

Nyere Undersøgelser over biologisk Kvælstofbinding.

Af H. L. Jensen.

Indledning.

Blandt de syntetiske Processer i Plantereverdenen — Opbygning af Kulhydrater ved Fotosynthese og af Proteinstoffer fra Kulhydraterne + uorganiske Kvæstofforbindelser — indgaar »Kvælstofbinding«: Anvendelsen af elementært Kvælstof til Proteindannelse, som et vigtigt Led af baade teoretisk og praktisk Interesse i Naturens Husholdning. Evnen til Udnyttelse af frit Kvælstof er med Sikkerhed kun kendt hos forholdsvis faa Organismer, nemlig:

1: Symbiotiske Foreninger af Mikroorganismer og højere Planter. Blandt disse indtager Bælgplanterne og de Bakterier, som lever i deres Rodknolde, den mest fremtrædende Plads i Kraft af deres store Artsrigdom og deres store landøkonomiske Betydning.

2: Mikroorganismer der ikke eksisterer i egentlig Symbiose med andre Planter og derfor almindelig betegnes som »fritlevende«, nemlig Bakterieslægterne *Azotobacter* og *Azotomonas*, visse anaerobe Bakterier (*Clostridium butyricum* og beslægtede Arter) samt enkelte blaa grønne Alger.

De paagældende Organismer har været kendt og studeret i henved 60 Aar (omend Bælgplanternes »jordberigende« Egenskaber har været kendt i mere end to Aartusinder) siden *Hellriegel* og *Wilfarth's* endelige Bevisførelse for Bælgplanternes kvælstofbindende Evne i 1888, *Beijerinck's* Rendyrkning af Knoldbakterierne i 1889 og den hurtigt paafølgende Opdagelse af de fritlevende

kvælstofbindende Bakterier ved *Winogradsky* og *Beijerinck*. Dog har først den sidste Snes Aars Undersøgelser skabt en delvis Klarhed angaaende de fundamentale Processer, hvorved det frie Kvælstof overføres til Protein, medens paa den anden Side mange vigtige Problemer henstaar uløst. I det følgende er det forsøgt at give en samlet Fremstilling heraf, saavidt vor nuværende Viden rækker*).

1. Symbiotisk Kvælstofbinding hos Bælgplanterne.

Knoldbakteriernes Biologi. Disse Organismer udgør en ret veldefineret Gruppe, der i nyere systematisk Bakteriologi almindelig opfattes som en særskilt Slægt *Rhizobium*. I Renkultur paa kunstigt Substrat fremtræder de som smaa Stavbakterier uden Endosporer, bevægelige ved polære Cilier, ikke farvelige efter Gram's Metode, og gennemløbende en karakteristisk Udviklingscyklus: deres morfologiske og kulturelle Karaktertræk er indgaaende beskrevet af *Petersen* (88). Som Regel lader de sig let rendyrke fra Rodknoldene og kan vokse i Substrater af forholdsvis simpel Sammensætning. Mono- og Disaccharider (men ikke Polysaccharider), højere Alkoholer (f. Ex. Mannit) og Salte af organiske Syrer er tjenlige som Kulstofkilder, medens Kvælstofkravene bedst dækkes af simple Forbindelser som Nitrater, Ammoniumsalte eller (især) Aminosyrer. Virkelig god Vækst opnaas dog i Regelen kun paa Substrater, der indeholder Afkog af Plantedele eller Gær. Nyere Undersøgelser, af *Nilsson* o. a. (81), *Nielsen* og *Johansen* (80) og *Wilson* og *Wilson* (131) har vist, at disse Extrakters virksomme Bestanddel repræsenteres af Vækststoffet *Biotin*, der er virksomt i overordentlig ringe Mængde; en Koncentration af 1 Del Biotin i 2000 Millioner Dele Substrat giver optimal Vækst, og Virkningen af 1:100,000 Mill. er endnu kendelig. Den svage Vækst, som kan finde Sted i biotinfrit Substrat, synes at bero paa Knoldbakteriernes Evne til selv at syntetisere Biotin i smaa Mængder, der imidlertid er utilstrækkelige for optimal

*) Meget udførlige Litteraturoversigter findes i to ypperlige Monografier af *Fred, Baldwin* og *McCoy* (45) og *Wilson* (135). I den nærværende Oversigt, der ikke gør Krav paa blot tilnærmelsesvis Fuldstændighed, er der i Hovedsagen kun medtaget de vigtigste Arbejder fremkomne siden *Fred* og Medarbejderes Monografi (1932).

Vækst (*Nielsen og Johansen (80)*). I Sammenligning med Biotin har andre Vækststoffer (Thiamin, Pantothensyre, β -Alanin, etc.) ret underordnet Betydning, da disse Stoffer synes at syntetiseres i tilstrækkelig Mængde i Substrater af passende Sammensætning.

Vækst finder kun Sted i Nærværelse af fri Ilt, men dog ved ret lavt Iltryk. Sukkerarter nedbrydes ofte under Dannelse af organiske Syrer, men ikke af Luft, Aminosyrer under Frigørelse af Ammoniak, hvorimod den proteolytiske Evne er svag eller manglende. Væksten er ledsaget af Dannelse af betydelige Mængder Slim af hemicelluloseagtig Karakter og er som Regel kraftigst ved neutral eller svagt alkalisk Reaktion. Følsomheden overfor sur Reaktion varierer dog betydeligt, og nogle, f. Ex. Kløverbakterierne, synes at vokse bedst ved pH ca. 6 (*Jensen (52)*).

Spørgsmaalet om Knoldbakteriernes Evne til Kvælstofbinding i Renkultur har været Genstand for megen Diskussion. Talrige ældre Forskere har ment at kunne paavise en saadan Evne i begrænset Omfang. Imidlertid har *Marie Löhnis (73)* konstateret en tidligere overset Fejlkilde (Tab af Kvælstof fra sterile Kontrolsubstrater, men ikke fra selve Kulturerne) i alle de Forsøg, der pegede i positiv Retning. Senere Undersøgelser af *Wilson o. a. (133)*, *Clark (36)*, *Winogradsky (139)* og *Rabotnova (93)* har givet lignende negative Resultater. En Angivelse fra nyeste Tid om Kvælstofbinding under særlige Betingelser (Substrat med Tilsætning af hæmoglobinholdig Rodknoldextrakt og Oxaledikesyre) kunde ikke bekræftes ved fornyet Undersøgelse (*Virtanen o. a. (129)*). Dog beviser dette selvfølgelig ikke, at Knoldbakterierne overhovedet mangler Evne til Kvælstofbinding i Renkultur, men kun, at det endnu ikke er lykkedes at skabe de nødvendige Betingelser herfor. *Winogradsky (139)* fremsatte den meget plausible Anskuelse, at Renkulturerne udviser en ikke med Sikkerhed paaviselig Kvælstofbinding, som først kommer til fuld Udfoldelse under Symbiose med Bælgplanterne.

Afgrænsningen af Arter indenfor Slægten *Rhizobium* er ret vanskelig og kan i Hovedsagen kun baseres paa de forskellige Bakteriestammers Evne til at danne Rodknolde paa et begrænset Antal Slægter af Bælgplanter (de saakaldte »Krydspodningsgrupper«). Paa Grundlag heraf betragtes i Almindelighed de følgende Grupper af Knoldbakterier som veldefinerede »Arter«:

Knoldbakterie-Gruppe:	Danner Rodknolde paa:
<i>Rhizobium trifolii</i>	
(»Kløver-Gruppen«).....	Kløver
<i>Rhizobium meliloti</i>	
(»Sneglebælg-Gruppen«).....	Sneglebælg, Stenkløver, <i>Trigonella.</i>
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	
(»Ærte-Gruppen«).....	Ært, Vikke, Fladbælg, Linse.
<i>Rhizobium phaseoli</i>	Havebønne.
(»Bønne-Gruppen«)	
<i>Rhizobium lupini</i>	Lupin, Serradel.
(»Lupin-Gruppen«)	
<i>Rhizobium japonicum</i>	Sojabønne.
(»Sojabønne-Gruppen«)	

Hertil kommer et stort Antal af andre Stammer, hvoraf mange danner Rodknolde hos tropiske Bælgplanter. Denne Inddeling paa Grundlag af Knolddannelsen viser langt fra nogen fuldkommen Korrelation med Bakteriernes morfologiske, kulturelle eller biokemiske Egenskaber, f. Ex. Forgæringen af Sukkerarter, eller med deres serologiske Reaktionen. I den sidste Henseende kan man her som hos andre Bakterier indenfor hver »Art« skelne mellem flere serologiske Undergrupper, som bl. a. paavist af *Vincent* (116, 117) og *Kleczkowski* og *Thornton* (62). Ligeledes gives der adskillige Undtagelser fra den Regel, at hver Bakterieart kun danner Knolde paa Planter indenfor Krydspodningsgruppen. Saaledes fandt *Allen* og *Allen* (1) mange Bakteriearter, f. Ex. *Rh. lupini*, *japonicum* og *phaseoli* i Stand til at danne Knolde paa Jordnødplanten (*Arachis hypogaea*), og *Kleczkowska* o. a. (60) har paavist Evne hos visse Stammer af Kløver- og Ærtbakterier til at danne Knolde paa hinandens Værtplanter, dog kun i ringe Antal og ude af Stand til at binde Kvælstof, ligesom i de fleste af *Allen's* Forsøg. Mange andre Exempler paa saadan »Promiskuitet« hos Knoldbakterier og Bælgplanter er fremdraget af *J. K. Wilson* (132), som af denne Grund er tilbøjelig til helt at forkaste Klassificeringen paa Grundlag af Knolddannelse.

Ligesom hos mange andre Bakterier ser man hos Knoldbakterier ofte Forekomst af Bakteriofager — viruslignende ultra-

mikroskopiske Organismer, der optræder som Parasitter i Bakteriecellerne og bevirker Henfald og Opløsning af disse. Fra Rodknolde eller Jord omkring Planterødderne kan saadanne Bakteriofager ofte isoleres. Nogle Forskere, f. Ex. *Demolon* og *Dunez* (39) og *Vandecaveye* o. a. (115) har betragtet dem som en Aarsag til »Lucernetræthed«; ifl. *Kleczkowska* (61) forekommer dette dog usandsynligt, da kun et Mindretal af Bakteriestammer er modtagelige for Bakteriofag-Angreb, og ialtfald for Ærte- og Kløverbakteriernes Vedkommende opstaar der let modstandsdygtige Varianter af de modtagelige Stammer.

Ogsaa andre Eksempler paa Variation ses jævnligt. Mutationslignende Fænomener kan producere Varianter med afvigende kulturelle Karaktertræk (*Israilsky* og *Leonowitsch* (50)), og ved Dyrkning i Jord kan der i visse Tilfælde forekomme Tab af Evnen til Dannelse af normale, kvælstofbindende Rodknolde (*Nutman* (85)) eller endog Tab af knolddannende Evne overhovedet (*Almon* og *Baldwin* (10)). Lignende Fænomener som Følge af Bakteriofag-Paavirkning omtales af *Krasilnikov* (64), som ogsaa (63, 65) angiver at kunne modificere den knolddannende Evne hos mange Knoldbakterier ved Dyrkning i sterilt Kulturfiltrat (Ex.: *Rh. meliloti* bliver i Stand til at danne Knolde paa Kløver efter Dyrkning i Filtrat fra *Rh. trifolii*), ja endog at kunne udvikle Knolddannelse hos Ikke-Knoldbakterier; dette tiltrænger dog Bekræftelse.

Rodknoldenes Opstaaen og Udvikling. *Beijerinck's* og *Prazmowski's* første Beskrivelser af de Fænomener, der ledsager selve Knolddannelsen, har stadig beholdt fuld Gyldighed. Infektionen med Bakterier finder Sted gennem Rodhaarene, som synes at udøve en kemotaktisk Tiltrækning paa Knoldbakterierne. Disse samler sig i smaa Hobe paa Rodhaarene, som undergaar en karakteristisk Krumning, hvorefter Bakterierne gennemtrænger Celledvæggen og vandrer i en ejendommelig strengformet Dannelse, »Infektionstraaden«, gennem Rodhaarets Cytoplasma ind i Rodbarkens og Pericyklens Celler, som stimuleres til hurtig Deling og efterhaanden udvikler sig til de egentlige Rodknolde. Denne Stimulation saavel som Rodhaarenes Krumning synes ifl. *Thimann* (105) at skyldes et Vækststof, der dannes i stor Mængde af Knoldbakterierne i Renkultur. Man har ment at kunne identificere dette Stof med det velkendte Heteroauxin β -Indoleddikesyre, omend

noget afgørende Bevis herfor ikke foreligger. Rodknoldene udviser stærkt varierende Størrelse og Bygning hos forskellige Planter, men bestaar stedse af et ydre Lag af rodbarklignende Væv, omgivende det særlige »Bakterievæv«. Dette er opbygget af stærkt hypertrofierede Celler, hvis Cytoplasma er fyldt med Knoldbakterier, som her antager en Form, der afviger stærkt fra den i Renkulturerne fremherskende: betydeligt forstørrede, uregelmæssigt opsvulmede, ofte forgrenede Celler, der almindelig betegnes »Bakteroider« og er karakteristiske for det Stadium, hvor Kvælstofbindingen finder Sted. Det drejer sig dog ikke om nogen fuldkommen Korrelation, da Bakteroiddannelse under visse Betingelser kan iagttages i Renkulturer, hvor Kvælstof ikke bindes, ligesom Bakteroider ogsaa kan findes i uvirksomme, ikke-kvælstofbindende Knolde. Den tidligere gængse Opfattelse af Bakteroiderne som en Art Degenerationsfænomener (»Involutionformer«) kan næppe opretholdes. Overført paa kunstigt Substrat viser de ganske vist meget ringe Formeringssevne (*Almon* (9)), hvorimod deres Stofskifte, maalt ved Aandingsintensiteter, synes lige saa energisk som hos Bakterier fra Renkulturer (*Thorne* og *Burritt* (107)). Ogsaa *Virtanen* o. a. (128, 129) mener, at Rodknoldenes Indhold i det aktive Kvælstofbindingsstadium repræsenterer en Population af »hvilende« Bakterier, d. v. s. Celler, som ikke formerer sig, men som er biokemisk aktive. I det hele taget hører Spørgsmaalet om Bakteroidernes Formering og Livslængde i Knoldvævet til de mindst undersøgte og opklarede Afsnit af hele Problemet.

Et ejendommeligt Fænomen, iagttaget af *Wipf* (140), er en konstant Fordobling af Antallet af Kromosomer (Polyploidi) i de bakterieinficerede Cellers Kerner. Dette synes dog ikke at have nogen direkte Sammenhæng med Kvælstofbindingsprocessen, da det ogsaa iagttages i uvirksomme Knolde og i saadanne, hvor Kvælstofbindingen kunstigt er undertrykt. Iøvrigt kan Polyploidi ogsaa fremkaldes ved Infektion med plantepatogene Bakterier eller ved Indvirkning af Giftstoffer (Colchicin).

Det er endnu ukendt, hvorfor hver Bakterieart kun er i Stand til at inficere bestemte Plantearters Rødder, m. a. O. hvorpaa Krydspodningsgruppernes Existens beror. *Thorne* og *Brown* (106) har søgt en Forklaring derigennem, at sterilfiltreret Pressesaft af Bælplanter ofte udøver Giftvirkninger overfor andre Knoldbak-

terier end de til den paagældende Planteart svarende. Resultaterne synes dog ikke omfattende nok til at tillade nogen almindelig Slutning, og iøvrigt er det bemærkelsesværdigt, at artsfremmede Knoldbakterier, som paavist af *McCoy* (76), ikke er i Stand til at gennemtrænge Rodhaarenes Cellevæg, omend saavel selve Bakterierne som sterile Kulturfiltrater kan frembringe den karakteristiske Deformering af Rodhaarene.

Tidspunktet for Bakteriernes Indtrængen i Rødderne og de første Rodknoldes Fremkomst falder i Regelen sammen med Udviklingen af det første egentlige Blad, paa hvilket Tidspunkt Kimrødderne ifl. *Thornston* (108) begynder at udskille et Stof, der i paafaldende Grad fremmer Bakteriernes Vækst. Det ligger nær at formode, at dette Stof er Biotin, der ofte udskilles af Planterødder (*Wilson* (135)).

Antallet af Rodknolde pr. Plante kan variere indenfor overordentlig vide Grænser, fra nogle faa til flere Tusinde, hvilket afhænger dels af Værtplantens og Bakteriestammens individuelle Egenskaber, dels af ydre Faktorer. Knoldenes Antal viser imidlertid ringe eller ingen Korrelation med Kvælstofbindingens Intensitet; der maa saaledes skelnes skarpt mellem Bakteriernes Infektionsevne (Evnen til at danne Rodknolde) og deres Effektivitet (Evnen til at foranledige Kvælstofbinding). I langt højere Grad end af Knoldenes Antal afhænger Kvælstofbindingens Omfang af Knoldvævet Masse, som varierer indenfor betydelig snævrere Grænser, idet den sjældent overstiger 7—8 pCt. eller gaar under 1—2 pCt. af den samlede Tørstofvægt hos en- eller toaarige Bælgplanter, der udelukkende ernæres med frit Kvælstof. Ifl. *Chen* (35) synes der for hver Bakteriestammes Vedkommende at eksistere en vis Maksimalgrænse for Antallet af Rodknolde pr. Vægtenhed Rodtørstof, men denne varierer stærkt og ligger i Almindelighed højest for de »ineffektive« Stammers Vedkommende (hvorom senere). Ejendommeligt er det, at medens 4—5 pCt. af alle Rodhaarene paa hver Plante kan findes inficerede med Bakterier, udvikler kun forholdsvis faa af disse Infektionscentre sig til Rodknolde (*McCoy* (76)). En Forklaring herpaa er i nyeste Tid givet af *Nutman* (86) i et højt interessant Arbejde, som viser, at Udvikling af Rodknolde kun finder Sted paa ganske bestemte Steder i Rodvævet, som svarer til Anlæggene af Rodgrene. Rod-

knoldene synes saaledes morfologisk at repræsentere modificerede Rodgrene, et Spørgsmaal, hvorom der hidtil har hersket meget delte Meninger (sml. *Fred* o. a. (45)).

Meget ofte finder man paa samme Plante Rodknolde dannede af forskellige Typer af Knoldbakterier, som kan adskilles ved serologiske Reaktioner eller kulturelle Forhold; derimod findes der kun rent undtagelsesvis mere end een Type af Knoldbakterier i samme Rodknold (*Dunham* og *Baldwin* (40); *Hughes* og *Vincent* (49)). Hos Planter, der er udsat for samtidig Infektion med forskellige Bakteriestammer, synes det Antal Knolde, som dannes af hver Stamme at afhænge af dennes Formeringshastighed. *Nicol* og *Thornton* (79) fandt, at hurtigvoksende Stammer under visse Betingelser var i Stand til at danne det maksimale Antal Knolde, som Rodsystemet kunde bære, inden de langsommere voksende Stammer naaede at danne Knolde; derimod kunde de ikke bekræfte tidligere Angivelser, at Infektion af Rodsystemet med virksomme Bakteriestammer skulde »immunisere« Planten mod senere Infektion med andre Stammer.

Angaaende ydre Faktorerers Indflydelse paa Knolddannelsen er det velkendt, at Tilførsel af opløseligt Kvælstof, især Nitrat, virker nedsættende paa Rodknoldenes Antal. *Thornton* (112) viste, at dette dels skyldes en Formindskelse af Rodhaarenes Antal, men navnlig en Ophævelse af den Deformering af Rodhaarene, som er en nødvendig Betingelse for Infektionen; derimod forhindres Bakterierne ikke i at danne det Stof (Indoleddikesyre?), der fremkalder Deformeringen. Omvendt ophæves Nitratets Hemningsvirkning af Kulhydrater, enten disse tilføres udefra i steril Agarkultur (*Thornton* (112)) eller dannes i Planterne ved forstærket Fotosyntese (*Georgi* (46)). I Overensstemmelse med tidligere Undersøgelser fandt *Thornton* og *Nicol* (111), at ikke alene Rodknoldenes Antal, men ogsaa deres Størrelse og særlig Bakterievævets Rumfang formindskedes i paafaldende Grad ved Nitrattilførsel, som ogsaa paa anden Maade foraarsagede en abnorm Struktur af Knoldene, tydende paa Kulhydratmangel (*Thornton* og *Rudorf* (113)). Ogsaa disse Virkninger af Nitrat kan modvirkes af en forøget Kulhydratforsyning gennem forbedrede Vilkaar for Fotosyntesen (forhøjet Lysintensitet eller CO₂-Tryk), som diskuteret af *Wilson* (135). Disse Fænomener staar i nøje

Forbindelse med den resulterende Kvælstofbinding, som nærmere omtalt nedenfor.

Voksemediets Reaktion har som venteligt en stor Indflydelse paa Knolddannelsen, dog i forskellig Grad hos forskellige Plantearter. Som ovenfor nævnt vokser de fleste *Rhizobium*-Arter bedst ved neutral eller svagt alkalisk Reaktion, enkelte, som *Rh. trifolii*, dog ved pH 5,5—6,5. Som Følge heraf finder man hos Lucerne flest Rodknolde i Jord eller Sand af pH 7,0—7,5, medens Antallet aftager ned til pH 4,5—5,0, hvor Knolddannelsen omtrent helt ophører. Hos Kløverarter kan man derimod finde højere Knoldantal ved pH 5,5—6,0 end ved pH 7,0—7,5 (*Jensen (57)*). Reaktionens Indflydelse paa Knoldsubstansens samlede Vægt er langt mindre udpræget, da et formindsket Antal Knolde ved sur Reaktion ofte kompenseres gennem forøget Størrelse af de individuelle Knolde. Indenfor visse Grænser kan man finde en Forøgelse af Knoldenes Vægt i pCt. af hele Plantens Tørstofmasse, saaledes som det fremgaar af følgende Tal (*Jensen (57)*) for Lucerneplanter dyrkede i Sand af sur og alkalisk Reaktion.

Forsøgstid, Dage	59		74		88		102	
pH i Sandet.....	5.4-5.8	7.3-7.7	5.5-5.8	7.0-7.3	5.1-5.6	7.3-7.6	6.0-6.1	7.0-7.5
Knoldtørstof, mg pr. Kar. Gnst.....	59	55	91	82	136	95	172	129
Vægt af Knolde i pCt. af total Tørstof.....	2.75	1.73	1.63	1.36	1.70	1.13	1.32	1.08
Antal Knolde pr. Plante, Gnst. og Middelfejl...	10.0 ± 1.46	26.3 ± 2.26	15.7 ± 2.01	40.3 ± 3.66	28.4 ± 3.14	41.1 ± 3.86	46.3 ± 4.21	50.7 ± 5.66
N-Binding, mg pr. Kar Gnst.	60	90	160	171	230	225	359	307

Kvælstofbindingsprocessen. Kort efter Rodknoldenes Fremkomst plejer deres kvælstofbindende Virksomhed at give sig Udtryk i en hurtig Forøgelse af Planternes Tørstofmasse og Kvælstofindhold. Som ovenfor nævnt har Knoldbakterierne i Renkultur hidtil vist sig ude af Stand til at binde Kvælstof, ligesom Bælgplanter uden Rodknolde. Enkelte Angivelser i den sidste Retning, saavel som angaaende Kvælstofbinding hos Ikke-Bælgplanter uden Bakteriesymbiose, har vist sig at bero paa Forsøgsfejl, som paavist

bl. a. af *Smyth* og *Wilson* (98), *Olsen* (87), og *Burris* o. a. (26). Det symbiotiske System af Bælgplanter og Knoldbakterier repræsenterer saaledes en Livsform i Stand til at udføre en Funktion, hvortil begge individuelle Partnere synes at mangle Evne. Det tør anses for givet, at Kvælstofbindingen sker i Rodknoldene, men det er i sidste Instans uvist, hvorvidt den udføres af selve Knoldbakterierne, eller om disse sætter Værtcellernes Protoplasma i Stand hertil. Et afgørende Bevis for, at Kvælstoffet kun bindes i Rødsystemet, er bragt af *Burris* o. a. (26), som var de første til med Held at anvende isotopisk Kvælstof til Forsøg paa dette Omraade. Den radioaktive Kvælstofisotop N^{13} egner sig paa Grund af sin meget korte Halveringstid kun daarligt til langvarige Forsøg, men Optagelse af meget smaa Mængder Kvælstof kan paavises ved Anvendelse af den stabile Isotop N^{15} og massespektrografisk Bestemmelse heraf i Plantematerialet. Ved denne Metode, som er særdeles vanskelig, men til Gengæld yderst fintmærkende, kunde *Burris* o. a. (26) paavise tydelig Kvælstofbinding i Planter, hvis knoldbærende Rødder var i Berøring med den N^{15} -holdige Atmosfære, men ingen, naar kun de overjordiske Dele havde Adgang hertil. Endvidere kan afskaarne, hele (men ikke knuste!) Rodknolde under visse Betingelser binde paaviselige Mængder Kvælstof. Angivelser herom af *Virtanen* (125) kunde først ikke bekræftes af *Wilson* (135) og *Allison* o. a. (6). Ved senere Anvendelse af Kvælstofisotopmetoden fandt *Burris* o. a. (27) noget variable Resultater med isolerede Knolde (hvad ogsaa *Virtanen* (128) angiver at have fundet i senere Forsøg), men konstant og tydelig Kvælstofbinding i afskaarne, knoldbærende Rødder. Resultaterne med intakte, isolerede Knolde synes saaledes at repræsentere det hidtil nærmeste Skridt imod selvstændig Kvælstofbinding hos Knoldbakterierne.

Hvad de fysisk-kemiske Forhold i Knoldvævet angaar, tyder adskillige Iagttagelser af *Rabotnova* (93), *Thorne* og *Burritt* (107), *Allison* o. a. (4) og *Frazer* (44) paa et forholdsvis lavt Iltryk og lavt Redox-Potential i det levende Bakterievæv; Kvælstofbindingen synes saaledes at finde Sted under delvis anaerobe Betingelser. Bakterievævet Reaktion ligger ifl. de fleste Iagttagelser (*Pietz* (89), *Poschenrieder* o. a. (92), *Jensen* (54)) ret konstant omkring pH 6; kun *Rabotnova* (93) har fundet en neutral til svagt alkalisk Reaktion (pH 7,0—7,3).

Vort Kendskab til selve Kvælstofbindingens biokemiske Mechanisme er blevet betydelig forøget gennem den sidste halve Snes Aar, omend Spørgsmaalet endnu langt fra er klarlagt. *Winogradsky* (139) fandt en hurtig Ammoniakdannelse i friske, afskaarne Rodknolde og antog derfor, at Ammoniak repræsenterer det første paaviselige Kvælstofbindingsprodukt; dog rummede disse Forsøg den Mulighed, at det fundne Ammoniak opstod ved Nedbrydning af andre Kvælstofforbindelser. Paa Grundlag af en oprindelig af *Blom* (15) opstillet Hypothese samt de nedenfor nærmere omtalte Undersøgelser over Udskillelse af Kvælstofforbindelser fra Bælgplanterødder fremsatte *Virtanen* og *Laine* (124) følgende Teori for den symbiotiske Kvælstofbinding: Elementært Kvælstof overføres gennem et ukendt Mellemed (muligvis Kvælstofforilte, N_2O , eller Diimid, $HN:NH$) til Hydroxylamin (NH_2OH), som momentant reagerer med Oxaleddikesyre ($COOH.CO.CH_2.COOH$, dannet ved enzymatisk Nedbrydning af Glucose), under Dannelse af Oximinoravsyre ($COOH.CNOH.CH_2.COOH$), som ved Reduktion omdannes til *l*-Asparaginsyre ($COOH.CHNH_2.CH_2.COOH$); denne kan enten anvendes til Proteinsyntese eller udskilles fra Rodknoldene, eventuelt efter Decarboxylation til β -Alanin ($CH_2NH_2.CH_2.COOH$).

Denne Teori er i Hovedsagen baseret paa, at *Virtanen* og hans Medarbejdere i deres forudgaaende Undersøgelser udelukkende havde fundet Asparaginsyre og β -Alanin som Ekskretionsprodukter fra Rodknoldene, tillige med smaa Mængder Oximinoravsyre, der næppe kunde tænkes at opstaa paa anden Maade end gennem Reaktionen mellem Hydroxylamin og Oxaleddikesyre, hvilken sidste Forbindelse ogsaa kunde paavises i ret anselige Mængder i Plantesaften. Hvis det første Kvælstofbindingsprodukt var Ammoniak, som ogsaa ved Reaktion med Oxaleddikesyre vilde kunne danne Asparaginsyre over Ravsyrens Imid ($COOH.CNH.CH_2.COOH$), skulde man vente tillige at finde Glutaminsyre ($COOH.CHNH_2.CH_2.CH_2.COOH$), da Ammoniak lige saa let som med Oxaleddikesyre kan reagere med α -Ketoglutarsyre ($COOH.CO.CH_2.CH_2.COOH$), der ogsaa forekommer i Planterne, men hvormed Hydroxylamin reagerer langt vanskeligere end med Oxaleddikesyre.

Imidlertid var *Wilson* (135) og Medarbejdere ikke i Stand til

at paavise mere end Spor af Oxaledikesyre i Planter dyrkede under andre geografiske Forhold. *Wilson* fremsatte derfor en kombineret Hydroxylamin-Ammoniak-Teori, ifølge hvilken det frie Kvælstof i Planter, der er rige paa Oxaledikesyre (saaledes som i *Virtanen's* Forsøg i Finland), kun reduceres til Hydroxylamin, der reagerer med Oxaledikesyren under Dannelse af Asparaginsyre, medens det i Planter med lavt Oxaledikesyreindhold reduceres til Ammoniak, der kan reagere med baade Oxaledikesyre og α -Ketoglutarsyre. Denne Antagelse støttes stærkt af en senere Iagttagelse af *Virtanen* (128), at Glutaminsyre i visse Tilfælde faktisk optræder som Ekskretionsprodukt, hvorfor han opstillede et Skema for Kvælstofbindingsprocessen, der i alt væsentlig stemmer overens med *Wilson's*. Særlig paa Grundlag af Undersøgelser over *Azotobacter* (se nedenfor) har *Wilson* og *Burris* (137) senere fremsat en mere almen Kvælstofbindingsteori, efter hvilken det mest sandsynlige første stabile Kvælstofbindingsprodukt er Ammoniak, der reagerer med α -Ketoglutarsyre under Dannelse af Glutaminsyre, hvorfra Asparaginsyre kan dannes ved Overførelse af Amino-gruppen (Transamination) til Oxaledikesyre. I alle Tilfælde synes saaledes Kærnepunktet i det frie Kvælstofs Overgang til organisk Form at bestaa i en Reaktion mellem en Amino-Gruppe og Keton-Gruppen i en Dicarboxyl-Ketonsyre. Derimod staar det endnu uløst hen, hvorledes den oprindelige Reduktion $N_2 \rightarrow NH_2$ kommer i Stand.

Et ejendommeligt rødt Pigment, som konstant findes i virksomme Rodknolde, og om hvis Natur der hidtil har hersket nogen Tvivl, er identificeret som Hæmoglobin af *Keilin* og *Wang* (59) og af *Virtanen* o. a. (126, 127, 129), der betegner det som »Leghæmoglobin«. *Virtanen* og *Laine* (127) fandt Pigmentet til Stede dels som egentligt Hæmoglobin (divalent Fe), dels som Methæmoglobin (trivalent Fe); i Planter med højt Oxaledikesyreindhold fandtes hovedsagelig Hæmoglobin, men fortrinsvis Methæmoglobin naar Oxaledikesyrekoncentrationen formindskedes under lav Lysintensitet. Ved fortsat Lysmangel omdannedes Methæmoglobinet til et grønt Chromoprotein; denne Proces var irreversibel og forbundet med Ophør af Kvælstofbindingen. *Virtanen* og *Laine* ansaa det for muligt, at Jernets Valensskifte i den reversible Proces (Hæmoglobin-Fe^{II}) \rightleftharpoons (Methæmoglobin-Fe^{III}) staar i For-

bindelse med det frie Kvælstofs Overgang til Hydroxylamin, idet Hæmoglobinet som iltoverførende Agens muligvis kunde bevirke en Iltning af Kvælstof til Kvælstofforilte ($\text{Fe}^{\text{III}} + \text{N}_2 \rightarrow \text{Fe}^{\text{II}} + \text{N}_2\text{O}$) som Forstadium til Reduktionen til Hydroxylamin (eller Ammoniak). Tildels som Følge af Hæmoglobinindholdet er Knoldvævet betydeligt rigere paa Jern end selve Rodsubstansen (*Virtanen* o. a. (129)). Endvidere udmærker Rodknoldene sig ved et paa-faldende højt Indhold af Molybdæn i Sammenligning med andre Planteorganer (*Bertrand* (13); *Jensen* og *Betty* (53)). Foruden at være et nødvendigt Mikronæringsstof for højere Planter i Almindelighed synes Molybdæn tillige at være af særlig Betydning for Kvælstofbindingen. I australske Jorder, hvor Molybdænmangel i de senere Aar har vist sig som et udbredt Fænomen af ikke ringe praktisk Betydning, fandt *Anderson* o. a. (11, 12) store Udslag for Tilførsel af Molybdæn til Kløver og Lucerne; dette viste sig at skyldes en specifik Aktivering af Kvælstofbindingen, idet Molybdænet havde ringe eller ingen Virkning paa Græsser og Bælgplanter gødede med Natriumnitrat eller Ammoniumsulfat. Et relativt højt Indhold af Molybdæn i Knoldtørstoffet (4—8 γ /g i Kløver, 10—20 γ /g i Lucerne) synes nødvendigt, for at Bakterievævet kan udfolde sin fulde kvælstofbindende Virksomhed (*Jensen* (55, 57)), men det er endnu uvist, hvori dets Funktion egentlig bestaar.

Rodknoldenes Virkningsgrad, udtrykt ved den bundne Kvælstofmængde pr. Tidsenhed og pr. Vægtenhed Knoldsubstans, kan variere betydeligt hos forskellige Plantearter og paa forskellige Udviklingsstrin. *Wozak* (141) beregnede en Binding af 38 til 103 mg Kvælstof pr. Døgn og pr. g Knoldtørstof hos forskellige Bælgplanter, mest hos Ært og mindst hos Hestebønne. I mere detaljerede Forsøg fandt *Bond* (16) hos unge Sojabønne-Planter en daglig Binding af 24—28 mg Kvælstof pr. g Knoldtørstof, hvilket senere faldt til 7—8 mg og endnu mindre. *Wilson* (135) fandt lignende Tal hos Sojabønne. Hos flere andre Bælgplanter synes de tilsvarende Tal at ligge betydelig højere, saaledes hos *Trifolium subterraneum* 14—53 (Gnst. 23—26) mg, og hos Lucerne 11—103 (Gnst. 56) mg (*Jensen*, (57)); omregnet paa Basis af Kvælstofindhold i Stedet for Tørstovvægt udtrykker disse Tal, at Rodknoldene hos Kløver binder gennemsnitlig 33—35 pCt. og hos Lucerne 75—80 pCt. af deres eget Kvælstofindhold pr. Døgn. Af det bundne

Kvælstof ophobes kun en ringe Del, sjældent mere end 20 pCt., oftest langt mindre, i Knoldene, medens Resten kontinuerligt overføres til de andre Planteorganer. Som paapeget af *Bond* (16) gør den hurtige Kvælstofomsætning i Rodknoldene det usandsynligt, at Plantens Udnyttelse af det bundne Kvælstof skulde ske som tidligere almindelig antaget, ved Fordøjelse af døde Bakterier i Knoldvævet ved Hjælp af Værtcøllernes proteolytiske Enzymer. I Stedet herfor mente *Bond*, at Kvælstofbindingen er at betragte som en Art Respirationsproces, hvorigennem der opstaaer et kvælstofholdigt Produkt, som under hele Knoldvævet's aktive Livsperiode afgives til Resten af Planten. Resultaterne af Undersøgelserne over Kvælstofbindingsmekanismen støtter i høj Grad denne Anskuelse, som ogsaa deles af *Virtanen* (128).

I nær Forbindelse med Kvælstofomsætningen i Rodknoldene staaer det Spørgsmaal, hvor meget af Plantens disponible Energi-materiale (nemlig Kulhydrat dannet ved Fotosynthese) der anvendes til Kvælstofbindingen. Dette har hidtil kun kunnet besvares tilnærmelsesvis, grundet paa Vanskeligheden ved at skelne mellem de egentlige Rødders, Rodknoldenes og selve Bakterievævet's Respiration. *Allison* (2) anslog, efter en ret skønsommæssig Beregning, at Bakterierne kun forbruger ca. 3 til 6 pCt. af Værtplantens Kulhydratproduktion. En mere direkte Bestemmelse blev udført af *Bond* (19) gennem Vandkulturforsøg, som tillod særskilt Maa-ling af Rodsystemets og de overjordiske Deles Respiration. Ved at sammenligne Respirationen hos knoldbærende og knoldfrie Rødder hos Sojabønneplanter ernærede med henholdsvis frit og bundet Kvælstof kom *Bond* til det Resultat, at Knoldvævet forbrugte ca. 16 pCt. af den samlede Kulhydratproduktion (altsaa betydeligt mere end anslaaet af *Allison*), og at Knoldbakterierne sandsynligvis brugte ca. 15 mg Kulhydrat til Binding af hvert mg Kvælstof. Hertil er at bemærke, at Rodknoldenes Aktivitet i *Bond's* Vandkultur-forsøg syntes ret lav, da der kun blev bundet ca. 4 mg Kvælstof pr. g Knoldtørstof pr. Døgn. Yderligere har *Allison* o. a. (5) fundet, at Rodknoldenes Respiration beregnet paa Basis af Kvælstofindhold er væsentlig lavere end paa Basis af Tørstof, hvilket tyder paa, at Bakteriernes Respiration kun repræsenterer en forholdsvis ringe Del af hele Knoldvævet's. Det er imidlertid let at paavise, at Kulhydratforsyningen er en af de vigtigste Betingelser for Knoldvævet's

Funktion. Paa Planter, hvis Fotosynthese standses ved Unddragelse af Lys, holder Rodknoldene op at vokse og antager en abnorm Struktur, idet Bakterierne nu bliver rent parasitiske og angriber Værtcøllernes Cytoplasma og Cellekerner (*Thornton* (109)). Under tilsvarende Forhold iagttag *Virtanen* o. a. (129), at Kvælstofbindingen standser, Bakterierne optræder som regelmæssige Stave i Stedet for Bakteroider, og Hæmoglobinet omdannes til grønt Pigment. Dog synes ifl. *Wilson* (135) en begrænset Kvælstofbinding at kunne finde Sted i Mørke paa Grundlag af forud ophobet Kulhydrat.

Det er en almindelig Erfaring (se *Fred* o. a. (45)) og *Poschenrieder* o. a. (92)), at gunstige Vilkaar for Plantevækst og Fotosynthese i Almindelighed ogsaa begunstiger Kvælstofbindingen. Den eneste Undtagelse herfra danner Tilførsel af bundet Kvælstof (Nitrat og Ammoniak), der nedstemmer Kvælstofbindingen ved sin hemmende Indflydelse paa Rodknoldenes Opstaaen og Vækst, som diskuteret ovenfor. Aarsagen hertil synes først og fremmest den, at det disponible Kulhydrat nu anvendes til Proteinsynthese med det optagne Nitrat eller Ammoniakkvælstof, hvorved Rodknoldenes Forsyning med Kulhydrat indskrænkes. *Virtanen* o. a. (129) ser tillige en Forklaring i en svagere Dannelse af Hæmoglobin under disse Forhold. Omfattende Undersøgelser af *Wilson* (135) og Medarbejdere har dog vist, at den almindelige Regel om Kulhydratforsyningens fremmende og det bundne Kvælstofs hæmmende Indflydelse paa Kvælstofbindingen kun gælder med visse Forbehold. Dersom Fotosynthesen forstærkes ud over en vis Grænse, gennem forhøjet Lysintensitet eller Kuldioxidtryk, aftager Kvælstofbindingen, og Nitrat virker nu fremmende paa Knoldenes Vækst og Virksomhed. En vis Balance mellem tilgængeligt Kulhydrat og Kvælstof i Plantevævet synes saaledes nødvendigt for Knoldenes optimale Virksomhed. Den egentlige Aarsagssammenhæng mellem disse Fænomener er endnu ret uklar. *Virtanen* (128) har søgt en Forklaring gennem en mulig ekscessiv Dannelse af Ascorbinsyre (Vitamin C), der kan bevirke Iltning af Hæmoglobinet til det inaktive grønne Pigment.

Atmosfærens Kvælstof- og Ilttryk er indenfor ret vide Grænser uden Indflydelse paa Kvælstofbindingen, som ifl. *Wilson* (135) aftager ved Partialtryk af Kvælstof paa under 0,1 Atm., medens

varierende Partialtryk paa over 0,1—0,15 Atm. er uden kendelig Virkning. Ligeledes synes Partialtryk af Ilt mellem 0,1 og 0,4 Atm. ikke at paavirke Assimilationen af enten frit eller bundet Kvælstof; udenfor disse Grænser indskrænkes Væksten, men Kvælstof kan dog endnu bindes ved et Iltryk saa lavt som 0,012 Atm.

En ejendommelig Virkning, ligeledes indgaaende diskuteret af *Wilson* (135), har fri Brint, som i forholdsvis høje Partialtryk, 0,4—0,6 Atm., virker specifikt hæmmende paa Kvælstofbindingen, men ikke paa Væksten med Ammoniak- eller Nitratkvælstof. Denne Virkning optræder paa ethvert Udviklingstrin, ophører, saa snart Planterne overføres til brintfri Atmosfære, og synes at være af kompetitiv Natur, idet Brinten fortrænger Kvælstoffet fra de aktive Atomgrupper i det kvælstofbindende Enzymkompleks. *Wyss* o. a. (143) beregnede, at Brintens Affinitet til det paagældende Enzym hos Rødkløver maa være ca. en Trediedel af Kvælstoffets.

Kulilte har ifl. *Lind* og *Wilson* (69) en noget lignende Virkning, men i langt lavere Koncentration, idet allerede 0,01—0,05 Atm. CO hæmmer Kvælstofbindingen, medens først 0,1—0,3 Atm. har en kendelig Virkning paa Væksten med Ammoniumnitrat. I Modsætning til Brintens Virkning synes Kuliltens at være ikke-kompetitiv og at bero paa ligefrem Inaktivering af det kvælstofbindende Enzym. Det kunde ligge nær at søge Forklaringen i en Giftvirkning paa Rodknoldenes Hæmoglobin; dog har Kulilte samme Virkning paa *Azotobacter* (se nedenfor), hvor Forekomst af Hæmoglobin ikke er paavist.

Udskillelse af bundet Kvælstof. Under visse Forhold synes Kvælstoffet at bindes hurtigere end det anvendes til Protein-synthese. I saadanne Tilfælde kan en Del af det bundne Kvælstof udskilles fra Rodknoldene, som først iagttaget i ældre Forsøg af *Lipman* og i nyere Tid studeret indgaaende af *Virtanen* og Medarbejdere. Herom foreligger der allerede en meget omfattende Litteratur. I indledende Forsøg iagttog *Virtanen* og *v. Hausen* (119), at Rødkløver og Ærter i Sandkultur afgav anselige Mængder organisk Kvælstof til Substratet, og at en Del heraf kunde optages af Havreplanter. Næsten alle *Virtanen*'s senere Forsøg er udførte med Ærter. Hos Planter, der dyrkedes i sterilt Sand podet med Renkulturer af Knoldbakterier, fandt *Virtanen* o. a. (120) en saa stærkt Udskillelse af Kvælstof, overvejende i Form af Aminosyrer,

at Bygplanter dyrkede sammen med Ærterne kunde naa normal Udvikling. Derimod fandtes ingen Kvælstofudskillelse i Vandkulturer. Senere Forsøg (*Virtanen* og *v. Hausen* (121)) viste, at Kvælstofafgivelsen begyndte paa et tidligt Tidspunkt og tiltog med de anvendte Forsøgskars Størrelse, sandsynligvis paa Grund af den bedre Luftadgang til Rødderne. Ogsaa i steril Agarkultur fandtes der, i Modsætning til Vandkulturerne, nogen Kvælstofudskillelse, der saaledes synes at bero paa Substratets Absorptionsevne. Dette bekræftedes yderligere af *Virtanen* o. a. (123) i Forsøg med Vandkulturer under Tilsætning af Cellulose eller Kaolin. Fremdeles fandt *Virtanen* o. a. (123), at Ærter i steril Sandkultur kunde afgive fra 36 til 83 pCt. af det bundne Kvælstof, og at 16 til 52 pCt. heraf kunde optages af Byg, Havre og Hvede. Det udskilte Kvælstof kunde identificeres som overvejende Asparaginsyre og β -Alanin. I ikke-sterile Sandkulturer kunde Byg, Hvede og Kartofler optage adskilligt mere af det udskilte Kvælstof, sandsynligvis paa Grund af mikrobiel Nedbrydning af Asparaginsyren, der kun daarligt eller slet ikke udnyttedes af Byg og Hvede, hvorimod Byg voksede godt med β -Alanin. Endelig fandt *Virtanen* og *Laine* (124) blandt Ekskretionsprodukterne smaa Mængder Oximinoravsyre — som ovenfor nævnt et af de vigtigste Holdepunkter for Hydroxylamin-Hypothesen.

Disse banebrydende Undersøgelser gav hurtigt Anledning til lignende Forsøg andetsteds. Resultaterne heraf tyder imidlertid stærkt paa, at under andre (fortrinsvis klimatiske) Forhold end de i Finland fremherskende er Udskillelsen af Kvælstofforbindelser fra levende Bælgplanterødder snarere en Undtagelse end en Regel. Negative Resultater er saaledes fundne i Forsøg med mange Bælgplantearter af *Ludwig* og *Allison* (71, 72), *Wilson* og *Burton* (134) og *Myers* (78) i U. S. A., *Trumble* o. a. (114) og *Swaby* (104) i Australien, og *Engel* og *Roberg* (41) i Tyskland; ogsaa Forsøg under Forhold, der mere ligner de finske, af *Bjälffe* (14) i Sverrig, og af *Bond* (17, 18, 20) i Skotland, har givet helt eller næsten negative Resultater. Andre Forsøg i England, af *Thornton* og *Nicol* (110) med Lucerne og af *Nowotnowna* (83) med Ærter, Kløver og Serradel, tyder paa nogen Kvælstofudskillelse, dog i langt mindre Maalestok end i *Virtanen's* Forsøg. Denne paafaldende Uoverensstemmelse med de finske Forsøgsresultater, som ikke tillader

nogen Tvivl om stærk Kvælstofudskillelse, synes tildels at kunne forklares gennem Forsøg i Wisconsin af *Wilson* og Medarbejdere. Ved Gentagelse af tidligere Forsøg, der havde givet negative Resultater, fandt *Wilson* og *Burton* (134) en paaviselig, omend uregelmæssig og gennemgaaende svag Kvælstofudskillelse hos Ærter, og senere Undersøgelser (*Wilson* (135)) viste, at Fænomenet stod i nær Forbindelse med Betingelserne for Kulsyreassimilationen. Under lav Lysintensitet er Fotosyntesen utilstrækkelig for Rodknoldenes fulde Virkning. Omvendt opbygges der under høj Lysintensitet saa meget Kulhydrat, at alt det bundne Kvælstof fastlægges som Protein. Endelig kan Kvælstoffet under moderat Lysintensitet, navnlig kombineret med lang Lysperiode og lav Temperatur, bindes saa hurtigt, at Kulhydratproduktionen er utilstrækkelig til Anvendelse af alle Kvælstofbindingsprodukterne til Proteinsyntese, og Overskuddet af bundet Kvælstof udskilles. Saadanne Forhold er netop fremherskende i Finland, og i Forbindelse hermed staar øjensynlig det høje Indhold af Oxaeddikesyre, som i særlig Grad skulde begunstige Dannelsen af Asparaginsyre. I Overensstemmelse hermed fandt *Strong* og *Trumble* (103) i Australien, at Kvælstofudskillelse hos Ærter, som normalt ikke finder Sted under derværende Forhold, kunde fremkaldes kunstigt ved delvis Beskygning. *Wyss* og *Wilson* (142) har iagttaget et andet Fænomen, som bidrager til at forklare de negative Resultater, nemlig Planternes Evne til undertiden at resorbere det allerede udskilte Kvælstof.

Effektivitet og Værtplante-Specificitet. Som allerede nævnt ser man ofte en paafaldende Forskel paa forskellige Bakteriestammers Evne til foranledige Kvælstofbinding, idet visse »gode« eller »effektive« Stammer danner »virksomme« Knolde, der binder rigeligt Kvælstof, medens andre »daarlige« eller »ineffektive« Stammer danner »uvirksomme« Knolde, der binder lidet eller intet Kvælstof. Mellem disse Yderpunkter kan der findes mange Gradsforskelle. Foruden af enkelte tidligere Forskere er saadanne Fænomener iattaget i Ærte-Gruppen bl. a. af *Virtanen* o. a. (129, 130), i Kløver-Gruppen af *Dunham* og *Baldwin* (40), *Marie Löhnis* (74), *Virtanen* og *v. Hausen* (121) og *Strong* (102), i Sneglebælg-Gruppen af *Burton* og *Wilson* (31), *Burton* og *Erdman* (32) og *Kroulik* og *Gainey* (67), i Sojabønne-Gruppen af *Ruf* og

Sarles (97) og *Boyes og Bond* (25), og i Lupin-Gruppen af *Kalnins* (58). Som Regel danner udpræget effektive Stammer et forholdsvis lille Antal af store, veludviklede, hæmoglobinholdige Knolde, der fortrinsvis findes paa de øvre Dele af Rødderne, medens udpræget infektive Stammer danner meget talrige smaa Knolde spredte over hele Rodsystemet og ifl. *Virtanen* o.a. (127, 129) ikke indeholdende Hæmoglobin. For de mellemliggende Stammers Vedkommende synes Forholdet mindre klart; dog kunde *Virtanen* o.a. (130) paavise en vis Korrelation mellem Bakteriestammernes Effektivitet og deres Rodknoldes Hæmoglobinkoncentration.

Nærmere Undersøgelser har vist, at disse Fænomener beror ikke alene paa Bakteriernes, men ogsaa paa Værtplanternes individuelle Egenskaber. Ikke sjældent ses det, at en og samme Bakteriestamme kan danne virksomme Knolde paa een Værtplante, men optræde aldeles ineffektivt overfor en anden af nærstaaende Art. *Strong* (102) fandt effektive Knoldbakterier fra Rød- og Hvidkløver fuldkommen ineffektive overfor *Trifolium subterraneum*, og omvendt; Undersøgelser af *Vincent* (118) over et større Antal Bakteriestammer og Kløverarter viste dog langt mere udviklede Forhold. Hverken *Vincent* eller *Kleczkowski og Thornton* (62) kunde paavise nogen tydelig Korrelation mellem Bakteriernes serologiske Gruppering og deres Reaktion overfor forskellige Værtplanter. I nogle Tilfælde gælder Specificiteten ikke alene forskellige Værtplante-Arter af samme Slægt, men ogsaa forskellige Varieteter af samme Art. Saaledes fandt *Boyes og Bond* (25) en Stamme af *Rhizobium japonicum*, hvis Effektivitet var meget ringe overfor to Sorter af Sojabønne, men særdeles god overfor to andre; en anden Stamme var effektiv og en tredje ineffektiv overfor alle fire Sorter. Hos tre Sorter af Lucerne fandt *Burton og Wilson* (31) nogen, omend ikke megen, Forskel paa Kvælstofbindingen med 9 Stammer af *Rhizobium meliloti*. Mere udprægede Forskelle er senere omtalte af *Wilson* (135), men i det hele taget synes Dannelsen af egentlig uvirksomme Knolde hos Lucerne sjældent eller ikke at forekomme, omend der kan paavises nogen Gradsforskel mellem de forskellige Bakteriestammer (*Kroulik og Gainey* (67)). Et ejendommeligt Eksempel paa ensidig Værtplantenspecificitet er fremdraget af *Burton og Erdman* (32), som fandt Bakteriestammer fra Lucerne og Stenkløver effektive overfor hinandens Værtplanter,

men ineffektive overfor *Medicago hispida* og *Trigonella foenum-graecum*; derimod var Bakteriestammer fra de to sidstnævnte Arter effektive overfor Lucerne og Stenkløver saavel som overfor deres homologe Værtplanter.

Den egentlige Aarsag til disse Forhold, hvis praktiske Betydning er indlysende, er meget lidt kendt. Et højst interessant Arbejde af *Chen* og *Thornton* (33) viste, at Rodknolde dannede af ineffektive Bakteriestammer hos Rødkløver og Sojabønne kun indeholder et meget lille Rumfang af hurtigt degenererende Bakterievæv, som imidlertid pr. Rumfangs- og Tidsenhed binder lige saa meget Kvælstof som Bakterievævet i virksomme Knolde, saaledes som det fremgaar af følgende Tal:

	mg N bundet pr. Døgn og pr. cm ³ Bakterievæv dannet af	
	Effektive Bakterier	Ineffektive Bakterier
Rødkløver.....	3.90	4.59
Sojabønne.....	1.27	1.42

Spørgsmaalet om Effektivitet synes saaledes i sidste Instans at dreje sig om, hvorfor Bakterievævet Vækst saa hurtigt standser i Knolde dannede af ineffektive Stammer. Paafølgende Undersøgelser af *Chen* o. a. (34) viste, at sterilfiltreret Pressesaft af Ærte- og Sojabønnerødder med uvirksomme Knolde indeholdt et Stof (ikke identisk med en Bakteriofag), der hemmede Væksten af de tilsvarende Bakterier paa Agarsubstrat. I Rødder med virksomme Knolde fandtes intet saadant Hemningsstof. *Chen* o. a. (34) sluttede heraf, at en »daarlig« eller »ineffektiv« Bakteriestamme ikke er en, som i og for sig mangler Evnen til Kvælstofbinding, men en, som i en bestemt Værtplante fremkalder Dannelse af Stoffer, der hemmer Bakterievævet Vækst. Hvis saadanne Stoffer ikke dannes i en Værtplante af anden Art eller Sort, vil den paagældende Bakteriestamme her optræde som effektiv. Dog synes i visse Tilfælde, som iagttaget af *Virtanen* o. a. (129), Ineffektiviteten at være absolut, idet overhovedet ingen Kvælstofbinding kunde paavises; Forskellen mellem effektive og ineffektive Stammer synes saaledes ikke altid blot at være en Gradsforskell. Et højst betydningsfuldt Arbejde af *Nutman* (84) tyder paa, at Effektivitetsforholdet bestemmes af Arvelighedsanlæg hos Værtplanten, som i visse Tilfælde helt kan udelukke Knolddannelse.

Tidligere Angivelser, ifl. hvilke en Bakteriestammes Karakter skulde kunne ændres gennem fortsat Plantepassage, saaledes at ineffektive Stammer gradvis vinder i Effektivitet, medens effektive Stammer kan degenerere og blive ineffektive, kunde ikke bekræftes i nyere Undersøgelser af *Nutman* (85) og *Virtanen* (128).

Endelig bør nævnes et Fænomen af stor praktisk Interesse, iagttaget af *Nicol* og *Thornton* (79), som i visse Jorder i Wales fandt en ineffektiv Stamme af *Rhizobium trifolii* saa rigeligt forekommende og i Besiddelse af saa stor Infektionsevne overfor Kløver, at Podning med almindelige effektive Stammer var uden Virkning. Derimod var særligt hurtigvoksende Stammer af effektive Bakterier i Stand til at konkurrere med den naturligt forekommende ineffektive Stamme og forbedre Væksten i betydelig Grad.

Symbiotisk Kvælstofbinding hos Ikke-Bælgplanter. Et interessant Sidestykke til Bælgplanterne udgør visse andre Plantefamilier, hos hvilke der forekommer lignende symbiotiske Fænomener. Forskellige tropiske Planter, (*Pavetta*, *Ardisia*), hvis Blade bærer Bakteriekolde, synes ikke at være studerede i nyere Tid, og for flere andres Vedkommende staar Spørgsmaalet om kvælstofbindende Evne endnu aabent, saaledes Ericaceerne og deres endotrofe Mykorrhizer. Nogenlunde Klarhed er kun skabt for en enkelt Slægts Vedkommende, nemlig Elletræerne (*Alnus glutinosa* og *incana*). Tidligere Undersøgelser af *Hiltner* har vist ret utvivlsom Evne til Kvælstofbinding hos El, hvilke senere er fuldstændig fastslaaet gennem Forsøg af *Krebber* (66), *Roberg* (95), og *Virtanen* og *Saastamoinen* (122). Elle-Rodknoldene har været Genstand for mange cytologiske Undersøgelser, som tyder paa, at den symbiotiske Mikroorganisme er en Actinomycet. Forsøg paa Rendyrkning af Symbionten og Dannelse af Rodknolde med Renkulturer heraf har givet negative Resultater, indtil det lykkedes *v. Plotho* (91) at isolere en som *Actinomyces alni* betegnet Organisme, der dannede typiske Rodknolde paa Elleplanter i Vandkultur og gav tydelig Kvælstofbinding. Ogsaa Slægterne *Eleagnus* og *Hippophaë* bærer Rodknolde dannede af Actinomyceter og øjensynlig i Stand til at binde Kvælstof (*Roberg* (94)). Endvidere findes der utvivlsomt kvælstofbindende Rodknolde hos Slægten *Casuarina* (*Mowry* (77)), men de paagældende Mikroorganismers Natur er praktisk talt ukendt. Det maa overlades til fremtidige Undersø-

gelses at afgøre dette saavel som Spørgsmaalet hvorvidt de biokemiske Processer ved disse Typer af biologisk Kvælstofbinding er de samme som hos Bælgplanterne.

2. Kvælstofbinding hos fritlevende Mikroorganismer.

For de kvælstofbindende Mikroorganismers Vedkommende, som ikke lever i intracellulær Symbiose med højere Planter, er Spørgsmaalet gennem den sidste Snes Aars Undersøgelser for saa vidt blevet simplificeret, som kun et forholds ringe Antal Arter har vist sig at besidde ubestridelig Evne til Kvælstofbinding. Angivelser om saadanne Egenskaber hos et stort Antal almindeligt forekommende Jordbunds bakterier, som ofte træffes i den tidligere Litteratur (*F. Löhnis* o. a.), har ikke fundet Bekræftelse; det forekommer ret sandsynligt, at den af *Marie Löhnis* (73) paapegede Fejlkilde i Forsøgene med Knoldbakterier ogsaa ligger til Grund for de tilsyneladende positive Resultater med andre Organismer.

De aerobe kvælstofbindende Bakterier repræsenterer saaledes hovedsagelig af Slægten *Azotobacter*, med Arterne *A. chroococcum*, *beijerinckii*, *vinelandii* og *agile*, hvortil kommer den senere opdagede *A. indicum*, *Starkey* og *De* (101), en tilsyneladende ret sjælden Art, der adskiller sig fra de andre ved sin paafaldende Ufølsomhed overfor sur Reaktion, idet den kan vokse og binde Kvælstof indenfor et pH-Område fra ca. 3 til ca. 9, medens Kvælstofbindingen hos de andre standser ved pH ca. 6,0.

En omtrent samtidig af *Stapp* (99) beskrevet kvælstofbindende Bakterie, ligeledes af vistnok ret sjælden Forekomst, synes at repræsentere en nærstaaende Slægt *Azotomonas*, med en enkelt Art *A. insolita*, der adskiller sig fra *Azotobacter* ved sin betydelig mindre Størrelse, sin gode Vækst i almindelige bakteriologiske Substrater og sin kraftige Forgæring af talrige Kulstofforbindelser under Syre- og Luftdannelse.

Azotobacter-Arternes Biokemi er blevet særdeles indgaaende studeret den sidste Snes Aar. Herigennem har man bl. a. klarlagt et gammelkendt ejendommeligt Forhold, nemlig at Renkulturer i rent, syntetisk Substrat som Regel kun udviser en ret beskedent Kvælstofbinding, medens langt mere Kvælstof (10—12 mg eller mere pr. g omsat Kulhydrat) bindes i Substrat med Tilsætning af

Jord eller Humusstoffer. Som paavist af *Bortels* (21, 22), *Horner* o. a. (48), m. fl., beror denne Virkning paa et Indhold af Molybdæn, der fungerer som et udpræget Mikro-Næringsstof af særlig Betydning for Kvælstofbindingen. Hos de fleste Stammer af *Azotobacter* synes Molybdænet absolut nødvendigt, medens andre Stammer synes at kunne binde Kvælstof uden Molybdæn, som dog virker ret stærkt stimulerende. Virkningen af Molybdæn er kendelig i en Koncentration af 0,0002—0,001 mg Mo. pr. Liter Substrat og naar sit Maksimum i en Koncentration af 0,1—1,0 mg pr. Liter, hvor der kan bindes 16—20 mg Kvælstof, og lejlighvis endnu mere, pr. g forbrugt Sukker. Paa Væksten med bundet Kvælstof (Ammoniak og Nitrat) har Molybdænet derimod ingen udpræget Virkning; det virker altsaa som en specifik Katalysator for det kvælstofbindende Enzym. Blandt mere end 40 Grundstoffer undersøgte af *Bortels* (21) synes alene Vanadium til en vis Grad at kunne erstatte Molybdæn; en mindre Virkning af Wolfram, som *Bortels* mente at have iagttaget, skyldes ifl. *Horner* o. a. (48) simpelthen Vanskeligheden ved at fremstille fuldkommen molybdænfri Wolframsalte. Tidligere iagttagne Virkninger af andre Stoffer (Kiselsyre Mangan, Titan, Uranium, etc.) beror sandsynligvis paa lignende Aarsager.

Angaaende den kvælstofbindende Mekanisme hos *Azotobacter* mente *Winogradsky* (138), at det primære Kvælstofbindingsprodukt er Ammoniak, dannet ved Reduktion af elementært Kvælstof, da der under visse Betingelser kunde paavises en livlig Ammoniakdannelse i unge *Azotobacter*-Kulturer; dog indeholdt disse Forsøg intet Bevis for, at det frigjorte Ammoniak ikke repræsenterede et sekundært Nedbrydningsprodukt. *Virtanen* og *Laine* (124) antog, at der først dannes Hydroxylamin, som reagerer med Oxaeddikesyre under Dannelse af Oximinoravsyre og derefter Asparaginsyre, som kunde paavises i smaa Mængder i *Azotobacter*-Cellernes Udskillelsesprodukter. Kvælstofbindingen hos *Azotobacter* skulde saaledes være fuldstændig analog med den tilsvarende Proces hos Bælgeplanterne. Sandsynligheden af denne Hypothese svækkes dog stærkt derved, at det aldrig er lykkedes at paavise Udnyttelse af Hydroxylamin hos *Azotobacter*. I nyeste Tid har *Novak* og *Wilson* (82) fundet, at ikke alene er frit Hydroxylamin giftigt for *Azotobacter* selv i ganske smaa Mængder, men ogsaa dets

Oximer med Oxaaldehydesyre og α -Ketoglutarsyre er utjenlige som Kvælstofkilder. Derimod er det en kendt Sag, at Ammoniak og Urinstof undertrykker Kvælstofbindingen ved at udnyttes fremfor det frie Kvælstof. Ved Anvendelse af isotopisk Kvælstof viste *Burris og Wilson* (29), at Ammoniakkvælstof optages øjeblikkelig, men Nitratkvælstof først efter en forudgaaende Tilpasningsperiode, hvor Cellerne har udviklet Evne til at reducere Nitratet til Ammoniak, og i det hele taget synes *Azotobacter* kun at kunne udnytte Kvælstofforbindelser, der kan omdannes til Ammoniak. I andre Forsøg med den samme Metodik viste *Burris og Wilson* (28), at det assimilerede Kvælstof, enten det stammer fra frit Kvælstof eller fra Ammoniak, først optræder i Form af Glutaminsyre, hvoraf Asparaginsyre kan dannes ved Transamination. Det maa derfor anses for sandsynligt, at det første paaviselige Kvælstofbindingsprodukt hos *Azotobacter* er Ammoniak, som formodet af *Winogradsky*.

Bortset fra Spørgsmaalet om det primære Kvælstofbindingsprodukts Identitet er imidlertid Analogien mellem Processerne hos *Azotobacter* og Bælgplanterne umiskendelig. Dicarboxylaminsyrer (Glutaminsyre og Asparaginsyre) indtager en Centralstilling hos begge, og som ovenfor nævnt har Molybdæn hos Bælgplanterne ligesom hos *Azotobacter* en specifik Virkning paa Kvælstofbindingen, omend det hos de første ikke synes at kunne erstattes af Vanadium (*Anderson o. a.* (12)). Hos *Azotobacter* ligesom hos Bælgplanterne virker fri Brint (*Wyss o. a.* (143) og Kullite (*Lind og Wilson* (70)) hemmende paa Kvælstofbindingen i langt højere Grad end paa Assimilationen af bundet Kvælstof. Alt dette tyder afgjort paa, at den biokemiske Mekanisme er væsentlig den samme hos begge Organismegrupper. Paa den anden Side findes der visse Forskelle, som dog tildels er mere af Grads- end af Væsenskarakter. Saaledes maa Kvælstofbindingen i Rodknoldene antages at foregaa ved svagt sur Reaktion (pH ca. 6), hvilket er netop den Grænse, hvor Kvælstofbindingen standser hos almindelige *Azotobacter*-Arter; dette kan dog ikke tillægges afgørende Betydning, idet *A. indicum* er i Stand til at binde Kvælstof ved langt stærkere sur Reaktion. I Rodknoldene afgives endvidere, som ovenfor omtalt, den langt overvejende Del af det bundne Kvælstof til Resten af Planten (eventuelt Voksemediet), medens Kvælstofbindingen hos *Azotobacter* er »vækstbundet«, knyttet til Celleformering og hoved-

sagelig bestaaende i Opbygning af nyt Cellemateriale uden Udskillelse af opløselige Kvælstofforbindelser i Substratet. I en vis Forstand drejer det sig kun om en (ganske vist meget udpræget) Gradsforskel, idet man ogsaa hos unge *Azotobacter*-Kulturer kan finde Udskillelse af organisk Kvælstof, som paavist af *Roberg* (96), *Bortels* (22) og *Horner* og *Burk* (47). Det afgivne Kvælstof kan beløbe sig til ca. 10 til 35 pCt. af det totale, undertiden endnu mere, og synes at bestaa delvis af Asparaginsyre, muligvis ogsaa Oximforbindelser, ifl. *Horner* og *Burk* (47) (sml. dog *Novak* og *Wilson* (82)).

Dog er det muligt, at der ogsaa eksisterer en Væsenforskel, idet det ikke er sikkert, hvorvidt den symbiotiske Kvælstofbindingsproces kræver Formering af Knoldbakterierne; derimod kan *Azotobacter* kun binde Kvælstof under aktiv Vækst og Formering. Ogsaa paa et andet Punkt synes der at være en virkelig Væsenforskel, idet *Azotobacter* danner et Enzym (Hydrogenase), som er i Stand til at ilte fri Brint, og som synes at staa i Forbindelse med Kvælstofbindingsprocessen, idet det kun dannes paa kvælstoffrit Substrat, men ikke under Ernæring med bundet Kvælstof (*Lee* og *Wilson* (68)). Et saadant Enzym findes derimod hverken i Renkulturer af Knoldbakterier eller i Rodknolde (*Wilson* o. a. (136)). Endvidere ser man hos *Azotobacter* intet til det hos Bælgplanterne iagttagne Fænomen, at assimilerbart bundet Kvælstof fremmer Kvælstofbindingen under særlig høj Kulhydratforsyning, ligesom der ikke vides at forekomme noget hæmoglobinlignende Pigment hos *Azotobacter*.

Til Slut maa nævnes, at *Bortels* (23) har observeret en tilsyneladende Korrelation mellem Vejrliget og Væksten af *Azotobacter*, som angives at være kraftig ved højt eller stigende, men svagere ved lavt eller faldende Lufttryk. Som den sandsynligste Aarsag hertil antog *Bortels* en ukendt meteorologisk Faktor, muligvis en særlig haard Straaling, hvis Intensitet stod i Forbindelse med Vejrliget. Om Berettigelsen af denne Hypothese synes det endnu for tidligt at dømme.

Kvælstofbindingen hos anaerobe Bakterier (*Clostridium butyricum* og den nærstaaende *Cl. acetobutylicum*) er i nyere Tid kun studeret i ringe Udstrækning. Dog har det vist sig, at ogsaa hos disse Organismer virker Molybdæn som et Mikronæringsstof,

der særlig stimulerer Kvælstofbindingen, og som kun for visse Stammers Vedkommende kan erstattes af Vanadium (*Jensen og Spencer* (56)).

Hos visse blaagrønne Alger, *Nostoc*, *Anabaena* og *Cylindrospermum*, er kvælstofbindende Evne med Sikkerhed paavist, bl. a. af *Allison* o. a. (3) og *De* (38). Ogsaa denne Kvælstofbindingsprocès har Lighedspunkter med *Azotobacter* og Bælgplanterne, idet den stimuleres af Molybdæn og Vanadium (*Bortels* (24)) og hemmes af Kulilte (*Burris og Wilson* (30)).

Andre fritlevende kvælstofbindende Organismer kendes ikke med Sikkerhed. Forsøg med Skimmelsvampen *Aspergillus niger* har givet højst modstridende Resultater, hvilket *Bortels* (23) tilskrev meteorologiske Faktorer. Det samme gælder visse Gærsvampe; i de tilsyneladende bedst kontrollerede Forsøg af *Marie Löhnis* (75), fandtes dog ingen som helst Kvælstofbinding. I Renkulturer af *Actinomyces alni*, den symbiotiske Organisme i Ellerodknolde, angav *v. Plotho* (90) først at have fundet en anelig Kvælstofbinding, men udtrykte sig i et senere Arbejde (91) mere forbeholdent. Med Hensyn til Arter af *Phoma*, der danner Mykorrhizer hos Ericaceerne og ifl. ældre Forsøg af *Charlotte Ternetz* binder store Mængder Kvælstof, synes Spørgsmaalet endnu at staa aabent.

Den praktiske Betydning af de fritlevende kvælstofbindende Organismers Virksomhed er langt vanskeligere at fastslaa end Bælgplanternes, især paa Grund af de velkendte Vanskeligheder ved analytisk at paavise de forholdsvis smaa Ændringer i Jordbundens Kvælstofindhold, hvorom der i Almindelighed er Tale. Omend *Azotobacter* hyppigt forekommer i Jord af neutral og alkalisk Reaktion og tilstrækkeligt Fosforsyreindhold, er Individantallet gennemgaaende meget lavt (Hundreder eller Tusinder pr. g Jord) i Sammenligning med andre Bakterier, hvis Antal maales i Millioner eller Milliarder pr. g Jord (*Jensen* (51)). De anaerobe kvælstofbindende Bakterier forekommer vel mere udbredt og i større Antal, men er til Gengæld mindre effektive, og ogsaa deres Tæthed synes ringe i Sammenligning med det overvældende Antal af ikke-kvælstofbindende Mikroorganismer, der tager Del i Omsætningen af det organiske Materiale, der repræsenterer Energikilden for Kvælstofbindingen. I Agerjorder er disse Materialer hovedsagelig indskrænkede til Rod- og Stubblevninger samt Stald-

og Grøngødning, hvilke sidste dog normalt omsættes under Frigørelse af Ammoniak og Nitrat, som automatisk modvirker Kvælstofbindingen; et vigtigt Moment er her utvivlsomt det organiske Stofs C:N-Forhold. En Binding af 20—50 kg Kvælstof pr. Hektar aarlig, som ofte angives, er sikkert en meget optimistisk Vurdering, som vilde kræve, at mindst 1—2,5 Tons organisk Stof af samme Næringsværdi som Glucose udnyttes af *Azotobacter*, hvilket ganske indlysende ikke er Tilfældet. Noget anderledes ligger Sagen sandsynligvis i udyrkede Jorder og muligvis ogsaa i vedvarende Græsmarker, hvor større Mængder organisk Stof efterlades og undergaar Sønderdeling i Stedet for at bortføres med Afgrøderne. Under disse Forhold er de fritlevende kvælstofbindende Organismers Virksomhed rimeligvis en langsomt forløbende Proces, som i Løbet af længere Tidsrum gradvis kan opbygge Kvælstofreserver i Jordbunden. De kvælstofbindende Alger er naturligvis som autotrofe Organismer ikke i Stand til Fotosyntese og Kvælstofbinding paa selve Jordoverfladen. Hvorvidt deres Virksomhed i almindelige Agerjorder er af Betydning i Sammenligning med Afgrødernes Kvælstofkrav forekommer usandsynligt. Derimod tyder adskilligt paa, at de kan være af Vigtighed i Rismarker, hvor der ofte under Vandingsperioden ses en kraftig Overfladevækst af Alger, deriblandt kvælstofbindende Arter (*De* (38)).

Da Mængden af organisk Stof almindeligt er den begrænsende Faktor for de fritlevende kvælstofbindende Bakteriers Udvikling, kan det ikke undre, at »Podning« af Jord med saadanne Organismer (*Azotobacter* o. a.) regelmæssig har ført til Skuffelser. Ikke desmindre er »Bakterisering«, Podning af Frø af Ikke-Bælgplanter med industrielt fremstillede Kulturer af *Azotobacter*, i de senere Aar praktiseret i stor Udstrækning i Rusland, tilsyneladende ofte med særdeles gunstigt Resultat (se Referat af *Allison* (7) og *Fåhraeus* o. a. (42)). Virkningen menes af de fleste russiske Forskere at bero paa særlig gunstige Vækstbetingelser for *Azotobacter* i Planterøddernes umiddelbare Nærhed (Rhizosfæren), hvorved Planternes Kvælstofforsyning skulde forøges; andre har ment, at Produktionen af Vækststoffer skulde spille en større Rolle end Kvælstofbindingen. Virkelige eksperimentelle Beviser herfor ses dog ikke at foreligge, og lignende Forsøg udenfor Sovjetunionen, af *Allison* o. a. (8) i U.S.A. og *Fåhraeus* o. a. (42) i Sverrig, har

hidtil givet negative Resultater*). Løvrigt har bl. a. Forsøg af *Starc* (100) og *Clark* (37) vist, at Rhizosfæren som Helhed ikke frembyder særlig gunstige Vilkaar for *Azotobacter*, omend mange andre Bakterier her udvikler sig langt yppigere end i selve Jorden.

I Forbindelse hermed kan nævnes ældre Forsøg af *Truffaut*, som angav at have faaet Majsplanter til at udvikle sig til Modenhed alene med det Kvælstof, som kunde bindes af *Azotobacter* og visse andre Bakterier paa Grundlag af organisk Stof udskilt fra Majsens Rødder. Disse Forsøg synes først i nyere Tid efterprøvet af *Starc* (100) og *Fedorov* (43), som fandt, at der i aseptiske Kulturer af Majs podede med *Azotobacter* vel kunde bindes noget Kvælstof, men i *Fedorov's* Forsøg var Tørstofproduktionen dog kun svag i Sammenligning med Planter, der fik fuld Nitratforsyning, og *Starc* fandt kun lidt Kvælstofforøgelse i Voksemediet (Sandkultur), men ikke i Planterne.

Oversigt.

Hovedresultaterne af det foregaaende kan i store Træk grupperes efter følgende Linier:

Selve Knoldbakteriernes Biologi er i Hovedsagen klarlagt og viser, at disse Organismer ikke indtager nogen Særstilling i Sammenligning med andre Bakterier, idet deres eneste paafaldende Egenskab, Evnen til Kvælstofbinding, først kommer til Udfoldelse under Symbiose med Værtplanten. Dog er der endnu meget tilbage at udrede angaaende deres Udbredelse i forskellige Jorder, den relative Hypighed af effektive og ineffektive Stammer og de Betingelser, under hvilke Infektionen af Bælgplanterødderne finder Sted.

Den egentlige Kvælstofbindingsproces repræsenterer et af de Afsnit, hvor der er naaet flest Resultater. Efter alt at dømme bestaar denne i en Reduktion af det frie Kvælstof til Ammoniak eller under særlige Betingelser Hydroxylamin, der reagerer med Dicarboxyl-Ketonsyrer under Dannelse af Glutaminsyre og Aspa-

I to Aars omfattende Markforsøg med Byg, Havre, Kartofler og Sukkerroer fandt *Fåhraeus* og Medarbejdere vel af og til smaa positive Udslag, men disse optraadte saa sjældent og uregelmæssigt, at de ikke med Sikkerhed kunde tilskrives *Azotobacter*-Behandlingen.

raginsyre; disse kan enten oparbejdes til Protein eller i visse Tilfælde udskilles fra Rodknoldene og tjene som Kvælstofkilde for Ikke-Bælgplanter; den praktiske Betydning af det sidste Fænomen er dog øjensynlig underkastet store Variationer og er vistnok blevet noget overvurderet. Indhold af Hæmoglobin i Rodknoldene er en nødvendig Betingelse for Kvælstofbindingen, der ogsaa synes at kræve Molybdæn som en specifik Katalysator. Den langt overvejende Del af det bundne Kvælstof afgives kontinuerligt til Værtplanten under Forløbet af Bindingsprocessen, der kun synes at lægge Beslag paa en ringe Del af Plantens Kulsyreassimilationsprodukter som Energikilde.

Et vigtigt Resultat af den nyere Tids Forskning er Opdagelsen af Effektivitets- og Værtplantespecificitets-Fænomenerne og den afgørende Rolle, som ikke alene Bakteriernes, men ogsaa Værtplanternes individuelle Egenskaber har vist sig at spille herfor. Dette aabner rige Muligheder for en forøget Produktion af Protein-stoffer ved paa den ene Side at fremskaffe forædlede Bælgplantesorter med den størst mulige Stofproduktionsevne og paa den anden Side at anvende Kulturer af de med de paagældende Sorter mest effektive Bakteriestammer til Podning under Forhold, hvor disse ikke allerede er tilstrækkelig rigeligt repræsenterede i Jordbunden.

For de fritlevende kvælstofbindende Organismers Vedkommende har de indvundne Resultater overvejende været af teoretisk (men som saadan af betydelig) Interesse. Hos *Azotobacter* synes Kvælstofbindingsprocessen i sine Hovedtræk at være analog med den tilsvarende hos Bælgplanterne, forløbende over Ammoniak (men øjensynlig ikke Hydroxylamin) til Glutaminsyre, katalyseret af Molybdæn (eller Vanadium) og specifikt hæmmet af fri Brint og Kulilte, men i Modsætning til hvad der muligvis er Tilfældet med den symbiotiske Proces, uløselig forbundet med aktiv Celleformering og derfor resulterende i en langt svagere Kvælstofbinding pr. Vægtenhed forbrugt Energimateriale (10—20 mg Kvælstof pr. g Sukker imod sandsynligvis 70—350 mg eller mere hos Bælgplanterne).

Processen hos Smøsyrebakterierne og de blaagrønne Alger er mindre velkendt, men udviser lignende Analogier med Hensyn til Molybdæn og Kulilte.

I Betragtning af de dybtgaaende kvantitative Forskelle paa de symbiotiske og de ikke-symbiotiske Kvælstofbindingsprocessers Økonomi er det klart, at de sidstes Ydeevne i langt mindre Grad kan kontrolleres og forøges undtagen ved at skabe gunstige Jordbunds-betingelser i Form af passende Luftadgang, Reaktion, Fosfat- og Molybdænforsyning, m. v.; den begrænsende Faktor vil almindeligt være Forsyningen med organisk Stof i tilgængelig Form, hvoraf kunstig Tilførsel sjældent vil være praktisk gennemførlig. De russiske Forsøg med Podning af Frø med *Azotobacter*-Kulturer synes efter de i U.S.A. og Sverrig høstede Erfaringer ikke at friste til Efterligning.

Litteraturhenvisninger.

1. O. N. Allen og E. K. Allen: Response of the Peanut Plant to Inoculation with Rhizobia (etc.). Botanical Gazette. Bd. 102, 1940, pp. 121—142.
2. F. E. Allison: Carbohydrate Supply as a Primary Factor in Legume Symbiosis. Soil Science, Dd. 39, 1935, pp. 123—143.
3. F. E. Allison, S. R. Hoover, og H. J. Morris: Physiological Studies With the Nitrogen-fixing Alga, *Nostoc muscorum*. Botanical Gazette, Bd. 98, 1937, pp. 433—463.
4. F. E. Allison, C. A. Ludwig, S. R. Hoover og F. W. Minor: Biochemical Nitrogen Fixation Studies. I. Evidence of Limited Oxygen Supply within the Nodule. Ibidem, Bd. 101, 1940, pp. 513—533.
5. F. E. Allison, C. A. Ludwig, S. R. Hoover og F. W. Minor: Biochemical Nitrogen Fixation Studies. II. Comparative Respiration of Nodules and Roots (etc.). Ibidem, Bd. 101, 1940, pp. 534—549.
6. F. E. Allison, S. R. Hoover og F. W. Minor: Biochemical Nitrogen Fixation Studies. IV. Experiments with Excised Legume Nodules. Ibidem, Bd. 104, 1942, pp. 63—71.
7. F. E. Allison: *Azotobacter* Inoculation of Crops. I. Historical. Soil Science, Bd. 64, 1947, pp.
8. F. E. Allison, V. L. Gaddy, L. A. Pinck og W. H. Armiger: *Azotobacter* Inoculation of Crops. II. Effect on Crops under Greenhouse Conditions. Ibidem, Bd. 64, 1947, pp. 489—497.
9. Lois Almon: Concerning the Reproduction of Bacteroids. Centralblatt für Bakteriologie, II, Bd. 87, 1933, pp. 289—297.
10. Lois Almon og I. L. Baldwin: The Stability of Cultures of *Rhizobium*. Journal of Bacteriology, Bd. 26, 1933, pp. 229—250.
11. A. J. Anderson: Molybdenum in Relation to Pasture Improvement in South Australia. Journal of the Council for Scientific and Industrial Research (Melbourne), Bd. 19, 1946, pp. 1—15.

12. *A. J. Anderson, Margaret P. Thomas* og *A. C. Oertel*: Plant Responses to Molybdenum as a Fertilizer. Council for Scientific and Industrial Research (Melbourne), Bulletin No. 198, 1946.
13. *D. Bertrand*: Sur le molybdène des nodosités des légumineuses. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris, Bd. 211, 1940, pp. 670—672.
14. *G. Bjälve*: Baljväxternas rotknölar hos olika sorter, baljväxternas kvävehalt samt deras kväve-hushållning i åkerjorden. Meddelande No. 455 från Centralanstalten för Försöksväsendet på Jordbruksområdet, Stockholm, 1935.
15. *J. Blom*: Ein Versuch, die chemischen Vorgänge bei der Assimilation des molekularen Stickstoffs durch Mikroorganismen zu erklären. Centralblatt für Bakteriologie, II. Bd. 84, 1931, pp. 60—86.
16. *G. Bond*: Quantitative Observations on the Fixation and Transfer of Nitrogen in the Soya Bean. Annals of Botany, Bd. 50, 1936, pp. 554—578.
17. *G. Bond*: Excretion of Nitrogenous Substances from Leguminous Root Nodules: Observations on Soya Beans. Ibidem, Bd. 2 (N.S.), 1938, pp. 61—74.
18. *G. Bond* og *J. Boyes*: Excretion of Nitrogenous Substances from Root Nodules: Observations on Various Leguminous Plants. Ibidem, Bd. 3 (N.S.), 1939, pp. 901—914.
19. *G. Bond*: Symbiosis of Leguminous Plants and Nodule Bacteria. Ibidem, Bd. 5 (N.S.), 1941, pp. 313—337.
20. *G. Bond*: Symbiosis of Leguminous Bacteria Nodule Bacteria. II. Further Observations on the Excretion of Nitrogenous Substances from Nodules. Ibidem, Bd. 5 (N.S.), 1941 pp. 647—668.
21. *H. Bortels*: Weitere Untersuchungen über die Bedeutung von Molybdän Vanadium Wolfram und andere Erdschenstoffen bei stickstoffbindende und andere Mikroben. Centralblatt für Bakteriologie II. Bd. 95 1936, pp. 193—217.
22. *H. Bortels*: Über die Wirkung von Agar sowie Eisen, Molybdän, Mangan und anderen Spurenelementen in stickstofffreier Nährlösung auf *Azotobacter*. Ibidem, Bd. 100, 1939, pp. 373—397.
23. *H. Bortels*: Meteorobiologische Untersuchungen an *Azotobacter*. Ibidem, v. 102, 1940, pp. 129—153.
24. *H. Bortels*: Ueber die Bedeutung des Molybdäns für stickstoffbindende Nostocaceen. Archiv für Mikrobiologie, Bd. 11, 1940, pp. 155—186.
25. *J. Boyes* og *G. Bond*: The Effectiveness of Certain Strains of the Soya Bean Nodule Organism when associated with Different Varieties of the Host Plant. Annals of Applied Biology, Bd. 29, 1942, pp. 103—108.
26. *R. H. Burris, F. J. Eppling, H. B. Wahlin, og P. W. Wilson*: Studies of Biological Nitrogen Fixation With Isotopic Nitrogen. Proceedings of the Soil Science of America, Bd. 7, 1943, pp. 258—262.
27. *R. H. Burris, F. J. Eppling, H. B. Wahlin og P. W. Wilson*: Detection of Nitrogen Fixation with Isotopic Nitrogen. Journal of Biological Chemistry, Bd. 148, 1943, pp. 349—357.
28. *R. H. Burris og P. W. Wilson*: Comparison of the Metabolism of Ammonia and Molecular Nitrogen in *Azotobacter*. Ibidem, Bd. 165, 1946, pp. 595—598.
29. *R. H. Burris og P. W. Wilson*: Ammonia as an Intermediate in Nitrogen Fixation by *Azotobacter*. Journal of Bacteriology, Bd. 52, 1946, pp. 505—512.

30. R. H. Burris og P. W. Wilson: Characteristics of the Nitrogen-Fixing Enzyme System in *Nostoc muscorum*. Botanical Gazette, Bd. 108, pp. 254—262.
31. J. C. Burton og P. W. Wilson: Host Plant Specificity among the *Medicago* in Association with Root Nodule Bacteria. Soil Science, Bd. 47, 1939, pp. 273—303.
32. J. C. Burton og L. W. Erdman: A Division of Alfalfa Cross-Inoculation Croup Correlating Efficiency in Nitrogen Fixation with Source of *Rhizobium meliloti*. Journal of the American Society of Agronomy, Bd. 32, 1940, pp. 439—450.
33. H. K. Chen og H. G. Thornton: The Structure of »Ineffective« Nodules and its Influence on Nitrogen Fixation. Proceedings of the Royal Society of London, Ser. B, Bd. 129, 1940, pp. 208—229.
34. H. K. Chen, H. Nicol og H. G. Thornton: The Growth of Nodule Bacteria in the Expressed Juices from Legumes Bearing Effective and Ineffective Nodules. Ibidem, Bd. 129, 1940, pp. 475—491.
35. H. K. Chen: The limited Numbers of Nodules Produced on Legumes by Different Strains of *Rhizobium*. Journal of Agricultural Science, Bd. 31, 1941, pp. 479—487.
36. D. G. Clark: Physiological Studies of *Rhizobium* Species. Cornell University Agricultural Experiment Station, Memoir No. 196, 1936.
37. F. E. Clark: *Azotobacter* Inoculation of Crops. III. Recovery of *Azotobacter* from the Rhizosphere. Soil Science, Bd. 65, 1948, pp. 193—202.
38. P. K. De: The Role of Blue-green Algae in Nitrogen Fixation in Rice Fields. Proceedings of the Royal Society of London, Ser. B, Bd. 127, 1939, pp. 121—139.
39. A. Demolon og A. Dunez: Recherches sur le rôle du bacteriophage dans la fatigue des luzernières. Annales agronomiques, Bd. 5, 1935, pp. 89—111.
40. A. Dunham og I. L. Baldwin: Double Infection of Leguminous Plants with Good and Poor Strains of Rhizobia. Soil Science, Bd. 32, 1931, pp. 235—249.
41. H. Engel og M. Roberg: Die Stickstoffausscheidung der Wurzelknöllchen. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, 56, 1938, pp. 337—352.
42. G. Fåhræus, R. Nilsson, G. Sundelin og J. Rasmussen: Behandling av utsæde med azotobacterkultur, radivit och euradin. Meddelande No. 24 från Lantbrukshögskolan (Jordbrukslaboratoriet), Uppsala. (I Trykken).
43. M. V. Fedorov: Vliyanie kornevykh vydelenii kukuruza na fiksatsiya azota atmosfery *Azotobacter chroococcum* v usloviyakh monobakterialnoi kultury (Russ. m. Engl. Resumé). Mikrobiologiya, Bd. 13, 1944, pp. 199—209.
44. Helen L. Frazer: The Occurrence of Endodermis in Leguminous Root Nodules and its Effect upon Nodule Function. Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, Sect. B, Bd. 61, 1942, pp. 328—343.
45. E. B. Fred, I. L. Baldwin og Elizabeth McCoy: Root Nodule Bacteria and Leguminous Plants. Madison (Wisconsin), 1932.
46. C. E. Georgi: Influence of the Carbohydrate-Nitrogen Relation on Nodule Production by Red Clover. Journal of Agricultural Research, Bd. 51, 1935, pp. 597—612.
47. C. K. Horner og D. Burk: The Nature and Amount of Extracellular Nitrogen in *Azotobacter* Cultures. Transactions of the Third Commission of the International Society of Soil Science, A, 1939, pp. 168—174.

48. C. K. Horner, D. Burk, F. E. Allison og M. Sherman: Nitrogen Fixation by *Azotobacter* as Influenced by Molybdenum and Vanadium. Journal of Agricultural Research, Bd. 65, 1942, pp. 173—192.
49. D. Q. Hughes og J. M. Vincent: Serological Studies of Root Nodule Bacteria. III. Tests of Neighbouring Strains of the Same Species. Proceedings of the Linnean Society of New South Wales, Bd. 67, 1942, pp. 142—152.
50. W. P. Israily og K. Leonowitsch: Dissoziation bei einigen Bakterienarten. Centralblatt für Bakteriologie, II, Bd. 88, 1933, pp. 216—235.
51. H. L. Jensen: Contributions to the Nitrogen Economy of Australian Wheat Soils. Proceedings of the Linnean Society of New South Wales, Bd. 65, 1940, pp. 1—122.
52. H. L. Jensen: Nitrogen Fixation in Leguminous Plants. I. Ibidem, Bd. 67, 1942, pp. 98—108.
53. H. L. Jensen og R. C. Betty: Nitrogen Fixation in Leguminous Plants. III. Ibidem, Bd. 68, 1943, pp. 1—8.
54. H. L. Jensen: Nitrogen Fixation in Leguminous Plants. IV. Ibidem, Bd. 68, 1943, pp. 207—220.
55. H. L. Jensen: Nitrogen Fixation in Leguminous Plants. VI, Ibidem, Bd. 70, 1946, pp. 203—210.
56. H. L. Jensen og D. Spencer: The Influence of Molybdenum and Vanadium on Nitrogen Fixation by *Clostridium butyricum* and Related Species. Ibidem, Bd. 72, 1947, pp. 73—86.
57. H. L. Jensen: Nitrogen Fixation in Leguminous Plants. VII. Ibidem, Bd. 72, 1948, pp. 265—291.
58. A. Kalnins: Fixation and Mineralization of Atmospheric Nitrogen. I. The Efficiency of Different Strains of Lupin and Serradella Nodule Bacteria in fixing Atmospheric Nitrogen. (Lettisk m. engl. Resumé). Acta Universitatis Latviensis, 1938, pp. 41—64.
59. D. K. Keilin og Y. L. Wang: Haemoglobin in the Root Nodules of Leguminous Plants. Nature, Bd. 155, 1945, pp. 227—229.
60. J. Kleczkowska, P. S. Nutman og G. Bond: Note on the Ability of Certain Strains of Rhizobia from Peas and Clover to infect each Other's Host Plants. Journal of Bacteriology, Bd. 48, 1944, pp. 673—675.
61. J. Kleczkowska: A Quantitative Study of the Interaction of Bacteriophage with *Rhizobium*. Ibidem, Bd. 50, 1945, pp. 81—94.
62. A. Kleczkowski og H. G. Thornton: A Serological Study of Root Nodule Bacteria from Pea and other Inoculation Groups. Ibidem, Bd. 48, 1944, pp. 661—672.
63. N. A. Krasilnikov: Izmenchivost klubenkovykh bakterii. Comptes Rendus de l'Academie des Sciences de l'URSS, Bd. 31, 1941, pp. 90—92.
64. N. A. Krasilnikov: Izmenchivost klubenkovykh bakterii. (Variability of Nodule Bacteria). Mikrobiologiya, Bd. 10, 1941, pp. 396—400.
65. N. A. Krasilnikov: Privivka novykh svoistv virulentnosti klubenkovym i nekotorym neklubenkovym bakteriyam (Engrafting of New Virulence Characters to Nodule and Some Other Bacteria). Ibidem, Bd. 14, 1945, pp. 230—236.
66. O. Krebber: Untersuchungen über Wurzelknöllchen der Erle. Archiv für Mikrobiologie, Bd. 3, 1932, pp. 588—608.

67. J. T. Kroulik og P. L. Gainey: Physiological Studies of *Rhizobium meliloti*, with Special Reference to the Effectiveness of Strains Isolated in Kansas. *Journal of Agricultural Research*, Bd. 62, 1941, pp. 359—369.
68. S. B. Lee og P. W. Wilson: Hydrogenase and Nitrogen Fixation in *Azotobacter*. *Journal of Biological Chemistry*, Bd. 151, 1943, pp. 377—385.
69. C. J. Lind og P. W. Wilson: Mechanism of Biological Nitrogen Fixation. VIII. Carbon Monoxide as an Inhibitor for Nitrogen Fixation by Red Clover. *Journal of the American Chemical Society*, Bd. 63, 1941, pp. 3511—3514.
70. C. J. Lind og P. W. Wilson: Carbon Monoxide Inhibition of Nitrogen Fixation by *Azotobacter*. *Archives of Biochemistry*, Bd. 1, 1942, pp. 59—72.
71. C. A. Ludwig og F. E. Allison: Experiments concerning Diffusion of Nitrogenous Compounds from Healthy Legume Nodules and Roots. *Botanical Gazette*, Bd. 98, 1937, pp. 680—695.
72. C. A. Ludwig og F. E. Allison: Further Experiments concerning Diffusion of Nitrogenous Compounds from Healthy Legume Nodules or Roots. *American Journal of Botany*, Bd. 27, 1940, pp. 719—925.
73. Marie P. Löhnis: Can *Bacterium radicolola* assimilate Nitrogen in the Absence of the Host Plant? *Soil Science*, Bd. 29, 1930, pp. 37—57.
74. Marie P. Löhnis: Investigations upon the Ineffectiveness of Root Nodules on Leguminosae. *Centralblatt für Bakteriologie*, II, Bd. 80, 1930, pp. 342—368.
75. Marie P. Löhnis: Sind hautbildende Hefen befähigt, elementaren Stickstoff zu assimilieren? *Antonie van Leuwenhoek Journal*, Bd. 9, 1943, pp. 133—142.
76. Elizabeth McCoy: Infection by *Bact. radicolola* in Relation to the Microchemistry of the Host's Cell Wall. *Proceedings of the Royal Society of London*, Ser. Bd. 110, 1932, pp. 514—533.
77. H. Mowry: Symbiotic Nitrogen Fixation in the Genus *Casuarina*. *Soil Science*, Bd. 36, 1933, pp. 409—425.
78. H. G. Myers: Excretion of Nitrogen Compounds by some Legumes Grown in Sand Culture. *Journal of the American Society of Agronomy*, Bd. 37, 1945, pp. 81—89.
79. H. Nicol og H. G. Thornton: Competition between Related Strains of Nodule Bacteria and its Influence on Infection of the Legume Host. *Proceedings of Royal Society of London*, Ser. B, Bd. 130, 1941, pp. 32—59.
80. N. Nielsen og G. Johansen: Untersuchungen über biologische Stickstoffbindung. IV—V. *Comptes Rendus des Travaux du Laboratoire Carlsberg*, Ser. *Physiol.*, Bd. 23, 1941, pp. 146—172, 173—192.
81. R. Nilsson, G. Bjälfve og Dagnar Burström: Ueber Zuwachsfaktoren bei *Bact. radicolola*. V. *Lantbrukshögskolans Annaler*, Bd. 7, 1939, pp. 301—331.
82. Ruth Novak og P. W. Wilson: The Utilization of Nitrogen in Hydroxylamin and Oximes by *Azotobacter vinelandii*. *Journal of Bacteriology*, Bd. 55, 1948, pp. 517—524.
83. Anna Nowotownna: An Investigation of the Nitrogen Uptake in Mixed Crops not receiving Nitrogenous Manure. *Journal of Agricultural Science*, Bd. 27, 1937, pp. 503—510.
84. P. S. Nutman: Genetic Factors Concerned in the Symbiosis of Clover and Nodule Bacteria. *Nature*, Bd. 157, 1946, pp. 463—465.

85. *P. S. Nutman*: Variation within Strains of Clover Nodule Bacterial in the Size of Nodules Produced and in the »Effectiveness« of the Symbiosis. *Journal of Bacteriology*, Bd. 51, 1946, pp. 411—432.
86. *P. S. Nutman*: Physiological Studies on Nodule Formation. I. *Annals of Botany*, (N.S.), Bd. 12, 1948, pp. 81—96.
87. *Carsten Olsen*: Ueber die Anwendbarkeit des Kjeldahlschen Stickstoffverfahrens bei biologischen Untersuchungen. *Comptes Rendus des Travaux du Laboratoire Carlsberg*, Ser. chim., Bd. 21, 1937, pp. 211—233.
88. *Erik Petersen*: Diagnostiske Undersøgelser over Lucernebakterier. *Tidsskrift for Planteavl*, Bd. 44, 1940, pp. 504—553.
89. *J. Pietz*: Beitrag zur Physiologie des Wurzelknöllchenbakteriums. *Centralblatt für Bakteriologie*, II, Bd. 99, 1938, pp. 1—32.
90. *O. von Plotho*: Beiträge zur Kenntniss der Morphologie und Physiologie der Aktinomyzeten. *Archiv für Mikrobiologie*, Bd. 11, 1940, pp. 33—72.
91. *O. von Plotho*: Die Synthese der Knöllchen an den Wurzeln der Erle. *Ibidem*, Bd. 12, 1941, pp. 1—14.
92. *H. Poschenrieder, K. Sammet* og *R. Fischer*: Untersuchungen über den Einfluss verschiedener Ernährung mit Kali und Phosphorsäure auf die Ausbildung der Wurzelknöllchen und die Tätigkeit der Knöllchenbakterien bei der Sojabohne. *Centralblatt für Bakteriologie*, II, Bd. 102, 1940, pp. 388—395, 425—432.
93. *I. L. Rabotnova*: Fiksatsiya azota klubenkovymi bakteriyami (Fixation of Nitrogen by Nodule Bacteria). *Mikrobiologiya*, Bd. 7, 1939, pp. 1151—1169.
94. *M. Roberg*: Ueber den Erreger der Wurzelknöllchen von *Alnus* und von den Elaeagnaceen *Elaeagnus* und *Hippophæ*. *Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik*, Bd. 79, 1934, pp. 472—492.
95. *M. Roberg*: Weitere Untersuchungen über Stickstoffernährung der Erle. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, Bd. 52, 1934, pp. 54—64.
96. *M. Roberg*: Beiträge zur Biologie von *Azotobacter*. *Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik*, Bd. 82, 1935, pp. 65—98.
97. *E. W. Ruf* og *W. B. Sarles*: Nodulation of Soybeans in Pot Cultures by Effective and Ineffective Strains of *Rhizobium japonicum*. *Journal of the American Society of Agronomy*, Bd. 29, 724—727.
98. *E. M. Smyth* og *P. W. Wilson*: Ueber die scheinbare Stickstoffassimilation keimender Samen. *Biochemische Zeitschrift*, Bd. 282, 1935, pp. 1—25.
99. *C. Stapp*: *Azotomonas insolita*, ein neuer aerober stickstoffbindender Mikroorganismus. *Centralblatt für Bakteriologie*, II, Bd. 102, 1940, pp. 1—19.
100. *A. Starc*: Zur Frage der Rhizosphäre und Bodenimpfung mit *Azotobacter*. *Archiv für Mikrobiologie*, Bd. 13, 1942, pp. 164—181.
101. *R. L. Starkey* og *P. K. De*: A New Species of *Azotobacter*. *Soil Science*, Bd. 47, 1939, pp. 326—343.
102. *T. H. Strong*: The Influence of Host Plant Species in Relation to the Efficiency of the Rhizobia of Clover. *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research (Melbourne)*, Bd. 10, 1937, pp. 12—16.
103. *T. H. Strong* og *H. C. Trumble*: Excretion of Nitrogen by Leguminous Plants, *Nature*, Bd. 143, 1939, pp. 286—287.

104. *R. J. Swaby*: Do Legumes Excrete Nitrogenous Compounds? Journal of the Australian Institute of Agricultural Science, Bd. 11, 1945, pp. 23—28.
105. *K. V. Thimann*: The Physiology of Nodule Formation. Transactions of the Third Commission of the International Society of Soil Science, A, 1939, pp. 24—28.
106. *D. W. Thorne* og *P. E. Brown*: The Growth and Respiration of Some Soil Bacteria in Juices of Leguminous and Non-leguminous Plants. Journal of Bacteriology, Bd. 34, 1937, pp. 567—580.
107. *D. W. Thorne* og *R. H. Burritt*: Respiratory Enzyme Systems in Symbiotic Nitrogen Fixation. II. Ibidem, Bd. 39, 1940, pp. 187—196.
108. *H. G. Thornton*: The Role of the Young Lucerne Plant in determining the Infection of the Root by Nodule-forming Bacteria. Proceedings of the Royal Society of London, Ser. B., 104, 1929, pp. 481—492.
109. *H. G. Thornton*: The Role of the Host Plant in Inducing Parasitism in Lucerne and Clover Nodules. Ibidem, Bd. 106, 1930, Op. 110—122.
110. *H. G. Thornton* og *H. Nicol*: Further Evidence upon the Nitrogen Uptake of Grass grown with Lucerne. Journal of Agricultural Science, Bd. 24, 1934, pp. 540—543.
111. *H. G. Thornton* og *H. Nicol*: Reduction of Nodule Numbers and Growth produced by the Addition of Sodium Nitrate to Lucerne in Sand Culture. Ibidem, Bd. 26, 1936, pp. 173—188.
112. *H. G. Thornton*: The Action of Sodium Nitrate upon the Infection of Lucerne Root Hairs by Nodule Bacteria. Preceeding of the Royal Society of London, Ser. B, Bd. 119, 1936, pp. 474—492.
113. *H. G. Thornton* og *J. E. Rudorf*: The Abnormal Structure Induced in Nodules in Lucerne (*Medicago sativa* L.) by the Supply of Nitrate to the Host Plant. Ibidem, Bd. 120, 1936, pp. 240—252.
114. *H. C. Trumble*, *T. H. Strong* og *R. E. Shapter*: Investigations on the Associated Growth of Herbage Plants. Council for Scientific and Agricultural Research (Melbourne), Bulletin No. 105, 1937.
115. *S. C. Vandecaveye*, *W. H. Fuller* og *H. Katznelson*: Bacteriophage of Rhizobia in Relation to Symbiotic Nitrogen Fixation by Alfalfa. Soil Science, Bd. 50, 1940, pp. 15—27.
116. *J. M. Vincent*: Serological Studies of the Root-nodule Bacteria. I. Strains of *Rhizobium meliloti*. Proceedings of the Linnean Society of New South Wales, Bd. 66, 1941, pp. 145—154.
117. *J. M. Vincent*: Serological Studies of the Root Nodule Bacteria. II. Strains of *Rhizobium trifolii*. Ibidem, Bd. 67, 1942, pp. 82—86.
118. *J. M. Vincent*: Host Specificity among Root Nodule Bacteria isolated from Several Clover Species. Journal of the Australian Institute of Agricultural Science, Bd. 11, 1945, pp. 121—127.
119. *A. I. Virtanen* og *S. von Hausen*: Untersuchungen über die Leguminosen-Bakterien und -Pflanzen. Zeitschrift für Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde, A, Bd. 21, 1931, pp. 57—69.
120. *A. I. Virtanen*, *S. von Hausen* og *H. Karström*: Untersuchungen über die Leguminosen-Bakterien und -Pflanzen. Biochemische Zeitschrift, Bd. 258, 1933, pp. 106—117.

121. *A. I. Virtanen* og *S. von Hausen*: Investigations on the Root Nodule Bacteria of Leguminous Plants. XVI—XVII. *Journal of Agricultural Science*, Bd. 25, 1935, pp. 278—289, 290—296.
122. *A. I. Virtanen* og *S. Saastamoinen*: Untersuchungen über die Stickstoffbindung der Erle. *Biochemische Zeitschrift*, Bd. 284, 1936, pp. 72—85.
123. *A. I. Virtanen*, *S. von Hausen* og *T. Laine*: Investigations on the Root Nodule Bacteria of Leguminous Plants. XIX—XX. *Journal of Agricultural Science*, Bd. 27, 1937, pp. 332—348, 584—610.
124. *A. I. Virtanen* og *T. Laine*: Investigations on the Root Nodule Bacteria of Leguminous Plants. XXII. *Biochemical Journal*, Bd. 23, 1939, pp. 412—427.
125. *A. I. Virtanen*: Mechanism of Symbiotic Nitrogen Fixation in Leguminous Plants. *Transactions of the Third Commission of the International Society of Soil Science*, A, 1939, pp. 4—19.
126. *A. I. Virtanen*: Symbiotic Nitrogen Fixation. *Nature*, Bd. 155, 1945, pp. 747—748.
127. *A. I. Virtanen* og *T. Laine*: Red, Brown and Green Pigments in Leguminous Nodules. *Ibidem*, Bd. 157, 1946, pp. 25—26.
128. *A. I. Virtanen*: The Biology and Chemistry of Nitrogen Fixation by Legume Bacteria. *Biological Reviews*, Bd. 22, 1947, pp. 239—269.
129. *A. I. Virtanen*, *J. Jorma*, *H. Linkola* og *A. Linnasalmi*: On the Relation between Nitrogen Fixation and Leghaemoglobin Content of Leguminous Root Nodules I. *Acta Chemica Scandinavica*, Bd. 1, 1947, pp. 90—111.
130. *A. I. Virtanen*, *J. Erkama* og *H. Linkola*: On the Relation between Nitrogen Fixation and Leghaemoglobin Content of Leguminous Root Nodules. II. *Ibidem*, Bd. 1, 1947, pp. 861—870.
131. *J. B. Wilson* og *P. W. Wilson*: Biotin as a Growth Factor for Rhizobia. *Journal of Bacteriology*, Bd. 43, 1942, pp. 329—341.
132. *J. K. Wilson*: Leguminous Plants and Their associated Organisms. *Cornell University Agricultural Experiment Station, Memoir No. 221*, 1939.
133. *P. W. Wilson*, *E. W. Hopkins* og *E. B. Fred*: The Biochemistry of Nitrogen Fixation by Leguminosae. *Archiv für Mikrobiologie*, Bd. 3, 1932, pp. 322—340.
134. *P. W. Wilson* og *J. C. Burton*: Excretion of Nitrogen by Leguminous Plants. *Journal of Agricultural Science*, Bd. 28, 1938, 307—327.
135. *P. W. Wilson*: The Biochemistry of Symbiotic Nitrogen Fixation. *Madison (Wisconsin)*, 1940.
136. *P. W. Wilson*, *R. H. Burris* og *W. B. Coffee*: Hydrogenase and Symbiotic Nitrogen Fixation. *Journal of Biological Chemistry*, Bd. 147, 1943, pp. 474—481.
137. *P. W. Wilson* og *R. H. Burris*: The Mechanism of Biological Nitrogen Fixation. *Bacteriological Reviews*, Bd. 11, 1947, pp. 41—73.
138. *S. Winogradsky*: Études sur la microbiologie du sol. VI. Sur la synthèse de l'ammoniaque par les azotobacters du sol. *Annales de l'Institut Pasteur*, Bd. 48, 1932, pp. 269—300.
139. *S. Winogradsky*: Études sur la microbiologie du sol. VIII. Recherches sur les bactéries radicales des légumineuses. *Ibidem*, B. 56, 1936, pp. 221—250.
140. *Louise Wipf*: Chromosome Numbers in Root Nodules and Root Tips of Certain Leguminosae. *Botanical Gazette*, Bd. 101, 1940, pp. 51—67.

141. *H. Wozak*: Stickstoffgehalt und Stickstoffverteilung in einigen Leguminosen. Fortschritte der Landwirtschaft, Bd. 4, 1929, pp. 485—488.
142. *O. Wyss* og *P. W. Wilson*: Factors Influencing Excretion of Nitrogen by Legumes. Soil Science, Bd. 52, 1941, pp. 15—29.
143. *O. Wyss*, *C. J. Lind*, *J. B. Wilson* og *P. W. Wilson*: Mechanism of Biological Nitrogen Fixation. VIII. Molecular H_2 and the pN_2 Function of *Azotobacter*. Biochemical Journal, Bd. 35, 1941, pp. 845—854.