

Referater af fremmed Litteratur.

Resultater af Forsøg og Undersøgelser paa Planteavlens Omraade i Udlandet.

Nyere Undersøgelser over Jordbundens Protozo-Fauna og dennes Funktioner.

Ved Hans L. Jensen.

Studiet af Jordbundens Mikroorganismer har indtil for faa Aar siden næsten udelukkende drejet sig om Bakterierne i Jordbunden og disses Betydning for Omsætningen af Plantenæringsstofferne. Først i den allernyeste Tid har man rettet sin Opmærksomhed mod de andre Grupper af Mikroorganismer, der har deres naturlige Opholdssted i Jorden, nemlig Alger, Svampe og Protozoer, hvilket vil sige, at man studerer Jordbundsfloraen og -faunaen i deres Helhed og undersøger samtlige Grupper af Mikroorganismer, først og fremmest ud fra rent naturhistoriske Synspunkter, med Henblik paa deres Systematik, Morfologi, Fysiologi, deres geografiske Udbredelse, deres Afhængighed af ydre Faktorer, deres Forhold over for hinanden og deres Deltagelse i Stofskifteprocesser, som de forskellige Mikroorganismer udløser, har for Omsætningen af Plantenæringsstofferne i den dyrkede Jord og derigennem for Kulturplanternes Ernæring og deres Trivsel i det hele taget. En af disse Grupper af Mikroorganismer, hvis Forekomst i Jordbunden var kendt endnu før Bakterierne, men hvis Virksomhed man først i de sidste Par Tiaar har skænket nogen Opmærksomhed ud over rent lejlighedsvis Bemærkninger, er Protozoerne.

Protozoerne eller Urdyrene er som bekendt den store Hovedgruppe af Dyreriget, som omfatter eencellede Organismer. Fælles for næsten alle disse Væsener er det, at de alle er overordentlig smaa, om end langt større end Bakterierne; de mindste Former maaler 10—20 μ , de større, bortset fra enkelte kæmpemæssige Vandformer, 200—

300 μ ($1 \mu = 0.001$ mm). Deres Formering foregaar enten ved simpel Celledeling (hos de højerestaaende Former ofte kombineret med en forudgaaende Sammensmeltning af to Celler) eller mere kompliceret gennem Dannelse af Sværmsporer, hvorved der kan fremkomme en særdeles indviklet Livscyklus; dette er dog fortrinsvis Tilfældet hos snyltende Former, der ikke har Betydning for Jordbrugsforskningen. Mange af dem, bl. a. vistnok alle de i Jorden levende Former, er i Stand til at danne »Cyster« eller Hvileformer, d. v. s. Celler, hvis Protoplasma er omgivet af en tyk og modstandsdygtig Cellevæg, og i hvilke ingen Livsytringer længere lader sig konstatere. Saadanne »encysterede« Protozoer kan holde sig levende i meget lang Tid og kan i langt højere Grad end de frie, »aktive« Celler taale Varme, Kulde, Indtørring, Paa-virkning af Giftstoffer o. s. v., hvorved de bliver i Stand til at sikre Artens Eksistens gennem Perioder, hvor de ydre Forhold ikke tillader dem at udfolde deres Livsvirksomhed. Protozoernes Cystedannelse er altsaa analog med Bakteriernes Endosporedannelse (og homolog med disses Klamydosporedannelse).

Som Jordbundsformer kommer især følgende Hovedgrupper af Protozoer i Betragtning:

1. Flagellater. Disse Organismer regnes af nyere Biologer for at være de primitiveste af alle levende Væsener. De mange Former, som regnes hertil, er yderst forskellige, men karakteriserede ved, at deres Celler mangler en egentlig Cellevæg, men er udstyrede med et ydre, fastere Protoplasma-Lag, »Pellicula«, samt ved, at Cellerne enten hele deres Liv eller i visse Stadier heraf er forsynede med en eller flere endestillede Cilier, hvorfor de ofte ved mikroskopisk Undersøgelse ses i livlig Bevægelse; hos nogle, som danner et Slags Overgangsled til de nedenfor omtalte Rhizopoder, forekommer tillige Bevægelse ved Udskydelse af Protoplasmaudløbere, Pseudopodier. Formeringen foregaar ved simpel Længdedeling af Cellerne. De er de mindste af alle Protozoer. Deres Ernæringsforhold er meget ejendommelige. Et meget stort Antal af dem indeholder Klorofyl (eller i alt Fald Farvestoffer med Klorofylfunktion) og assimilerer Kulsyre paa samme Maade som de højere Planter (»autotrof Ernæring«); dog forekommer saadanne Former med Forkærlighed, hvor organiske Stoffer raadner; dette staar vistnok i Forbindelse med, at Kvælstof optages i organiske Forbindelser (»heterotrof Kvælstofernæring«); som vist af *Thornton* og *Smith* (54),¹⁾ kan den grønne Flagellat, *Euglena viridis*, kun trives i kunstig Næringsopløsning, naar denne indeholder smaa Mængder organisk Kvælstof (helst Tyrosin o. a. Aminosyrer); som Kulstofnæring synes Tyrosinet ikke at kunne anvendes, thi i Mørke, altsaa under Forhold, hvor Kulsyreassimilation var udelukket, lod *Euglena viridis* sig ikke dyrke. Andre Familier af Flagellater mangler Klorofyl og er derfor henviste til at ernære sig heterotroft, enten ved ad osmotisk Vej at optage op-

¹⁾ Tallene i Parentes henviser til Litteraturfortegnelsen Side 523.

løste organiske Stoffer (ernærer sig »saprozoisk«, d. v. s. som »Raad-dyr«) eller ved i deres Protoplasma at optage og fordøje formede, organiske Dele, enten døde eller levende; dette betegnes som holozois, d. v. s. rent dyrisk Ernæring. Adskillige klorofylholdige Former kan ernære sig baade autotroft og heterotroft, saaledes *Euglena gracilis*, der ved Dyrkning i Mørke i en passende Næringsopløsning kan omdannes til en farveløs, rent saprozoisk Organisme. Nogle andre klorofylførende Flagellater kan tillige optage og fordøje faste, formede Bestanddele og saaledes ernære sig baade autozoisk, saprozoisk og holozois. Atter andre Flagellater (og dette synes især at gælde de i Jordbunden almindeligste Former, de lavtstaaende, farveløse Former) er ifølge Thornton og Smith (54) rent holozoiske og kan kun ernære sig af Bakterier; dette gælder saaledes den i Jordbunden overordentlig udbredte Art *Prowazekia terricola*.

2. Sarcodiner eller Slimdyr er den anden store Gruppe af Jordprotozoer. Af Sarcodiner forekommer i Jorden vistnok kun Ordenen *Rhizopoda*; det er udpræget dyriske Væsener, hvis Celler altid mangler Cellevæg, men ofte er udstyrede med et Kalk- eller Kiselskelet. De mangler altid Cilier og bevæger sig ved Udsendelse af Protoplasma-udløbere eller Pseudopodier. Med Hensyn til deres Ernæring er de afgjort holozoiske, idet de kun kan ernære sig ved at optage formede eller (fortrinsvis) levende Bestanddele — Bakterier, blaagrønne Alger, Diatomeer m. m., som omflydes af Pseudopodierne, hvorpaa de ufordøjelige Dele igen udstødes af Protoplasmaet. Almindeligst i Jordbunden er Slægten *Amoeba* uden Skal og med udpræget Pseudopodiedannelse, og de skaldannende Slægter *Arcella*, *Gromia* og *Diffugia*.

3. Ciliaterne eller Infusorierne er den tredje, højest organiserede Gruppe af Jordbundsprotozoer. Det er forholdsvis store Organismer (alm. mellem 50 og 200 μ lange), der udmærker sig ved deres Cellekerners ejendommelige Delingsforhold og ved at være forsynede med Cilier (hvoraf Navnet Ciliater), der enten er udbredte over hele Cellens Overflade eller ordnede i Kredse eller Længderækker. Ligesom hos Flagellaterne har Cellerne et fastere ydre Protoplasmaalag, som er forsynet med en eller to Aabninger, hvorigennem Føde optages og ufordøjelige Dele udstødes. Med Hensyn til deres Ernæring er de ligesom Amøberne udpræget holozoiske (bortset fra en Del Former, der snylter hos højere Dyr), idet deres Føde for største Delen er Bakterier, smaa Alger o. s. v.; nogle er endog ligefremme Rovdyr, der hovedsagelig ernærer sig af andre Protozoer. Dog kommer maaske ogsaa en Optagelse af opløste organiske Stoffer i Betragtning; den i Jordbunden almindelige Ciliat, *Colpidium colpoda*, kan nemlig ifølge Peters (41) bringes til at vokse og formere sig ganske normalt i absolut Renkultur uden Bakterier i en Opløsning, der foruden de nødvendige Mineralsalte (Kalium-, Calcium- og Magniumklorid) indeholdt Ammoniumglycerofosfat, Ammoniumlaktat og Druesukker.

Over alle disse Organismers Forekomst og Funktioner i Jord-

bunden er der navnlig i den sidste Snæs Aar udført ikke faa Undersøgelser, hvoraf nogle har vakt megen Opmærksomhed; men afgørende Resultater har Forskningen endnu ikke bragt, og Undersøgelserne over Jordbundens Protozo-Fauna og dens Funktioner er stadig i fuld Gang.

At Protozoer forekommer i Jordbunden (om end de fleste Arter har deres naturlige Opholdssted andetsteds, i Havet, i stillestaende, smudsig Vand, i Dynd o. s. v.) er en gammelkendt Sag. Allerede 1837 gjorde en af Protozoologiens Fædre, *Ehrenberg* (cit. efter *Kopeloff, Coleman og Lint* [34]) opmærksom paa, at Ciliater forekommer i store Mængder i frugtbar Jord. Samme Iagttagelse gjorde i 1861 den svenske Geolog v. *Post* (42), der siger om Muldaffejringerne, at de, foruden en Mængde Plante- og Dyrerester, indeholder: »... en myckenhet ännu lefvande eller döda insekter, insektlarver, Acari, maskarter och land-snäckor, samt slutligen de af *Ehrenberg* såsom särdeles karakteristiska för myllorna angifna, til *Rhizopoderna* räknade *Arcella*- och *Diffugia*-Arterna, hvilka ofta til så stor mängd förkomma deri, att mikroskopiska prof om ett knapptålhufvuds storlek innesluta 50—60 och ännu flera exemplar af ettdera eller båda släakterna. Däremot äro de egentlige *Infusorierna*, äfvensom *Diatomeer* och *Desmidia* mycket sparsamma och utgöra mycket underordnade indblandningen, ehuru de för ingen del saknas». — Faa Aar efter, i 1866, beskrev Zoologen *R. Greff* (23) 7 nye Arter af Rhizopoder, fundne i fugtig Jord og Sand, især under Mos og nær Planterødder; som den almindeligst forekommende Art paa saadanne Steder nævnes den ofte senere fundne *Amoeba terricola*, der altsaa synes at være en ægte Jordbundsform. Atter en halv Snæs nye Arter af skaldannende Rhizopoder (samt *Amoeba terricola*) blev fundne 1878 af *A. Schneider* (50), som tillige gjorde opmærksom paa, at Fugtighed i Jorden var af Betydning for disse Væseners Livsvirksomhed, idet de encysterede sig, naar Jorden udtørredes. Den første, som gjorde opmærksom paa forskellige Protozo-Faunaer i forskellige Jordbundsformer, er vistnok Danskeren *P. E. Müller*, som i Morjorderne fandt en Mængde Monothalamier (skaldannende Rizopoder, hørende til Slægterne *Arcella*, *Diffugia* og *Gromia*); i Mulden findes aldrig saadanne, men derimod maaske nøgne Rhizopoder (»Saavidt mine Studier have strakt sig, maa jeg derfor antage, at Monothalamierne ... ere karakteristiske for den tørveagtige Humusform«; Studier over Skovjord, II, 1883, Side 73).

I den følgende Snæs Aar, hvor Jordbundsbakteriologien havde en frodig Udvikling, skænkede man ikke fra Jordbundsbakteriologernes Side Protozoerne nogen Opmærksomhed udover rent tilfældige Bemærkninger, hvor man saa dem optræde sammen med Bakterierne i Ophobningsforsøgene (f. Eks. *Beijerinck* [1]). En Undtagelse danner *E. Bréal* (2), som i et i øvrigt temmelig ubetydeligt Arbejde søgte at bringe Protozoernes Forekomst i Sammenhæng med en Stofomsætning; *Bréal* iagttog, at i Vand, som henstod med raadnende Plantedele, optraadte der i Løbet af et Par Dage en Vrimmel af Ciliater (*Colpidium*-

Arter), samtidig med, at der blev frigjort store Mængder Ammoniak, hvis Dannelse han synes at tilskrive Ciliaternes Livsvirksomhed, saa vidt det kan skønnes af hans temmelig vage Udtryksmaade. — I det store og hele forblev altsaa Protozoerne ret upaaagtede, bortset fra nogle interessante Bemærkninger af *Hiltner* og *Störmer* i 1907 og et enkelt større Arbejde af *M. Wolff* i 1908, indtil 1909, da *Russell* og *Hutchinson* fremsatte deres berømte og meget diskuterede »protozoan theory of soil fertility«, som gik ud paa, at Jordbundsprotozoerne ved at æde Bakterierne skulde begrænse disses Antal i Jordbunden og derved hæmme de mikrobiologiske Stofomsætninger, hvorved Plante-næringsstoffer (i første Linie Kvælstof) gøres tilgængelige for de højere Planter; under Forhold, der var gunstige for Protozoernes Udvikling, skulde denne Begrænsning af Bakteriernes Antal og Virksomhed kunne blive saa fremtrædende, at der optræder »Jordtræthed«, Ufrugtbarhed til Trods for rigeligt Indhold af Næringsstoffer i Jorden. Den nærmere Begrundelse og Udformning af denne Teori kommer vi senere tilbage til.

Russell og *Hutchinsons* Arbejde gav Stødet til, at der i den sidste halve Snes Aar, navnlig i England og Amerika, er udført en lang Række Undersøgelser, dels over Protozoernes Forekomst i Jorden, dels over deres Forhold til de andre Grupper af Jordbundsorganismer og til Stofomsætningen i Jorden.

Hvad for det første Spørgsmaalet, om Jordens Protozoafauna og Metoderne til Studiet heraf, angaar, da er de foreliggende Resultater ikke helt klare og noget modstridende. Dette er vel i Hovedsagen grundet paa, at Dyrkning og Isolation af Protozoer er langt vanskeligere end Dyrkning af Bakterier og Svampe. Paa Grund af Protozoernes Ernæringsforhold lader Dyrkning i Renkultur paa fast Substrat sig i de allerfleste Tilfælde slet ikke foretage; kun nogle enkelte Amøbe-Arter kan vokse i Kolonier paa Agar eller Gelatine, og da altid sammen med Bakterier (*Beijerinck* [1], *Celli* [4], *Schardinger* [49], *Killer* [29]). *Killer* søgte at anvende dette til Bestemmelse af Amøbernes Antal i Jorden ved at foretage Pladespredning paa Agar og Tælling af de fremkomne Amøbe-inficerede Bakteriekolonier; dog hævder han selv, at disse Resultater ikke er meget værd, da langtfra alle Amøber kan ventes at komme til Udvikling paa denne Maade. For de andre Jordbundsprotozoers Vedkommende kan der ikke være Tale om Tælling paa denne Maade saa lidt som om Isolation, da de overhovedet ikke vokser i Kolonier.

Derimod er det ikke vanskeligt at fremstille Raakulturer af Protozoer; de trives udmærket i mange af de Næringsopløsninger, der anvendes til Ophobning af Bakterier, og det er saaledes ikke vanskeligt at faa i alt Fald mange af de i Jorden levende Protozoer til Udvikling og holde dem i Kultur. Det ældste Substrat til Dyrkning af Protozoer er Høafkog, i hvilket særlig Ciliaterne vokser udmærket. Et af de første Arbejder, som gik ud paa at sammenligne Jordbunds-

protozoernes Udvikling i forskellige Næringsopløsninger, skyldes *Killer* (29), som studerede følgende Substrater: *Winogradskys* Opløsning til Dyrkning af Salpeterbakterier, *Gilltays* og *Hiltners* Opløsninger for denitrificerende Bakterier, *Beijerincks* Mannitopløsning for *Azotobacter*, Urinstof-Pepton-Opløsning samt *Zumsteins* Opløsning til Dyrkning af grønne Flagellater. Udviklingen af Protozoer var bedst i *Gilltays* Opløsning. — *Cunningham* og *Löhnis* (8) sammenlignede næsten alle i Bakteriologien anvendte Næringsopløsninger og fandt, at flest Protozoer udviklede sig i Blodmelsafkog, ved 22° især Flagellater, ved 30° især Ciliater. Andre gode Substrater var: *Gilltays* Opløsning, hvor navnlig Flagellaterne kom til Udvikling — Jordekstrakt + Kaliumfosfat, hvori særlig Flagellater og Ciliater — Mannitopløsning + Calciumcarbonat, hvori Ciliaterne og Amøberne dominerede; derimod fandt de ingen Opløsning, hvori Amøberne alene var fremherskende; de fandt endvidere, at i samme Kultur ændres Faunaens Sammensætning med Tiden; først optræder fortrinsvis smaa Flagellater, derefter smaa Ciliater, senere store Flagellater, til sidst store Ciliater; dette tyder paa, at de smaa Flagellater er mest fremherskende i Jorden. — Lignende Undersøgelser er senere foretaget af *Cauda* og *Sangiorgi* (3), som navnlig i *Gilltays* Opløsning fandt en yppig Udvikling af Amøber, samt af *Kopeloff*, *Lint* og *Coleman* (33), som fandt, at Høafkog gav den bedste Udvikling af smaa Flagellater, medens det bedste Substrat for Ciliater var Jordekstrakt eller Høafkog + 0.5 pCt. Ægalbumin.

Denne Metode til Ophobning af Protozoer har man uddannet til en ganske vist temmelig grov Bestemmelse af Protozoernes Antal i Jorden, saaledes som først anvendt af *O. Rahn* (43). Af den Jord, hvis Protozoer man vil tælle, fremstilles en Række Opslemninger af forskellig Koncentration — 1:10 — 1:100 — 1:1000 — 1:10000 o. s. v. Til Opslemningerne anvendes steriliseret Vand. Fra hver af disse Opslemninger overføres nu 1 cm³ (svarende til 0.1 — 0.01 — 0.001 g Jord o. s. v.) til en passende, steril Næringsopløsning, der er gunstig for Protozoernes Udvikling — altsaa Høafkog, Blodmelsafkog, Jordekstrakt el. lign. Med nogle Dages Mellemlum undersøger man nu under Mikroskopet, om der har fundet Udvikling af Protozoer Sted; finder man nu f. Eks., at der har udviklet sig Flagellater i Opløsningen, der er podet med 0.001 g Jord (Opslemningen 1:1000), men ikke i Opløsningen med 0.0001 g Jord (Opslemningen 1:10000), da er Antallet af Flagellater i den paa-gældende Jord mellem 1000 og 10000, idet der maa have været mindst 1 Flagellat i de 0.001 g Jord, der er anvendt til Podningen. Vil man præcisere Antallet nærmere, maa man indsnævre Opslemningernes Koncentrationsintervaller, idet man prøver sig frem med Opslemninger, hvoraf 1 cm³ svarer til 0.0002 — 0.0003 — 0.0004 — 0.0005 g Jord, o. s. v. Dette er naturligvis en yderst omstændelig og tidsrøvende Metode, der ydermere giver ret usikre og svingende Resultater; ikke desto mindre har Protozoologerne ved Rothamsted Forsøgsstation (*D. W. Cutler* og *L. M. Crump*) udviklet den til relativt stor Fuldkommenhed, dog med

den Ændring, at der ikke podes i Opløsninger, men paa Agarplader, i hvis Kondensvand Protozoerne vokser udmærket.

En helt anden Metode er Tælling direkte under Mikroskopet; denne Metode, som er den ældste, gør udmærket Fyldest, naar det gælder om at bestemme Protozoernes Antal i Vand eller Næringsopløsning, navnlig naar Tællingen foretages med Blodlegemetælleapparatet, saaledes som foreslaaet af *Kopeloff*, *Lint* og *Colemann* (33); endnu bedre bliver Resultatet, naar der tillige anvendes Vitalfarvning og Opslemning i en 4 pCt. Gelatineopløsning, som hæmmer Flagellaternes og Ciliaternes Bevægelser (*Itano* og *Ray* [28]). Men til Undersøgelse af Jordopslemninger synes denne Metode ikke at kunne bruges; i de fleste Jorder er det næsten umuligt at se Protozoer ved mikroskopisk Undersøgelse, og Forsøg af *Itano* og *Ray* (28) har vist, at naar der sættes Sand til en Protozo-Opslemning før Tællingen, stiger den sandsynlige Fejl fra 2—5 pCt. til 30—50 pCt.! Dette Fænomen skyldes ifølge *Cutler* (10) simpelthen, at Protozoerne ved Overfladekræfter hæfter stærkt fast til Jordpartiklerne; ved at ryste en Protozo-Opslemning med Jord fjernes en stor Del af Protozoerne fra Jordopslemningen, idet de fastholdes af Jordpartiklerne; *Cutler* fandt saaledes, at 1 g grovt Sand kunde »adsorbere« ca. 14500 Amøber eller Flagellater; de tilsvarende Tal var for:

Fint Sand	980 000
Glødet Jord.....	1 500 000
Steriliseret Jord.....	1 650 000
Fint Ler	2 450 000

Ved at anvende en Renkultur¹⁾ af Ciliaten *Colpoda cucullus* fandt *Cutler* følgende Tal:

Grovt Sand tilbageholdt pr. g.....	27 000	Ciliater
Fint Sand — —	185 000	—
Glødet Jord — —	270 000	—
Steriliseret Jord — —	280 000	—
Fint Ler — —	450 000	—

Foruden Bestemmelsen af Protozoernes Arter og Antal er jo et tredje Spørgsmaal af største Vigtighed: findes Protozoerne fritlevende i Jorden eller i encystreret Tilstand? Besvarelse heraf er jo noget af det første, der maa kræves, naar man søger Protozoernes Betydning i Stofkredsløbet belyst; thi encystrerede Celler tager naturligvis ingen Del i de Stofskifteprocesser, der foregaar omkring dem. Spørgsmaalet er altsaa nu for det første: hvilke Protozoer forekommer i Jordbunden, hvor stort er deres Antal, under hvilke Forhold lever de frit, og

¹⁾ Det maa her bemærkes, at naar vi her og i det følgende taler om »Renkulturer« af Protozoer, da menes der ikke Renkulturer i samme Betydning som i Bakteriologien, men blot Kulturer, der kun indeholder een Art Protozoer.

under hvilke Forhold encystreres de? Det er altsaa de rent faunistiske Arbejder, vi først maa gennemgaa. De vigtigste af disse er, bortset fra de tidligere nævnte ældre Arbejder, følgende:

Max Wolff (60) undersøgte en Række Jorder (ca. 200), der underkastedes Vanding; hans Metodik fremgaar desværre ikke klart af Meddelelsen, men saavidt det kan skønnes, har han anvendt mikroskopisk Undersøgelse af Jorden. Wolff fandt 52 Protozo-Arter, nemlig 14 Rhizopoder, 19 Flagellater og 19 Ciliater; konstant og i stort Antal forekom følgende Arter: Rhizopoder: *Hyalodiscus limax*; *Hyalodiscus guttula*; *Amoeba terricola*; *Arcella vulgaris*; *Diffugia constricta*; *Gromia terricola*. Flagellater: *Monas guttula*; *Monas vivipara*; *Salpingoea convallaria*; *Salpingoea* sp.; *Bodo ovatus*; *Bodo saltans*; *Bodo angustus*; *Bodo caudatus*; *Phyllomitus undulans*; *Pleuromonas jaculans*; *Euglena viridis*; *Polytoma uvella*; *Chlamydomonas monadina*. Ciliater: *Nassula elegans*; *Glaucoma scintillans*; *Colpidium colpoda*; *Colpoda cucullus*; *Balantiophorus minutus*. Wolff hævder, at kun i ekstremt tør og i frossen Jord er Protozoerne til Stede i encystreret Tilstand; ellers er deres Optræden ikke i og for sig knyttet til Aarstiden. Det stik modsatte Synspunkt hævdes af Killer (29), som siger: »Bei Verwertung der Resultate ist nicht zu vergessen, dass die Ciliaten und Flagellaten in den meisten Böden (ausgenommen Moorböden, Rieselfelder, sehr feuchte Böden) in encystiertem Zustande vorkommen«.

Nogle meget interessante Undersøgelser over Protozoernes Tilstandsform i Jordbunden skyldes T. Goodey (20); ved Podning i Høafkog med ca. 30 Jorder af meget forskellig Beskaffenhed fik han 30 Protozo-Arter til Udvikling; de almindeligst forekommende var: Rhizopoder: *Amoeba limax*; Flagellater: *Cercomonas* sp.; *Dimorpha radiata*; Ciliater: *Colpoda cucullus*; *Colpoda steinii*. Ved direkte mikroskopisk Undersøgelse af Jorden lykkedes det ikke Goodey at iagttage fritlevende Protozoer; han forsøgte derfor at bringe de eventuelt tilstedeværende fritlevende Ciliater til at vandre ud af en Jordopslemning ved at benytte sig af deres Følsomhed over for Temperaturforskelle og deres Evne til at bevæge sig hen imod de Steder, hvor Temperaturen er gunstigst for dem (*Termotaksis*); disse Forsøg gav imidlertid intet Resultat, og Goodey gik derfor over til at anvende Ciliaternes Følsomhed over for elektriske Strømme (*Galvanotaksis*); naar der sendtes en ganske svag Strøm gennem en Kultur af Protozoer (*Colpoda cucullus*), viste det sig, at disse hurtigt samlede sig omkring Katoden, vandrede altsaa i Strømmens Retning. Dette anvendte Goodey til Undersøgelse af Jorden paa følgende Maade: 2—5 g Jord udrørtes i en Petriskaal med 20 cm³ sterilt Høafkog og henstilledes i en Termostat ved 30°; fra Tid til anden blev Opløsningen forsigtigt afpipetteret og anbragt i en ny Petriskaal paa Bordet af et Mikroskop, hvorpaa der med upolariserbare Elektroder sendtes en ganske svag Strøm igennem den, og Opløsningen i Nærheden af Katoden iagttoges gennem Mikroskopet; efter endt Undersøgelse bragtes Opløsningen til-

bage paa Jorden i den første Petriskaal og henstilledes igen i Termostaten. Ciliater, som samlede sig omkring Katoden, kunde saa udtages enkeltvis med en Kapillarpipette og anvendes til Renkulturer. Det viste sig nu, at der aldrig samlede sig Ciliater omkring Katoden, før end Jorden og Næringsopløsningen havde staaet i Termostaten i mindst $1\frac{1}{2}$, hyppigst 4—6 Timer; de almindeligste Ciliater, der fandtes paa denne Maade, var *Colpoda cucullus*, *Colpoda steinii* og *Gonostomum affine*; de havde det Udseende, som er karakteristisk for Celler, der lige er traadt ud af Cysterne: klart eller fintkornet Protoplasma, utydelig Kærne, ingen Næringsvakuoler. Da det ved særlige Forsøg havde vist sig, at Frigørelsen af encysterede *Colpoda*-Celler varede 2—5 Timer, synes disse Forsøg med ret stor Tydelighed at vise, at Ciliaterne under almindelige Forhold kun forekommer i encysteret Tilstand i Jorden. Om Amøbernes og Flagellaternes Tilstandsform giver disse Forsøg derimod ingen Oplysning.

C. H. Martin (36) isolerede (ved Podning paa Agarplader) fra »tomattræt» Drivhusjord følgende Protozoer: Rhizopoder: *Amoeba diploidea*; *Amoeba sp. I—III*; *Chlamydomphrys stercorea*. Flagellaterne: *Copromonas sp.*; *Bodo sp.*; *Prowazekia sp.*; *Astasia sp.* Sammen med Lewin udarbejdede Martin (37) senere følgende Metode til Paavisning af fritlevende Protozoers Tilstedeværelse i Jorden: en Portion Jord røres fint ud med en mættet Opløsning af Pikrinsyre, og efter 24 Timers Henstand fremstilledes der mikroskopiske Præparater af Opløsningens Overfladehinde; i disse Præparater fandtes Bakterier og aktive Protozoer, som var dræbte og fikserede af Pikrinsyren. I en »syg» Jord fra et stærkt gødet Græskarbed fandtes paa denne Maade følgende Protozoer i fritlevende Tilstand: Rhizopoder: *Euglypha sp.*, *Trinema sp.*, *Vahlkampfia soli*, *Amoeba cucumis* — desuden 3 Ciliater og een Flagellat; efter dette at dømme har altsaa den »aktive» Protozo-Fauna ganske overvejende bestaaet af Amøber og andre Rhizopoder, som var langt de talrigeste i Præparaterne, ikke alene med Hensyn til Arter, men ogsaa med Hensyn til Individier; den Fauna, som kom frem ved Tilsætning af Jord til Agarplader med Gødningsafkog, var derimod af en ganske anden Sammensætning, idet den overvejende bestod af Flagellater. I mikroskopiske Præparater fra almindelig, sund Jord var derimod Flagellaterne i langt overvejende Flertal, og Ciliaterne meget faatallige. I Jord fra et Frøbed fandtes i Præparaterne: Rhizopoderne *Euglypha sp.*, *Chlamydomphrys sp.*, *Amoeba gobanniensis* og 3 andre Amøbe-Arter, Flagellaten *Bodo caudatus* samt en amøboid Flagellat. Paa Agarplader fremkom foruden disse Arter tillige Flagellaterne *Prowazekia* og *Monas* samt en Amøbe og en Ciliat. — Senere anvendte Martin og Lewin atter en ny Metodik (38): gennem en Jordopslemning i et højt Cylinderglas ledtes en hurtig Strøm af fine Luftblærer, og over Opslemningens Overflade holdtes et Dækglass saaledes, at Boblerne bristede imod det; fritlevende Protozoer rives da med af Luftstrømmen og bliver siddende paa Dækglasset, hvor de kan fikseres paa sæd-

vanlig Vis. Paa denne Maade undersøgtes en Jord fra et meget stærkt gødet Melonbed, hvori den »aktive« Protozoafauna viste sig overvejende at bestaa af Rhizopoderne *Vahlkampfia soli* og *Amoeba cucumis*; af Flagellater og Ciliater fandtes der kun faa. I en mindre stærkt gødet Havejord fandtes der kun faa Protozoer (om end mange Arter); smaa Amøber var de talrigeste, Flagellater var sjældnere, og Ciliater fandtes slet ikke i fritlevende Tilstand; af de større Former af Flagellater (*Bodo*, *Copromonas* og *Prowazekia*) fandtes der kun meget faa; de almindeligste Flagellater var de smaa *Monas*-Arter. I en Jord, der var stærkt gødet med Kloakslam, fandtes enorme Mængder grønne Flagellater. — Som Helhed støtter disse Undersøgelser altsaa *Goodeys* Anskuelse, at fritlevende Ciliater i de fleste Jorder forekommer meget sparsomt eller slet ikke.

Af andre faunistiske Arbejder kan nævnes *Fellers* og *Allisons* (18) Studier over Protozo-Faunaen i flere hundrede Jorder fra New Jersey. De fandt ved direkte mikroskopisk Undersøgelse kun fritlevende Protozoer i ganske faa (meget vaade) Jorder. Ved Podning i Høafkog, Gødningssafkog og Jordekstrakt fandt de i alt 102 Arter af Protozoer (foruden 11 Grønalger og 6 Diatomeer); Ciliaterne havde det største Artsantal, men Flagellaterne det største Individantal; de almindeligst forekommende Former var: Rhizopoden *Amoeba gruberi*, Flagellaterne *Monas termo* og *Cercomonas crassicauda*, samt Ciliaterne *Enchelys farcinata* og *Colpoda cucullus*.

Som før omtalt, er Protozoernes Cyster langt mere modstandsdygtige mod Paavirkning af Varme og Giftstoffer end de frie Celler; dette søgte *Cunningham* (9) at anvende til Adskillelse mellem Cyster og frie Celler i Jorden; i tidligere Forsøg sammen med *Löhnis* (8) havde *Cunningham* vist, at frie Celler af Amøber, Ciliater og Flagellater dræbtes ved Opvarmning til 44—54°, Cysterne derimod først ved 70—72°; senere viste han, at Behandling med en 2 pCt. Kaliumhydroxydopløsning dræber de frie Celler, men ikke Cysterne; Forsøg paa at anvende dette til Adskillelse mellem frie Celler og Cyster i Jorden førte dog ikke til noget endeligt Resultat, da *Cunningham* stedse fik uregelmæssige Resultater ved Protozo-Tælling efter Fortyndingsmetoden. Hans Forsøg er senere fortsat af *D. W. Cutler* (11), hvem det lykkedes at udarbejde en som det synes relativt sikker Metode; *Cutler* fandt, at Behandlingen med Kaliumhydroxyd foruden at dræbe de frie Celler tillige dræbte mange af de encysterede; han erstattede derfor Kaliumhydroxydet med Saltsyre paa følgende Maade: til steriliseret Jord blev sat en Suspension af Protozoer med kendt Indhold af frie Celler og Cyster; denne Jord behandledes en Nat over med en 2 pCt. Saltsyreopløsning; derefter bestemtes Antallet af Protozoer, der havde overlevet Saltsyrebehandlingen, ved den før nævnte Fortyndingsmetode, idet der fremstilledes 11 Fortyndinger i Koncentrationer fra 1:10 til 1:100 000; 1 cm² af hver Fortynding overførtes til en Petriskaal med Agar, og Skaalene henstilledes ved 20° i 4 Uger; hver Uge undersøgtes

det, om der var kommen Protozoer til Udvikling. Det viste sig nu, at Saltsyrebehandlingen dræber alle fritlevende Celler, medens alle Cyster overlever den. Antallet af frie og encysterede Protozoer i Jorden kan nu bestemmes saaledes: i een Prøve af Jorden bestemmes det totale Antal Protozoer straks; en anden Prøve behandles med Saltsyre, hvorefter Protozo-Antallet i denne bestemmes paa samme Maade som før. Det første Tal angiver det samlede Antal frie og encysterede Protozoer, det andet angiver Cysternes Antal, og Differensen angiver Antallet af fritlevende Protozoer. *Cutler* fandt paa denne Maade et stort Antal frie Amøber og Flagellater i næsten alle Jorder, Ciliater derimod langt fra i alle og kun i ringe Antal; hans Tal er følgende:

Dato	Jord- behandling	Amøber		Flagellater		Ciliater	
		I alt	frit- levende	I alt	frit- levende	I alt	frit- levende
29/6 1919	Staldgødning	1000	900	25000	17500	100	90
do.	Ugødet	2500	2400	2500	1500	0	0
18/8 1919	Staldgødning	100	90	1000	900	10	10
do.	Ugødet	100	90	5000	4900	10	10
8/10 1919	Staldgødning	2500	0	25000	17500	10	10
do.	Ugødet	7500	2500	7500	5000	0	0
27/10 1919	Staldgødning	2500	1500	5000	4000	10	0
do.	Ugødet	100	90	1000	950	0	0
18/11 1919	Staldgødning	500	400	2500	0	10	0
do.	Ugødet	100	50	100	0	0	0

Som disse Tal (Antal af Organismer pr. g Jord) angiver, svinger Antallet af Protozoer stærkt i Aarets Løb. Et ganske nyt, meget stort Arbejde af *Cutler*, *Crump* og *Sandon* (13) viste, at disse Svingninger gælder ikke blot Individantallet, men ogsaa Artsantallet; der anvendtes til denne Undersøgelse en Jord, hvorfra der udtoges omhyggelige Gennemsnitsprøver, i hvilke Antallet af Bakterier, frie og encysterede Protozoer bestemtes hver Dag et Aar igennem; det viste sig, at helt konstant gennem hele Aaret optraadte kun 5 Protozo-Arter, Flagellaterne *Dimastigamoeba gruberi*, *Heteromita lens*, *Heteromita sp.*, *Cercomonas sp.* og *Oicomonas termo*. Den samlede Fauna havde Maksimum af Individier i Slutningen af November, Minimum i Slutningen af Februar og Begyndelsen af Marts.

Hvad Protozoafaunaens Forhold til de forskellige enkelte fysiske og kemiske Faktorer i Jorden angaar, kan følgende bemærkes:

Fugtighedsgradens Betydning. Da det er en kendt Sag, at Cystdannelse indtræder under Udtørring, og at Frigørelse af Cellerne sker, naar der tilføres Vand, maa man jo vente, at høj Fugtighedsgrad i Jordbunden fremmer Protozoernes Udvikling. De fleste

Undersøgelser peger da ogsaa i denne Retning. *Francé* (19), *Killer* (29) samt *Fellers* og *Allison* (18) fandt kun fritlevende Protozoer (ganske vist kun ved direkte Mikroskopi) i meget vaade Jorder. *Rahn* (43) og *Cunningham* (9) viste, at Lufttørring af Jorden reducerede Antallet af Protozoer betydeligt. *G. P. Koch* (31, 32) anstillede specielle Undersøgelser over Fugtighedens Betydning og kom til det Resultat, at Fugtighedsgraden er den vigtigste af de Faktorer, der regulerer Protozoernes Optræden i Jorden; desværre har *Koch* til Bestemmelse af »aktive« Protozoers Forekomst kun anvendt mikroskopisk Undersøgelse af Jorden. 20 Drivhusjorder undersøgt paa denne Maade; i de 6, som alle var meget vaade, fandtes fritlevende Flagellater. I 14 Agerjorder fandtes ingen fritlevende Protozoer; Flagellater og smaa Ciliater optraadte derimod, naar Jorden havde staaet hen i vandmættet Tilstand i 40 Timer; i Jord, hvis Vandindhold kun var $\frac{1}{3}$ af Vandkapaciteten, optraadte der overhovedet ingen Protozoer. *Kochs* Arbejde lider dog af den Svaghed, at det ikke er noget Bevis for frie Protozoers Ikke-Tilstedeværelse, at man ikke kan iagttage dem ved mikroskopisk Undersøgelse af Jorden (*Cutler*); det er da muligt, at de har været til Stede ogsaa under normale Forhold, men at de først ved Vandtilsætningen har formeret sig saa stærkt, at det har været muligt at iagttage dem under Mikroskopet. Paa et noget sikrere Grundlag hviler et Arbejde af *Sherman* (51). Han fandt ved Fortyndingsmetoden ca. 10000 Protozoer pr. g Jord i 12 Jordprøver; Hovedmængden heraf var Flagellater (*Monas* og *Dimorpha*); Ciliater fandtes kun i et Antal af ca. 1000 pr. g Jord, og Amøber kun rent tilfældigt. *Sherman* undersøgte Protozoernes Formering i Jord af forskellig Fugtighedsgrad ved at pøde 2 kg steriliseret Jord med 2 g frisk Jord, indeholdende 10000 Protozoer pr. g; der anvendtes 4 Forsøgsrækker med 11, 12, 15 og 22 pCt. Vand; den steriliserede Jord indeholdt altsaa efter Podningen ca. 10 Protozoer pr. g; efter 15 Dages Opbevaring fandtes over 10000 Flagellater pr. g ved alle Fugtighedsgrader; Ciliaterne havde derimod kun formeret sig i den mest fugtige Jord, hvor der efter 15 Dage fandtes ca. 100 Eksemplarer af *Colpoda cucullus* pr. g Jord. I et andet Forsøg podedes steriliseret Jord med 15 pCt. Vand med 3 Protozo-Renkulturer, og Antallet af Protozoer bestemtes straks og med 3 Dages Mellemrum; der fandtes:

Organisme	Antal Protozoer pr. g Jord efter Antal Dage:				
	0	6	9	12	15
<i>Monas</i> sp.....	1	10	10	1000	10000
<i>Dimorpha radiata</i>	1	100	100	1000	100000
»Flagellat A«	10	100	1000	10000	100000

I et lignende Forsøg med *Colpoda cucullus* fandtes derimod ingen Formering efter 30 Dages Forløb. — Ciliaterne er altsaa i Modsætning til Flagellaterne kun i Stand til at formere sig i meget vaad Jord.

Ogsaa Undersøgelser af S. A. Waksman tyder paa, at Protozoernes Aktivitet fremmes af stærk Fugtighed. Til et lidt andet Resultat er Rothamsted-Protozoologerne kommet. Cutler (11) og Crump (7) fandt vel gennemgaaende faa Protozoer i tørre Perioder, men baade ved disse Arbejder og ved Hovedarbejdet (Cutler, Crump og Sandon [13], Cutler og Crump [12]) fandtes der stærke Svingninger fra Dag til Dag i Antallet af Protozoerne, og disse Svingninger viste ingen Sammenhæng med Jordbundsugtighed, Nedbør og Temperatur, men maa anses for at være Udtryk for en vis Periodicitet i Protozoernes Formering; den samme Periodicitet og de samme Svingninger findes nemlig i kunstige Kulturer af *Colpoda cucullus* (Cutler og Crump [15]).

Temperaturens Betydning er kun lidet undersøgt. Wolff (60) hævdede, at Protozoer fandtes i fritlevende Tilstand i al Jord, som ikke var frossen. Derimod kom Russell og Hutchinson (45) til den Opfattelse, at en Temperaturforhøjelse fra 5—12° til 20° forøgede Protozoernes Aktivitet stærkt, hvilket de sluttede derfra, at naar Jord opbevaredes ved 20°, indtraadte der snart en stærk Reduktion af Bakterieantallet, sammenlignet med Jorden ved 5—12° (herom senere). — Nyere Undersøgelser tyder ikke paa, at Temperaturen spiller nogen større Rolle; hverken Koch (31, 32), Sherman (52) eller de ovennævnte Rothamsted-Forskere fandt nogen nærmere Relation mellem Jordens Temperatur og Protozoernes Aktivitet. Derimod har Temperaturen nogen Betydning for, hvilke Protozoer der kommer til Udvikling i Kulturerne. Koch (30) fandt, at ved 15° kom især smaa Ciliater til Udvikling i Jordekstrakt og Blodmelsaffkog; ved højere Temperaturer dominerede Flagellaterne.

Brintionkoncentrationens Betydning er omtrent ikke undersøgt. D. Dale (16) fandt, at i Kulturer af Ciliaten *Paramecium aurelia* var de p_H -Værdier, hvorved Cellerne dræbtes, noget forskellige for de forskellige Stødpudefblandinger: med Natriumacetat + Saltsyre: p_H 5.5 og 11.5; med Glycin + Saltsyre: 4.1 og 11.7; med Natriumcitrat + Saltsyre: 3.9 og 10.5. Optimum laa ved Neutralpunktet (p_H 7.0), hvilket ogsaa er fundet af A. Peters (41) og af Cutler og Crump (16), som tillige fandt, at Formeringen og Udviklingen af *Colpoda cucullus* forløb normalt ved p_H -Værdier mellem 6.8 og 7.6. Ifølge S. M. Nasir (cit. efter Cutler og Crump, 15) kan baade Ciliater og Flagellater formere sig ved p_H 3.9, en Surhedsgrad, som kun sjældent træffes i Jorden.

Jordens Indhold af organisk Stof synes derimod at være en Faktor af stor Betydning. Francé (19) fandt, at Antallet af Protozoer (+ Alger) var proportionalt med Jordens Indhold af organisk Stof (og samtidig selvfølgelig med Fugtighedsgraden); Engjord var derfor den protozorigeste af alle de af ham undersøgte Jorder. Martin og Lewin (38) fandt, som nævnt Side 504, langt flere Protozoer (især

Amøber) i en meget stærkt gødet Jord fra et Melonbed end i mindre stærkt gødet Havejord og i Agerjord. S. A. Waksman (57) fandt kun fritlevende Protozoer i Jord, der var tilført Staldgødning eller Lucernehømel. Cutlers Side 505 nævnte Tal viser ingen absolut Sammenhæng mellem Protozoernes Aktivitet og Tilførsel af Staldgødning; dog findes der gennemgaaende flest Flagellater i den staldgødede Jord. L. M. Crump (7) fandt derimod ved Undersøgelse af 2 Rothamsted-Jorder med forskelligt Humusindhold følgende Protozo-Antal pr. g Jord:

Tællingens Dato	I Jord med 5.7 pCt. Humus			I Jord med 10 pCt. Humus		
	Amøber	Flagel- later	Ciliater	Amøber	Flagel- later	Ciliater
$1/2-5/3$ 1917	500	13500	10	1500	32000	20
$17/4-6/5$ 1917	500	7100	20	1600	23300	130
$10/10$ 1917— $15/2$ 1918	10000	23200	10	23200	42300	20
$13/3-6/6$ 1918	450	13500	0	2200	19700	20

I det hele taget synes Protozoernes Antal, som man kunde vente, at stige med Jordens Frugtbarhed. Fellers og Allison (18) fandt i 5 Jorder af forskellig Frugtbarhed følgende Antal Protozoer, Bakterier og Svampe:

Jordens Art	Antal Protozo- Arter	Antal Organismer pr. g Jord		
		Protozoer	Bakterier	Svampe
Frugtbar Havejord	26	3500	5 300 000	125 000
Frugtbar Lucernemark . .	23	4500	5 000 000	90 000
Mager Frugthavejord . . .	9	1000	4 850 000	85 000
Meget sur Græs jord	4	meget faa	960 000	138 000
Sur Skovjord	3	55	1 500 000	110 000

Optræden af mange Protozoer i Jorden synes altsaa at være knyttet til et stort Antal Bakterier, medens der ikke synes at være nogen Sammenhæng med Antallet af Svampe. Vi kommer her ind paa et af Kærnepunkterne i hele Protozo-Spørgsmaalet, nemlig:

Protozoernes Forhold over for Bakteriefloreen i Jordbunden. Men før vi gaar nærmere ind paa dette, vil vi i Korthed betragte et Problem, som staar i nær Forbindelse hermed, nemlig Spørgsmaalet om »delvis Jordsterilisation«, Behandling af Jorden med svagt virkende Antiseptica (i det følgende for Kortheds Skyld betegnet som »Partielsterilisation« efter det engelske »partial sterilization«).

Allerede for mange Aar siden (omkring 1895) iagttog man, at Behandling af Jorden med Svovlkulstof (i den Hensigt at udrydde Vinlus) havde en fremmede Indflydelse paa Plantevæksten, en Indflydelse, der meget mindede om Virkningen af en Kvælstofgødning. Over dette Problem er der udført et meget stort Antal Arbejder (al Litteratur herom indtil 1916 findes resumeret og kritisk sammenstillet hos *Kopeloff, Lint* og *Coleman* [34]), og der er opstillet mange Teorier til Forklaring af denne Virkning af Svovlkulstoffet. De vigtigste af disse er ifølge *Kopeloff, Lint* og *Coleman* følgende: A. *Kochs* Teori, som er den ældste, gaar ud paa, at smaa Mængder Svovlkulstof, som bliver tilbage i Jorden, udøver en direkte stimulerende Virkning paa Plantevæksten, saaledes som næsten alle Giftstoffer i smaa Mængder er i Stand til; enkelte nyere Forskere som *Fred* slutter sig nærmest hertil. — B. *Heinze* antager derimod, at Virkningen skyldes en forøget Binding af atmosfærisk Kvælstof, idet *Azotobacter* ved Svovlkulstofbehandlingen skulde stimuleres til forøget Virksomhed. *Schreiner* og *Shorey* mener, at der sker en Uskadeliggørelse af Giftstoffer, der er udskilte af Planterødderne. *Grieg-Smith* (24) mener, at der ved Partielsterilisationen sker en Destruktion af Toksiner, dannede af Bakterier, og en Opløsning af voksagtige Stoffer, der indhyller Jordpartiklerne og beskytter dem mod Bakteriernes og Planterødders Indvirkning. — Bedst underbygget i eksperimentel Henseende er vel nok den Teori, som er opstillet af *Hiltner* og *Störmer* (26), hvis Arbejde har været med til at danne Grundlaget for det meste af det, som senere er udrettet paa dette Omraade. *Hiltner* og *Störmer* fandt, at den normale Bakterief flora i Agerjorden bestod nogenlunde konstant af 5 pCt. gelatinesmeltende Former, 75 pCt. ikke-smeltende samt 20 pCt. Actinomyceter. Denne Flora befinder sig i en vis »indre Ligevægt«, som forstyrres ved Behandlingen med Svovlkulstof; straks efter Behandlingen hermed falder Bakteriernes Antal stærkt, idet de fleste af dem dræbes af Svovlkulstoffet (især Actinomyceter og ikke-gelatinesmeltende Bakterier, medens de gelatinesmeltende Bakteriernes Antal er mere konstant, idet de fleste af dem er Sporedannere). Men efter denne Depression af Bakteriernes Antal følger en voldsom Formering, saa at Bakterieantallet stiger med flere hundrede Procent (fra ca. 10 til ca. 50 Mill. pr. g Jord); de denitrificerende Bakterier trænges tilbage og optræder ikke mere, medens Nitrifikationen stiger stærkt efter en forudgaaende Depression ligesom Bakterieantallet. Da der saaledes opstaar en ny og »bedre« Bakterief flora, som giver en livligere Kvælstofomsætning, kommer Svovlkulstofbehandlingen til at virke som en Kvælstofgødning. Dette er dog ikke Svovlkulstoffets eneste Virkning; dets heldige Virkning paa Jord, der var blevet »ærtetræt« ved lang Tids Dyrkning med Ærter, syntes nærmest at bero paa Udryddelse af Rodaal, *Heterodera radiculicola*.

Hiltner (27) viste senere, at den samme Virkning som Svovlkulstof havde alle andre Antiseptica, hvis Virkning var forbigaaende,

fordi de kunde fjærnes fra Jorden, enten ved Fordampning (Toluol, Kloroform, Æter), ved at omsættes af Mikroorganismer (Fenoler og Kresoler) eller ved at danne uskadelige, uopløselige Forbindelser (Arsensyring). Den hurtige Formering af de overlevende Bakterier og den livlige Kvælstofomsætning forklarede *Störmer* (53) saaledes: ved Svovlkulstofbehandlingen dræbes en Mængde af de i Jorden levende Organismer, først og fremmest alle Dyr — Insekter, Larver, Orme og Protozoer (Amøber, som kom frem paa Agarplader ved Spredning før Svovlkulstofbehandlingen, træffes ikke efter den), desuden Planterødder, Rhizomer, Alger og Svampemycelium; alle disse døde Rester staar nu til Raadighed som Næring for de Bakterier, der har overlevet Svovlkulstofbehandlingen, saaledes at disse nu har langt bedre Betingelser end før for en livlig Formering, hvormed følger en forøget Stofomsætning. Den langsomme Ammoniak- og Nitratdannelse af de tungest omsættelige organiske Stoffer forklarer, at Virkningen af en Svovlkulstofbehandling kan spores gennem flere Aar, hvilket daarligt kan forklares ud fra *Kochs* Teori om direkte Stimulation af Planterne. — *Störmer* (53) giver sin Teori følgende malende Udtryk:

»... so haben wir den Eindruck, dass der tödliche Dampf wie ein Gewitter durch den Boden fährt, dass die etwas schwül gewordene Atmosphäre gründlich reinigt und Schädlinge und Nützlinge in gleicher Weise abtötet. Die Leichen verfallen der Zersetzung und liefern dem Boden neue Kraft, so dass infolge dieser doppelten Wirkung Müdigkeitserscheinungen verschwinden müssen und die Pflanzen meist wieder gesund wachsen können«.

Faa Aar efter — i 1909 — fremkom *Russell* og *Hutchinsons* (44) berømte Arbejde, der for Alvor vakte Interesse for Jordbundsprotozoerne og Diskussion af deres Betydning. *Russell* og *Hutchinson* fandt, i Analogi med *Hiltner* og *Störmer*, at naar en almindelig Agerjord behandlede med 2 pCt. Toluol, som derpaa fik Lov til at fordampe, eller opvarmedes til 98°, steg Bakteriecantallet i Jorden stærkt efter en kortvarig Depressionsperiode; ogsaa Ammoniakdannelsen i Jorden blev meget stærkere; Nitrifikationen standsede, begyndte senere igen og blev meget stærk i den toluolbehandlede Jord, hvorimod den var umuliggjort i den ophedede. Den ubehandlede Jord maa altsaa indeholde en Faktor, som begrænser Antallet af Bakterier og derigennem Produktionen af Ammoniak og Nitrat. Denne Faktor maa, mener *Russell* og *Hutchinson*, være noget positivt og ikke en Mangel paa et eller andet (omsætteligt organisk Stof efter *Hiltner* og *Störmers* Teori), thi naar toluolbehandlet Jord podes med 5 pCt. ubehandlet, formerer Bakterierne sig ikke saa stærkt som i den rene toluolbehandlede Jord; dette saavel som det Faktum, at den »begrænsende Faktor« ophæves ved Opvarmning og Behandling med Antiseptica, tyder paa, at den maa være et levende Væsen. Hæmningsfaktoren er ikke af bakteriel Natur; thi naar et gennem Papir filtreret, bakterieholdigt vandigt Udtræk af den ubehandlede Jord sættes til den toluolbehandlede Jord,

bliver Bakteriernes Formering og Ammoniakkdannelsen ikke langsomme, men endog hurtigere. Den er heller intet Toksin, thi Salpeterbakterierne, som man tør anse for de mest følsomme Bakterier i Jorden, arbejder uhindret i den ubehandlede Jord, og Bygkimplanter vokser normalt i et vandigt Udtræk heraf. Da Hæmningsfaktoren ikke findes i et filtreret Jordudtræk, maa den bestaa i ret store Organismer; *Russell* og *Hutchinson* fandt nu, at naar Høudtræk podedes med ubehandlet Jord, udviklede der sig stedse en rig Protozo-Fauna (*Amøber* og *Colpoda cucullus*), medens Protozoer aldrig optraadte, naar der podedes med opvarmet eller toluolbehandlet Jord. Paa Grundlag heraf opstillede *Hutchinson* og *Russell* den Teori, at i alt Fald en af de Faktorer, som begrænser Bakteriernes Formering og Stofomsætningen i Jordbunden, er Protozoerne, hvis vigtigste Næring jo er Bakterier. Partielsterilisationens fremmende Virkning paa Bakterieudviklingen skulde da skyldes, at Protozoerne herved udryddes fuldkomment, Bakterierne kun til Dels, og de overlevende Bakteriernes Formering hæmmes nu ikke længere af Protozoerne. Til yderligere Prøve paa Teoriens Rigtighed foretoges der nogle Peptonsonderdelingsforsøg, hvor en 1 pCt. Peptonopløsning podedes med Udtræk af den paa forskellig Maade behandlede Jord, og den frigjorte Ammoniakkmængde bestemtes efter 84 Timers Forløb; som Teorien fordrede, fandt man, at Udtræk af toluolbehandlet Jord var mere virksomt end Udtræk af ubehandlet Jord, men Virksomheden nedsattes, naar der tillige tilsattes et protozoholdigt Udtræk af den ubehandlede Jord, og endnu mere, naar der tilsattes Protozoer fra en Kultur i Høafkog; derimod ophævedes den hæmmende Virkning, naar den protozoholdige Jord-ekstrakt steriliseredes før Tilsætningen; Tallene var følgende:

	mg NH ₃ efter 84 Timer
1. Ekstrakt af ubehandlet Jord	12.0
2. Ekstrakt af toluolbehandlet Jord	20.9
3. Samme + protozoholdig Ekstrakt af ubehandlet Jord....	13.5
4. Samme + samme Ekstrakt, steriliseret	20.8
5. Samme + Protozoer fra Høafkog-Kultur.....	8.5

I et senere Arbejde med flere Jorder fandt *Russell* og *Hutchinson* principielt de samme Resultater: fra Jord, hvorfra »Hæmningsfaktoren« var fjernet ved Partielsterilisation, kom der aldrig Protozoer til Udvikling ved Podning i Høafkog. At Faktoren er noget positivt og ikke en Mangel paa noget, sluttede de yderligere derfra, at naar 2 Prøver af samme ubehandlede Jord opbevaredes ved 5–12° og ved 20°, faldt Antallet af Bakterier i den sidstnævnte i Løbet af 48 Dage stærkt og blev adskilligt mindre end det tilsvarende i Jorden ved den lave Temperatur; Faktoren er altsaa noget aktivt, hvis Aktivitet forøges ved stigende Temperatur. Dette, mener *Russell* og *Hutchinson*, forklarer det af *Conn* (6) paaviste Fænomen, at Bakterieantallet i Jorden har

Maksimum i Vintermaanederne, idet Protozoernes Aktivitet skulde hæmmes af den lave Temperatur.

Ikke alle *Russell* og *Hutchinsons* Forsøg støtter dog Teorien. Ganske vist havde en Tilsætning af 5—20 pCt. ubehandlet Jord til den totuolbehandlede en tydelig hæmmende Indflydelse paa Bakteriernes Formering, men paa Kvælstofomsætningen, maalt ved Dannelsen af Ammonik + Nitrat, havde Tilsætningen af ubehandlet Jord ingen kende- lig Indflydelse; et Eksempel:

	Bakterieantal, Millioner pr. g Jord				(NH ₃ + NO ₃)N, mg pr. kg Jord			
	efter 28 Dage	efter 111 Dage	efter 300 Dage	efter 420 Dage	efter 28 Dage	efter 111 Dage	efter 300 Dage	efter 420 Dage
Ubehandlet Jord	14	9	12	8	34	39	46	48
Toluolbehandlet Jord	59	71	81	85	37	50	49	57
do. + 0.5 pCt. ubeh. Jord	85	54	103	64	30	50	56	52
do. + 5.0 pCt. do. do.	97	52	75	58	33	45	54	58

Dog ansaa *Russell* og *Hutchinson* deres Teori for relativt sikret og mente, at en overvældende Udvikling af Protozoer under Forhold, der var dem gunstige, kunde fremkalde »Træthedsfænomener« i Jorden ved at holde Bakterieantallet saa langt nede, at Stofomsætningen næsten helt standsede. Ud fra disse Synspunkter undersøgte *Russell* og *Golding* (46) en Jord, som var blevet ufrugtbar paa Grund af for stærk Vanding med Kloakvand; de fandt de samme Resultater som med de sunde Agerjorder, men Hæmningsfaktoren var her langt mere fremtrædende end i den normale Jord, idet Bakterieantallet, som før Partielsterilisationen aldrig oversteg 40 Millioner pr. g Jord, efter denne steg til over 400 Millioner, ligesom ogsaa Ammoniak- og Nitratproduktionen steg stærkt; og i Centrifugat af en Opslemning af den ubehandlede Jord kunde der altid findes fritlevende Protozoer, derimod aldrig i totuolbehandlet. Ufrugtbarheden skyldes dog til Dels, indrømmer *Russell* og *Golding*, den uheldige Forandring af Jordens fysiske Beskaffenhed ved den stærke Vanding, og det er da muligt, at den stærke Ophobning af Protozoer er et sekundært Fænomen, som skyldes Jordens Overmætning med Vand. Ganske analøge Fænomener fandt *Russell* og *Petherbridge* (47) i meget stærkt gødet Drivhusjord, som anvendtes til Dyrkning af Meloner og Tomater; i saadan Jord optraadte meget hurtigt Træthedsfænomener, som kunde afhjælpes ved Behandling med Damp, Svovlkulstof eller Toluol. Jordtrætheden skyldtes dog heller ikke her alene Depression af Bakterierne, men vist lige saa meget Ophobning af Snyltesvampe og Skadedyr (især

Rodaalen, *Heterodera radicicola*), som ogsaa udryddes ved Partielsterilisationen¹⁾.

Disse interessante Undersøgelser gav Anledning til, at en Række andre Forskere tog Spørgsmaalet op til Bearbejdelse. Hvis *Russell* og *Hutchinsons* Teori skal være rigtig, maatte jo Bakteriernes Formering i en partielsteriliseret Jord kunne hæmmes ved tillige at pøde med en Kultur af Protozoer. Den første, der forsøgte dette, var *T. Goodey* (21); han podede toluolbehandlet Jord, hvori alle Protozoer var dræbte, med Renkulturer af forskellige Protozoer: Ciliaterne *Colpoda cucullus*, *Colpoda steinii*, *Colpoda maupasii* og *Vorticella microstoma*, samt Amøber og Flagellater. Podematerialet frembragtes ved at dyrke Protozoerne paa Sand, vædet med Høafkog. Efter Podningen foretoges der Tælling af Protozoer og Bakterier hver Maaned igennem 519 Dage; det fandtes ikke, at Protozoernes Tilstedeværelse havde reduceret Bakteriernes Antal i Sammenligning med den protozofri Jord; selv i et Forsøg, hvor der havde udviklet sig 10 000 Amøber pr. g Jord, var Bakteriantallet ikke lavere end det tilsvarende i den upodede Jord.

Imod disse Forsøg rettede *Russell* (48) den Indvending, at for det første er det ikke givet, at de Protozo-Arter, som *Goodey* arbejdede med, er de mest aktive i Jorden; *Goodey* havde jo selv tidligere vist, at i alt Fald Ciliaterne overvejende eller udelukkende forekommer i encystreret Tilstand i normal Jord; endvidere indføres der en Fejl derved, at samtidig med Protozoerne indføres der et meget stort Antal Bakterier med Podematerialet; i den partielsteriliserede Jord har Bakterierne udmærkede Betingelser for livlig Formering, og som *Cunningham* (9) og senere *Woodcock* (61) har vist, udvikler Protozoerne sig daarligt i Substrater, hvor Bakterierne kommer til meget stærk Udvikling — sandsynligvis paa Grund af Ophobning af Bakteriernes Stofskifteprodukter. — I et senere Arbejde har *Goodey* (22) indrømmet Berettigelsen af denne Kritik. Han forsøgte derfor at fremstille en nogenlunde bakteriefri Ciliat-Suspension ved at anvende en Modifikation af sin Side 502 omtalte galvanotaktiske Metode; af Amøber fremstilledes lignende Kulturer ved at udtage encystrerede Amøber enkeltvis af en Raakultur ved Hjælp af Kapillarpipetter og derpaa dyrke Amøberne sammen med en Renkultur af *Pseudomonas fluorescens*; naar Amøberne i disse Kulturer havde encystreret sig, dræbtes Bakterierne ved Behandling med Saltsyre. Heller ikke saadanne nogen-

¹⁾ En udpræget partielsteriliserende Virkning udøves ifølge *Hutchinson* og *Mc Lean* (*Journal of Agricultural Science*, Bd. 6, 1914, S. 302) af 0.1—1.0 pCt. brændt Kalk, med mindre Jorden er saa sur, at Kalken straks neutraliseres, i hvilket Tilfælde der kun iagttages en direkte Stimulation af Bakteriernes Antal. Brændt Kalk maatte altsaa være nærmest til at komme til Anvendelse, hvis Partielsterilisering af Jorden skulde foretages i større Udstrækning i Landbrugspraksis, hvor Anvendelse af Svovlkulstof el. lign. vilde blive for kostbar.

lunde bakteriefri Protozo-Kulturer udøvede nogen kendelig Indflydelse paa Bakterieantallet, naar de anvendtes til Podning af toluolbehandlet Jord, og selv formerede Protozoerne sig næsten ikke. Men naar den partielsteriliserede Jord podedes med 5 pCt. ubehandlet Jord, som indeholdt et kendt Antal Protozoer, da formerede disse sig stærkt, baade Ciliaterne og navnlig Amøberne, og efter 40—80 Dages Forløb, naar Amøberne havde naaet et Antal af 30 000 pr. g Jord, indtraadte der et udpræget Fald i Bakteriernes Antal. Dette taler jo stærkt for Rigtigheden af *Russell* og *Hutchinsons* Teori; forudsætter man denne at være rigtig, maa man altsaa antage, at *Goodey* ikke i sine Eksperimenter med Protozo-Renkulturer har haft fat i de Former, som er mest aktive i Jorden.

Cunningham (9) foretog omtrent samtidig lignende Forsøg med positivt Resultat. For det første fandt han, at Udviklingen af Protozoer (som i Parallelforsøget undertryktes ved Tilsætning af Saponin) reducerer Antallet af Bakterier i den Blodmelsopløsning, hvori Protozoerne dyrkedes; og i partielsteriliseret Jord, som var podet med en blandet Kultur af Protozoer fra Blodmelsaffkog, fandtes der 52—123 Millioner Bakterier pr. g Jord, medens der i den tilsvarende Jord uden Protozoer fandtes 420—950 Millioner.

Paa en noget anden Maade er Spørgsmaalet bearbejdet af *Sherman* (52); han fremstillede Jord med en syntetisk Mikroflora ved at pode steriliseret Jord med Renkulturer af alle de Bakterier, der kunde isoleres fra samme Jord; en anden Portion af samme Jord podedes med usteriliseret Jord, der indeholdt Protozoer; naar disse to Jordprøver anbragtes ved lav Temperatur, fandtes der lige mange Bakterier i dem begge, hvilket *Sherman* udlagde som et Bevis mod *Russell* og *Hutchinsons* ovennævnte teoretiske Forklaring paa, at Bakterieantallet stiger om Vinteren — nemlig at Protozoerne lammes af Kulden. Disse Forsøg har dog flere Svagheder; det er som bekendt umuligt at isolere alle de Bakteriearter, der findes i Jorden; ifølge *Conn* (6) falder den vinterlige Forøgelse af Bakterieantallet hovedsagelig paa en Gruppe langsomt voksende, vanskeligt isolerbare Bakterier, de saakaldte »slow-growers«; og selv om *Sherman* maaske har isoleret alle de Bakterier, der overhovedet kunde vokse paa Agar og Gelatine, er jo hermed langtfra alle i den naturlige Jord forekommende Bakterier isolerede; og selv om man kun tager Hensyn til de paa Agar og Gelatine voksende Arter, er det ganske umuligt at fremstille en syntetisk Bakterief flora af samme procentiske Sammensætning som den naturlige. — Ogsaa Protozo-Renkulturers Indvirkning paa Bakterier undersøgte *Sherman*; Jordekstrakt podedes med Renkulturer af Protozoer + protozofri, men bakterieholdig Jord. I disse Forsøg reducerede *Colpoda cucullus* Bakterieantallet stærkt (ligesom i *Cunninghams*); efter 8 Dages Forløb fandtes der i den protozoholdige Opløsning 4 Millioner Bakterier pr. cm³, men i den protozofri 144 Millioner. Ganske anderledes var Forholdet, naar de samme Podninger foretoges i steriliseret

Jord; her fandtes der efter 8 Dage i henholdsvis protozoholdig og protozofri Jord ca. 753 og ca. 723 Millioner Bakterier pr. g. Resultater, der var ganske analoge hermed, fandtes ved at anvende andre Protozoer, nemlig Ciliaten *Balantiophorus elongatus* og Flagellaterne *Dimorpha radiata*, *Monas sp.* og to andre Flagellater samt en Blanding af Protozoer. Disse Forsøg er dog ogsaa kun lidet beviskraftige; for det første har *Sherman* selv vist, at *Colpoda cucullus* kun kan formere sig i meget vaad Jord; for det andet gælder ogsaa her *Russell* og *Hutchinsons* Kritik af *Goodeys* Eksperimenter: ved Sterilisationen bliver Jorden et langt bedre Substrat for Bakterierne, som nu formerer sig saa livligt, at Protozoerne ikke er i Stand til at begrænse deres Antal (selv om ogsaa Flagellaterne, som det fremgaar af *Shermans* Side 506 anførte Tal, formerer sig overordentlig stærkt i steriliseret Jord); for det tredje er der ingen Garanti for, at de Protozoer, som *Sherman* har anvendt, er de mest aktive i Jorden; en Parallel hertil kan anføres: *Bacillus mycoides* er den stærkeste Ammoniakdanner af alle Bakterier og findes konstant i Jordbunden; men ifølge *Conn* er den uden Betydning for Ammoniakdannelsen her, da den under naturlige Forhold praktisk talt kun forekommer som Sporer i Jordbunden; for det fjerde er det muligt, at *Sherman* har anvendt fritlevende Protozoer til Podningen; men for at faa Protozoer til at »slaa an« i steriliseret Jord, er det ifølge *Cutler* (14) en absolut Betingelse, at man podes med encysterede og ikke med frie Protozoer. — Andre Forsøg af *Sherman* synes at tale stærkere mod *Russell* og *Hutchinsons* Teori: Partielsterilisation med 2 pCt. Toluol, Svovlkulstof eller Kloroform befriede ikke Jorden fuldstændigt for Protozoer; efter 2 Maaneders Forløb var der baade Amøber, Flagellater og Ciliater til Stede i Antal paa indtil 10 000 pr. g Jord; der fandtes intet Maksimum af Bakterier, naar Antallet af Protozoer havde Minimum, og ej heller fandtes der nogen Depression af Bakterieantallet, naar partielsteriliseret Jord podedes med ubehandlet. — Til lignende Resultater kom *G. P. Koch* (32), som ingen Relation fandt mellem Forekomsten af frie Protozoer og Antallet af Bakterier i Jorden; heller ikke dette har dog stor Beviskraft, da *Koch* kun anvendte mikroskopisk Undersøgelse af Jorden, hvilket som før omtalt er utilstrækkeligt.

At Renkulturer af Protozoer kan reducere Antallet af Bakterier, naar de podes i steriliseret Jord, fremgaar med overbevisende Tydelighed af et ganske nyt Arbejde af *Cutler* (14). Ved disse Forsøg podedes steriliseret Jord med: 1) Bakterier alene; 2) Bakterier + *Dimostigamoeba gruberi*; 3) Bakterier + *Cercomonas crassicauda*; der tilsattes henholdsvis 25 000 og 20 000 Flagellater pr. g Jord. Forsøgene gav følgende Resultat:

Podemateriale	Antal Dage	Bakterier, Millioner pr. g Jord
1. Bakterier alene.....	0	13
	6	214.4
	21	176.2
2. Bakterier + <i>Dinastigamoeba gruberi</i>	0	12.2
	5	177.0
	21	28.2
3. Bakterier + <i>Cercomonas crassicauda</i>	0	11.4
	7	103.0
	20	43.0
	21	76.6

I det hele taget giver Rothamsted-Protozoologernes Undersøgelser et ganske andet Billede end de amerikanske Forskeres; de første søger at løse Spørgsmaalet ad den besværlige, men sikkert rigtige Vej, at de gennem en kortere eller længere Periode bestemmer Antallet af frie og encysterede Protozoer samt af Bakterier i Jorden, og ved statistisk Behandling af Talmaterialet søger man at afgøre, om der bestaar nogen direkte Forbindelse mellem Bakteriernes og de aktive Protozoers Antal. I et foreløbigt mindre Arbejde fandt *Cutler* og *Crump* (12), at de ejendommelige Svingninger, som Antallet af baade Bakterier og Protozoer udviste, korresponderede paa en ejendommelig Maade: til et Maksimum af fritlevende Protozoer (navnlig Amøber) svarede et Minimum af Bakterier, og omvendt. I det store Hovedarbejde (*Cutler*, *Crump* og *Sandon*) (13), hvor Undersøgelsen strakte sig over et helt Aar med daglige Bestemmelser af Bakteriernes og Protozoernes Antal, fandtes Resultater, som umiskendeligt viste et antagonistisk Forhold mellem Antallet af Bakterier og fritlevende Amøber; derimod fandtes der ingen nærmere Relation mellem Antallet af Protozoer og Jordens Temperatur, Fugtighed og Nedbørsforholdene. Svingningerne i Protozoantallene anses for at være et primært Fænomen, da de, som før omtalt (Side 507), ogsaa optræder i Renkulturer af Protozoer (*Cutler* og *Crump*) (15), og de tilsvarende Svingninger i Bakterieantallet maa da antages at være en direkte Følge heraf.

Som Helhed tyder Undersøgelserne altsaa paa følgende: Protozoerne er i Stand til at udøve en vis regulerende Indflydelse paa Bakterieantallet i Jorden; denne Virkning er mest fremtrædende i vaad Jord og i meget stærkt gødet Jord, da Amøberne navnlig kommer til Udvikling under disse Forhold (*Martin* og *Lewin* fandt, at i stærkt gødet Drivhusjord var Amøberne langt i Flertal, og *Cauda* og *San-giorgi* [3] fandt, at i Rismarker var Amøber i et saa overvældende Flertal, at de andre Grupper af Protozoer helt kunde mangle). Amøberne har den stærkeste Indflydelse paa Bakteriernes Antal; Flagellaterne, hvis Antal er langt større, synes at have mindre Betydning i denne Retning, vel sagtens fordi deres Ernæringsforhold er ander-

ledes. Ciliaterne synes ikke at spille nogen Rolle; dels er deres Antal kun ringe, dels er de sjældent til Stede i fri Tilstand.

Tilbage har vi nu den Side af Spørgsmaalet, som er den vigtigste fra et landbrugsmæssigt Synspunkt: om Protozoerne ogsaa begrænser Jordens Frugtbarhed, d. v. s. Omsætningen af Plantenæringsstoffer, i første Linie Kvælstof, og om Partielsterilisationens gavnlige Indflydelse paa »træt« Jord virkelig skyldes Udryddelsen af Protozoerne. — Af specielle Undersøgelser over Protozoernes Indflydelse paa Stofomsætningens Intensitet foreligger der kun faa; saavidt det kan skønnes, synes der ikke at være Tale om nogen skadelig Indflydelse; ja, i nogle Tilfælde synes Nærværelse af Protozoer endog at fremme Stofomsætningen.

T. L. Hills (25) søgte at løse dette Spørgsmaal ved at pøde steriliseret Jord, dels med et vandigt Jordudtræk, der indeholdt Jordens naturlige Population af Bakterier og Protozoer, dels med en syntetisk, protozofri Bakteriefiora; i begge disse Jorder dannedes der lige meget Ammoniak- + Nitratkvælstof. I partielsteriliseret Jord var Ammoniak- + Nitratdannelsen ikke stærkere end i samme Jord, podet med ubehandlet, protozoholdig Jord (hvad jo ogsaa mange af *Russell* og *Hutchinsons* Forsøg havde vist). Mod disse Forsøg kan dog *Russells* Kritik gøres gældende: Sterilisationen (absolut eller delvis) gør Jorden til et saa godt Substrat for Bakterierne, at de ved deres hurtige Formering hindrer de kunstigt indførte Protozoer i at komme til Udvikling; dernæst er det umuligt at fremstille en syntetisk Bakteriefiora, der har samme Aktivitet som den naturlige; alene det, at der til den naturlige Jordbundsflora hører en Mængde Svampe, medens saadanne ikke synes at være taget med i den syntetiske Flora, gør det umuligt at sammenligne de to Floraer i *Hills* Forsøg.

Et ganske andet Billede giver de af *Hills* udførte Kvælstofbindings- og Nitrifikationsforsøg. Til Nitrifikationsforsøgene anvendtes Portioner paa 100 g steriliseret Jord, hvortil der var sat 20 mg Ammoniak-Kvælstof (som Ammoniumsulfat); Jorden pødedes dels med en Salpeterbakteriekultur alene, dels med samme Kultur + protozoholdigt Jordudtræk; disse Forsøg gav det overraskende Resultat, at Nitrifikationen gik hurtigst, hvor der var podet med Protozoer; der fandtes følgende Tal:

		mg Nitratkvælstof pr. 100 g Jord efter:	
		14 Dage	28 Dage
Jord med Protozoer	1	9.90	13.88
	2	11.90	13.88
	3	11.76	13.51
Jord uden Protozoer	1	7.52	7.81
	2	6.57	8.06
	3	8.20	8.06

Kvælstofbindingsforsøgene udførtes ved at pøde steriliseret Jord med Renkultur af *Azotobacter chroococcum* samt Jord med og uden Protozoer. Kvælstofbindingen var en lille Smule stærkere, hvor der var Protozoer til Stede; i 100 g Jord fandtes der efter 21 Dages Forløb følgende Mængder Kvælstof (Gennemsnit af 3 Analyser):

Jord med Protozoer: 147.5 mg
— uden — : 145.0 —

I Vædskekulturer synes Protozoerne derimod at hæmme Kvælstofbindingen lidt; der fandtes efter 21 Dage følgende Mængder Kvælstof pr. 100 ccm *Ashbys* Opløsning:

Opløsning med Protozoer: 31.74 mg
— uden — : 33.79 —

Lignende Forsøg over Protozoernes Virkning paa kvælstofbindende Bakterier er udført af S. M. Nasir (40), som anvendte Renkulturer af Protozoer. Raakulturer af *Azotobacter chroococcum* dyrkedes dels paa *Ashbys* Agar, dels i Sand, vædet med *Ashbys* Opløsning; hertil sattes Renkulturer af Protozoer, der var isolerede efter *Cullers* Fortyndingsmetode. Nasir fandt, at Kvælstofbindingen i 10 eller 15 Dage kun i ganske faa Tilfælde nedsattes, hvor der var Protozoer til Stede; i de fleste Tilfælde forøgedes den lidt; af Tallene kan følgende anføres:

Substrat	Podemateriale	mg assimileret Kvælstof efter 15 Dage pr. g forbrugt Mannit
Agar	<i>Azotobacter</i> -Raakultur	10.03
do.	do. + Ciliater	12.89
do.	do. + Ciliater + Amøber + Flagellater...	12.10
do.	do. + Amøber + Flagellater	12.75
Sand	<i>Azotobacter</i> -Raakultur	5.16
do.	do. + Ciliater	7.02
do.	do. + Amøber	6.46
do.	do. + Ciliater + Amøber + Flagellater...	4.58
Agar	<i>Azotobacter</i> -Renkultur	10.96
do.	do. + <i>Colpoda cucullus</i> , Renkultur	12.18
Sand	<i>Azotobacter</i> -Renkultur	7.06
do.	do. + <i>Colpoda cucullus</i> , Renkultur	9.74
Sand	<i>Azotobacter</i> -Renkultur	16.18
do.	do. + <i>Colpoda cucullus</i>	18.90
do.	do. + Ciliater + Flagellater	19.96
do.	do. + Ciliater	24.06

Disse Resultater er vanskelige at forklare; men man tør dog sige, at selv om det er næsten umuligt at slutte fra Forholdene i Kulturer til Forholdene i Jordbunden, synes det lidet sandsynligt, at Protozo-

erne — i alt Fald de af *Nasir* undersøgte Arter — skulde hæmme Kvælstoffbindingen i Jorden, naar de ikke gør det i Kulturer, hvor Betingelserne for deres Trivsel er de bedst mulige. Men hvorpaa det beror, at Kvælstoffbindingen bliver stærkere, hvor Protozoerne er til Stede, kan der aldeles ikke gives nogen Forklaring paa, før der er udført flere Undersøgelser over disse interessante Problemer; og ganske det samme gælder om Forøgelsen af Nitrifikationens i *Hills* Forsøg.

En Række Undersøgelser af *S. A. Waksman* har givet meget interessante Resultater. I sine første Forsøg anvendte *Waksman* (55) steriliseret Jord, blandet med Blodmel, som podedes med Protozoer og ammoniakdannende Bakterier; naar der var gunstige Betingelser for Protozoernes Udvikling (høj Fugtighedsgrad) fandtes der vel en kendelig Depression af Bakterieantallet, men Ammoniakdannelsen blev ikke svagere, i nogle Tilfælde endog stærkere; *Waksman* mente paa dette Tidspunkt, at dette kunde skyldes følgende tre Muligheder: at de Bakterier, som Protozoerne hovedsagelig lever af, ikke er de, som har mest Betydning for Ammoniakdannelsen — at Protozoerne maaske selv tager Del i Ammoniakdannelsen — og endelig, at der dannes Ammoniak ved Nedbrydningen af Bakteriecellerne; navnlig det første er jo en meget plausibel Forklaring. I et andet Arbejde (57) anvendte *Waksman* partielsteriliseret Jord, hvorved de samme Resultater fandtes. Behandling med Toluol forøgede i høj Grad Jordens Evne til at danne Ammoniak af Blodmel, men dette syntes ikke, som *Russell* og *Hutchinson* mener, at bero paa en Udryddelse af Protozoerne; thi der fandtes i den partielsteriliserede Jord baade Flagellater og smaa Ciliater, som havde overlevet Toluolbehandlingen (derimod tales der ikke om Amøber, som jo er mest aktive med Hensyn til at reducere Bakterieantallet); at Partielsterilisation ikke altid udrydder Protozoerne fuldstændigt, er for øvrigt ogsaa konstateret af andre, saaledes af *Sherman*, som anførte Side 515, og af *P. L. Gainey*, cit. efter *Kopeloff, Lint* og *Coleman* (34). Bemærkelsesværdigt var det endvidere, at efter Partielsterilisationen steg ikke alene Bakteriernes, men ogsaa Svampenes Antal stærkt; det er da muligt, at den forøgede Ammoniakdannelse slet ikke har noget at gøre med Bakteriernes forøgede Antal, men skyldes, at der er opstaaet bedre Betingelser for Svampenes Vækst; mange af de typiske Jordbundssvampe — Arter af Slægterne *Mucor*, *Zygorrhynchus*, *Trichoderma*, *Acrostalagmus* og *Fusarium* — er efter flere Forskeres samstemmende Resultater (*Mac Lean* og *Wilson* [35], *Coleman* [5], *Waksman* [56]) stærkere Ammoniakdannere end nogen af Bakterierne, i alt Fald i Renkultur.

Ved senere Undersøgelser kom *Waksman* (58) til den Overbevisning, at Ammoniakdannelsen i Jorden slet ikke giver noget Udtryk for Jordbundsfloraens Sammensætning, og ved et ganske nyt Arbejde (*Waksman* og *Starkey* [59]) blev Undersøgelserne over Partielsterilisationens Virkning derfor ført ind paa et andet Spor. I den første Forsøgsrække anvendte *Waksman* og *Starkey* 5 Jordprøver af forskellig

Frugtbarehed, som underkastedes Partielsterilisation med 0.1, 1 og 5 pCt. Toluol; efter 3, 10, 30 og 55 Dage bestemtes Antallet af Bakterier, Actinomycceter og Svampe ved Pladespredning, og Forekomsten af Protozoer undersøgtes ved Podning i Hø- eller Jordekstrakt. Foruden det gammelkendte Faktum, at Bakteriernes Antal falder for derpaa at stige stærkt, viste det sig, at Svampene forsvandt næsten helt straks efter Toluolbehandlingen, men efter 10—30 Dages Forløb steg deres Antal enormt; i et Tilfælde fandtes saaledes en Forøgelse fra 37 000 til 1 010 000 Svampe pr. g Jord! Protozoerne forsvandt forbigaaende, men efter 55 Dages Forløb var der igen baade Ciliater og Flagellater til Stede i al Jord, undtagen den, som var behandlet med 5 pCt. Toluol; i denne var ogsaa Bakteriernes og Svampenes stærke Formering nedstemt; mest fremtrædende var Protozoerne i den Jord, hvori Bakterierne var talrigst. Ophedning af Jorden til 65° i en Time gav Anledning til ganske de samme Fænomener som Toluolbehandlingen. — I en anden Forsøgsrække anvendte *Waksman* og *Starkey* Kulsyreproduktionen i Jorden som Maal for den samlede mikrobielle Aktivitet; til disse Forsøg anvendtes en Jord, som var bragt i »mikrobiel Ligevægt« ved at opbevares i Laboratoriet under jævnlig Bestemmelse af Salpetersyreproduktion, Kulsyreproduktion og Antal af Bakterier og Svampe, indtil Resultaterne (efter 11 Maanedes Forløb) blev konstante. Derefter foretoges Partielsterilisation med Calciumilte, Toluol, Svovlsulfid og Ophedning; disse Forsøg gav principielt de samme Resultater som før. Antallet af Bakterier og Svampe faldt stærkt for senere at stige vældigt, og Protozoerne undertryktes forbigaaende, men efter 4 Ugers Forløb var de igen til Stede; dog syntes de ikke at hæmme den samlede Aktivitet af Mikroorganismene, thi Kulsyreproduktionen holdt sig paa sit Højdepunkt længe efter, at Protozoernes Udvikling havde naaet Maksimum. Men mest paafaldende var det dog, at en Tilsætning af 0.2 pCt. Lucernehømel til Jorden havde samme Virkning som en Partielsterilisation med paafølgende Podning med usteriliseret Jord: Kulsyreproduktionen steg hurtigt for derpaa at falde ret brat; Nitratdannelsen faldt stærkt for derpaa at stige; Antallet af Bakterier og Svampe voksede meget stærkt. *Waksman* og *Starkey* drog heraf den Slutning, at Partielsterilisationens heldige Virkning og den forøgede Produktion af Plantenæringsstoffer skyldes enten en Forandring af Jordens organiske Stof, saaledes at dette lettere omsættes af Mikroorganismene, eller Ødelæggelsen af Orme, Protozoer, Svampe o. s. v., hvis døde Rester danner Grundlag for den forøgede Stofomsætning; det er altsaa i Virkeligheden *Hiltner* og *Störmers* gamle Teori, de accepterer; tillige giver de den en Udvidelse, idet de gør opmærksom paa Svampenes Betydning for Stofomsætningen og paa det Faktum, at Svampene efter Partielsterilisationen eller Tilsætningen af Lucernehømel formerer sig relativt langt stærkere end Bakterierne; dette tyder jo paa, at de under disse Forhold deltager livligt i Stofomsætningen. Dette forklarer endvidere, hvorfor Produktionen af

Ammoniak og Nitrat ikke gaar tilbage, naar Bakteriernes Antal reduceres under stærk Udvikling af Protozoer; thi paa Svampenes Udvikling vides Protozoerne ikke at have nogen hæmmende Indflydelse (det kan i denne Forbindelse nævnes, at ifølge *M. Wolff* [60] kan Protozoer vel optage Sporer af *Penicillium* og *Fusarium*, men de kan ikke fordøje dem og udskiller dem i spiredygtig Tilstand). *Waksman* og *Starkey* gaar endog saa vidt som til at sige:

»Svampenes Stofskifte er af en saadan Natur, at man derigennem let kan forklare de Fænomener, der iagttages som Resultat af Partielsterilisation af Jorden«.

I en tredje Forsøgsrække anstillede *Waksman* og *Starkey* Omsætningsforsøg (NH_3 - og NO_3 -Dannelse af Blodmel, CO_2 -Dannelse af Lucernehomel, Sønderdeling af Cellulose) dels med ubehandlet, dels med Toluol- og CaO-behandlet Jord. Den partielsteriliserede Jord havde stedse svagere Stofomsætning end den ubehandlede, skønt Bakteriernes Antal var umaadelig forøget; først senere, naar Svampene havde faaet Tid til at udvikle sig, naaede Omsætningen sin fulde Styrke. Et stort Bakterieantal i Jorden alene er altsaa ikke ensbetydende med et energisk Stofskifte.

De foretagne Undersøgelser giver altsaa nærmest det Svar, at Protozoerne ikke i normal Jord har nogen kendelig hæmmende Indflydelse paa Stofomsætningen, selv om de reducerer Bakterieantallet. Dette maa vel nærmest forklares gennem følgende Muligheder: for det første er det muligt, at de Bakterier, som Protozoerne hovedsagelig lever af, ikke er de, som har mest Betydning for Stofomsætningen. For det andet maa det erindres, at Stofomsætningen langt fra udføres af Bakterier alene; Svampene tager Del heri, og det er muligt at de, naar Bakteriernes Virksomhed trænges tilbage, optræder som en vigtig kompenserende Faktor. For det tredje er jo Protozoerne Organismer med et livligt Stofskifte og en kortvarig Livscyklus, naar de befinder sig i den fritlevende Tilstand; de deltager aktivt i Stofomsætningen, idet der sker en stadig Bortdøen og Reproduktion af dem, og de døde Individer nedbrydes hurtigt, enten ved Autolyse, eller af de andre Mikroorganismer. At hæmme Stofomsætningen vil de vel nærmest være i Stand til under Forhold, hvor deres Antal, og dermed den Mængde Stof, der ophobes som Bestanddele af deres Protoplasma, stadig vokser; under disse Forhold maa ogsaa Bakteriernes Antal formindskes. Men holder Protozoernes Antal sig konstant, dør de gamle Celler lige saa hurtigt, som de unge opstaar — og hermed er der igen skabt Betingelser for Bakteriernes Formering. Men i det hele taget synes, som *Woodcock* (62) fremhæver, Protozoerne at være mere afhængige af Bakterierne end omvendt, og det er absolut for tidligt at fælde en bestemt Dom om deres Betydning for Stofomsætningen; nærmest maatte vel Spørgsmaalet kunne belyses gennem Undersøgelser efter *Cutler* og *Crumps* Princip: gennem en længere Periode jævnlgt at bestemme Antallet af aktive, d. v. s. frit-

levende Protozoer i den naturlige, urørte Jord og sammenligne Tallene med de Stofskifteprocesser, der samtidig foregaar i Jorden; fandt man herved, at Formindskelser i Ammoniakdannelse, Nitrifikation, Cellulosesønderdeling, Kvælstofbinding o. s. v., som ikke kunde føres tilbage til nogen anden Faktor, var forbundne med Forøgelser af de aktive Protozoers Antal, da vilde man være berettiget til at slutte, at Protozoerne udøver en hæmmende Virkning paa Stofomsætningen.

Resumé.

Søger vi til Slut at danne os et overskueligt Billede af de Resultater, som Jordbundsprotozoologien paa sit nuværende Standpunkt er kommen til, kan vi sige følgende:

Alle Jorder indeholder en Protozo-Fauna af Rhizopoder, Flagellater og som Regel Ciliater. Rhizopoderne repræsenteres overvejende af Slægten *Amoeba*, Ciliaterne af Slægterne *Colpoda* og *Colpidium*, Flagellaterne af Slægterne *Bodo*, *Prowazekia*, *Dimorpha*, *Monas*, *Copromonas*, *Cercomonas*, *Oicomonas*, *Heteromita* og *Dimastigamoeba* — allesammen lavtstaaende, farveløse Former.

Protozoernes Antal er i de forskellige Jorder yderst forskelligt; om Tallenes Størrelsesorden kan man kun sige, at gennemgaende kan Ciliaterne tælles i Hundreder, Amøberne i Tusinder og Flagellaterne i Titusinder pr. g Jord. Men ogsaa for en given Jord er Antallet yderst variabelt; dels varierer det med forskellige ydre Forhold, dels udviser det andre ejendommelige Svingninger, som synes at hidrøre fra en vis Periodicitet i Protozoernes Formering. — Ciliaterne synes for største Delen at forekomme i encysteret Tilstand i Jorden, medens de to andre Hovedgrupper mest forekommer fritlevende.

De fritlevende Protozoer, specielt Amøberne, har en ejendommelig Indflydelse paa Bakterieflooraen, idet de i Perioder, hvor de formerer sig stærkt, reducerer Antallet af Bakterier; *Russell* og *Hutchinsons* Teori synes altsaa at være rigtig, for saa vidt som Protozoerne virkelig synes at være en af de Faktorer, der begrænser Bakteriernes Formering i Jorden.

For Stofomsætningen i Jordbunden synes *Russell* og *Hutchinsons* Teori derimod ikke at gælde; for det første tyder de foretagne Undersøgelser ikke paa, at Nærværelse af Protozoer hæmmer Omsætningerne (paa visse Processer synes Protozoerne endog at virke fremmende — et Fænomen, hvorpaa der foreløbig ingen Forklaring kan gives); for det andet kan Partielsterilisationen gøre sine ejendommelige Virkninger gældende (Forøgelse af Bakterieantallet og af Kvælstofomsætningens Intensitet), uden at Protozoerne udryddes.

Om der i visse abnorme Jorder (meget stærkt gødede Drivhusjorder) kan opstaa »Træthedsfænomener« som Følge af en overvældende Udvikling af Protozoer i Jorden, er uvist. Det Faktum, at i saadanne Jorder bestaar den aktive Protozo-Fauna overvejende af

Amøber, tyder herpaa; men da ogsaa andre Faktorer (Snyltesvampe og Skadedyr) er ansvarlige for en Del af Jordtrætheden, maa der kræves flere Undersøgelser, fremfor alt om Protozoernes Antal og Stofomsætningens Forløb i saadanne Jorder, før noget kan siges med Bestemthed.

I normale Jorder synes Partielsterilisationens stimulerende Virkning paa Bakteriernes (og Svampenes) Formering og paa Stofomsætningen ganske overvejende at bero paa, at der stilles større Mængder Næring til Raadighed for Mikrofloraen; Protozoernes Udryddelse (som ikke engang altid er fuldstændig) synes af mindre Betydning. — At Partielsterilisationen har langt mere udprægede Virkninger i »træt« Drivhusjord end i Agerjord kan forklares derigennem, at i Drivhusjorden gøres langt mere Stof tilgængeligt for Mikroorganismerne end i Agerjorden.

Litteraturfortegnelse.

1. *M. W. Beijerinck*: Kulturversuche mit Amöben auf festem Substrate. Centralblatt für Bakteriologie, Abt. I, Bd. 19, 1896, S. 257.
2. *E. Bréal*: Decomposition des matières végétales en présence de l'eau et de la terre. Annales agronomiques, Bd. 22, 1896, S. 362.
3. *A. Cauda* og *G. Sangiorgi*: Untersuchungen über die Mikrofauna der Böden aus Reisgegenden. Centralblatt für Bakteriologie, Abt. II, Bd. 42, 1915, S. 393.
4. *A. Celli*: Die Kultur der Amöben auf festem Substrate. Ibidem, Abt. I, Bd. 19, 1896, S. 536.
5. *D. A. Coleman*: Environmental factors influencing the activity of soil fungi. Soil Science, Bd. 2, 1916, S. 1.
6. *H. J. Conn*: Bacteria of frozen soil. II. Centralblatt für Bakteriologie, Abt. II, Bd. 32, 1912, S. 70.
7. *L. M. Crump*: Numbers of protozoa in certain Rothamsted soils. Journal of Agricultural Science, Bd. 10, 1920, S. 182.
8. *Andrew Cunningham* og *F. Löhnis*: Studies on soil protozoa. I. The growth of protozoa on various media and the effect of heat on active and encysted forms. Centralblatt für Bakteriologie, Abt. II, Bd. 39, 1914, S. 596.
9. *Andrew Cunningham*: Studies on soil protozoa. II. Some of the activities of protozoa. Ibidem, Abt. II, Bd. 42, 1915, S. 8.
10. *D. W. Cutler*: Observations on soil protozoa. Journal of Agricultural Science, Bd. 9, 1919, S. 430.
11. *D. W. Cutler*: A method for estimating the number of active protozoa in the soil. Ibidem, Bd. 10, 1920, S. 135.
12. *D. W. Cutler* og *L. M. Crump*: Daily periodicity in the numbers of active soil flagellates, with a brief note on the relation of trophic amoebae and bacterial numbers. Annals of Applied Biology, Bd. 7, 1920, S. 11.
13. *D. W. Cutler*, *L. M. Crump* og *H. Sandon*: A quantitative investigation of the bacterial and protozoan population of the soil, with an account of the protozoan fauna. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Ser. B, Bd. 211, 1922, S. 317.
14. *D. W. Cutler*: The action of protozoa on bacteria when inoculated into sterile soil. The Annals of Applied Biology, Bd. 10, 1923, S. 137.
15. *D. W. Cutler* og *L. M. Crump*: The rate of reproduction in artificial culture of *Colpidium colpoda*. Biochemical Journal, Bd. 18, 1923, S. 174.

16. *Dorothy Dale*: On the action of electrolytes on *Paramaecium*. *Journal of Physiology*, Bd. 46, 1913, S. 129.
17. *C. Doflein*: Lehrbuch der Protozoenkunde. 1916.
18. *C. R. Fellers* og *F. E. Allison*: The protozoan fauna of the soils of New Jersey. *Soil Science*, Bd. 9, 1920, S. 1.
19. *R. H. Francé*: Studien über edaphische Organismen. *Centralblatt für Bakteriologie*, Abt. II, Bd. 32, 1912, S. 1.
20. *T. Goodey*: A contribution to our knowledge of the protozoa of the soil. *Proceedings of the Royal Society of London*, Ser. B, Bd. 84, 1912, S. 165.
21. *T. Goodey*: Investigations on protozoa in relation to the factor limiting bacterial activity in soil. *Ibidem*, Ser. B, Bd. 88, 1915, S. 437.
22. *T. Goodey*: Further observations on protozoa in relation to soil bacteria. *Ibidem*, Ser. B, Bd. 89, 1916, S. 297.
23. *Richard Greff*: Ueber einige in der Erde lebenden Amöben und andere Rhizopoden. *Archiv für mikroskopische Anatomie*, Bd. 2, 1866, S. 299.
24. *Grieg-Smith*: The bacteriotoxins and the agricers of soils. *Centralblatt für Bakteriologie*, Abt. II, Bd. 30, 1911, S. 154.
25. *T. L. Hills*: The relation of protozoa to certain groups of soil bacteria. *Journal of Bacteriology*, Bd. 1, 1916, S. 423.
26. *L. Hiltner* og *K. Störmer*: Studien über die Bakterienflora des Ackerbodens, mit besonderer Berücksichtigung ihres Verhaltens nach einer Behandlung mit Schwefelkohlenstoff und nach Brache. *Arbeiten aus der Biologischen Abteilung für Land- und Forstwirtschaft am Kaiserlichen Gesundheitsamte*, Bd. 3, 1903, S. 445.
27. *L. Hiltner*: Über neuere Ergebnisse und Probleme auf dem Gebiete der landwirtschaftlichen Bakteriologie. *Jahresbericht der Vereinigung für angewandte Botanik*, Bd. 5, 1907, S. 200.
28. *A. Itano* og *G. B. Ray*: A method for the counting of certain protozoa in the soil. *Soil Science*, Bd. 5, 1918, S. 303.
29. *J. Killer*: Die Zählung der Protozoen im Boden. *Centralblatt für Bakteriologie*, Abt. II, Bd. 37, 1913, S. 521.
30. *G. P. Koch*: Soil protozoa. *Journal of Agricultural Research*, Bd. 4, 1915, S. 511.
31. *G. P. Koch*: Activity of soil protozoa. *Ibidem*, Bd. 5, I, 1915, S. 477.
32. *G. P. Koch*: Studies on the activity of soil protozoa. *Soil Science*, Bd. 2, 1916, S. 163.
33. *N. Kopeloff*, *H. C. Lint* og *D. A. Coleman*: A new method for counting soil protozoa and a comparison of media for their development. *Centralblatt für Bakteriologie*, Abt. II, Bd. 45, 1916, S. 230.
34. *N. Kopeloff*, *H. C. Lint* og *D. A. Coleman*: A review of investigations in soil protozoa and soil sterilization. *Ibidem*, Abt. II, Bd. 46, 1916, S. 28. *Endvidere*: *Soil Science*, Bd. 3, 1917, S. 197.
35. *H. C. McLean* og *G. W. Wilson*: Ammonification studies with soil fungi. *New Jersey Agricultural Experiment Station, Bulletin* Nr. 270, 1914.
36. *C. H. Martin*: A note on the protozoa from sick soils, with some account of the life-cycle of a flagellate monad. *Proceedings of the Royal Society of London*, Ser. B, Bd. 85, 1912, S. 393.
37. *C. H. Martin* og *K. R. Lewin*: Some notes on soil protozoa. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, Ser. B, Bd. 205, 1914, S. 77.
38. *C. H. Martin* og *K. R. Lewin*: Notes on some methods for the examination of soil protozoa. *Journal of Agricultural Science*, Bd. 7, 1915, S. 106.
39. *P. E. Müller*: Studier over Skovjord. II. Om Muld og Mor i Egeskove og paa Heder. 1884.

40. S. M. Nasir: Some preliminary investigations on the relationship of protozoa to soil fertility with special reference to nitrogen fixation. *Annals of Applied Biology*, Bd. 10, 1923, S. 122.
41. R. H. Peters: The substances needed for the growth of a pure culture of *Colpidium colpoda*. *Journal of Physiology*, Bd. 55, 1921, S. 1.
42. H. von Post: Studier öfver Nutidens Koprogena Jordbildningar, Gytjtja, Dy, Torf och Mylla. Kungliga Svenska Vetenskaps-Akademiens Handlingar, Ny Följd, Bd. 4, Hefte 1, 1861.
43. Otto Rahn: Methode zur Schätzung von Protozoen im Boden. *Centralblatt für Bakteriologie*, Abt. II, Bd. 36, 1913, S. 419.
44. E. J. Russell og H. B. Hutchinson: The effect of partial sterilization of soil on the production of plant food. *Journal of Agricultural Science*, Bd. 3, 1909, S. 111.
45. E. J. Russell og H. B. Hutchinson: The effect of partial sterilization of soil on the production of plant food. Part II: The limitation of bacterial numbers in normal soil and its consequences. *Ibidem*, Bd. 5, 1913, S. 152.
46. E. J. Russell og J. Golding: Investigations on »sickness« in soil. I. Sewage sickness. *Ibidem*, Bd. 5, 1913, S. 27.
47. E. J. Russell og F. R. Petherbridge: Investigations on »sickness« in soil. II. »Sickness« in glasshouse soils. *Ibidem*, Bd. 5, 1913, S. 86.
48. E. J. Russell: Soil protozoa and soil bacteria. *Proceedings of the Royal Society of London*, Ser. B, Bd. 89, 1916, S. 76.
49. Fr. Schardinger: Reinkulturen von Protozoen auf festen Nährböden. *Centralblatt für Bakteriologie*, Abt. I, Bd. 19, 1896, S. 538.
50. A. Schneider: Sur quelques Rhizopodes terricoles. *Comptes rendus de l'Academie des Sciences*, Paris; Bd. 86, 1878, S. 1557.
51. J. M. Sherman: The number and growth of protozoa in soil. *Centralblatt für Bakteriologie*, Abt. II, Bd. 41, 1914, S. 625.
52. J. M. Sherman: Studies on soil protozoa and their relation to the bacterial flora. *Journal of Bacteriology*, Bd. 1, 1916, S. 35 og S. 165.
53. K. Störmer: Ueber die Wirkung des Schwefelkohlenstoffs und ähnlicher Stoffe auf den Boden. *Jahresbericht der Vereinigung für angewandte Botanik*, Bd. 5, 1907, S. 113.
54. H. G. Thornton og G. Smith: On the nutritive conditions determining the growth of certain fresh-water and soil protista. *Proceedings of the Royal Society of London*, Ser. B, Bd. 88, 1915, S. 151.
55. Selman A. Waksman: Studies on soil protozoa. *Soil Science*, Bd. 1, 1916, S. 135.
56. Selman A. Waksman: Soil fungi and their activities. *Ibidem*, Bd. 2, 1916, S. 103.
57. Selman A. Waksman: Protozoa, as affecting bacterial activities in the soil. *Ibidem*, Bd. 2, 1916, S. 363.
58. Selman A. Waksman: Microbiological analysis of soil as an index of soil fertility. IV. Ammonia accumulation (ammonification). *Ibidem*, Bd. 15, 1923, S. 49.
59. Selman A. Waksman og R. L. Starkey: Partial sterilization of soil, microbiological activities and soil fertility. I—III. *Soil Science*, Bd. 16, 1923, S. 137, S. 247 og S. 343.
60. Max Wolff: Der Einfluss der Bewässerung auf die Fauna der Ackerkrume mit besonderer Berücksichtigung der Bodenprotozoen. *Mitteilungen des Kaiser Wilhelms Institut für Landwirtschaft in Bromberg*, Bd. 1, 1908, S. 382.
61. H. M. Woodcock: Observations on coprozoic flagellates; together with a suggestion as to the significance of the kinetonucleus in the binucleate. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, Ser. B, Bd. 207, 1916, S. 375.

Maaleprøvesystemet.

Bj. Bjerke: Maalestokmetoden og Larsens forsøk. Meldinger fra Norges Landbrugs-højskole 1923, Side 337—351.

Med mine tidligere Undersøgelser over Nøjagtigheden ved Maaleprøvesystemet og det direkte System¹⁾ som Udgangspunkt har Forfatteren underkastet Spørgsmaalet en fornyet Undersøgelse ved Hjælp af Materialet fra den Ensartethedsundersøgelse i en 3. Aars Græsmark, som *Holtmark* og *Larsen* i sin Tid foretog, idet han benytter den Del af Marken, som jeg har kaldt Stykke A.

Naar Forsøg anlægges efter Maaleprøvesystemet, kan vi se bort fra Virkningen af de ensidige (»grovtopografiske«) Frugtbarhedsvariationer og holde os til de tilfældige (»fintopografiske«) Variationer. Middelfejlen, som skyldes disse Variationer, bestemmer Forfatteren ved for alle de Parceller, der ikke er Randparceller, at tage Differensen mellem den enkelte Parcellafrøde og Middelafrøden af de 4 omliggende, med en Side tilgrænsende Parceller. Disse Differenser kvadreres, sammentælles og divideres med Antallet, og Kvadratrodens uddrages. Kaldes den saaledes fundne »Middelanomali« d og Middelfejlen paa den enkelte Afrøde m , har man

$$d^2 = m^2 + \left(\frac{m}{\sqrt{4}}\right)^2 \text{ og } m^2 = \frac{4}{5} d^2.$$

Forfatteren finder da $m = 14.7$, medens Totalfejlen, beregnet af samtlige 120 Parcellafrøders Afvigelser fra deres Middeltal, bliver 28.8. Herefter skulde Forsøg med 20 Forsøgsled og 6 Fællesparceller efter den direkte Metode give Middelfejlen $\frac{14.7}{\sqrt{6}} = 6.0$, hvis Virkningen af den ensidige Variation ophæves fuldstændig gennem en systematisk Fordeling af Fællesparcellerne, medens Middelfejlen vilde blive $\frac{28.8}{\sqrt{6}} = 11.8$,

hvis Fordelingen var ganske tilfældig. Ved et fingeret Forsøg med 20 Forsøgsled og 6 Fællesparceller fandt jeg i sin Tid $m = 8.9$. Forfatteren har gentaget Forsøget med 7 »jævngede Placeringer« og fundet Værdierne 9.3 9.7 9.6 9.8 11.6 7.2 9.4, i Gennemsnit af alle 8 Fordelinger 9.4. Den systematiske Fordeling af Fællesparcellerne har saaledes — i Sammenligning med en tilfældig Spredning — formindsket Middelfejlen fra 11.8 til 9.4²⁾.

¹⁾ Tidsskrift for Landbrugets Planteavl, 17. Bind (1910), Side 627.

²⁾ Fællesparcellernes Indflydelse i Retning af at reducere Virkningen af den ensidige Variation, sammenlignet med et Forsøg uden Fællesparceller, findes ved følgende Betragtning: Den Del af Totalfejlen 28.8, som skyldes den ensidige Variation (m_e), er bestemt ved $m_e^2 + 14.7^2 = 28.8^2$, hvilket giver $m_e = 24.8$. Formindskes m_e ikke ved Anvendelsen af Fællesparcellerne, hvad

Ved Forsøg efter Maaleprøvesystemet benytter Forfatteren en anden Fordeling af Maaleparcellerne end den af *Holtmark* og *Larsen* anvendte. Paa en 5 Parceller bred Forsøgsmark vil Fordelingen være følgende, naar M betegner Maaleparcellerne:

M	○	M	○	M	
○	×	•	×	•	
M	•	M	•	M	
○	×	•	×	•	
M	○	M	○	M	

Udregningen af den Afgrøde, som hver enkelt Parcel vilde have givet, hvis den havde været besaaet med Maaleprøven, sker saaledes: Først udregnes Afgrøderne paa de med × mærkede Parceller ved at tage Gennemsnit af de 4 Maaleparceller, som vedkommende Parcel støder sammen med i Hjørnerne. Derefter udregnes de med • betegnede Afgrøder ved at tage Gennemsnit af de 4 Parceller, som den paagældende Parcel grænser sammen med ved Siderne, og til sidst udfyldes de resterende Parceller (○) med Middeltallene af de 3 Parceller, som vedkommende Parcel har Sidefællesskab med.

3 fingerede Forsøg med 20 Forsøgsled og 4 Fællesparceller, indlagte efter dette System, gav følgende Middelfejl: 6.6 7.8 8.1, Middel 7.5, medens jeg ved Anvendelse af *Holtmarks* og *Larsens* Fordeling af Maaleparcellerne fandt Middelfejlen 10.4. Dette taler altsaa til Fordel for den ny Fordelingsmaade. Men udledes Middelfejlen af Værdien 14.7, som var Middelfejlen paa Afgrøden af en Parcel, naar Virkningen af den ensidige Variation blev elimineret, faar man $\frac{14.7 \times 1.15}{\sqrt{4}} = 8.5$, idet Forfatteren regner med, at den af mig anvendte

Faktor 1.15 (som udtrykker den Forøgelse af Middelfejlen, der fremkommer ved, at den enkelte Parcel sammenlignes med et fejlbehæftet Gennemsnitstal) ogsaa vil blive temmelig nær rigtig ved den ny Fordeling af Maaleparcellerne. Forfatteren mener derfor, at de af ham fundne Værdier (Middel 7.5) paa Grund af Tilfældighedernes Indflydelse er blevet noget for lave, min noget for høj.

Paa Grundlag af disse Undersøgelser, hvorefter det direkte System har givet Middelfejlen 9.4, medens Maaleprøvesystemet kun har givet 8.5, mener Forfatteren, at det sidstnævnte godt kan klare sig ved Siden af det direkte System (det maa dog erindres, at Forfatteren har begrænset sine Undersøgelser til Stykke A, der er betydelig gunstigere

der paa det nærmeste vilde svare til, at hvert Hold Fællesparceller blev slaaet sammen til een stor Parcel, saa man fik et Forsøg uden Fællesparceller, bliver Totalfejls Kvadrat $m^2 = 24.3^2 + \left(\frac{14.7}{\sqrt{6}}\right)^2$ og $m = 25.5$. Anvendelsen af Fællesparceller har saaledes nedbragt Middelfejlen fra 25.5 til 9.4.

R. K. K

for Maaleprøvesystemet end Stykke B), men han er dog enig med mig i »at Resultater af denne Art ikke maa betragtes som almen-gyldige Beviser men mere som Eksempler, der illustrerer de om-handlede Forhold«¹⁾.

Forfatteren fremhæver den Fordel, Maaleprøvesystemet byder derigennem, at det gør en rationel Fejlberegning mulig, og udvikler en Metode til Bestemmelse af Middelfejlen paa Grundlag af Forskellen mellem Maaleprøveafgrøderne. Forfatteren har bestemt Forskellen mellem to og to Maaleprøver i forskellig Afstand fra hinanden (Afstand mellem begge Midtpunkter) og fundet følgende Differenser:

Afstand (Parcelbredder)	Antal Differenser	Gennemsnits- differens
$\sqrt{2}$	31	21.6
2	58	25.8
ca. 3	95	33.2
4—4.5	112	36.1

Den Forskel mellem to Parceller, som skyldes tilfældige Variationer, er uafhængig af Afstanden mellem Parcellerne, men den Forskel, som skyldes den ensidige Variation, vil vokse — men i aftagende Grad — med Afstanden. Paa Grundlag af Kurven, som de fundne Differenser frembyder, bestemmer Forfatteren den Gennemsnitsdifferens, som de tilfældige Fejl vilde foraarsage, og beregner heraf Middelfejlen paa Forsøgsresultaterne til 8.6 eller praktisk talt samme Værdi som den (8.5), der blev udledt af samtlige Parceller ved den før beskrevne Fremgangsmaade.

Det hedder i Afhandlingen: »Forsøgsteknikken bør som andre Videnskaber søge at naa saa langt, at man kan redegøre nogenlunde klart for Nøjagtigheden af de Resultater, man fremlægger. En Metode er ikke eksakt, fordi den fører til Tal, dersom der ikke samtidig fremlægges Oplysninger, som giver Tallene fuld Mening«.

R. K. Kristensen.

¹⁾ Undersøgelser, der bygger paa et saa stort Materiale, at der maa til-lægges Resultaterne afgørende Betydning, foreligger i N. A. Hansens monu-mentale Arbejde: »Prøvedyrkning paa Forsøgsstationen ved Aarslev«, Tidsskrift for Planteavl, 21. Bind (1914). N. A. Hansen finder (Side 611), at naar der kun anvendes 2—3 Fællesparceller, er de to Systemer nærmest lige gode, men ved flere Fællesparceller giver Maaleprøvesystemet mindre Nøjagtighed end det direkte System, og jo flere Fællesparceller, der anvendes, desto større bliver Forskellen.

R. K. K.

Fejlberægning ved Markforsøg.

Knut Vik: Bedømmelse av feilene på forsøksfelter med og uten Målestokk; Meldinger fra Norges Landbrukskøjskole 1924, Side 129—181. Om feilberægning ved markforsøg; Nordisk Jordbruksforskning 1924, Side 429.

Forfatteren hævder, at en Fejlberægning ogsaa er mulig, naar Forsøgene anlægges uden Maaleprøver. Han har saaledes brugt en Fremgangsmaade, der i Realiteten falder sammen med den, jeg skitserede i 1922¹⁾, nærmest fordi det matematiske Grundlag var

tilvejebragt gennem Formlen $m = \sqrt{\frac{[v^2]}{(p \div 1)(r \div 1)}}$, og som blev an-

vendt senere paa Resultaterne af nogle Forsøg, der udførtes paa Forsøgsstationen ved Lyngby²⁾. Forfatteren deler Forsøgsmarken i Afdelinger, der indeholder en Parcel af hvert Forsøgsled, og danner Differenserne mellem de enkelte Parceller og Gennemsnitstallet for vedkommende Afdeling, og udregner derefter Middelfejlen for hvert Hold Fællesparceller paa Grundlag af disse Differensers Afvigelser fra deres Gennemsnitsværdi. Eksemplerne fra Lyngby viste, at Metoden kan give smukke Resultater, naar det drejer sig om gode Forsøgsmarker, som de i Almindelighed findes ved vore Forsøgsstationer. Men som jeg antydede i de paagældende Afhandlinger, er Forholdene ved en saadan Benyttelse af den nævnte Formel ikke saa simple som over for de Spørgsmaal, der var den egentlige Anledning til, at Formlen blev fremstillet³⁾. Den omtalte Inddeling af Marken kan i Reglen foretages paa flere Maader. Den, der giver Afdelingerne den mest sluttede eller samlede Form, vil i Almindelighed være den bedste; men der er Undtagelser herfra. Forfatteren anfører som Eksempel en agerstribet Mark paa Forsøgsstationen ved Aarslev. Her bør anvendes aflange Inddelinger, som falder sammen med Striberne, da Formailet maa være at faa Variationen inden for hver enkelt Afdeling saa lille som mulig. Forfatteren anbefaler at fremstille et Frugtbarhedskort ved for hvert enkelt Forsøgsled at opføre de enkelte Parcellers Afrøder som + eller ÷ (Mer- eller Mindreudbytte) i Forhold til Gennemsnitsafgrøden af vedkommende Forsøgsled og benytte dette Frugtbarhedskort som Vejledning ved Inddelingen.

Men en Fejlberægning kan, som Forfatteren viser, ogsaa gennemføres paa følgende Maade: Hvis man til de nævnte + og ÷ -Tal lægger Gennemsnitsafgrøden af hele Marken, svarer Tallene til et Prøvedyrkningsmateriale, da Forskellen mellem Forsøgsleddene er elimineret, og man kan da indlægge fingerede Forsøg og beregne Middelfejlen ved Hjælp af de fingerede Forsøgsleds Afvigelser fra

¹⁾ Tidsskrift for Planteavl, 28. Bind (1922), Side 127.

²⁾ Samme, 30. Bind (1924), Side 527.

³⁾ Jvf. Side 482, nærværende Bind.

deres Gennemsnitsværdi¹⁾. Man kan blot ikke benytte den Parcelfordeling, der var brugt i det virkelige Forsøg, thi i saa Fald vil alle Forsøgsleddene give samme Udbytte — Markens Gennemsnitsudbytte. Der maa anvendes en anden Parcellfordeling, som er principielt lige saa god og helst saaledes, at Parceller, der er sammen i det virkelige Forsøg, ikke kommer sammen i det fingerede. Ved det almindelige femdelte Forsøg med Springertræksfordeling er to lige gode Fordelinger mulige. De fremkommer, efter som man lader Springeren gaa fra det Hjørne, man begynder ved, til det ene eller det andet af de to Felter, den behersker. Den af de to Fordelinger, der ikke er brugt i det virkelige Forsøg, benyttes altsaa ved det fingerede. Man kan ogsaa benytte $+$ og $\div$ -Tallene uden at lægge Markgennemsnittet til, og man kan, hvad der er endnu simplere, benytte de oprindelige Afgrødetal, thi her, hvor der er lige mange Forsøgsled og Fællesparceller, kommer hvert Hold Fællesparceller i det fingerede Forsøg til at bestaa af en Parcel fra hvert Forsøgsled i det virkelige Forsøg, og Forskellen mellem Forsøgsleddene er følgelig elimineret i de Gennemsnitstal, der danner Grundlaget for Fejlberegningen.

Metoden er i Princippet fuldstændig korrekt. At den fundne Middelfejl karakteriserer Forsøgsmarken i Almindelighed og ikke netop Harmonien inden for det virkelige Forsøg, er ingen principiel Mangel. Forsøgsresultaternes virkelige Fejl kan jo ikke maales, vi kan kun skaffe os et Udtryk for Fejlmulighederne. Det er Metodens Svaghed, at dette Udtryk bliver meget usikkert, fordi Middelfejlen beregnes af saa faa — ved det femdelte Forsøg af kun 5 — Gentagelser²⁾. Hvormeget denne Usikkerhed betyder, fremgaar af en Undersøgelse, som Forfatteren har gennemført ved at indlægge fingerede Forsøg efter to lige gode Parcellfordelinger paa Prøvedyrkningsmateriale fra forskellige Steder. Af Resultaterne skal her anføres omstaaende, der udelukkende knytter sig til det femdelte Forsøg.

Naar Materialet fra et virkeligt Forsøg, f. Eks. en Sammenligning mellem forskellige Kornsorter, skal erstatte Materiale fra en Prøvedyrkning med en og samme Sort, maa den teoretiske Forudsætning være, at de forskellige Sorter reagerer nogenlunde ens over for Variationerne i Jordbundens Frugtbarhed. Den refererede $+$ og $\div$ -Beregning forudsætter, at en Forandring i Frugtbarheden øger eller mindsker Afgrøden af en rigt ydende og en mindre rigt ydende Sort med lige mange Vægtenheder. Men man kan ogsaa tænke sig, at Forandringen i Afgrøden er procentvis lige stor for de to Sorter, og det vilde i

¹⁾ Som Divisor maa man da benytte $p \div 1$ (ikke $p!$), hvis man ønsker at sammenligne den fundne Middelfejl med Værdier, der er udregnede efter

Formlen $m = \sqrt{\frac{[v^2]}{r(p \div 1)(r \div 1)}}$ (p = Antal Forsøgsled, r = Antal Fællesparceller).

²⁾ Jvf. Reglerne om Middelfejlen paa Middelfejlen.

R. K. K.

Middelfejl, pCt. af Afgrøden.

Materiale	Mark Nr.	Fordeling		Forskel
		1	2	
Timothe (Holtsmark og Larsen)	1	2.63	3.66	— 1.03
	2	3.99	3.21	0.78
	3	5.00	2.45	2.55
	4	1.45	2.55	— 1.10
	5	2.68	3.72	— 1.04
Havre, Kærne (M. Jegerow)	1	2.93	3.22	— 0.29
	2	3.16	2.67	0.49
	3	1.51	1.33	0.18
	4	1.98	1.92	0.06
	5	3.19	3.99	— 0.80
Hvede, Kærne (Mercer og Hall)	1	2.06	2.11	— 0.05
	2	3.00	4.82	— 1.82
	3	2.98	2.00	0.98
	4	1.57	1.64	— 0.07
	5	1.66	3.48	— 1.82

saa Fald være rigtigt at omregne Parcelafgrøderne til Procent af Parcelholdets (Sortens) Gennemsnitsafgrøde i Stedet for at opføre dem som $+$ og $\div$. Det samme Problem forelaa — rent teoretisk set

— ogsaa ved Fremstillingen af Formlen $m = \sqrt{\frac{[v^2]}{(p \div 1)(r \div 1)}}$, men

de Undersøgelser, jeg i den Henseende foretog, gav intet Svar paa, om den ene eller den anden Fremgangsmaade var mest korrekt¹⁾. Forfatteren har foretaget omfattende Undersøgelser over Spørgsmaalet, men ogsaa her gaar Resultaterne snart i den ene og snart i den anden Retning. »Hovedindtrykket kan vel siges at være, at store Afgrøder ofte vil variere noget mere end smaa, absolut set, men at Variationen, udtrykt i pCt., gerne vil være noget større for de smaa Afgrøder«. Den mere omstændelige pCt.-Beregning er derfor ikke mere korrekt end $+$ og $\div$ -Udregningen, og i øvrigt har Beregningsmaaden saa ringe Indflydelse paa Udfaldet af Fejlregningen, at det er ligegyldigt, om man bruger den ene eller den anden Fremgangsmaade.

Til Sammenligning med den af Forfatteren angivne Fejlregningsmetode har han beregnet Middelfavgelsen efter den gamle Metode, som stadigvæk bruges i Tyskland, og som bestaar i at beregne Middelfejlen direkte af de sammenhørende Fællesparcellers Afvigelser fra deres Gennemsnitsafgrøde uden nogen Korrektion for ensidig Variation. Fingerede Forsøg (femdelte), indlagte paa Prøvedyrkningsmateriale

¹⁾ Tidsskrift for Planteavl, 28. Bind (1922), Side 96.

fra forskellige Steder, gav følgende Resultater, ordnede i 3 Grupper efter faldende Middelfvigelse:

Antal Marker à 25 Parceller	Middel- afvigelse	Middel- fejl	Forholds- tal
10	5.68	2.53	2.24 : 1
10	3.79	2.02	1.88 : 1
10	2.53	1.76	1.44 : 1

Der er saaledes en vis Sammenhæng mellem Middelfejl og Middelfvigelse: Jo større Usikkerheden i det hele taget er, desto større er Middelfvigelsen i Forhold til Middelfejlen.

Forfatteren omtaler det paafaldende lave Standpunkt, som tysk Forsøgsvæsen indtager med Hensyn til Fejlteoriens Anvendelse ved Markforsøg: »En kan læse Snesevis af tyske Afhandlinger om Fejl-beregning« uden at træffe paa en klar Opfattelse af Problemet, og han mener, at denne dillettantiske Behandling har skadet Sagen. »Naar de, som fører det store Ord« kan begaa saadanne Forsyndelser mod Fejlteorien, som *Mitscherlich* har begaaet¹⁾, er det ikke saa underligt, at andre har stillet sig afventende.

R. K. Kristensen.

¹⁾ I en Diskussion, som disse Forsyndelser foranledigede i »Nordisk Jordbrugsforskning« (1923—1924, Side 81—194—254), har *Mitscherlich* betegnet en talmæssig Argumentation som den, *Knut Vik*, *Bj. Bjerke*, *N. A. Hansen*, *E. Lindhard*, jeg og andre bygger paa, naar det drejer sig om fingerede Forsøg (Beregning af Middelfejlen ved Hjælp af Forsøgsleddernes Afgrøder), som »diese gänzlich unzulässige Rechnungsart«; men da det forlangtes, at *Mitscherlich* skulde begrunde sin Paastand, hvis der skulde være Tale om en redelig Diskussion, svarede *Mitscherlich* ikke.

R. K. K.