4.71	4.30	3.82	2.96

Tabel 28. Oversigtstabel over de til Titreringskurverne benyttede Jordprøver.

Løbe-Nr.	Jord- prøvens Nr.	Gruppe-Nr.	Jordbundsbeskrivelse	Sværhed	Brusning	Reaktionstal	Azotobacter- udvikling	Combers Reaktion ¹⁾	Hasen- bäumers Reaktion	A ^R _{5.0} mm ²	S ^{6.0} _{5.0} (mm)	S ^R _{5.0} (mm)	S ^{6.5} _{5.5} (mm).
1	130	2	Let Lermuld.....	5	0	6.92	0	÷	Gul	200	7	8	6
2	134	3	Sandmuld	4	1	6.73	0-1			155	6	6	5
3	0 131	4	Let Lermuld.....	5	0	6.42	0	++)	Cin.	155	10	8	
4	11 108	4	do.	5	0	6.40	4	++)	Oran.	215	12	9	
5	11 121	6	Sandmuld	4	0	6.08	0	++)	Cin.	83	7	4	
6	11 082	3	Lermuld	6	0	6.78	4	++)	Or.	248	9	10	8
7	47	4	Ret svær Lermuld...	7	0	6.50	0		Cin.	160	8	8	
8	140	4	Ret muldrig Sandjord	5	0	6.58	4			320	17	14	
9	18 501	4	Let Lermuld.....	5	0	6.55	0	++)	Or.	227	13	10	
10	11 097	3	Lermuld	6	0	6.70	3	÷	Or.	220	10	9	9
11	11 085	5	do.	6	0	6.33	0	++)	Cin.	127	8	6	
12	11 077	2	Let Lermuld.....	5	1	6.25	4	÷	Gul	316	11	13	11
13	11 244	4	Sandmuld	4	0	6.40	0	++)	Cin.	104	9	5	
14	11 117	4	Ret muldrig Sandjord	5	0	6.48	3	+	Or.	194	12	9	
15	18 508	3	do.	5	0	6.61	0			175	8	7	6
16	11 147	4	Lermuld	6	0	6.55	4	÷	Or.	184	10	8	
17	11 208	4	Sandmuld	4	0	6.48	0	++)	Or.	200	12	9	
18	11 105	4	Let, ret muldrig Sandj.	6	2	6.52	4	÷	Gul	330	18	14	
19	11 087	3	Lermuld.....	6	1	6.77	4	÷	Or.	275	14	11	9
20	11 111	6	Let Lermuld.....	5	0	6.12	0	+	Karmin	56	6	3	
21	11 100	3	do.	5	0	6.73	4	÷	Gul	265	12	10	8
22	11 216	3	do.	5	0	6.75	0	+	Cin.	125	9	6	5
23	11 151	3	Ret muldrig Sandjord	5	0	6.63	4	÷	Gul	232	14	10	9
24	11 243	3	Sandmuld	4	0	6.65	0	÷	Or.	136	7	6	5
25	11 237	3	do.	4	0	6.76	4	++)	Gul	246	13	10	9
26	11 218	4	Let Lermuld.....	5	0	6.55	0	++)	Cin.	129	9	6	
27	0 380	3	Sandmuld	4	0	6.67	0	÷	Gul	302	15	13	11
28	0 440	2	Let Sandmuld	3	0	6.80	4	÷	Gul	382	15	16	14
29	459	3	Ret svær Lermuld...	7	0	6.71	3	++)	Gul	220	11	9	8
30	0 783	4	Let, ret muldrig Sandj.	4	0	6.40	2			162	10	8	
31	449	4	Ret svær Lermuld...	7	0	6.45	4	÷	Gul	236	13	10	
32 ²⁾	280	1	Sandmuld	4	1	7.20	0	÷	Gul	714	15	26	17
33	2 382	4	Let Lermuld.....	5	0	6.58	0	÷	Gul	202	11	8	
34	389	6	Ret muldrig Sandjord	5	0	5.96	0	+++	Cin.	39	4	2	
35	390	5	Sandmuld	4	0	6.30	2	+	Cin.	106	7	5	
36	391	5	do.	4	0	6.20	3	+	Cin.	93	7	4	
37	0 749	1	Let Sandjord	3	1	7.10	2	÷	Or.	460	12	17	13
38	05 242	3	Let Sandmuld	3	0	6.78	0	÷	Cin.	124	4	5	4
39	269	3	do.	3	0	6.75	0	÷	Or.	345	13	14	11
40	0 730	6	do.	3	0	6.18	3	÷	Cin.	94	7	4	
41	273	1	do.	3	1	7.16	0	÷	Gul	290	7	10	8
42	246	3	do.	3	0	6.71	0	÷	Gul	151	7	7	6
43	347	3	Lermuld.....	6	1	6.60	4	+	Cin.	225	13	10	9
44	379	4	Sandmuld	4	0	6.45	2	+	Cin.	125	9	6	
45 ³⁾	0 825	5	Ret muldrig Sandjord	4	0	6.39	4	+	Cin.	260	13	12	12
46	341	2	Svær Lermuld	8	0	6.87	3	÷	Gul	295	10	12	10
47	377	4	Sandmuld	4	0	6.54	2	÷	Cin.	218	12	10	
48	339	4	do.	4	0	6.54	1	÷	Cin.	160	9	7	
49	268	1	Let Sandmuld.....	3	0	7.05	4	÷	Gul	760	5	24	16
50	05 266	4	Let Lermuld.....	5	0	6.59	0	÷	Or.	261	13	12	

¹⁾ Farvenuancerne karakteriseres ved flg. Værdier: ÷ (farveløs), + (svagt lyserød), ++ (lyse-rød) og +++ (vinrød). ²⁾ Azotobacterprøven foretaget flere Gange. ³⁾ Uregelmæssig Kurve.

Tabel 28 (fortsat).

Løbe-Nr.	Jord- prøvens Nr.	Gruppe-Nr.	Jordbundsbeskrivelse	Sværhed	Brusning	Reaktionstal	Azotobacter- udvikling	Combers Reaktion	Hasen- bäumers Reaktion	A _{5.9} R mm ²	S _{5.0} 5.0 (mm)	S _{5.5} R 5.5 (mm)	S _{5.5} 6.5 5.5 (mm)
51	0805	6	Sandmuld	4	0	6.19	3	+	Cin.	100	9	5	
52	368	3	Ret svær Lermuld...	7	0	6.65	4	+	Cin.	300	16	13	12
53	367	3	Svær Lermuld	8	0	6.60	2	+	Cin.	208	11	9	9
54	674	2	Let Lermuld	5	0	6.80	2	+	Gul	245	9	10	8
55	673	6	do.	5	0	5.96	2	+	Cin.	66	7	3	
56	675	3	do.	5	0	6.60	2	+	Gul	222	12	10	10
57 ¹⁾	632	4	do.	5	0	6.43	3		Gul	106	8	5	
58	2156	6	do.	5	0	6.18	0	+	Cin.	153	13	8	
59	01964	3	Ret muldrig Sandjord	4	0	6.78	3	+	Cin.	220	10	9	7
60	01943	3	Sandmuld	4	0	6.70	0	+	Gul	250	9	11	10
61	01982	6	do.	4	0	6.00	4	++	Cin.	100	11	4	
62	02087	3	Let Sandmuld	3	0	6.78	0	+	Gul	134	5	6	6
63	02806	2	Sandmuld	4	0	6.96	0	+	Gul	260	10	10	8
64	02316	5	Ret muldrig Sandjord	4	0	6.21	3	+	Or.-Cin.	100	11	4	
65	02638	1	Sandmuld	4	2	7.25	3	+	Gul	810	27	26	18
66	02415	3	Ret muldrig Sandjord	4	0	6.75	0	+	Or.	282	16	12	11
67	1479	3	Lermuld	6	0	6.77	0	+	Cin.-Or.	320	13	12	10
68	1499	3	Let Lermuld	5	0	6.74	0	+	Cin.	230	14	10	9
69	1574	4	Meget svær Lermuld.	9	0	6.54	3	+	Or.	157	9	7	
70	1603	2	Svær Lermuld	8	0	6.98	0	+	Or.-Cin.	290	11	11	8
71	1673	1	Sandmuld	4	0	7.12	0	+	Gul	630	19	23	16
72	1693	3	Svær Lermuld	8	0	6.67	4	+	Or.	275	12	12	10
73	1704	2	Sandmuld	4	0	6.80	4	+	Gul	1390	42	54	42
74	03123	3	Lermuld	6	0	6.78	4	+	Cin.	184	11	7	6
75	1646	1	Ret muldrig Sandjord	4	0	7.25	4	+	Gul	810	27	29	20
76	1617	1	Sandmuld	4	0	7.13	0	+	Gul	409	14	17	13
77	1622	1	Let Lermuld	5	0	7.16	4	+	Gul	515	14	19	13
78	1659	1	Ret muldrig Sandjord	5	0	7.02	0	+	Gul	430	17	17	13
79	02384	2	Lermuld	6	1	6.98	1	+	Or.	525	17	20	14
80	1738	2	do.	6	0	6.93	0	+	Or.	356	13	14	10
81	1796	5	do.	6	0	6.81	0	+	Cin.	65	7	3	
82	1886	6	Let Lermuld	5	1	6.00	3	+	Gul	195	15	11	
83	1898	4	Sandmuld	4	1	6.56	4	+	Gul	258	16	11	
84	1627	4	do.	4	0	6.41	3	+	Or.	148	11	7	
85	05499	4	Let Lermuld	5	0	6.59	0	+	Cin.-Or.	236	13	10	
86	1687	3	Sandmuld	4	0	6.78	4	+	Gul	370	16	15	12
87	1842	4	do.	4	0	6.57	0	++	Cin.	126	8	6	
88	03410	3	Lermuld	6	0	6.88	0	+	Gul	250	13	11	10
89	03413	4	do.	6	0	6.50	0	+	Or.	133	8	6	
90	03427	4	Sandmuld	4	1	6.58	4	+	Gul	215	11	9	
91	2133	5	do.	4	0	6.30	0	+	Cin.	139	12	7	
92	1918	5	Let Lermuld	5	0	6.39	4	+	Or.	111	9	5	
93	1932	4	do.	5	0	6.40	3	+	Cin.	106	8	5	
94	1942	3	Lermuld	6	0	6.75	0	+	Or.	255	11	11	9
95	1985	5	Let Lermuld	5	0	6.32	0	+	Cin.	192	12	9	
96	1997	6	Sandmuld	4	0	6.19	0	+	Cin.	133	12	6	
97	2000	4	do.	4	0	6.44	0	+	Or.	228	16	10	
98	2012	5	Let Lermuld	5	0	6.29	0	+	Cin.	186	16	9	
99	2099	4	do.	5	0	6.53	0	+	Cin.	177	13	8	
100	2132	4	Sandmuld	4	0	6.48	0	+	Or.	302	16	14	

¹⁾ Azotobacterprøven foretaget flere Gange.

Litteraturfortegnelse.

- Arrhenius, O.*: Anvisningar angående utförande av markreaktions- och kalk-behovsundersökningar vid sockerfabrikerna, Separattryck av förhandlingar vid Svenska Sockerfabrikssdirigenternas förenings årsmöte d. 26.—27. Marts 1924. Malmö 1924.
- *Der Kalkbedarf des Bodens vom pflanzenphysiologischen Standpunkt.* Zeitschrift f. Pflanzenernährung und Düngung. Teil A, 3. Jahrg., Heft 3. Leipzig 1924.
- Benecke, Wilhelm*: Bau und Leben der Bakterien. Teubner 1912.
- Beijerinck u. van Delden*: Über die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien. Centralblatt für Bakteriologie, II Abt., 9. Bd., 1902, p. 3.
- Biilmann, E.*: On the Measurement of Hydrogenionconcentration in Soil by Means of the Quinhydronelectrode. Journal of Agricultural Science. Vol. XIV, Part 2. April 1924.
- Bjerrum, N. og Gjaldhæk, J. K.*: Undersøgelse over de Faktorer, som bestemmer Jordbundens Reaktion. Den kgl. Veterinær- og Landbohøjskoles Aarsskrift. København 1919, S. 48.
- Bonazzi, A.*: Studies on *Azotobacter chroococcum* of Beijerinck. Journal of Bact. Vol. 6, 1921, p. 331.
- Bondorff, K. A.*: Om Benyttelse af Mikroorganismer til Bestemmelse af Jordens Indhold af Plantenæringsstoffer, der er tilgængelige for højere Planter. Den kgl. Veterinær- og Landbohøjskoles Aarsskrift. København 1918, S. 339.
- Bondorff, K. A. og Christensen, Harald R.*: Om Bestemmelse af »organisk Stof« ved Omsætningsforsøg med Jord. Tidsskrift for Planteavl. 28. Bind, 1922, S. 265.
- Brenner, W.*: Azotobacter in Finnländischen Böden. Agrogeologiska Meddelanden. Nr. 20. Helsingfors 1924.
- Über die Reaktion Finnländischer Böden. Agrogeologiska Meddelanden. Nr. 19. Helsingfors 1924.
- Brierley, W. B.*: Soil Fungi. The Microorganisms of the Soil. The Rothamsted Monographs on Agricultural Science. London 1923, p. 118.
- Burri, R.*: Ref. i Kochs Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen. 15. Bd., 1904, p. 402.
- Christensen, Harald R.*: Om Binding af Luftens fri Kvælstof ved frit levende Mikroorganismer. Tidsskrift for Planteavl. 16. Bd., S. 303. 1909.
- og *Larsen, O. H.*: Undersøgelser over Jordens Kalktrang. Tidsskrift for Planteavl. 17. Bd., S. 407. 1910.
- Studier over Jordbundsbeskaffenhedens Indflydelse paa Bakterielivet og Stofomsætningen i Jordbunden. Tidsskrift for Planteavl. 21. Bd., S. 321. 1914.
- Undersøgelser vedrørende nogle nyere Fremgangsmaader til Bestemmelse af Jordens Reaktion og Kalktrang. Tidsskrift for Planteavl. 28. Bd., S. 733. 1923.
- Kalkspørgsmaalet i Belysning af den nyere Jordbundsforskning. Tidsskrift for Planteavl. 30. Bd., S. 791. 1924.
- og *Tovborg Jensen, S.*: Undersøgelser vedrørende elektrometriske Metoder til Bestemmelse af Jordreaktionen. Tidsskrift for Planteavl. 29. Bd., S. 783. 1923.
- Czapek, F.*: Biochemie der Pflanzen. 2. Aufl. 2. Bd. Jena 1920.
- Fred, E. B. and Davenport, A.*: Influence of Reaction on Nitrogen-Assimilating Bacteria. Journ. of Agric. Research. Vol. XIV, p. 317. 1918.
- Gaarder, T. og Hagem, O.*: Salpetersyredannelse i udyrket Jord. Vestlandets forstlige Forsøksstation. Bd. 2. Hefte 2. Bergen 1921.
- Gainey, P. L.*: Soil Reaction and the Growth of *Azotobacter*. Journal of Agricultural Research. Vol. XIV, p. 265. Washington 1918.
- Influence of the Absolute Reaction of a Soil upon its *Azotobacterflora* and Nitrogen Fixing Ability. Journal of Agricultural Research. Vol. XXIV, No. 11, p. 907. 1923.

- Gainey and Batchelor, H. W.*: Influence of the Hydrogen-ion Concentration on the Growth and Fixation of Nitrogen by Cultures of *Azotobacter*. Journal of Agricultural Research. Vol. XXIV, No. 9, p. 759. 1923.
- Gerlach und Vogel*: Über eiweissbildende Bakterien. Centralblatt für Bakt., II Abt., Bd. VII, p. 609. 1901.
- Henriqus, O. M.*: Om Brintionmaalinger. København 1924.
- Hudig, J. und Sturm, W.*: Het meten van waterstof-ionenconcentraties in Bodenextraktes en Boden. Rijkslandbouwproefstat 23. 1919 (Ref. efter Arrhenius).
- Janke, Alexander*: Allgemeine technische Mikrobiologie. I Teil: Die Mikroorganismen. Dresden-Leipzig 1924.
- Johannsen, W.*: Elemente der exakten Erblchkeitslehre. 2. Aufl. Jena 1913.
- Johnson, Harlan W. and Lipman, Charles B.*: The effect of Reaction on the Fixation of Nitrogen by *Azotobacter*. University of California Publications in Agricultural Sciences. Vol. 4. No. 12, p. 397. 1922.
- Kruse, W.*: Allgemeine Mikrobiologie. Leipzig 1910.
- Krzemieniewski, S.*: Untersuchungen über *Azotobacter chroococcum* Beij. Extr. du Bull de l'Academie des Sciences de Cracovie. Clas. des Sciences Mat. et Nat., p. 929. Nov. 1908.
- Lemmermann, O. und Fresenius, L.*: Besprechungen der Methoden zur Bestimmung der Bodenazidität. Verhandl. des Ausschusses für Boden u. Düngung des Verb. Landwirtschaftl. Versuchsstationen in Deutsches Reich. Ref. Zeitschrift für Pflanzenernährung und Düngung. A. Bd. III, p. 247. 1924.
- Löhnis, F.*: Beiträge zur Kenntnis der Stickstoffbakterien. Centralblatt für Bakteriologie II Abt., 14. Bd., 1905, p. 582.
- Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie. Berlin 1910.
- Vorlesungen über landwirtschaftliche Bakteriologie. Berlin 1913.
- and Smith, N. R.: Life Cycles of the Bacteria. Journal of Agricultural Research. Vol. VI, No. 18, p. 675. 1916.
- Studies upon the Life Cycles of the Bacteria. Part II: Life History of *Azotobacter*. Journal of Agric. Research. Vol. XXIII. No. 6, p. 401. 1923.
- Millard*: Bacteriological Tests in Soil and Dung. Centralblatt f. Bakt., II Abt., Bd. 31, p. 502. 1911.
- Neisser und Klein*: Keimzählung. Handbuch der mikrobiologischen Technik. II Bd., p. 1083. Berlin-Wien 1923.
- Olsen, Carsten*: Studier over Jordbundens Brintionkoncentration og dens Betydning for Vegetationen særlig for Plantefordelingen i Naturen. København 1921.
- Perotti, R.*: Ref. i Centralblatt f. Bakt., II Abt., Bd. 17, p. 264. 1907.
- Pillai, N. K.*: Untersuchungen über den Einfluss der Düngung und anderer Faktoren auf die Tätigkeit der Mikroorganismen des Bodens. Leipzig 1908.
- Prazmowski, Adam*: *Azotobacter* Studien. Morphologie und Cytologie. Bull. Internat. Acad. Sc. Cracovie. Classes Sc. Mat. et Nat. S. B. Nr. 3, p. 87—174. 1912.
- Raunkjær, C.*: Forskellige Vegetationstypers forskellige Indflydelse paa Jordbundens Surhedsgrad (Brintionkoncentrationen). Det kgl. Danske Videnskabernes Selskab. Biologiske Meddelelser. III, 10. København 1922.
- Rippel, August*: Die Bedeutung der Wasserstoffionen-Konzentration für die Mikroorganismen und ihre Tätigkeit im Boden. Zeitschrift für Pflanzenernährung und Düngung. Teil A, Bd. III, p. 221. 1924.
- Stoklasa, J.*: Beitrag zur Kenntnis der chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch *Azotobacter* und *Radiobacter*. Centralblatt f. Bakt., II Abt., Bd. XXI, 1908, Nr. 15—16, 20—21.
- und Vitek: Die Stickstoffassimilation durch die lebende Bakterienzelle. Centralbl. f. Bakt., II Abt., Bd. VII, p. 257. 1901.
- Touborg Jensen, S.*: Om Bestemmelse af Jordens Stødpudevirkning. Tidsskrift for Planteavl, Bd. 30, S. 565.

- Walbum, L. E.: Studier over Dannelsen af de bakterielle Toxiner. København 1922.
- Weis, Fr.: Undersøgelser over Jordbundens Reaktion og Nitrifikationsevne. Meddelelse fra Dansk Skovforenings Gødningsforsøg. København 1924.
- og Bornebusch, C. H.: Om *Azotobacters* Forekomst i danske Skove, samt om *Azotobacter* prøvens Betydning for Bestemmelsen af Skovjordens Kalktræng. Det forstlige Forsøgsvæsen i Danmark. IV, p. 319. 1914.
- Winogradsky, S.: Die direkte Methode der mikrobiologischen Bodenuntersuchung. *Chimie et Industrie* II, 215. 1924. Ref. i *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Düngung*. A, 3. Bd., p. 426. December 1924.
- Yamagata, U. and Itano, A.: Physiological Study of *Azotobacter chroococcum* Beij and *Vinelandii* types. *Journ. of Bact.*, Vol. VIII, p. 521.
- Ørskov, J.: Method for the Isolation of Bacteria in Pure Culture from Single Cells and Procedure for the direct Tracing of Bacterial Growth on a Solid Medium. *Journ. of Bact.*, Vol. VIII, p. 537. 1922.

Summary.

Studies on the *Azotobacter* Test and the Reaction Condition of the Soil.

1) To comprehend fully the reaction condition of the soil it is necessary to ascertain both its actual and its potential acidity (titration acidity). In the lime requirement investigations made at *The State Laboratory for Plant Culture* the actual acidity was determined in an aqueous suspension using Biilmann's quinhydrone electrode, while with the *azotobacter* test, among others, certain information was assumed to be obtained in regard to the buffer action of the soil in question in the interval about the neutral point. One of the objects of the present investigation was to ascertain whether or not such information really was obtained.

2) The lowest p_H limit for the growth of *Azotobacter chroococcum* in pure culture (single cell culture) lies, in corroboration of Gainey's investigations, in the neighbourhood of a p_H value of 5.8—6.0.

3) Various observations made by earlier writers indicate that this lowest p_H limit does not always apply to the appearance of *Azotobacter* in nature. In agreement herewith a preliminary investigation shows that *Azotobacter* may be found in a few soil samples with a reaction figure about 5.5. Investigations made show, furthermore, that the resting cells of *Azotobacter chroococcum* retain their vitality even after remaining for a long time in substrates with reaction figures below 5.8.

4) If *Azotobacter* are cultivated in a nutrient substrate comparatively poor in buffer effect but yet permitting a lively growth, the reaction figure decreases during the period of growth from $p_H = 7.0$ to $p_H = 6.25$. As the *Azotobacter* become resting cells the reaction figure again increases, which is an expression for the fact that

Azotobacter only produce CO_2 but no other organic acid. The acid production occurring during the azotobacter test is derived from the 'accompanying bacteria' introduced by inoculation.

5) The actual acidity of the soil samples does not directly determine the result of the azotobacter test. In all cases observed, after suspension in the potassium phosphate-mannite solution the reaction figure in the liquid at the beginning of the azotobacter test was above the lowest critical p_H limit for growth. In conformity herewith the author has found a few soils whose reaction figure in aqueous suspension lies considerably below 6.0 but which show a positive reaction in the azotobacter test.

6) It has been proved that the use of various, but apparently equally suitable inoculation material, shows differences in acid production and resulting azotobacter development even when applied to the same soil.

7) The nitrate content of the soil samples can change the result of the azotobacter test as, when the nitrate content exceeds a definite value, we no longer use in practice an elective nitrogenfree nutrient substrate. In such instances the nitrate assimilating bacteria in soil samples originally azotobacter-positive will stifle *Azotobacter* more or less and cause a non-typical film growth. A film will also appear in azotobacter-negative soils which only contain a few azotobacter cells but difficult to distinguish from a true azotobacter film by macroscopic investigations alone.

8) The total amount of organic acids formed under the azotobacter test increases with the lime content of the soil samples.

9) The quantity of bacteria transferred with the inoculation film does not seem to be sufficient for a quantitative nullification of the micro-biological differences in the soil samples.

10) The result of the azotobacter test depends then, among other things on the nitrate content, the micro-flora and the buffer effect of soil samples.

11) After making titration curves of 100 different soil samples in the p_H interval 5.8—7.3 we find that the correlation coefficient between azotobacter development and buffer effect computed according to the *Tovborg Jensen* method is $+0.19 \pm 0.10$.

12) If the correlation for *Hasenbäumer's* test and the buffer action is computed for the same 100 soil samples, a coefficient of $+0.51 \pm 0.08$ is obtained.

For *Comber's* test the corresponding coefficient is $+0.39 \pm 0.09$.
